



Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel : Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques.

Virginie Monnier

► To cite this version:

Virginie Monnier. Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel : Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques.. Matériaux. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. NNT: . tel-00263706

HAL Id: tel-00263706

<https://theses.hal.science/tel-00263706>

Submitted on 13 Mar 2008

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.

THESE

présentée pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université Joseph Fourier - Grenoble I

(Arrêtés ministériels du 5 juillet 1984 et du 30 mars 1992)

Spécialité : Physique des Matériaux

par

Virginie MONNIER

Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel : Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques

Soutenue le 26 septembre 2006 devant le jury composé de :

J. DEROUARD	Professeur	Président
A. AYRAL	Professeur	Rapporteur
S. FERY-FORGUES	Directrice de Recherches	Rapporteur
R. PANSU	Directeur de Recherches	Examineur
B. BOURY	Professeur	Invité
A. IBANEZ	Directeur de Recherches	Directeur de thèse
N. SANZ	Chargée de Recherches	Co-directrice de thèse

Thèse préparée au Laboratoire de Cristallographie (UPR CNRS 5031)
25, Avenue des Martyrs, BP 166
38042 GRENOBLE CEDEX 09

Remerciements

Le travail de recherche présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire de Cristallographie du CNRS de Grenoble, dirigé à mon arrivée par Monsieur Gérard Tourillon puis par Monsieur Michel Anne. Je tiens à les remercier tous les deux de m'avoir accueilli au sein de ce laboratoire.

Je remercie la DGA d'avoir financé ce travail de thèse, ainsi que mon tuteur DGA, Monsieur Claude Lion, d'avoir appuyé ce projet.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur André Ayrat, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier et à Madame Suzanne Fery-Forgues, Directrice de Recherches au CNRS à l'Université de Toulouse, pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail. Je remercie Messieurs Jacques Derouard, Robert Pansu et Bruno Boury pour avoir bien voulu considérer ce travail.

Je remercie tout particulièrement mon directeur de thèse, Alain Ibanez. Merci à lui d'avoir encadré ces trois années de thèse avec dynamisme et enthousiasme, d'avoir été disponible pour toute discussion et de m'avoir fait bénéficier de ses grandes compétences scientifiques et pédagogiques.

Je suis très reconnaissante à Nathalie Sanz pour l'aide qu'elle m'a apporté au quotidien au cours de ce travail. Un grand merci pour m'avoir fait profiter de son expérience dans l'élaboration des nanocristaux et dans bien d'autres domaines.

Je remercie tous les membres de l'équipe « Matériaux pour l'optique » pour leur accueil chaleureux et leur gentillesse. Je remercie tout particulièrement Monsieur Alain Mosset pour ses précieux conseils lors de la rédaction.

Cette thèse m'a permis de collaborer avec de nombreuses personnes qui m'ont transmis un peu de leurs savoirs et de leurs expériences. Parmi eux,

Monsieur Yves Usson pour m'avoir formée à la microscopie optique confocale et pour sa disponibilité lors de mes séances de caractérisation à l'IN3S.

Monsieur Robert Pansu, ainsi que toute l'équipe « Nanocapteurs » du Laboratoire de Photophysique et de Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires de l'E.N.S. de Cachan, notamment Rachel Méallet-Renault, Jean-Jacques Vachon et Sophie Badré. Merci à tous de m'avoir épaulée pendant mes nombreuses manip de spectroscopie de fluorescence résolue en temps (même lorsque ça ne voulait pas « quencher » du tout !)

Madame Maria Bacia et Monsieur Jean-Luc Putaux pour m'avoir initiée à la microscopie électronique en transmission en « low-dose » et pour l'aide qu'ils m'ont apporté dans l'analyse des clichés de diffraction

Madame Sophie Brasselet pour avoir bien voulu passer du temps à caractériser mes échantillon par spectroscopie de fluorescence résolue en polarisation

Monsieur Sébastien Pairis et Mademoiselle Amélie Lecchi, pour m'avoir formée à la microscopie électronique à balayage

Monsieur Laurent Cagnon pour avoir synthétisé des membranes d'alumine pour nos essais de nanocristallisation

Monsieur André Ayrat pour m'avoir appris à fabriquer des substrats macroporeux à partir de l'encapsulation de billes de latex

Monsieur Vincent Rouessac pour m'avoir formée à la mesure de porosité par ellipsométrie couplée à l'adsorption-désorption de gaz

Monsieur Bruno Boury pour avoir synthétisé pour nous les précurseurs sol-gel qui nous convenaient.

Je remercie également l'équipe technique du Laboratoire de Cristallographie : Emmanuel, Christophe, Olivier, Rémy, Jérôme et Alain pour la bonne ambiance qu'ils font régner au 2^{ème} étage. Merci aussi pour leurs nombreux coups de mains pour fabriquer des porte-échantillons sur mesure. Enfin, merci de m'avoir aidé à chercher les fuites de gaz dans la salle blanche ... ou dans la chambre à air de mon vélo !

Je tiens à remercier toutes les secrétaires du laboratoire de Cristallographie, Muriel, Françoise, Nicole, Hélène pour leur disponibilité et leur aide dans tous les problèmes administratifs ainsi que Sabine pour les problèmes informatiques que j'ai pu rencontrer au cours de ces années.

Un grand merci à l'ensemble des membres du laboratoire de Cristallographie qui par leurs compétences et leur gentillesse m'ont permis de réaliser ce travail dans une atmosphère agréable.

Merci également à tous les thésards et post docs du laboratoire avec qui j'ai passé de très bons moments, en particulier Delphine pour ces trois ans de bureau commun, Hervé M., fournisseur officiel de boules à neige, Hervé P., Aude, Maud, Jean, Alain, Antoine, Albin, Karol, Lauro, Cynthia et Cristiane. Merci aux deux stagiaires qui ont travaillé avec moi sur le sujet des nanocristaux, Esther et Virginie.

Enfin, merci à ceux qui me supportent et m'encouragent au quotidien. Je profite de cette occasion pour remercier mes amis grenoblois, Aurore, Blandine, Caroline, Clara, Diane, Eva, François, Gabriel, JB, Jérôme et Lola. Merci pour toutes les randos, soirées à thème ou non, virées chez Gonzalez, et j'en passe... Merci aux ex-montpelliéraines, Camille, Céline et Sophie. Merci à tous ceux qui m'ont accueilli chaleureusement pendant mes campagnes de manips aux quatre coins de la France : Jacqueline et Charles, Christine et Alain. Enfin, merci à ma mère (petits plats *** au Guide Michelin), à mon père et à mon frère pour leur soutien tout au long de mes études.

Et pour finir, merci Alain (sans G à la fin) !

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE I : NANOCRISTALLISATION DE MOLECULES ORGANIQUES EN COUCHES MINCES SOL-GEL.....11

INTRODUCTION	13
1. LES MATERIAUX HYBRIDES ORGANO-MINERAUX	13
1.1. Définition et classement	13
1.2. Méthodes d'élaboration	14
1.3. Des matériaux hybrides pour l'optique vers l'étude de nanocristaux en matrice sol-gel	15
2. LE PROCEDE SOL-GEL.....	17
2.1. Quelques définitions	17
2.2. Historique et développement du procédé sol-gel	17
3. HYDROLYSE ET CONDENSATION DES ALCOXYDES DE SILICIUM.....	19
3.1. Réactions d'hydrolyse et condensation	19
3.2. Réactivité des alcoxydes de silicium en fonction du pH	20
3.3. Le taux d'hydrolyse	24
3.4. Le taux de solvant	24
3.5. La nature des précurseurs	24
4. FORMATION DU GEL	28
4.1. La gélification.....	28
4.2. La synérèse.....	29
4.3. Le séchage des couches minces	29
5. SYNTHÈSE DE NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN MATRICE SOL-GEL	30
5.1. Principe de la cristallogénèse en solution	30
5.2. Méthode de nanocristallisation dans les pores de matrices sol-gel.....	33
5.3. Synthèse de couches minces par voie sol-gel	36
5.4. Bilan de la nanocristallisation de molécules organiques en couches minces sol-gel.....	41
6. CHOIX DES PRODUITS DE DEPART	42
6.1. Choix des molécules organiques fluorescentes.....	42
6.2. Choix du type de matrice sol-gel.....	45
CONCLUSION.....	46
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I.....	48

CHAPITRE II : ELABORATION DE NANOCRISTAUX ORGANIQUES LUMINESCENTS ET CARACTERISATION DE LEUR CROISSANCE CONFINÉE.....53

INTRODUCTION	55
1. PRINCIPE DE LA MICROSCOPIE OPTIQUE CONFOCALE.....	55
2. ETUDE DE CRISTAUX NON SUPPORTES	57
2.1. Conditions d'élaboration des cristaux non supportés	58
2.2. Cristaux non supportés de rubrène.....	59
2.3. Cristaux non supportés de tétracène.....	60
2.4. Cristaux non supportés de pérylène P.....	61

3. EFFET DES PARAMETRES D'ELABORATION SUR LA DISTRIBUTION DES NANOCRISTAUX DANS LA MATRICE SOL-GEL	63
3.1. Paramètres d'élaboration des nanocristaux organiques en couches minces sol-gel	63
3.2. Intérêt de la matrice sol-gel pour le confinement spatial des nanocristaux	64
3.3. Nature du fluorophore organique.....	66
3.4. Nature des précurseurs sol-gel : les précurseurs sol-gel avec groupements espaceurs organiques.....	68
3.5. Nature des conditions d'hydrolyse-condensation.....	73
4. VISUALISATION PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE EN TRANSMISSION ...	79
4.1. Principe et préparation des échantillons	79
4.2. Observation des nanocristaux	80
5. EPAISSEURS DES COUCHES SOL-GEL PREPAREES A PARTIR DU PRECURSEUR TMSE	82
CONCLUSION.....	84
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II	85

CHAPITRE III : CARACTERISATION DE LA CRISTALLINITE DES NANOPARTICULES ORGANIQUES.....87

INTRODUCTION	89
1. METHODES DE CARACTERISATION.....	89
1.1. Preuves indirectes de la cristallinité.....	89
1.2. La diffraction des rayons X	90
1.3. La diffraction électronique	90
2. ETUDE PREALABLE DES DIFFERENTES FORMES CRISTALLINES DES FLUOROPHORES ORGANIQUES OBTENUES EN SOLUTIONS LIBRES.....	95
2.1. Le rubrène.....	95
2.2. Le tétracène.....	97
3. ETUDE DE LA CRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR DIFFRACTION ELECTRONIQUE	99
3.1. Imagerie des micro et des nanocristaux par MET'.....	99
3.2. Conditions expérimentales du MET' en mode diffraction	102
3.3. Diffraction électronique des cristaux de rubrène	104
3.4. Diffraction électronique des cristaux de tétracène.....	108
4. ETUDE DE LA MONOCRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE BIPHOTONIQUE RESOLUE EN POLARISATION.....	115
4.1. Fluorescence à deux photons	115
4.2. Montage expérimental	116
4.3. Cartographie de fluorescence à deux photons.....	117
4.4. Diagrammes polaires des nanocristaux	118
CONCLUSION.....	121
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III.....	123

CHAPITRE IV : REALISATION DE CAPTEURS CHIMIQUES.....125

INTRODUCTION	127
---------------------------	------------

1. PRINCIPE DES CAPTEURS PAR TRANSFERT D'ENERGIE	127
1.1. Transferts d'énergie radiatif et non radiatif	127
1.2. Mécanisme d'interaction entre donneur et accepteur dans le cas du transfert résonant	129
2. EMISSION ET INHIBITION DE FLUORESCENCE	131
2.1. Emission de fluorescence	131
2.2. Mécanisme d'inhibition de fluorescence	135
3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE RESOLUE EN TEMPS	138
3.1. Principe	138
3.2. Montage expérimental	138
3.3. Préparation des échantillons	140
3.4. Traitement des données brutes	142
3.5. Mesure des durées de vie de fluorescence	143
4. SELECTION DES FLUOROPHORES ORGANIQUES	146
4.1. Le rubrène	147
4.2. Le tétracène	148
4.3. Le pérylène A	149
5. EFFET DE LA POROSITE DE LA MATRICE SOL-GEL.....	152
5.1. Echelle de porosité	153
5.2. Principe de la mesure indirecte de la porosité par spectroscopie de fluorescence	153
5.3. Matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS	154
5.4. Matrice TMSE + n TMOS en catalyse acide	155
5.5. Matrice TMSE + 2 TMOS en catalyse acido-basique	158
5.6. Mesure directe de la porosité par ellipsométrie couplée à l'adsorption-désorption de gaz ..	159
6. EFFET DE LA TAILLE DES NANOCRISTAUX.....	164
7. CAPTEUR CHIMIQUE	167
7.1. Effet capteur sur des nanocristaux de rubrène	168
7.2. Effet capteur sur des nanocristaux de tétracène	170
CONCLUSION.....	173
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV	175

CHAPITRE V : VERS LA CONCEPTION DE CAPTEURS BIOLOGIQUES.....

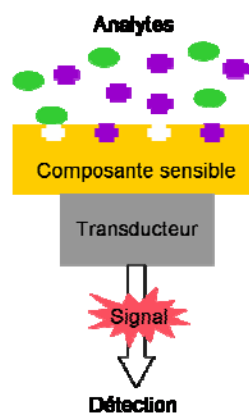
INTRODUCTION	179
1. PERFORMANCES ET LIMITATION DES BIOPUCES FLUORESCENTES A ADN	179
1.1. Principe de fonctionnement d'une biopuce à ADN	179
1.2. Limitation des biopuces actuelles	180
2. LES NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN COUCHES MINCES SOL-GEL COMME FONCTION DE SIGNALISATION D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE	181
2.1. Avantages et inconvénients de ces matériaux nanocomposites pour ce type d'application .	181
2.2. Présentation du dispositif	183
3. MISE EN OEUVRE D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE	185
3.1. Nanocristallisation dans des substrats macroporeux	185
3.2. Dissolution contrôlée de la matrice sol-gel	190
4. CARACTERISATION DES COUCHES DECAPEES.....	193
4.1. Principe de la microscopie à force atomique en mode contact intermittent	193
4.2. Effet de la taille des nanocristaux	196

4.3. Choix de la matrice sol-gel à dissoudre	198
4.4. Effet du temps d'attaque chimique	199
CONCLUSION.....	202
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V	204
 <u>CONCLUSION GENERALE.....</u>	 205
 <u>ANNEXE A : STRUCTURE CRISTALLOGRAPHIQUE DU RUBRENE ET DU TETRACENE.....</u>	 211
 <u>ANNEXE B : DETERMINATION DE LA POROSITE PAR ELLIPSOMETRIE COUPLEE A L'ADSORPTION-DESORPTION DE GAZ.....</u>	 215

INTRODUCTION GENERALE

La métrologie (science des capteurs) a pris une importance croissante dans l'industrie à partir des années 1980-1990. En effet, lorsque les grands groupes industriels ont été confrontés à la mondialisation, notamment dans le domaine des composants électroniques, l'utilisation de capteurs s'est révélée indispensable pour augmenter la rentabilité de leur production. Puis avec l'avènement des nanotechnologies, des capteurs « intelligents » ont été développés grâce aux techniques de fabrication de la microélectronique [1]. Etant donnée l'importance qu'ont pris les capteurs aujourd'hui, il est donc nécessaire d'y consacrer des études fondamentales spécifiques. Les capteurs permettent en fait de répondre à trois exigences incontournables pour les technologies actuelles et futures: économiser l'énergie, respecter l'environnement et améliorer les conditions de travail et les produits. Ils sont utilisés dans tous les domaines d'activité et permettent la mesure de tous types de grandeurs physiques.

Un capteur chimique est un capteur dont la réponse dépend d'une interaction avec un « analyte » (espèce à détecter) ou une molécule spécifique [2]. Le but de l'analyse chimique est de connaître un environnement chimique ou un matériau. Cependant, il s'avère plus simple de caractériser les propriétés physiques d'un milieu plutôt que sa nature chimique ou biochimique car, dans un milieu donné, il existe souvent une multitude d'espèces chimiques pouvant interagir entre elles au gré de l'évolution des paramètres physiques caractérisant ce milieu. Dans tous les cas, le principe de fonctionnement d'un capteur chimique est le même. Son schéma de principe est présenté sur la figure suivante [3].



La « composante sensible » d'un capteur chimique est un matériau qui peut être de différentes natures (organique, inorganique, oxyde métallique,...). Ce matériau doit présenter des propriétés physico-chimiques particulières qui sont modifiées lorsqu'il est mis en présence de l'analyte. Un « transducteur » couplé à ce matériau transforme l'interaction avec l'analyte en un signal physique mesurable, optique [4] ou électrique [5], qui tend à être proportionnel à la concentration des espèces à détecter. Ce système de

reconnaissance moléculaire est en général basé sur une interaction spécifique entre l'analyte à détecter et la composante sensible.

L'objectif de cette thèse est de concevoir des capteurs chimiques et biologiques adaptés à l'étude de milieux liquides (solutions aqueuses) contenant des traces du produit à détecter. En effet, les méthodes de chimie traditionnelle sont peu adaptées à l'analyse de faibles concentrations dans un mélange, pour contrôler par exemple la qualité de l'eau (détection de métaux lourds, bactéries, molécules organiques polluantes...). Pour ce type d'application, il existe de nombreuses sondes fluorescentes moléculaires, mais elles présentent un certain nombre d'inconvénients. En effet, elles sont parfois toxiques chimiquement et peuvent donc fausser la détection. De plus, les sondes moléculaires sont trop petites pour être localisées individuellement ou déplacées. Nous proposons donc comme alternative un capteur chimique dont la composante sensible est constituée par un nouveau type de matériau : une couche mince sol-gel dans laquelle sont insérés des nanocristaux organiques fluorescents. Ces matériaux hybrides organique-inorganique sont le résultat d'études démarrées en 1996 dans l'équipe « Matériaux pour l'Optique » du Laboratoire de Cristallographie. Ces travaux ont été menés afin d'obtenir des matériaux nanocomposites combinant les propriétés optiques des phases organiques (luminescence, optique non-linéaire, photochromisme) avec celles des couches minces amorphes inorganiques (stabilité, facilité de mise en forme). L'équipe a démontré la faisabilité et la reproductibilité de cette nouvelle méthode d'élaboration, d'abord sous forme de xérogel massif [6-8] puis sous forme de couche mince [9, 10]. Les propriétés optiques visées étaient alors l'absorption non linéaire pour la protection laser [11] ou celles des nanocristaux orientés pour l'optique non-linéaire quadratique [12]. Par la suite, en collaboration avec l'équipe de R. Pansu de l'E.N.S. de Cachan, les nanocristaux en matrice sol-gel ont été envisagés pour des applications de capteurs luminescents [13]. Ce nouveau type de nanocapteur fonctionne grâce aux éléments suivants.

- **Signal : Emission de fluorescence**

Dans notre cas, la technique de spectroscopie choisie pour la détection est l'émission de fluorescence de nanocristaux en fonction de l'environnement chimique. Cette technique présente l'avantage par rapport à la spectroscopie d'absorption U.V.-Visible de ne pas nécessiter de référence, puisque l'intensité de fluorescence est mesurée directement. Les techniques de fluorescence permettent également de détecter des concentrations d'analyte beaucoup plus faibles (de l'ordre de 10^{-10} mol/L) et présentent l'avantage d'être non destructives, donc utilisables en milieu vivant. C'est pourquoi l'émission de fluorescence est aussi la technique de détection la plus envisagée pour les biopuces.

- **Composante sensible : Nanocristaux organiques fluorescents**

Avantages des phases cristallines par rapport aux molécules dispersées

La plupart du temps, les fluorophores sont simplement greffés à la matrice sol-gel par des liaisons covalentes. Dans notre cas, les molécules organiques sont agrégées sous forme de nanocristaux dans les pores de la matrice sol-gel. On peut même réduire de manière significative les interactions entre la matrice minérale et la phase organique en utilisant des précurseurs sol-gel adaptés. Les nanocristaux forment donc une assemblée de 10^4 à 10^{10} molécules luminescentes selon le fluorophore mis en jeu et le diamètre des nanocristaux. Par rapport à des molécules dispersées, les nanocristaux sont plus photostables et ont une intensité de fluorescence nettement plus élevée de par leur section efficace d'absorption beaucoup plus grande. Les propriétés de fluorescence sont d'autant meilleures dans un agrégat cristallisé, comme nous le verrons aux chapitres III et IV, puisque la structure organisée des molécules fluorescentes favorise la diffusion de l'excitation de molécule en molécule. Enfin, les nanocristaux présentent un comportement d'émetteur unique de fluorescence. Grâce à ces différentes propriétés, les nanocristaux sont donc très bien adaptés pour former la fonction de signalisation d'un capteur ultrasensible.

Avantages des nanocristaux organiques par rapport aux inorganiques

Les concurrents directs des nanocristaux organiques pour des applications de capteurs fluorescents sont les nanocristaux semi-conducteurs (en particulier les nanoparticules de CdSe) [14-17]. Cependant ce type de nanocristal a de nombreux inconvénients comme, par exemple, une signature de luminescence complexe, ainsi que des problèmes de clignotement de la fluorescence. Les nanocristaux organiques présentent de très bonnes propriétés de fluorescence grâce à la polarisabilité élevée des molécules π -conjuguées (polyaromatiques) que nous utilisons. D'une part, le recouvrement des orbitales π permet la délocalisation des électrons. D'autre part, plus le nuage d'électrons π est étendu, plus l'énergie de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est faible; par conséquent, ces systèmes ont des bandes d'absorption et de fluorescence larges [18].

- **Sélectivité : Matrice sol-gel**

D'une part, la matrice sol-gel formée est transparente, présente une bonne stabilité thermique (jusqu'à 400-500°C) et sert de support de nucléation et de croissance pour les nanocristaux. D'autre part, les couches minces sol-gel que nous synthétisons ont des pores dont le diamètre peut être modulé de 1 à plusieurs nanomètres selon les conditions d'élaboration. Ceci se révèle très utile pour des applications de capteurs : une taille de pores faible servira de filtre sélectif pour protéger les nanocristaux fluorescents contre les interactions non spécifiques avec de grosses molécules pour des applications de

capteurs chimiques, comme il sera démontré au chapitre IV, tandis qu'une taille de pores plus importante autorisera la détection de macromolécules, ce qui ouvre des perspectives de capteurs biologiques, comme nous le verrons au chapitre V.

Ce mémoire de thèse comporte cinq chapitres.

Le **chapitre I** concerne notre méthode de synthèse de nanocristaux organiques en couches minces sol-gel. Après avoir défini la notion de matériau hybride organique-inorganique, nous présenterons plus précisément le procédé sol-gel et en particulier l'utilisation d'alcoxydes de silicium, qui sont nos précurseurs sol-gel de départ. Puis nous exposerons notre méthode de nucléation et de croissance de phases organiques confinées dans les pores de matrices sol-gel silicatées gélifiées.

Le **chapitre II** sera consacré à la caractérisation du confinement spatial des nanocristaux dans la matrice sol-gel. Pour cela, les observations microscopiques (microscopie optique confocale, microscopie électronique en transmission) de cristaux « non supportés » obtenus à partir de solutions libres seront comparées à celles des nanocristaux insérés dans les couches minces sol-gel.

Dans le **chapitre III**, nous présenterons l'étude de cristallinité qui a été menée en parallèle sur les cristaux non supportés et les nanocristaux confinés en matrice sol-gel pour deux fluorophores organiques : rubrène et tétracène. Dans le cas des cristaux non supportés, nous avons utilisé la diffraction des rayons X et la diffraction des électrons, tandis que les nanocristaux confinés en matrice sol-gel ont été caractérisés par diffraction des électrons et spectroscopie de fluorescence résolue en polarisation.

Le **chapitre IV** traite des résultats concernant la réalisation de capteurs chimiques. Nous rappellerons d'abord les mécanismes d'émission et d'inhibition de fluorescence intervenant lors de l'interaction entre les molécules fluorescentes des nanocristaux et les molécules sondes en solution. Ensuite, l'effet de plusieurs paramètres sera étudié : nature du fluorophore organique, taille des nanocristaux, taille des pores de la matrice sol-gel. Enfin, des premiers tests de fonctionnement de capteurs chimiques illustreront la validité de notre approche.

Dans le **chapitre V**, nous envisageons l'utilisation des matériaux hybrides que nous avons synthétisé comme concurrent direct des biopuces à fluorescence et des marqueurs radioactifs pour la biologie. Différentes méthodes seront proposées pour rendre les nanocristaux accessibles à un

environnement biologique. Nous montrerons qu'une méthode de dissolution contrôlée de la surface des couches sol-gel permet de rendre émergents les nanocristaux en surface de nos dépôts nanocomposites. Cette dissolution contrôlée sera caractérisée par microscopie à force atomique en mode contact intermittent. Un brevet sur ce procédé est en cours de dépôt.

BIBLIOGRAPHIE DE L'INTRODUCTION GENERALE

- [1] Importance économique du capteur - <http://perso.orange.fr/michel.hubin/capteurs/inst3.htm>
- [2] Méallet-Renault, R. *Caractérisation de billes de latex fluorescentes pour l'élaboration de nano-capteurs*, Thèse de doctorat de l'Ecole Normale Supérieure de Cachan, 2000.
- [3] Truong, T. T. *Capteurs chimiques à transduction optique de polluants atmosphériques à base de Matériaux Nanoporeux: Application au Benzène et au Toluène*, Thèse de Doctorat de l'Université d'Orsay Paris XI, 2004.
- [4] Khöler, J. M.; Csaki, A.; Reichert, J.; Möller, R.; Straube, W.; Fritzsche, W., "Selective labeling of oligonucleotide monolayers by metallic nanobeads for fast optical readout DNA chips", *Sens. Actuators, B*, **76**, 166-172, 2001
- [5] Wang, J.; Rincon, O.; Polsky, R.; Dominguez, E., "Electrochemical detection of DNA hybridization based on DNA-templated assembly of silver cluster", *Electrochem. Commun.*, **5**, 83-86, 2003
- [6] Sanz, N. *Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des Propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel*, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2000.
- [7] Sanz, N.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Organic Nanocrystals embedded in sol-gel glasses for optical applications", *Synth. Met.*, **115**, 229-234, 2000
- [8] Wang, I.; Sanz, N.; Ibanez, A.; Nicoud, J. F.; Baldeck, P. L., "A new type of nanocomposite material for optical applications: organic nanocrystals in sol-gel glasses", *Proc. of SPIE*, **4087**, 921-923, 2001
- [9] Sanz, N.; Gaillot, A. C.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Organic nanocrystals grown in sol-gel coating", *J. Mater. Chem.*, **10**, 2723-2726, 2000
- [10] Botzung-Appert, E. *Nanocristaux organiques inclus dans des couches minces sol-gel*, Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2003.
- [11] Sanz, N.; Morel, Y.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Organic nanocrystals grown in gel glasses for optical-power-limiting applications", *Appl. Phys. Lett.*, **78**, 2569-2571, 2001
- [12] Sanz, N.; Wang, I.; Zaccaro, J.; Beaugnon, E.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Orientation of Organic Nanocrystals Grown in Sol-Gel Matrices Under a High Magnetic Field", *Adv. Funct. Mater.*, **12**, 352-358, 2002
- [13] Botzung-Appert, E.; Monnier, V.; Ha Duong, T.; Pansu, R.; Ibanez, A., "Polyaromatic luminescent nanocrystals for chemical and biological sensors", *Chem. Mater.*, **16**, 1609-1611, 2004

- [14] Reisfeld, R., "Nanosized semiconductor particles in glasses prepared by the sol-gel method: their optical properties and potential uses", *J. Alloys Compd.*, **341**, 56-61, 2002
- [15] Nazzal, A. Y.; Qu, L.; Peng, X.; Xiao, M., "Photoactivated CdSe Nanocrystals as Nanosensors for Gases", *Nano Lett.*, **3**, 819-822, 2003
- [16] Dubertret, B., "Quantum Dots: DNA detectives", *Nature Mater.*, **4**, 797-798, 2005
- [17] Zhang, C. Y.; Yeh, H. C.; Kuroki, M. T.; Wang, T. H., "Single-quantum-dot-based DNA nanosensor", *Nature Mater.*, **4**, 826-831, 2005
- [18] Valeur, B., *Molecular Fluorescence. Principles and applications*, p 54, 2002: Wiley-CH.

Chapitre I

NANOCRISTALLISATION DE MOLECULES ORGANIQUES EN COUCHES MINCES SOL-GEL

PLAN DU CHAPITRE I

INTRODUCTION	13
1. LES MATERIAUX HYBRIDES ORGANO-MINERAUX	13
1.1. Définition et classement	13
1.2. Méthodes d'élaboration	14
1.3. Des matériaux hybrides pour l'optique vers l'étude de nanocristaux en matrice sol-gel	15
2. LE PROCEDE SOL-GEL.....	17
2.1. Quelques définitions	17
2.2. Historique et développement du procédé sol-gel	17
3. HYDROLYSE ET CONDENSATION DES ALCOXYDES DE SILICIUM.....	19
3.1. Réactions d'hydrolyse et condensation	19
3.1.1. Réactions d'hydrolyse.....	19
3.1.2. Réactions de condensation.....	19
3.2. Réactivité des alcoxydes de silicium en fonction du pH	20
3.2.1. Les trois domaines de pH	20
3.2.2. Catalyse à $\text{pH} < 2$	20
3.2.3. Catalyse à $2 < \text{pH} < 7$	21
3.2.4. Catalyse à $\text{pH} > 7$	22
3.2.5. Bilan : structure du gel en fonction du pH	22
3.3. Le taux d'hydrolyse	24
3.4. Le taux de solvant	24
3.5. La nature des précurseurs	24
3.5.1. Effets stériques.....	25
3.5.2. Effets inductifs.....	25
3.5.3. Effet de groupements espaceurs organiques	25
4. FORMATION DU GEL	28
4.1. La gélification.....	28
4.2. La synérèse.....	29
4.3. Le séchage des couches minces	29
5. SYNTHÈSE DE NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN MATRICE SOL-GEL	30
5.1. Principe de la cristallogenèse en solution	30
5.1.1. Définition d'une solution sursaturée.....	30
5.1.2. Mécanismes de nucléation et de croissance	32
5.2. Méthode de nanocristallisation dans les pores de matrices sol-gel.....	33
5.2.1. Principe de la méthode.....	33
5.2.2. Elaboration	35
5.3. Synthèse de couches minces par voie sol-gel	36
5.4. Bilan de la nanocristallisation de molécules organiques en couches minces sol-gel.....	41
6. CHOIX DES PRODUITS DE DEPART	42
6.1. Choix des molécules organiques fluorescentes.....	42
6.2. Choix du type de matrice sol-gel.....	45
CONCLUSION.....	46
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I.....	48

INTRODUCTION

Les matériaux que nous avons élaborés sont des matériaux hybrides organo-minéraux de type sol-gel, contenant des colorants organiques. Ces matériaux présentent l'avantage d'une part d'être facilement synthétisés et mis en forme et d'autre part, d'avoir de nombreuses propriétés. Ceci permet d'envisager leur utilisation dans plusieurs applications dans le domaine de l'optique et de l'électro-optique (capteurs, filtres, mémoires optiques, ...). Dans cette étude, nous ne nous intéressons qu'aux matériaux pour la réalisation de capteurs chimiques ou biologiques.

Dans ce chapitre, nous ferons tout d'abord une présentation détaillée des matériaux hybrides organo-minéraux, et en particulier de ceux qui ont été préparés au cours de ce travail de thèse. Nous définirons le procédé sol-gel utilisé pour élaborer la composante minérale des matériaux hybrides que nous avons synthétisés et nous présenterons ensuite l'influence des paramètres d'élaboration sur les vitesses relatives des réactions de gélification qui conduisent à la formation du gel. Enfin, nous introduirons les principes de base de notre méthode de nanocristallisation en matrice sol-gel et nous préciserons les produits de départ utilisés dans ce travail.

1. LES MATERIAUX HYBRIDES ORGANO-MINERAUX

1.1. Définition et classement

La possibilité de combiner les propriétés des composantes organiques et minérales est un enjeu pour l'homme depuis qu'il sait élaborer des matériaux (encres égyptiennes, fresques préhistoriques,...). Cependant, les hybrides organo-minéraux ne sont pas de simples mélanges physiques. Dans ce type de matériau, les composantes organiques et minérales sont intimement liées. On parle de nanocomposite lorsqu'au moins un domaine d'une des composantes a une dimension de l'ordre du nanomètre. Par ailleurs, les propriétés de ces matériaux ne sont pas seulement la somme de contributions individuelles des différentes phases mais le rôle des interfaces est prépondérant. La nature de l'interface a été utilisée pour diviser en deux classes ce type de matériau. Dans la classe I, la cohésion entre les composantes organiques et minérales provient seulement de liaisons faibles (hydrogène, Van der Waals ou liaisons ioniques faibles). Dans la classe II, les deux phases sont reliées entre elles par des liaisons chimiques fortes (covalente ou iono-covalente). Le Bleu Maya est un exemple de matériau hybride organo-minéral de classe I. Cette couleur bleu profond intense a été retrouvée miraculeusement intacte sur des vases et fresques mayas datant de plus de 1000 ans (figure I.1).



Figure I. 1 : Peinture sur un vase maya contenant le pigment Bleu Maya

Les molécules de bleu indigo naturel sont encapsulées à l'intérieur des canaux d'une argile naturelle, la palygorskite. Ce matériau permet de combiner la couleur du pigment organique avec la résistance de la matrice-hôte minérale, d'où son exceptionnelle conservation au fil des âges [1]. Dans ce cas, les molécules organiques sont simplement dispersées dans la matrice minérale. Aujourd'hui, c'est la synthèse de matériaux hybrides de classe II qui est la plus développée : les molécules organiques sont alors directement greffées sur la composante minérale. Cette nouvelle voie de synthèse a été initiée simultanément par la communauté des chimistes sol-gel et celle des polyméristes. Ainsi, l'interface organo-minérale permet de modifier le réseau et d'obtenir un arrangement bien spécifique des molécules greffées.

1.2. Méthodes d'élaboration

De nombreuses voies de synthèses chimiques sont envisageables pour obtenir un matériau hybride [2]. Ainsi, il existe une grande variété de matériaux hybrides que nous allons présenter brièvement.

- **la chimie sol-gel conventionnelle**

En 1984, les premières expériences de D. Avnir [3] montrent qu'il est possible de synthétiser des matériaux hybrides de classe I par chimie « douce », c'est-à-dire par une méthode sol-gel, que nous décrirons plus précisément à partir du paragraphe suivant. Par hydrolyse d'alcoxydes (le plus souvent de silicium), on obtient ainsi des réseaux amorphes minéraux dans lesquels sont encapsulés des molécules organiques. En utilisant des précurseurs contenant des espaceurs organiques (silsesquioxanes), on obtient un meilleur degré d'organisation locale [4]. En effet, les entités organiques peuvent établir des liaisons hydrogène ou π - π avec les espaceurs contenus dans la matrice minérale. Cette méthode d'élaboration présente de nombreux avantages. D'une part, elle est simple et de faible coût. D'autre part, elle permet de réaliser des microstructures infinies, d'aspect transparent, faciles à mettre sous forme de matériaux massifs ou de couches minces.

- **l'auto-assemblage**

Depuis les dix dernières années, une nouvelle voie est explorée qui consiste à organiser la croissance de réseaux inorganiques ou hybrides grâce à l'ajout d'agents structurants organiques. Par cette méthode, il est possible de fabriquer des réseaux poreux parfaitement ordonnés. En général, le réseau à structurer est un réseau sol-gel. Quant à l'agent structurant qu'on mélange au précurseur sol-gel, il peut être de différents types : billes de latex (fonctionnalisées ou non) d'une centaine de nanomètres [5] ; tensio-actifs formant des micelles qui structurent le réseau [6]. Les matériaux sont ensuite traités thermiquement de manière à rigidifier le réseau et à libérer la porosité par élimination de l'agent structurant organique. On obtient ainsi un réseau ordonné dont les caractéristiques de porosité (volume poreux, morphologie, taille, orientation et arrangement des pores) découlent directement de l'empreinte laissée par l'agent de structuration.

- **l'assemblage de nano-blocs de construction**

Une autre méthode de synthèse consiste à assembler des objets parfaitement calibrés qui conservent leur intégrité dans le matériau final. Ces « nano-blocs de construction » peuvent être des nanoparticules, des oxydes métalliques pré ou post-fonctionnalisés, des blocs de copolymères [7], qui peuvent servir à l'encapsulation de divers types de molécules, notamment de molécules biologiques [8].

1.3. Des matériaux hybrides pour l'optique vers l'étude de nanocristaux en matrice sol-gel

Depuis 1990, l'équipe « Matériaux pour l'Optique » du Laboratoire de Cristallographie a développé une ingénierie cristalline de nouveaux matériaux organo-minéraux pour l'optique non-linéaire quadratique [9]. Des molécules organiques dérivées des nitroanilines ou nitropyridines efficaces en optique non-linéaire quadratique ont d'abord été greffées dans des matrices hôtes minérales (figure I.2).

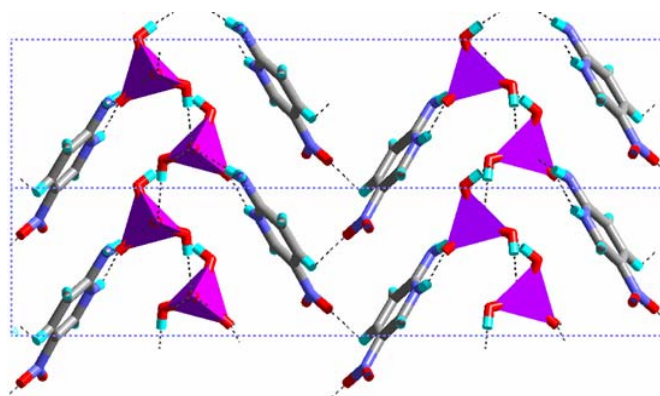


Figure I. 2 : Structure cristalline selon l'axe $\vec{b}$ du 2-Amino-5-Nitropyridinium Dihydrogèrophosphate (2A5NPDP). Le sous-réseau minéral phosphate est représenté par les tétraèdres.

La matrice minérale d'accueil, constituant l'ossature du matériau, permet d'augmenter la stabilité des chromophores organiques et d'optimiser leurs orientations. Il est également possible de modifier la

composition chimique de la partie minérale pour ajuster les propriétés optiques linéaires et non-linéaires du matériau. Ainsi, on peut « forcer » l'arrangement de chromophores organiques pour obtenir une structure non-centrosymétrique, en créant de nombreuses liaisons hydrogènes fortes entre les molécules organiques et le sous-réseau minéral [10, 11]. Cependant, l'optimisation et la stabilisation des chromophores organiques dans une structure cristalline présentent certains inconvénients, notamment de mise en forme : cristallogénèse pendant plusieurs mois, polissage et sciage délicats [12, 13]. Par conséquent, depuis 1996, un nouveau type de matériau hybride est élaboré dans notre équipe. Dans cette nouvelle approche, la synthèse de matériaux hybrides ne se fait plus par ingénierie cristalline mais par chimie « douce ». Les températures de synthèse sont alors proches de l'ambiante, ce qui est très favorable pour la mise en jeu de molécules organiques qui sont souvent thermodégradables. Ainsi, l'équipe a donc commencé à étudier la nucléation et la croissance confinées de phases organiques dans les pores de matrices sol-gel [14, 15]. Les premières études ont concerné l'élaboration de xérogels monolithiques [16, 17] contenant des nanocristaux organiques (figure I.3).

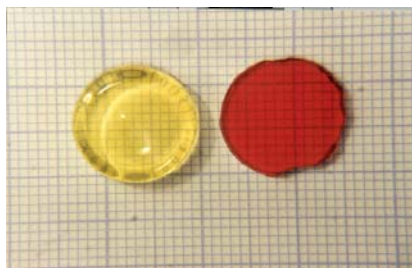


Figure I. 3 : Xérogels contenant des nanocristaux organiques de CMONS (cyano-méthoxy-nitro-stilbène) à gauche et de DEANST (4-(N, N diéthylamino)- β -nitrostyrène) à droite

Par la suite, les nanocristaux ont été préparés dans des matériaux sol-gel sous forme de couches minces (de 100 nm à 1 μ m d'épaisseur) car ce procédé de mise en forme est beaucoup plus simple à mettre en œuvre, comme nous allons le voir au paragraphe 2.2 [15, 18]. Ce nouveau type de matériau hybride nanocomposite permet non seulement de combiner les propriétés des cristaux organiques (luminescence, photochromisme) avec celles des matériaux inorganiques (grande stabilité, facilité de mise en forme, et bonnes propriétés optiques) mais aussi les avantages des nanocristaux : leur petite taille permet de préparer des matériaux non-diffusifs pour les longueurs d'onde du visible et de l'infrarouge. Grâce à la nanocrystallisation des colorants organiques, la stabilité chimique et la photostabilité des phases organiques sont également améliorées par comparaison avec les molécules dispersées en solutions ou dans des matrices solides comme les sol-gels ou les polymères. Ce nouveau type de matériau hybride fait partie de la classe I puisque les interactions nanocristaux organiques – matrice minérale sont du type liaison faible (Van der Waals essentiellement).

2. LE PROCEDE SOL-GEL

2.1. Quelques définitions

On appelle **colloïde** toute suspension dans laquelle la taille des particules de la phase dispersée est si petite (de 1 nm à 1 μ m) que les forces gravitationnelles qui s'exercent sur elles deviennent négligeables. Dans ce cas, les interactions entre particules sont dominées par des forces à courte distance de type Van der Waals ou surfaciques. Un **sol** est une suspension colloïdale de particules solides dans une phase liquide. Un **gel** est un colloïde dans lequel la phase dispersée s'est combinée avec le milieu de dispersion pour former un réseau solide tridimensionnel interconnecté.

Les **précurseurs** sont les composés de départ dans le processus sol-gel : ce sont des métaux (Zr, Ti, Fe, Al, ...) ou des éléments du bloc p (Si, Sn, ...) entourés de ligands ne contenant pas d'autres atomes métalliques. La classe de précurseurs la plus répandue en chimie du sol-gel est celle des **alcoxydes $M(OR)_n$** , où M représente le métal ou l'élément du bloc p et R un groupement alkyle. Ces alcoxydes sont beaucoup utilisés en chimie sol-gel car ils réagissent facilement avec l'eau : cette réaction est appelée **hydrolyse**. Ensuite, la réaction de **condensation** entre molécules de précurseurs d'alcoxydes hydrolysés conduit à la formation de molécules de plus en plus grosses par polycondensation et apparition d'un réseau de ponts -M-O-M-.

2.2. Historique et développement du procédé sol-gel

Dès le milieu du 19^{ème} siècle, J. J. Ebelmen montre que sous l'action d'une atmosphère humide, un ester silicique se solidifie en une masse transparente [19, 20]. En particulier, l'hydrolyse en milieu acide d'alcoxydes de silicium ($Si(OR)_4$ où R est un groupement alkyle) conduit à la formation d'oxydes de silicium SiO_2 , présentant une très bonne transparence optique. En 1939, un premier brevet est déposé par la société Schott Glaswerke sur le dépôt de films minces sur verre par trempage. L'industrie commence alors à développer ce type de matériau sous forme de couches minces, plus facile à mettre en forme et présentant un temps de séchage rapide contrairement aux gels massifs, appelés xérogels. En effet, cette mise en forme permet d'éviter les problèmes classiques de fissuration du gel lors du séchage. Ainsi, des revêtements de silice par étalement de solutions colloïdales d'acide silicique sur une plaque de verre ont été élaborés par la compagnie allemande Scott & Genossen. Dans les années 1950-1960, le procédé sol-gel permet de synthétiser de nombreux matériaux céramiques à base d'oxydes d'aluminium, de silice, de titane ou de zirconium dont la fabrication était impossible avec les méthodes traditionnelles d'élaboration de céramiques. Depuis une vingtaine d'années, il suscite un intérêt croissant car le contrôle des différentes étapes allant du précurseur au matériau permet d'élaborer des matériaux sur mesure, avec une grande variété de mise en forme, comme illustré sur la figure I.4.

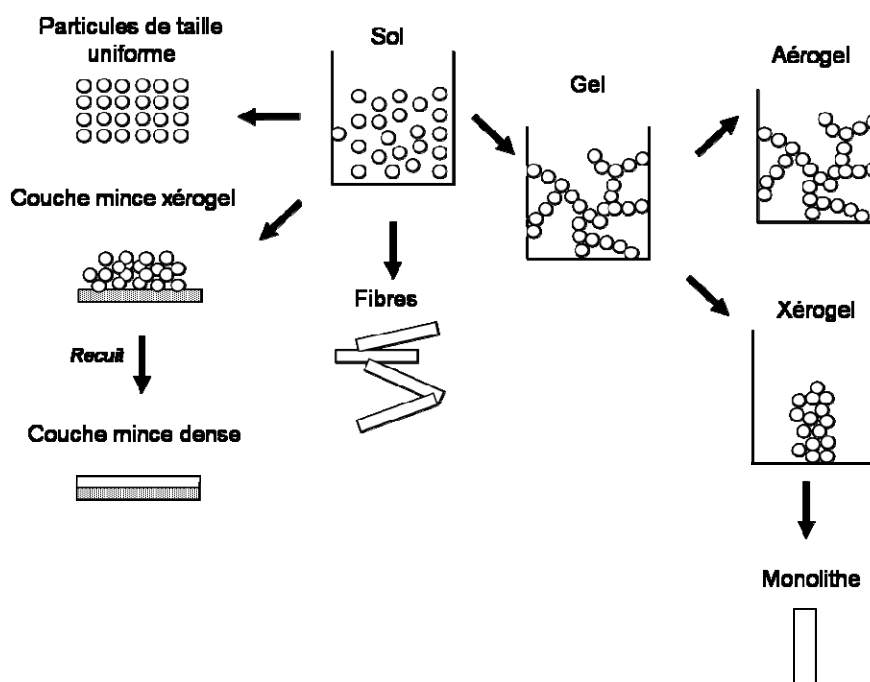


Figure I. 4 : Diversité de mise en forme des matériaux sol-gel

Ainsi, par le procédé sol-gel, il est possible d'obtenir aussi bien des couches minces denses, des fibres ou des monolithes (verres massifs) [21]. La réalisation de verres massifs par le procédé sol-gel est cependant très délicate. Les tensions internes qui apparaissent lors du séchage peuvent entraîner la fissuration du matériau. Par contre, la viscosité du sol est bien adaptée à la réalisation de dépôts sur des substrats de forme et de nature variées. C'est donc dans le domaine des couches minces que les procédés sol-gel ont trouvé leurs principales applications. Les procédés de dépôt le plus utilisé sont le trempage (« dip-coating ») et la tournette (« spin-coating ») [22]. Le dépôt par dip-coating consiste à plonger le substrat à revêtir dans le sol. La polymérisation de la matrice sol-gel se fait lors de l'évaporation du solvant lorsque le substrat est tiré à l'air libre ou sous atmosphère contrôlée. Cette technique permet de réaliser des revêtements sol-gel sur les deux faces d'un vitrage afin de modifier ses propriétés optiques [23]. Par exemple, des films de TiO_2 dans lesquels sont dispersés de petites particules métalliques (Au, Pd) permettent de modifier la réflectivité du vitrage [24]. Le spin-coating, que nous détaillerons plus loin, consiste à déposer quelques gouttes de sol sur un substrat, puis la rotation du substrat entraîne l'étalement du liquide. Le film ainsi formé s'amincit par écoulement centrifuge et évaporation. Ce procédé de dépôt permet d'obtenir facilement des revêtements sol-gel pour la protection des circuits électroniques, ou des métaux contre la corrosion [25]. L'avantage du procédé sol-gel est donc sa grande facilité de mise en œuvre, associée à des coûts de production relativement bas par rapport aux méthodes de dépôt physique.

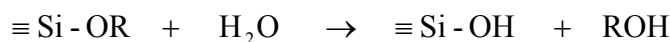
3. HYDROLYSE ET CONDENSATION DES ALCOXYDES DE SILICIUM

Dans cette partie, nous allons introduire les points les plus importants de la chimie sol-gel qui nous ont servi à contrôler l'élaboration de ce milieu de nucléation et croissance des nanocristaux organiques. Cette description ne sera donc pas exhaustive, car ne seront présentés que les principaux mécanismes intervenant dans la préparation des couches minces silicatées. Cependant, le contrôle des conditions de nanocristallisation confinée de phases organiques dans des couches sol-gel requiert une parfaite maîtrise du procédé sol-gel mis en jeu au départ. Dans notre cas, les composés de départ sont des alcoxydes de silicium de formule générale $R_xSi(OR')_{4-x}$ appelés précurseurs sol-gel où R et R' sont des groupements organique alkyles C_nH_{2n+1} . Ces alcoxydes sont très utilisés dans la chimie sol-gel car ils sont miscibles avec un grand nombre de solvants organiques, présentent une bonne stabilité thermodynamique, et leur réactivité avec l'eau est sensiblement plus faible que pour d'autres alcoxydes métalliques. En effet, la charge partielle positive de l'atome de silicium situé dans une molécule d'alcoxyde est deux fois plus faible que la charge partielle d'un atome de zirconium ou de titane situé dans un alcoxyde comparable [26]. De plus, dans les conditions normales, les alcoxydes de silicium sont liquides et peuvent être facilement purifiés par distillation. Enfin, la formation du sol est généralement réalisée dans un solvant organique et comporte deux étapes principales : l'hydrolyse et la condensation.

3.1. Réactions d'hydrolyse et condensation

3.1.1. Réactions d'hydrolyse

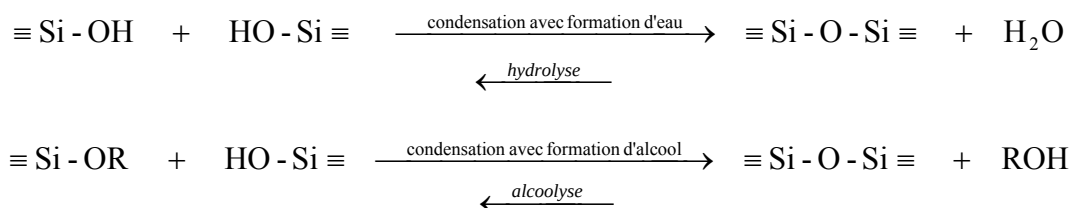
La réaction d'hydrolyse conduit au remplacement d'un groupement alcoxyde (OR) par un groupement hydroxyle (OH).



Elle est généralement catalysée par un acide ou par une base.

3.1.2. Réactions de condensation

Les molécules hydrolysées ou partiellement hydrolysées $\equiv\text{Si-OH}$ (silanols) réagissent ensuite entre elles ou avec des alcoxydes non hydrolysés pour former des ponts siloxanes Si-O-Si . La condensation se produit donc soit par élimination d'une molécule d'eau, soit par élimination d'une molécule d'alcool :



Les réactions successives (polycondensation) conduisent à la polymérisation des silanols. Il se forme ainsi progressivement dans la solution-mère un réseau interconnecté de chaînes polymères silicatées. Pour obtenir un gel polymérique, on se place dans des conditions expérimentales qui déplacent ces réactions dans le sens de la condensation, c'est-à-dire dans le cas d'une hydrolyse ou d'une alcoolyse lente par rapport à la condensation. Les cinétiques relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation sont donc directement liées à la structure finale du matériau : taille des pores, qualité optique, rigidité, ... Les principaux paramètres influençant les vitesses relatives de ces deux réactions sont le pH, la proportion en eau, la proportion de solvant et la nature des précurseurs. Ce qui nous intéresse ici plus particulièrement est la taille des pores de la matrice sol-gel obtenue.

3.2. Réactivité des alcoxydes de silicium en fonction du pH

3.2.1. Les trois domaines de pH

Les réactions de formation du réseau silicaté sont plus rapides quand des catalyseurs sont utilisés. En général on utilise des acides minéraux (HCl, HF, H₂SO₄, HNO₃) en milieu acide et l'ammoniac ou la pyridine en milieu basique. L'éthanol peut aussi être utilisé comme catalyseur en tant qu'acide faible. Le processus de polymérisation peut être divisé en trois domaines de pH [27] : pH < 2 ; 2 < pH < 7 et pH > 7, selon les cinétiques relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation. D'une part, le point pH = 2 correspond au point de charge nulle ou de charge zéro de la silice (PCN) pour lequel la charge électrique des particules de silice est nulle. Lorsqu'on se trouve à ce point, il y a précipitation de la silice. D'autre part, pour pH = 7, la vitesse d'hydrolyse est minimale, lorsqu'il existe des concentrations non négligeables de silanols $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ et de silanols non protonés $\equiv\text{Si}-\text{O}^-$.

3.2.2. Catalyse à pH < 2

En milieu acide, Timms [28] propose le mécanisme d'hydrolyse suivant (figure I.5). Les groupements R_n (n=1 à 6) représentent soit des fonctions alcoxyde, soit des substituants organiques.

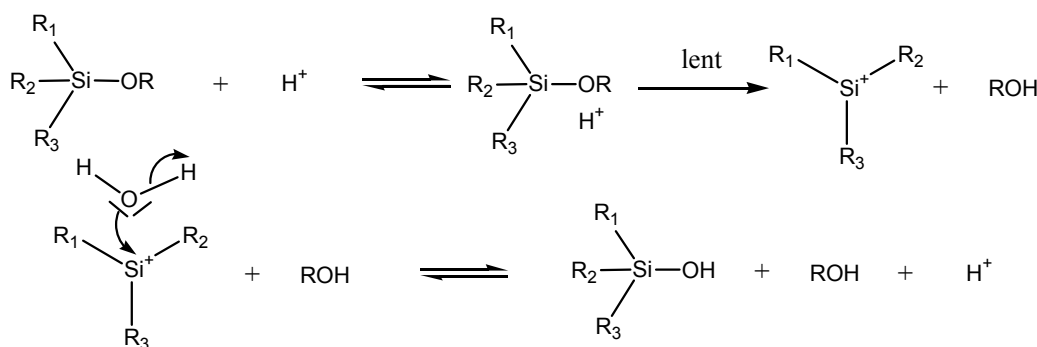


Figure I. 5 : Mécanisme de la réaction d'hydrolyse à pH < 2

Une fonction alcoxyde $-OR$ est rapidement protonée puis, lors d'une étape plus lente, un ion siliconium $\equiv Si^+$ est formé par le départ d'une molécule d'alcool. La protonation permet au groupe $-OR$ de devenir un meilleur groupe partant. L'eau réagit ensuite avec l'ion silicium pour former un silanol et le proton est régénéré. Ensuite, la polymérisation du sol en gel se produit par l'établissement de ponts $-Si-O-Si-$ par condensation selon le mécanisme proposé par Pohl et Osterholtz [29] (figure I.6).

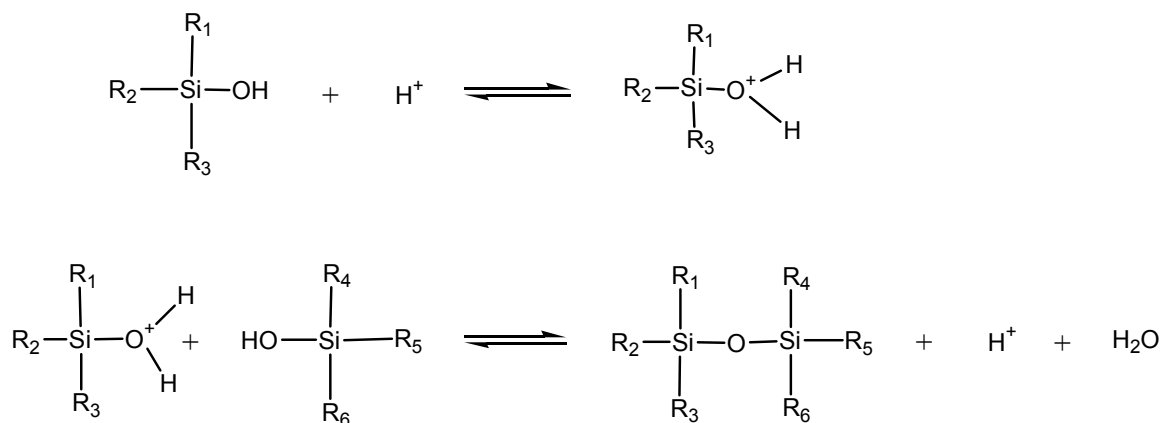


Figure I. 6 : Mécanisme de la réaction de condensation à $pH < 2$

En milieu acide, la vitesse d'hydrolyse est donc gouvernée par la concentration en protons $[H^+]$. Si le milieu est très acide ($pH < 2$), l'intermédiaire réactionnel $\equiv Si^+$ (figure I.5) chargé positivement est stabilisé par des groupements substituants donc les réactions de condensation sont favorisées en bout de chaîne. Il se forme donc peu d'interconnexions dans le réseau silicaté, ce qui conduit à une polymérisation linéaire (gels polymériques).

3.2.3. Catalyse à $2 < pH < 7$

Lorsque le pH augmente, il y a d'avantage d'ions OH^- en solution et de plus, on favorise la formation de groupements $Si-O^-$. Or OH^- et SiO^- sont plus nucléophiles que les molécules d'eau et les fonctions silanols $Si-OH$. L'accentuation du caractère nucléophile des hydroxydes non protonés augmente la cinétique des réactions de condensation. Au-dessus du PCN, le taux de condensation devient proportionnel à la concentration en ions hydroxyde $[OH^-]$. Le mécanisme proposé par Pohl et Osterholz [29] est présenté figure I.7.

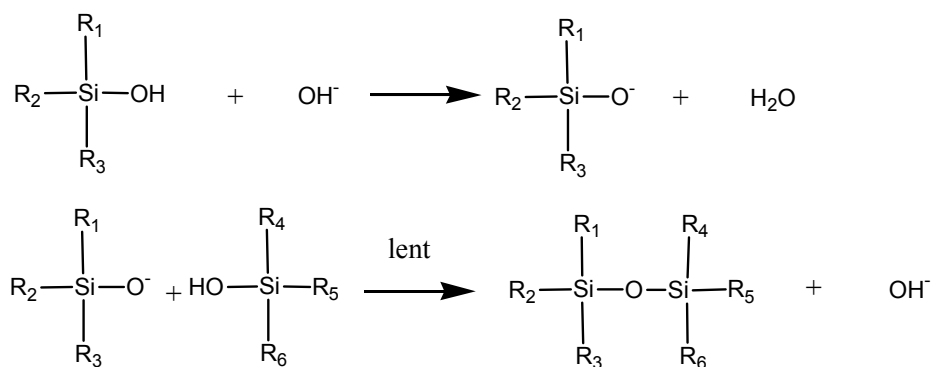


Figure I. 7 : Mécanisme des réactions d'hydrolyse et de condensation à $2 < \text{pH} < 7$

Dans ce cas, les réactions d'hydrolyse et de condensation peuvent se produire de manière égale à n'importe quel endroit de la chaîne polymère déjà formée (si on ne tient pas compte de l'encombrement stérique). Ainsi, on obtient une structure plus ramifiée et donc un réseau silicaté tridimensionnel. Ce type de catalyse permet d'obtenir des gels mésoporeux, c'est-à-dire dont le diamètre moyen des pores est supérieur à 2 nm. C'est ce qui nous a conduit à réaliser des matrices sol-gel en catalyse acido-basique en deux étapes.

3.2.4. Catalyse à $\text{pH} > 7$

Pour $\text{pH} > 7$, la solubilité des particules de silice est maximale. Elles sont donc suffisamment ionisées pour que leur développement se fasse sans agrégation ni gélification. Cependant, vu que toutes les espèces condensées se repoussent mutuellement, la croissance commence d'abord par la formation de particules de 1 à 2 nm. Comme la solubilité de la silice est grande, la croissance des premières particules continue par mûrissement d'Ostwald. Ce processus, prépondérant pour les gels basiques, se traduit par une dissolution et reprécipitation des particules. Les particules les plus petites disparaissent et reprécipitent au niveau des cols de jonction entre particules. Les particules grossissent rapidement, d'autant plus si la température augmente car, à haute température, la solubilité de la silice augmente. Finalement, on obtient des particules sphériques relativement monodisperses (de 10 à 100 nm de diamètre) [30].

3.2.5. Bilan : structure du gel en fonction du pH

Ainsi, nous pouvons schématiser l'évolution des vitesses relatives d'hydrolyse et de condensation sur le diagramme suivant (figure I.8).

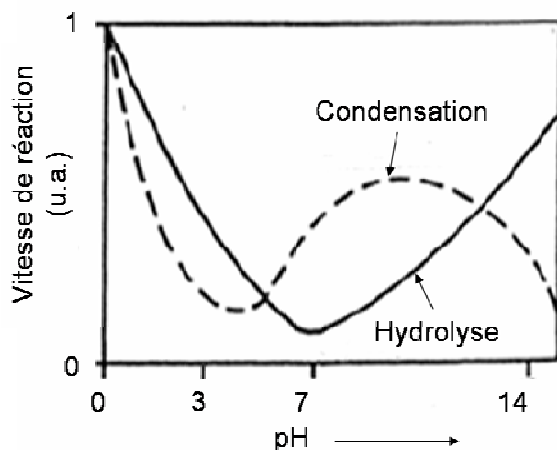


Figure I. 8 : Vitesses des réactions d'hydrolyse et de condensation en fonction du pH pour des solutions aqueuses de SiO_2 [31]

Pour des pH très acides ($\text{pH} < 2$), la vitesse de condensation est inférieure à la vitesse d'hydrolyse, on obtient ainsi des gels polymériques linéaires. Après séchage, on a une couche sol-gel dense. Pour $2 < \text{pH} < 7$, on augmente la vitesse de condensation par rapport à la vitesse d'hydrolyse, les polymères sont plus interconnectés. On obtient une couche mince dont la structure est plus « ouverte » puisque la réticulation tridimensionnelle des chaînes polymères silicatées s'oppose à la densification lors du séchage. Enfin, en milieu basique ($\text{pH} > 7$), les particules colloïdales s'agrègent, on n'obtient pas de gel. La figure I. 9 schématise les différentes structures obtenues en fonction du pH [32].

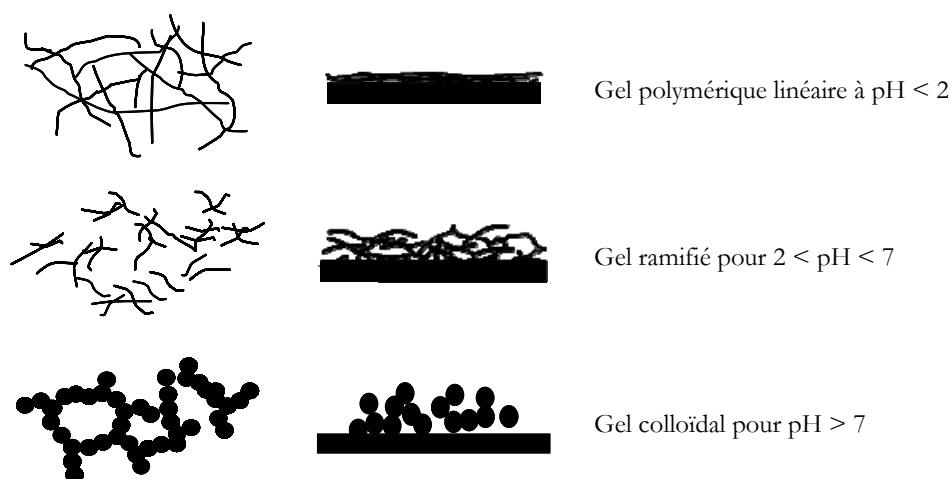


Figure I. 9 : Schéma des différentes structures sol-gel obtenues en fonction du pH

3.3. Le taux d'hydrolyse

On appelle **taux d'hydrolyse** le rapport $h = \frac{[H_2O]}{[-OR]}$ où $[H_2O]$ est la concentration molaire d'eau et $[-OR]$ la concentration de fonctions alcoxyde. Il conditionne les cinétiques relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation. Ainsi, le degré de polymérisation obtenu dépend de la quantité d'eau ajoutée. Lorsque $h = 1$, cela signifie qu'il y a autant de molécules d'eau que de fonctions $-OR$ à hydrolyser. En catalyse acide, pour $h \leq 1$, on obtient des polymères linéaires faiblement réticulés, avec des groupements $-OR$ non hydrolysés. En présence d'un excès d'eau ($h > 4$), les réactions d'hydrolyse sont beaucoup plus avancées et on obtient alors un réseau tridimensionnel. Nous verrons plus loin qu'en fonction de la nature du précurseur sol-gel et des conditions de catalyse choisies, il faudra ajuster le taux d'hydrolyse.

3.4. Le taux de solvant

On appelle **taux de solvant** le rapport $s = \frac{[solvant]}{[Si]}$ où $[solvant]$ est la concentration molaire de solvant et $[Si]$ la concentration molaire d'alcoxydes de silicium. Une quantité de solvant trop importante entraîne un temps de gélification élevé et un séchage long et difficile. Par contre, une quantité trop faible entraîne des difficultés pour garantir une bonne homogénéité de la solution initiale et conduit à des sols très visqueux qui ne conviennent pas à la réalisation de couches minces. Ainsi, nous avons choisi des valeurs de s comprises entre 5 et 10.

3.5. La nature des précurseurs

Les alcoxydes de silicium les plus couramment utilisés dans le procédé sol-gel sont le tétraméthoxysilane ($Si(OCH_3)_4$) aussi appelé TMOS et le tétraéthoxysilane ($Si(OC_2H_5)_4$) aussi appelé TEOS. Pour diminuer la fonctionnalité des alcoxydes de silicium (c'est-à-dire pour diminuer le nombre de fonctions $-OR$ potentiellement hydrolysables), nous avons utilisé aussi des précurseurs organotrialkoxysilanes $R'Si(OR)_3$, dans lequel R' représente un substituant organique non hydrolysable. Par ailleurs, les groupements liés au silicium influencent la polarisation des liaisons silicium-oxygène et donc par conséquent la stabilité de l'état de transition intervenant dans le mécanisme réactionnel (ion siliconium). Deux types d'effets peuvent avoir lieu : stériques et inductifs. Enfin, nous avons aussi utilisé des alcoxydes de silicium présentant des groupements espaceurs organiques, dont nous présenterons les effets sur la matrice sol-gel finale au paragraphe 3.5.3.

3.5.1. Effets stériques

La nature des groupements $-OR$ et $-R$ reliés au silicium influence la réactivité des alcoxydes de silicium. Plus la taille des groupes R est importante, plus la diffusion des espèces réactionnelles est lente, donc plus les vitesses d'hydrolyse et condensation diminuent. Comme nous le verrons plus loin, cette règle prend toute son importance lors de la synthèse de matériaux hybrides organo-minéraux à partir d'un mélange de précurseurs, $Si(OR)_4$ et $CH_3-Si(OR)_3$.

3.5.2. Effets inductifs

Selon l'électronégativité des groupements reliés au silicium, la stabilité d'un état de transition est plus ou moins favorisée par effet inductif. Ainsi, la stabilité d'un état de transition chargé positivement va être favorisée par la présence de groupements donneurs d'électrons (bases de Lewis) et inversement (figure I.10).

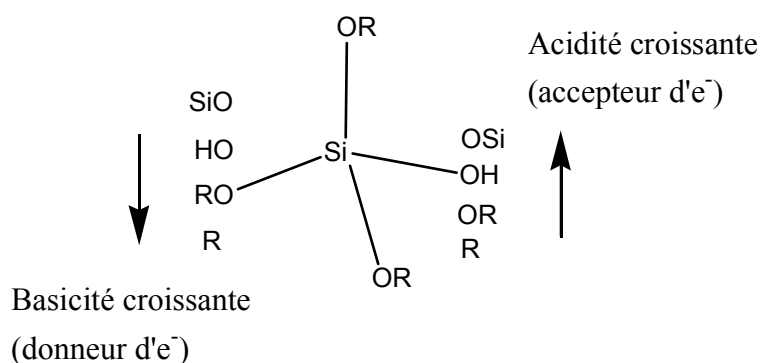


Figure I. 10 : Effet d'acide et de base de Lewis des groupements liés au silicium

Au cours de l'avancement des réactions d'hydrolyse et de condensation, l'acidité (au sens de Lewis) des groupements qui se lient au silicium augmente. Ainsi, dans le cas d'un alcoxyde de silicium substitué $R'_xSi(OR)_{4-x}$, la catalyse acide favorise sa réaction d'hydrolyse par rapport à un alcoxyde non substitué.

3.5.3. Effet de groupements espaceurs organiques

Dans le but d'obtenir une porosité plus ouverte de la matrice sol-gel, nous avons utilisé des précurseurs sol-gel contenant des groupements espaceurs organiques, du type $R[Si(OCH_3)_3]_n$, où R est un groupement organique et où $n \geq 2$. Une large gamme de ce type de précurseurs, appelés organopolysilsesquioxanes, peut être synthétisée [4, 33]. Les groupements les plus rigides sont composés de groupements aryle, alkylène ou alcyne. Nous avons utilisé deux précurseurs issus de cette famille, ces précurseurs ont été synthétisés par B. Boury du Laboratoire de Chimie et Organisation du Solide de Montpellier. Les précurseurs avec groupements espaceurs utilisés dans cette étude sont représentés sur la figure I.11.

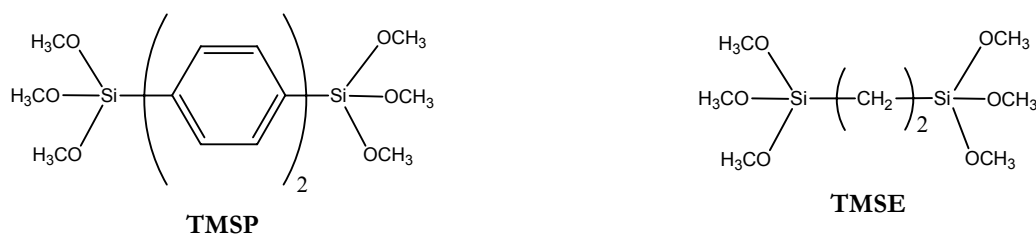


Figure I. 11 : Formules développées des précurseurs TMSP et TMSE

Le TMSP (1,4-bis(triméthoxysilyl)biphényle) comporte un groupe espaceur rigide constitué de deux cycles aromatiques alors que le TMSE (1,2-bis(triméthoxysilyl)éthane) comporte un groupe espaceur un peu moins rigide constitué d'une chaîne aliphatique de deux carbones. Cependant, comme la chaîne carbonée est très courte, le groupe espaceur présente une rigidité suffisante. Ces précurseurs ont déjà été utilisés pour synthétiser des xérogels [34]. Des études de porosité sur poudres montrent qu'ils contiennent un pourcentage significatif de mésopores dont le diamètre varie de 2 à 12 nm. Par ailleurs, il a été montré par des études aux rayons X que, lorsqu'il existe de fortes interactions supramoléculaires entre les motifs organiques qui composent le précurseur, on a tendance à obtenir une structuration plus élevée du matériau final en terme de périodicité et de distance de corrélation. Ainsi, selon le précurseur organo-polysilsesquioxane utilisé, on obtiendra plutôt une organisation isotrope ou plutôt une organisation anisotrope (figure I.12).

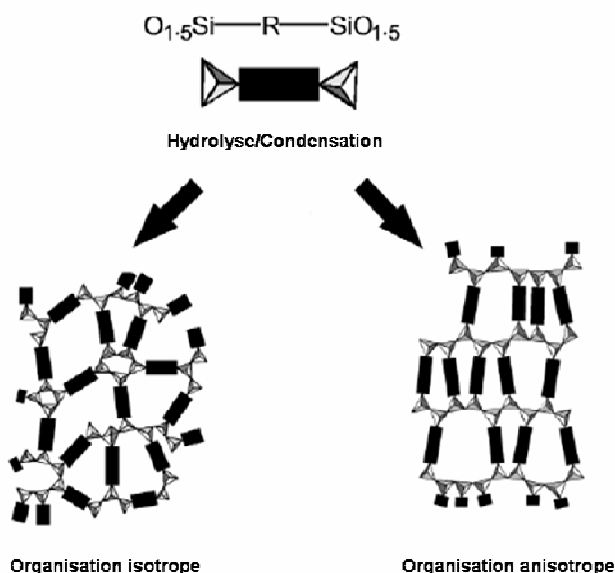


Figure I. 12 : Schémas d'organisations possibles pour une matrice sol-gel élaborée à partir d'un précurseur contenant un groupe espaceur organique rigide

Lorsqu'il existe de fortes interactions supramoléculaires entre les motifs organiques qui composent le précurseur, on a tendance à obtenir un meilleur degré d'organisation du matériau final en terme de périodicité et de distance de corrélation. Ainsi, dans le cas du TMSP, il existe de fortes interactions entre les espaceurs provenant des différentes molécules. En effet, il peut y avoir interaction entre les électrons π provenant des noyaux aromatiques appartenant à deux molécules d'alcoxydes différentes (figure I.13) ; en anglais, cette interaction est appelée « π -stacking ».

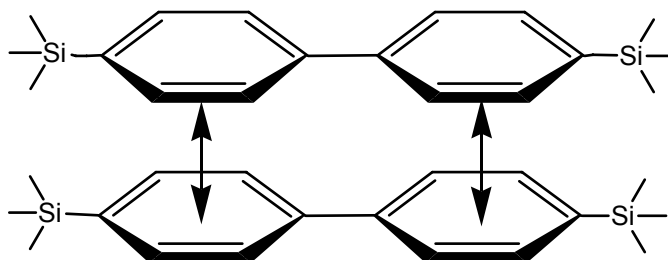


Figure I. 13 : Interaction entre les électrons π de noyaux aromatiques

A cause de ces fortes interactions, les molécules de TMSP auront tendance à s'empiler « en feuillets » (« stacking » en anglais). On obtiendra donc préférentiellement une organisation anisotrope (figure I.12). En revanche, dans le cas du précurseur TMSE, les interactions entre les espaceurs sont uniquement du type Van der Waals, une structure isotrope sera ainsi favorisée. D'autre part, il a été montré que l'ajout du co-agent réticulant TMOS permet d'éviter la formation d'une structure « en feuillets » 2 D (anisotrope) qui présente une porosité plus fermée qu'une structure 3D (isotrope) [4]. En effet, avant qu'il y ait gélification, c'est la cinétique de polycondensation qui contrôle le processus de polymérisation. Pendant cette étape, les chaînes polymères $-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ sont formées de manière irréversible. Ce sont les interactions stériques et de Van der Waals entre les espaceurs organiques qui contrôlent l'organisation : elles placent les espaceurs les uns à côté des autres, on parle de réticulation ou « cross-linking » en anglais. Lorsqu'une certaine quantité de TMOS est ajoutée au précurseur organo-polysilsesquioxane, on obtient une incorporation partielle des unités de silice dans la structure du solide. En effet, la cinétique d'hydrolyse-condensation de l'organo-polysilsesquioxane est supérieure à celle de TMOS ; d'une part parce que TMOS a moins de fonctions $-\text{OR}$ hydrolysables, et d'autre part, parce que l'espaceur organique a un effet inductif donneur sur les groupes $-\text{OR}$, ce qui les rend plus réactifs. Par conséquent, les molécules d'organo-polysilsesquioxane réagissent préférentiellement entre elles et moins avec TMOS. Ensuite, le TMOS restant réagit avec lui-même pour former des agrégats de silice. Ces agrégats de silice viennent se placer dans le réseau silicaté déjà formé et s'opposent ainsi à la fermeture des pores de la matrice. Ainsi, après gélification, on obtient un gel avec une proportion plus faible de micropores.

4. FORMATION DU GEL

4.1. La gélification

Le point de gélification correspond au moment où la polymérisation est suffisamment avancée pour que le sol devienne un gel. Il s'établit alors des liaisons entre les particules du sol de façon à former un réseau tridimensionnel solide. Mais la gélification est très différente de la solidification classique d'un liquide puisque la structure solide reste extrêmement ouverte et imprégnée par la partie liquide restante du sol. La théorie thermodynamique de la gélification développée par Flory et Stockmayer (théorie classique) [35-37] montre que les réactions de condensation des monomères produisent des chaînes de polymères de longueur infinie. Ces chaînes sont limitées uniquement par la taille du réacteur où est effectuée la réaction, lorsque le degré d'avancement de la réaction atteint une valeur critique. Cet état critique très précis où se forme un polymère de dimension infinie, comparée à l'échelle moléculaire, définit le point de gélification. A ce stade, le produit résultant de la condensation polymérique se transforme brutalement d'un fluide visqueux en un solide doué d'élasticité. La figure I.14 représente l'évolution de la viscosité et du module d'élasticité en fonction du temps [38].

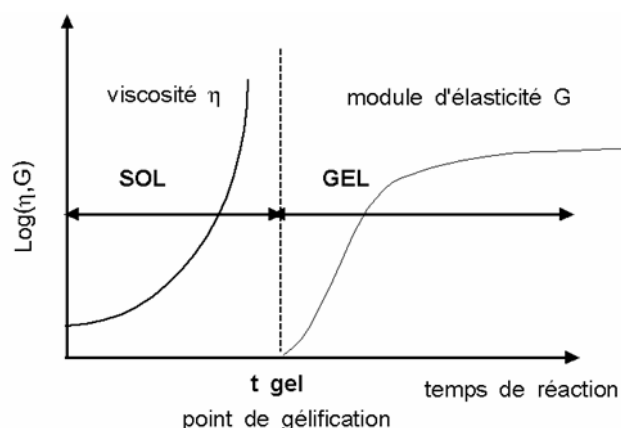


Figure I. 14 : Evolution schématique de la viscosité et du module d'élasticité lors de la transition sol-gel

A l'état fluide, on peut mesurer une viscosité dont la valeur tend vers l'infini à l'approche du point de gélification. A l'état solide, on peut mesurer un module d'élasticité dont la valeur vaut zéro au point de gélification. Pour obtenir des couches minces, il faut généralement attendre que la solution ait atteint une viscosité suffisante (avant le point de gélification) pour la déposer. On utilise généralement des solutions contenant des taux de solvant suffisamment élevés ($s > 5$) afin d'obtenir des viscosités adéquates (10-20 cps) et des temps de gélifications longs, tendant vers « l'infini » lorsque le sol est conservé dans un récipient étanche.

4.2. La synérèse

Tant que le gel n'est pas sec, les réactions d'hydrolyse et de condensation se poursuivent. Au cours de la gélification, l'expulsion hors des pores des sous-produits des réactions d'hydrolyse et condensation entraîne une expansion du gel, c'est-à-dire un accroissement de son volume. Puis le gel commence à se contracter du fait de l'avancement des réactions de polycondensation, c'est la **synérèse**. Cette contraction se poursuit ensuite pendant le séchage des gels. D'une part, le solvant résiduel et les sous-produits de réaction (eau et alcools) s'évaporent, ce qui induit des forces capillaires importantes. D'autre part, les réactions de condensation se poursuivent bien après la gélification. Il reste en effet de nombreux groupements hydroxyle –OH pendants qui peuvent encore se condenser entre eux. Dans le cas des couches minces, les étapes de gélification et de synérèse sont si rapides qu'elles ne peuvent être distinguées.

4.3. Le séchage des couches minces

Le séchage du gel permet d'obtenir des échantillons solides, stables thermiquement et mécaniquement. Ce séchage est basé sur le modèle microscopique d'une distribution de pores de taille inhomogène. En effet, la pression capillaire d'un liquide au fond d'un pore dépend du diamètre du pore selon l'équation [39] :

$$P_{\text{capillaire}} = -\frac{2\gamma_{LV} \cos \theta}{a} \quad (\text{eq.1})$$

où γ_{LV} est la tension superficielle liquide-vapeur, a est le diamètre du pore et θ est l'angle de contact liquide-solide. Le signe négatif indique que le liquide est en tension. Pour que le liquide (solvant, eau ou alcool) soit expulsé du pore, il faut donc appliquer une force suffisamment grande afin de dépasser la pression capillaire. Cette force à appliquer est d'autant plus grande que les pores sont de petites tailles. Le liquide sera donc évacué d'abord des pores de plus grande taille, comme illustré sur les figures I.15 et I.16.

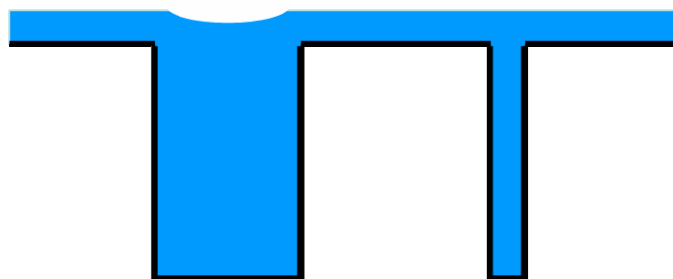


Figure I. 15 : Schéma des pores avant expulsion du liquide

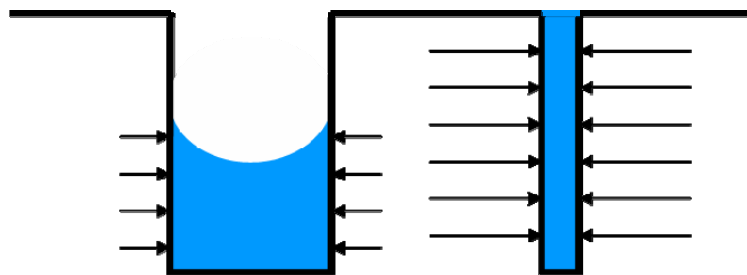


Figure I. 16 : Schéma des pores pendant l'expulsion du liquide. L'expulsion du liquide présent dans les petits pores nécessite d'appliquer une force plus grande.

Par ailleurs, les ménisques à l'intérieur des pores de grande taille ont un rayon de courbure plus important que ceux des pores de petite taille : ceci entraîne une vitesse d'évaporation plus importante pour les pores de grande taille. Une fois que les pores de grande taille sont secs, leur surface interne n'est plus soumise à la tension de surface du liquide alors que les pores de petite taille le sont encore. Il apparaît alors un gradient de pression capillaire conduisant à la formation de fissures macroscopiques se propageant à partir des gros pores. Le séchage est beaucoup plus facile dans le cas de couches minces que pour des xérogels monolithiques qui ont une forte tendance à se fissurer si le séchage est trop rapide. Seuls les films dont l'épaisseur est inférieure à 1 μm peuvent sécher rapidement sans apparition de craquelures. Enfin, par diffusion de l'intérieur vers la surface, le liquide est évacué des pores de petites tailles.

5. SYNTHÈSE DE NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN MATRICE SOL-GEL

Après avoir maîtrisé les conditions d'élaboration des couches minces sol-gel qui constituent notre milieu de croissance, nous allons présenter dans cette partie les différents paramètres expérimentaux qui régissent la nucléation et la croissance confinées de phases organiques dans les pores de la matrice silicatée. Nous introduirons tout d'abord les conditions de nucléation et croissance dans des solutions classiques, dite « libres ». Nous décrirons ensuite les conditions de nanocrystallisation en milieu confiné, c'est-à-dire dans les pores du milieu sol-gel.

5.1. Principe de la cristallogenèse en solution

5.1.1. Définition d'une solution sursaturée

Dans la méthode de nanocrystallisation que nous utilisons, il faut commencer par préparer une solution fortement sursaturée dans un état métastable. Cette solution contient le sol qu'on a décrit précédemment et la phase organique dissoute qu'on veut faire cristalliser au sein des pores de la matrice

sol-gel. On appelle **solubilité** C_s d'un composé (soluté) dans un solvant la concentration maximum qui conduit à l'équilibre thermodynamique avec la phase solide (cristaux de soluté) à une température et une pression données. On définit la **sursaturation** S d'un soluté dans une solution comme le rapport de sa concentration par rapport à sa solubilité :

$$S = \frac{C}{C_s} \quad (\text{eq.2})$$

C est la concentration en soluté (phase organique dans notre cas) dissous dans la solution et C_s est la solubilité du soluté. On définit aussi la **sursaturation relative** σ du soluté dans la solution par la relation :

$$\sigma = \frac{C - C_s}{C_s} \quad (\text{eq.3})$$

La figure I.17 représente la concentration en fonction de différentes grandeurs thermodynamiques.

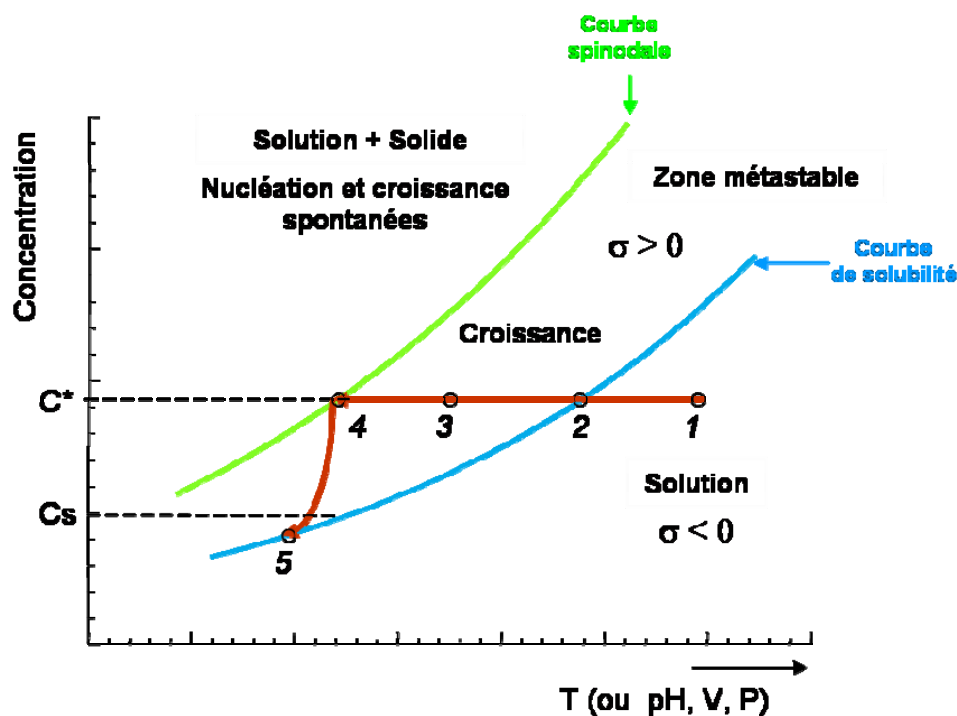


Figure I. 17 : Diagramme de phase dans un système binaire

Lorsque $\sigma < 0$ (zone située sous la courbe de solubilité), la solution est dite sous-saturée, la phase organique est totalement dissoute (point n°1, figure I.17). L'état $\sigma = 0$ correspond à l'état d'équilibre (solution saturée). Il correspond à la courbe de solubilité (point n°2, figure I.17). Si $\sigma > 0$, la solution est **sursaturée** (point n°3, figure I.17), c'est-à-dire que la concentration de soluté dissous est supérieure à celle de l'équilibre pour une température, pression et volume de solution donnés. Cet état métastable peut être atteint par abaissement brutal de plusieurs paramètres: T (refroidissement rapide de la solution), V (évaporation du solvant), P (détente rapide). On peut également faire varier le pH pour

modifier significativement la solubilité du soluté. Une sursaturation suffisamment grande doit être appliquée pour atteindre le seuil de nucléation et ainsi entraîner la nucléation et la croissance spontanées (point n°4, figure I.17). Le retour vers l'équilibre thermodynamique (point n°5, figure I.17) se fait alors par formation d'une phase solide cristalline correspondant au soluté en excès.

5.1.2. Mécanismes de nucléation et de croissance

La première étape de la nucléation en solution correspond à l'apparition d'un germe solide dans la phase liquide. Pour simplifier, on suppose que ce germe est sphérique de rayon r . Du point de vue de la thermodynamique, la nucléation est le résultat d'une compétition entre le gain d'enthalpie libre réalisé par le passage de l'état dissout vers l'état cristallisé (ΔG_v) et le coût d'enthalpie libre dû à la formation d'une interface solide-liquide (ΔG_s). On écrit donc la variation d'enthalpie libre correspondant à l'apparition d'un nucleus sphérique de rayon r :

$$\Delta G = -\Delta G_v + \Delta G_s = -\frac{4\pi r^3}{3} \frac{k_B T \ln(S)}{\Omega} + 4\pi r^2 \gamma \quad (\text{eq.4})$$

γ est l'énergie par unité de surface de l'interface liquide-solide, Ω est le volume moléculaire du soluté.

Il apparaît un rayon critique r^* tel que $\frac{d\Delta G}{dr} = 0$:

$$r^* = \frac{2\gamma\Omega}{k_B T \ln(S)} \quad (\text{eq.5})$$

Pour $r < r^*$, la germination n'a pas lieu : les nuclei n'étant pas stables thermodynamiquement, ils sont à nouveau redissous. Pour $r > r^*$, on observe la croissance des agrégats de soluté. On définit aussi une barrière thermodynamique critique $\Delta G^* = \Delta G(r^*)$:

$$\Delta G^* = \frac{16\pi\gamma^3\Omega^2}{3k_B^2 T^2 (\ln(S))^2} \quad (\text{eq.6})$$

On calcule ainsi le taux de nucléation n^* (concentration de nuclei atteignant le rayon critique par unité de temps) :

$$n^* = n \exp\left(-\frac{\Delta G^*}{k_B T}\right) \quad (\text{eq.7})$$

n étant le nombre de molécules de soluté par unité de volume.

En fonction de la sursaturation, on a donc :

$$n^* = n \exp\left(-\frac{16\pi\gamma^3\Omega^2}{3k_B^3 T^3} \frac{1}{(\ln(S))^2}\right) \quad (\text{eq.8})$$

Lorsque la sursaturation S augmente, le taux de nucléation n^* augmente donc de manière exponentielle : pour obtenir un grand nombre de nuclei en solution, il faudra donc se placer à de fortes sursaturations.

La probabilité dP d'avoir une nucléation dans le volume V de solution pendant le temps dt est $dP = n^* V dt$. On en déduit la probabilité d'avoir une nucléation dans le volume après un laps de temps $t - t_0$ pendant lequel on applique la sursaturation :

$$P_{t_0}(t) = 1 - \exp(-n^* V(t - t_0)) \quad (\text{eq.9})$$

Dans notre étude, la nucléation des nanocristaux organiques s'effectue dans des pores de gel humide de quelques dizaines de nanomètres de diamètre. Pour que la probabilité de nucléation soit significative, il faut donc que n^* soit grand, donc que la barrière thermodynamique ΔG^* soit la plus petite possible. Pour cela, on doit appliquer des sursaturations très élevées par une évaporation très rapide du solvant. Cette évaporation très rapide est rendue possible grâce à notre méthode de dépôt par « spin-coating », que nous présenterons au § 5.3, où le sol de départ est rapidement étalé sur le substrat, conduisant ensuite à une grande surface de l'interface air-solution.

5.2. Méthode de nanocrystallisation dans les pores de matrices sol-gel

5.2.1. Principe de la méthode

Cette méthode peut être illustrée par les diagrammes établis par V. K. La Mer [40, 41] (figures I.18 et I.19) pour obtenir en solutions libres des cristallites présentant des distributions de taille étroites. Nous avons étendu ces règles fondamentales à la cristallisation de phases organiques confinées dans des gels denses. Elles montrent que l'étape de nucléation doit être un processus confiné dans l'espace (pores de la matrice sol-gel) mais aussi dans le temps.

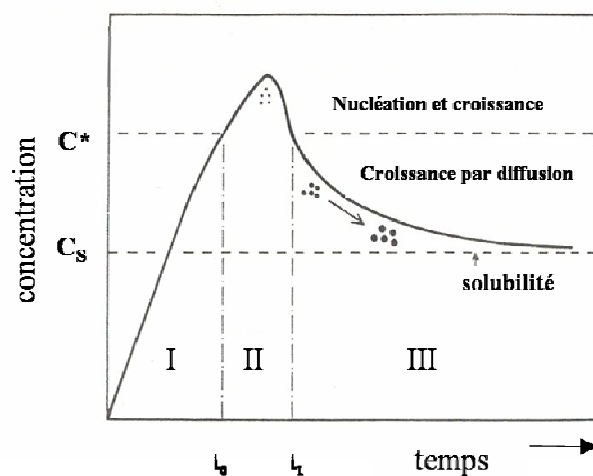


Figure I. 18 : Représentation schématique de la sursaturation en fonction du temps lors de la germination homogène de particules en solution

Sur la figure I.18, qui représente la sursaturation en fonction du temps, on voit qu'il faut commencer par atteindre rapidement une très grande sursaturation supérieure à C^* (seuil de nucléation) avant que l'étape de nucléation ne démarre à l'instant t_0 (zone I). Il se forme alors rapidement un très grand nombre n^* de nuclei en solution (zone II). Cette nucléation abaisse significativement la concentration de la phase organique dissoute dans le solvant, ce qui entraîne une diminution de la sursaturation et l'arrêt de la nucléation à l'instant t_1 (début de la zone III). Or entre les instants t_0 et t_1 , il ne s'écoule une durée que de l'ordre de la fraction de seconde (zone II). La nucléation est donc un processus confiné dans le temps : les nuclei qui apparaissent à l'instant t_0 n'ont pas eu le temps de croître significativement par rapport à ceux qui apparaissent à la fin de l'étape de nucléation. Ainsi à l'instant t_1 , la croissance démarre de manière pratiquement équivalente pour l'ensemble des nuclei. Pour que la distribution de taille de particules soit la plus étroite possible, il faut que les nuclei formés croissent lentement et dans des conditions identiques. Il faut donc que la vitesse de croissance soit suffisamment faible pour être négligeable durant l'étape de nucléation. Le diagramme suivant (figure I.19) compare les vitesses de nucléation et de croissance en solution libre et dans un gel, milieu dans lequel nous souhaitons faire croître des nanocristaux organiques, en fonction de la sursaturation appliquée.

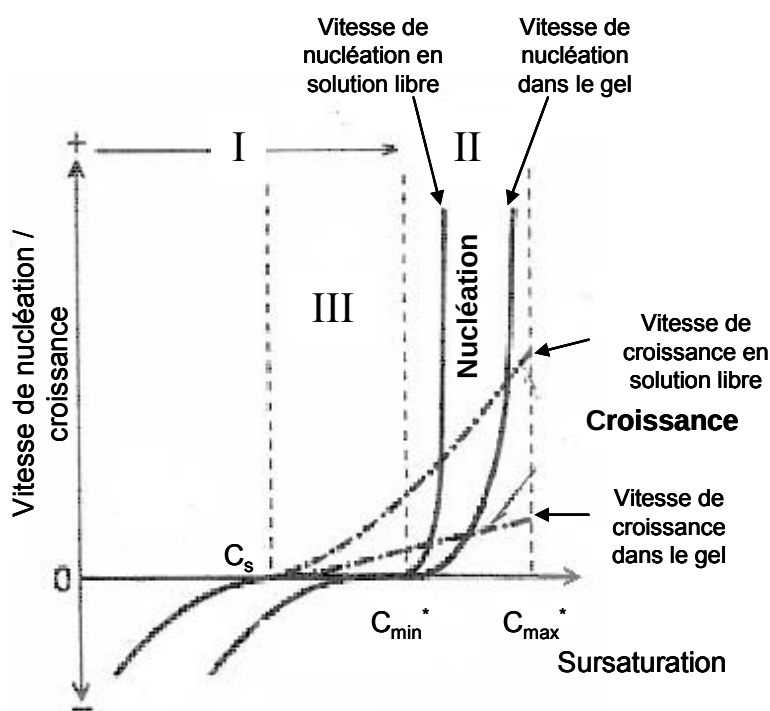


Figure I. 19 : Evolution des vitesses de nucléation (en trait continu) et de croissance (en pointillés) de nuclei en fonction de la sursaturation, dans une solution libre et dans un gel

Sur la figure I.19, on constate que, dans la zone II (étape de nucléation), la vitesse de croissance est généralement faible devant la vitesse de nucléation pour des sursaturations élevées. En effet, pour de

fortes sursaturations, les vitesses de nucléation et de croissance en solution libre suivent une loi du type :

$$v = k[S]^n \quad (\text{eq.10})$$

où k est une constante de proportionnalité et S est la sursaturation.

Pour la vitesse de croissance, n est de l'ordre de 1 à 2 alors que, pour la vitesse de nucléation, n est de l'ordre de 4 à 10. Ainsi, pendant l'étape de nucléation ($C_{\min}^* < C < C_{\max}^*$), le processus de croissance est négligeable. Cependant, nous avons vu qu'il faut appliquer une très forte sursaturation pour qu'il y ait nucléation en solution libre. Or, lorsque la sursaturation est grande, la vitesse de croissance devient de moins en moins négligeable devant la vitesse de nucléation. Ceci est valable dans le cas de nucléation et croissance en solution libre. Dans notre cas, ces processus s'effectuent non pas en solution libre mais dans un gel : les réacteurs de nucléation sont alors les pores de la matrice sol-gel en formation. Or d'après l'équation 9, lorsque le volume V des réacteurs de nucléation diminue, la probabilité de nucléation diminue aussi. Dans ces microréacteurs de croissance cristalline en solution, on peut donc atteindre une sursaturation très élevée (et un n^* très élevé) avant toute nucléation spontanée. Le confinement temporel, combiné au confinement spatial, est donc d'autant plus important en matrice sol-gel. De plus, le gel est un milieu visqueux, ce qui limite la diffusion des entités cristallisantes (molécules du soluté). Ainsi, la vitesse de croissance dans un gel est abaissée par rapport à la vitesse de croissance en solution libre (figure I.19) et on obtient une distribution de taille de particules d'autant plus étroite. La matrice sol-gel apporte donc un confinement spatial qui s'ajoute au confinement temporel. Ce confinement spatial dans les pores de la matrice sol-gel permet non seulement de diminuer la taille des cristallites mais aussi d'éviter leur coalescence. Le confinement spatial est aussi utilisé dans la croissance de nanocristaux métalliques et de semi-conducteurs. Dans ce cas, les microréacteurs de croissance cristalline sont formés par des micelles inverses formées par l'ajout d'un surfactant [42]. Il est aussi possible de réaliser la croissance de particules organiques dans des gouttelettes ou dans des fluides supercritiques [43]. Notre méthode de nanocristallisation en matrice sol-gel est donc une méthode originale qui permet d'obtenir directement après séchage un dispositif sous forme d'une couche mince nanocomposite.

5.2.2. *Elaboration*

On commence par préparer une solution en plaçant dans un flacon en verre (rendu étanche par un bouchon en polyéthylène auto-jointant) les produits suivants: la phase organique (poudre), les précurseurs d'alcoxydes de silicium (liquides) et le solvant organique. On choisit en général le tétrahydrofurane (THF) qui dissout bien la plupart des phases organiques que nous avons étudiées et qui permet de rendre miscibles les alcoxydes de silicium avec l'eau ajoutée pour les hydrolyser. Le

flacon est ensuite placé dans une étuve à 80°C pour dissoudre rapidement la phase organique et accélérer les réactions d'hydrolyse et de condensation sans atteindre le point de gélification car la teneur en solvant est suffisamment élevée ($s > 5$). Cette hydrolyse à 80°C peut durer de 4 h à 24 h suivant le type d'alcoxyde de silicium. On définit ainsi le **taux de « dopage » organique d** tel que :

$$d = \frac{[\text{orga}]}{[\text{Si}]}$$

où $[\text{orga}]$ est la concentration molaire en molécules organiques et $[\text{Si}]$ est la concentration molaire en alcoxydes de silicium. Les valeurs définies pour d vont de 1.10^{-4} à 1.10^{-2} selon la solubilité des molécules organiques dans le THF que nous avons utilisées dans cette étude. Une fois terminée l'hydrolyse à 80°C, on laisse refroidir à température ambiante les solutions qui doivent être parfaitement homogènes puis on réalise ensuite les dépôts des couches minces par étalement des solutions sur des substrats qui peuvent être de différentes natures (verre, silicium, polymère,...).

5.3. Synthèse de couches minces par voie sol-gel

Les différentes méthodes permettant de réaliser des couches minces par le procédé sol-gel sont relativement simples et peu onéreuses par rapport aux méthodes physiques. Le sol peut être répandu sur un substrat par pulvérisation à l'aide d'un atomiseur (« spray-coating ») ou par excitation ultrasonore (« procédé Aérosol-gel »). Cependant, ces méthodes conduisent à des échantillons inhomogènes en épaisseur, qui peuvent présenter une diffusion optique non négligeable. Le dépôt du sol sur un substrat peut aussi se faire à l'aide d'un appareil de trempe (« dip-coating ») [22]. On plonge le substrat par la tranche et on le retire du bain à vitesse constante de l'ordre de quelques centimètres/minute. Une couche de sol-gel se dépose alors sur toutes les surfaces du substrat. Par contre, l'écoulement de la solution et le poids de la couche mince rendent la partie basse du dépôt plus épaisse que la partie haute : on obtient alors une couche mince avec un gradient d'épaisseur en fonction de la hauteur sur le substrat. Il faut ensuite faire sécher la couche sol-gel à l'étuve pour finir d'évaporer le solvant. La méthode que j'ai utilisée pendant ma thèse est le « **spin-coating** » ou centrifugation à la tournette. Ce procédé consiste à étaler le sol par centrifugation sur un substrat tournant à vitesse élevée. On obtient alors une couche mince d'épaisseur quasi-uniforme avec une symétrie de rotation. Cependant, cette méthode n'est utilisable que sur des substrats plans. Le procédé de dépôt peut être décomposé en quatre phases [44] :

a- Dépôt de la solution au centre du substrat (figure I.20)

Le substrat est posé au centre d'une platine de rotation. Il peut être soit maintenu par des cales sur une platine adaptée, soit par aspiration si on fait le vide en dessous. Cependant, lorsqu'on utilise cette aspiration, on observe pour des substrats de faible épaisseur un défaut de planéité du substrat (enfouissement au point d'aspiration) qui peut conduire à une inhomogénéité d'épaisseur des dépôts. C'est pour cela que nous avons sélectionné un maintien du substrat par des cales latérales. Au laboratoire, nous déposons manuellement à la micropipette un volume de 500 μL de solution pour être dans des conditions les plus reproductibles possibles. En revanche, dans l'industrie, l'ensemble du dépôt est réalisé par un système de bras automatiques, ce qui augmente la reproductibilité du procédé et rend négligeable l'évaporation des sols avant dépôt.

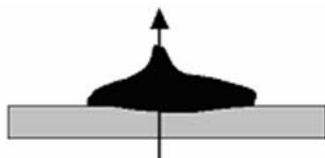


Figure I. 20 : Dépôt de la solution au centre du substrat

b- Mise en rotation du substrat

En milieu industriel, dès que le bras automatique a déposé un volume de solution très précis, il se retire immédiatement et la platine est mise en rotation. Au laboratoire, on enclenche la rotation 1 à 2 secondes après le dépôt de la solution sur le substrat pour éviter toute évaporation qui pourrait entraîner un début de gélification en surface de goutte et laisser la trace de la goutte à la surface du substrat. La rotation provoque l'écoulement radial du liquide vers l'extérieur du substrat (force centrifuge). Pendant cette première phase de rotation, le substrat accélère.

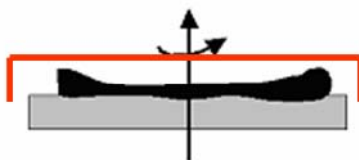


Figure I. 21 : Mise en rotation du substrat

c- Maintien de la vitesse constante pendant un temps déterminé

L'excès de liquide est évacué vers l'extérieur (figure I.22), ce qui entraîne une diminution de l'épaisseur du film, qui se stabilise à une valeur dépendant de la viscosité de la solution, de la vitesse et de la durée de la rotation.

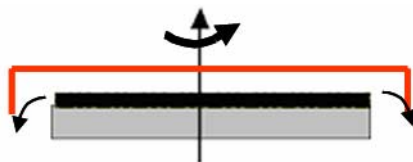


Figure I. 22 : Evacuation du liquide vers l'extérieur

La formation de la couche est la conséquence de l'équilibre de deux forces : la force centrifuge dirigée vers l'extérieur et la force liée à la viscosité du sol dirigée vers l'intérieur du substrat. Emslie, Bonner et Peck ont décrit l'épaisseur h obtenue à un instant t par une loi simple [45]:

$$h(t) = \frac{h_0}{\sqrt{1 + \frac{4\rho\omega^2 h_0^2 t}{3\eta}}} \quad (\text{eq.11})$$

h_0 est l'épaisseur initiale de solution déposée, considérée comme uniforme et recouvrant tout le substrat, ρ est la densité de la solution, ω est la vitesse angulaire de rotation, t est la durée de la rotation et η est la viscosité de la solution. Il faut noter que ce modèle ne tient pas compte de l'évaporation du solvant durant la phase de rotation à vitesse constante, ce qui suppose aussi que les valeurs ρ et η sont invariables. Cependant, dans notre cas, l'évaporation du solvant reste négligeable pendant la rotation du substrat, d'une part parce que les temps de rotation que nous avons choisis sont relativement courts (10 secondes au maximum) ; d'autre part, pendant toute la rotation, un couvercle appelé « **gyrset** » est placé au-dessus du substrat (dessiné en rouge), ce qui permet de limiter fortement l'évaporation du solvant car on travaille à pression de vapeur saturante durant cette étape de centrifugation. Ce procédé « **gyrset** » permet donc de découpler les étapes de centrifugation et d'évaporation du solvant.

d- Fin de la rotation et évaporation du solvant (figure I.23)

A l'arrêt de la rotation, l'ouverture du capot est activée entraînant également l'ouverture du « **gyrset** ». L'évaporation du solvant s'effectue d'emblée sur un film complètement centrifugé de faible épaisseur. Ceci conduit à augmenter le confinement dans le temps des procédés de gélification de la matrice et par conséquent du processus de nucléation des nanocristaux. Cette évaporation très rapide est donc très favorable pour obtenir des distributions de taille de cristallites très étroites (voir § 5.2). Après quelques dizaines de secondes suivant le dépôt, on élimine le solvant résiduel par un recuit en étuve de 10 à 20 minutes à 100-150°C (selon la stabilité du chromophore organique utilisé). On obtient ainsi des couches minces de 100 nm à 1 μm d'épaisseur selon les conditions de préparation (taux de solvant, nature des précurseurs, conditions d'hydrolyse-condensation,...) et de centrifugation (vitesse de rotation, durée de centrifugation).

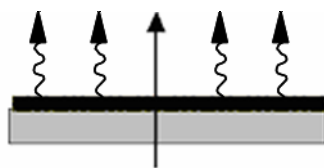


Figure I. 23 : Fin de la rotation et évaporation du solvant

Ainsi, le spin-coating présente l'avantage de réaliser tout le processus de nanocrystallisation en matrice sol-gel en une seule étape. L'appareillage de spin-coating que j'ai utilisé pendant ma thèse a été fabriqué par la société SUSS Microtech (Suss RC8 Spin-Coater). L'environnement direct de l'échantillon est schématisé figure I.24.

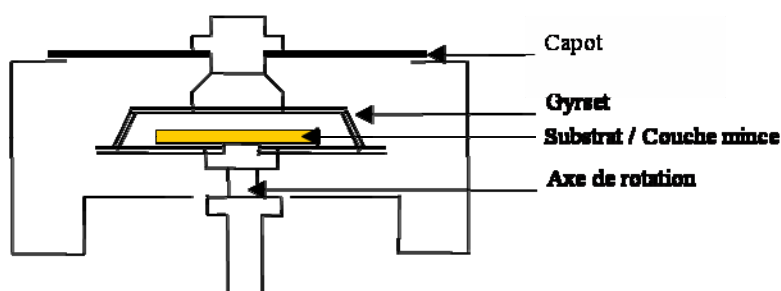


Figure I. 24 : Schéma de l'environnement direct de l'échantillon élaboré à l'aide du « spin-coater » RC8

Il est situé sous une hotte à flux laminaire, elle-même placée dans une salle blanche du Laboratoire de Cristallographie. Ainsi, tout est fait pour minimiser le risque de dépôt de poussières sur les substrats ou sur les couches, entraînant des inhomogénéités dans les films nanocomposites. En effet, la synthèse de nanoparticules requiert d'éliminer au maximum l'ensemble des particules parasites de plus grande taille. De plus, nous filtrons avant dépôt toutes les solutions à déposer avec des filtres à membrane PTFE à 0,2 μm tandis que les substrats sont préalablement nettoyés et dégraissés. Pour les manipulations les plus courantes (visualisation des nanocristaux par microscopie confocale, spectroscopie de fluorescence), les dépôts sont réalisés sur des lames de microscope en verre. Ces lames sont dégraissées et préparées pour le dépôt par un protocole de nettoyage que nous avons mis au point :

- dégraissage dans une solution commerciale basique « TFD4 » (Franklab S.A.) diluée à 5% dans l'eau et passage aux ultrasons pendant 15 minutes
- plusieurs rinçages à l'eau désionisée
- passage final dans une solution d'acétone ultra-pure et séchage à l'azote pour éliminer toute poussière

Le nettoyage en milieu basique a aussi pour but de fonctionnaliser les substrats en permettant la formation en surface de groupes silanols réactifs -Si-OH . Ces groupes permettent d'obtenir une meilleure mouillabilité de la solution sur le substrat ainsi qu'une meilleure adhérence de la couche mince finale sur le substrat. On obtient ainsi des couches parfaitement transparentes, qui grâce à la présence des nanocristaux, émettent de la fluorescence sous excitation UV (figure I.25).



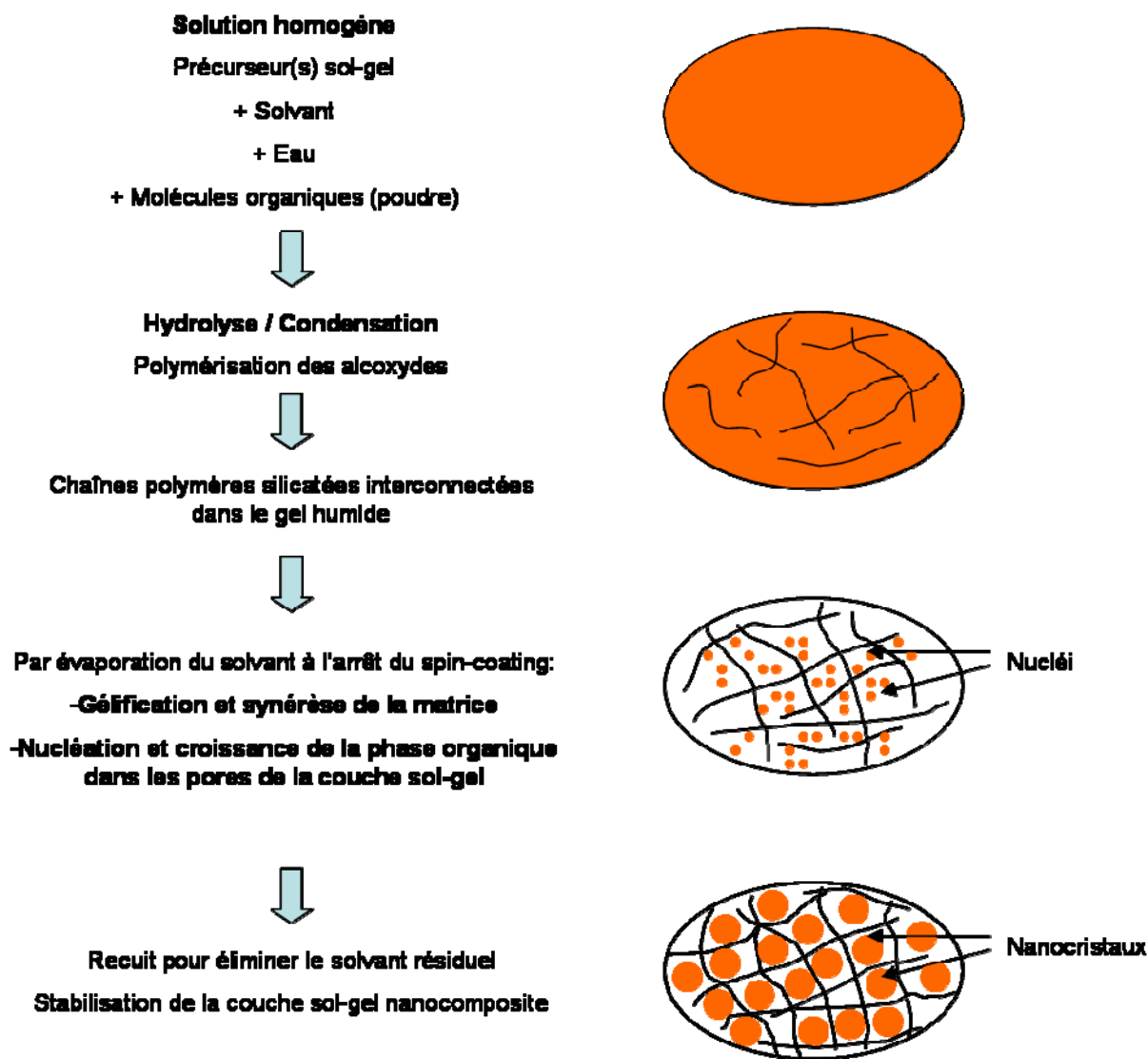
Figure I. 25 : Photo sous excitation UV d'une couche mince sol-gel déposée sur verre contenant des nanocristaux moléculaires luminescents

Il faut systématiquement adapter la mouillabilité du sol de départ au type de substrat utilisé. Il faut également trouver un nouveau protocole de nettoyage du substrat afin de le rendre suffisamment hydrophile. Ainsi, la visualisation des couches minces par microscopie électronique à balayage ou la caractérisation par ellipsométrie nécessitent un dépôt sur substrat de silicium. Après le dégraissage initial avec la solution « TFD4 », on rend le substrat suffisamment hydrophile par un nettoyage avec une solution « piranha » :

- trempage pendant 20 minutes dans une solution aqueuse contenant un mélange de 3 moles d'acide sulfurique pour 1 mole d'eau oxygénée
- rinçage à l'eau désionisée et séchage à l'azote
- rinçage final à l'acétone ultra-pur et séchage à l'azote.

5.4. Bilan de la nanocrystallisation de molécules organiques en couches minces sol-gel

Le schéma suivant résume les différentes étapes de la méthode de synthèse de nanocristaux en matrice sol-gel que nous utilisons :



6. CHOIX DES PRODUITS DE DEPART

6.1. Choix des molécules organiques fluorescentes

La plupart des composés fluorescents contiennent un ou plusieurs cycles benzéniques (molécules aromatiques). Ces systèmes sont dits conjugués car le recouvrement des orbitales π permet la délocalisation des électrons. D'une façon générale, une extension du système d'électrons π (c'est-à-dire du degré de conjugaison) s'accompagne d'un déplacement des spectres d'absorption et de fluorescence vers les grandes longueurs d'onde car l'énergie de la première transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est d'autant plus faible. Ces transitions sont caractérisées par des coefficients d'absorption molaires et des rendements quantiques de fluorescence élevés. Nous avons choisi d'utiliser plusieurs familles de molécules organiques : les polyaromatiques, des dérivés des pérylènes, et le trimésitylbodipy, qui présentent de bonnes propriétés de fluorescence aussi bien à l'état moléculaire qu'à l'état cristallin. De plus, ces familles de chromophores présentent de bonnes stabilités chimique et thermique avec des températures de fusion supérieures à 300°C.

- Les **polyaromatiques**

La molécule de **tétracène** (2, 3 - benzanthracène) est commerciale (Aldrich). Elle comporte quatre cycles benzéniques (figure I.26). C'est une molécule plane, ce qui lui permet d'être très photostable [46].

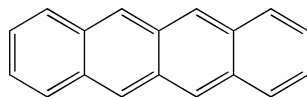


Figure I. 26 : Molécule de tétracène

La molécule de **rubrène** (5, 6, 11, 12 – tétraphénylnaphthacène) est aussi commerciale (Acros Organics). C'est une molécule de tétracène sur laquelle quatre cycles phényle ont été greffés (figure I.27), ces substituants venant se placer dans un plan orthogonal à la molécule de tétracène. Elle a été utilisée pour ses propriétés de fluorescence et en tant que colorant laser [47]. En effet, son rendement quantique de fluorescence est particulièrement élevé (voir chapitre IV). Cependant, elle est moins photostable que le tétracène et présente plusieurs polymorphes cristallins, comme nous le verrons au chapitre III.

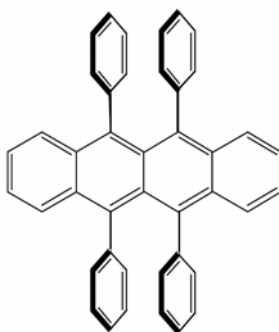


Figure I. 27 : Molécule de rubrène

La molécule de **diphénylanthracène** (9, 10 - Diphénylanthracène) a été aussi utilisée. Cependant, nous verrons plus loin que sa bande de fluorescence n'était pas située dans la bonne gamme de longueur d'onde pour les propriétés de capteurs qui nous intéressent ici.

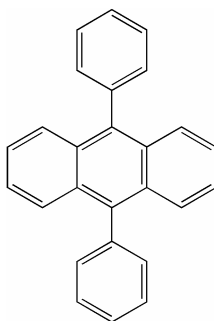


Figure I. 28 : Molécule de diphénylanthracène

- Les dérivés des **pérylènes**

Nous avons utilisé deux chromophores de la famille des pérylènes diimides, choisis aussi pour leurs bonnes propriétés de fluorescence à l'état cristallin. De plus, ces molécules sont très photostables. Elles ont ainsi été utilisées par la société BASF en tant que pigments de peinture ou pour les jouets en plastiques : ainsi un seau de plage acheté au début de l'été garde toutes ses couleurs jusqu'à la fin des vacances malgré les assauts répétés des rayons solaires [48]. D'autre part, grâce à leur photostabilité, ces molécules organiques sont couramment utilisés pour la réalisation de sources lasers solides [49, 50]. Les formules développées des pérylènes diimides que nous avons étudié sont présentées figures I.29 et I.30.

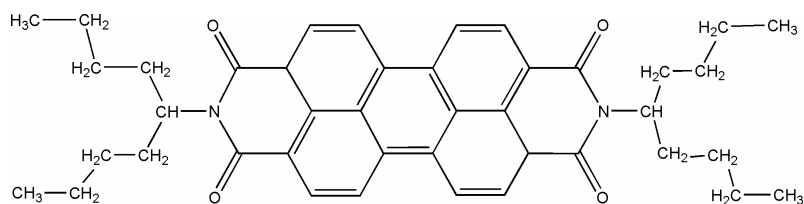


Figure I. 29 : Molécule de pérylène A (Alkyl)

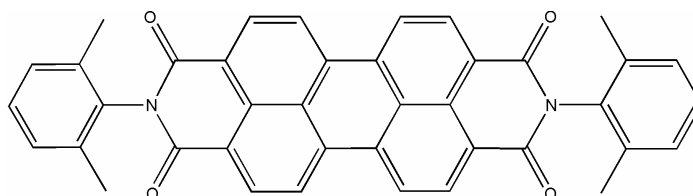


Figure I. 30 : Molécule de pérylène P (Phényl)

Le **pérylène A** (N,N'-Bis(1-butylpentyl)-3,4,9,10-perylenebis(dicarboxylic diimide)) a été synthétisé par le professeur H. Langhals, Institut de Chimie Organique, Munich. Le **pérylène P** (N, N'-Bis(2,6-diméthylphényl pérylène)-3,4,9,10-tetracarboxylic diimide)) est commercial. Nous ne disposons que de très peu de pérylène A puisque c'est le produit d'une synthèse organique de faible rendement. C'est pourquoi nous avons utilisé le pérylène P pour faire des tests préliminaires sur des cristaux non supportés comme nous le verrons au chapitre II.

- Le trimésitylbodipy

Le **trimésitylbodipy** (4, 4 - difluoro- 4 - bora - 3a, 4a- diaza-s-indacène) a été synthétisé par l'équipe de R. Pansu [51], du Laboratoire de Photochimie et Photophysique Supramoléculaires et Macromoléculaires, de l'E.N.S. de Cachan. Sa formule développée est présentée figure I.31.

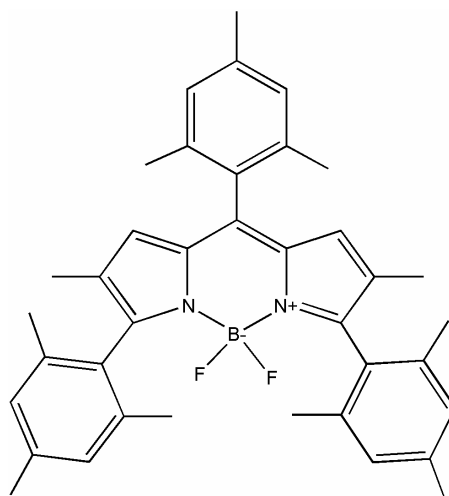
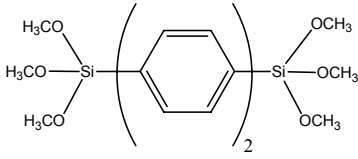
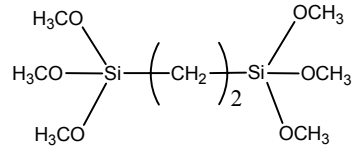


Figure I. 31 : Molécule de trimésitylbodipy

6.2. Choix du type de matrice sol-gel

Le tableau suivant présente les alcoxydes de silicium que nous avons utilisés dans cette étude.

Alcoxyde de silicium	Formule développée	Sigle	M (g/mol)	Densité (g/cm ³)
Tétraméthoxysilane	$\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{CO}-\text{Si}-\text{OCH}_3 \\ \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	TMOS	152,22	1,032
Méthyltriméthoxysilane	$\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{Si}-\text{OCH}_3 \\ \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	MTMOS	136,22	0,955
1,4-bis(triméthoxysilyl)biphényl	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \quad \quad \quad \text{OCH}_3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_3\text{CO}-\text{Si} \quad \quad \quad \text{Si}-\text{OCH}_3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_3\text{CO} \quad \quad \quad \text{OCH}_3 \end{array}$ 	TMSP	394,13	1,056
1,2-bis(triméthoxysilyl)éthane	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{CO} \quad \quad \quad \text{OCH}_3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_3\text{CO}-\text{Si} \quad \quad \quad \text{Si}-\text{OCH}_3 \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}_3\text{CO} \quad \quad \quad \text{OCH}_3 \end{array}$ 	TMSE	270,10	1,060

Dans ce travail de thèse, les précurseurs TMOS et MTMOS n'ont jamais été utilisés seuls. Nous avons utilisé des mélanges équimolaires de TMOS et MTMOS. En effet, il a été montré [52] que, si on utilise uniquement le TMOS, les groupements Si-OH pendants qui n'ont pas participé à la formation du réseau polymérique par condensation peuvent interagir fortement par liaison hydrogène avec les molécules de chromophores organiques dissoutes dans les solutions initiales. Ainsi, les chromophores peuvent se greffer à la matrice silicatée en formation par liaisons hydrogène par exemple pour les molécules dérivées du pérylène. Ces interactions chromophore-matrice peuvent fortement perturber voire même inhiber l'agrégation des molécules lors de l'évaporation du solvant. Pour diminuer ces interactions, nous ajoutons au TMOS le précurseur MTMOS qui possède une fonction méthyle -CH₃ non hydrolysable. Ces groupements méthyles non pontants vont pointer à l'intérieur des pores et écranter les fonctions silanols (figure I.29) [53].

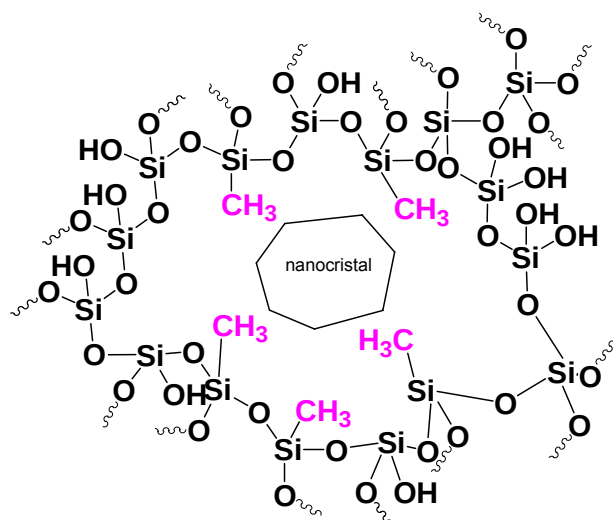


Figure I. 32 : Schématisation de l'écrantage des liaisons pendantes -Si-OH par des groupes -CH_3 non pontants dans une matrice $\text{TMOS} + \text{MTMOS}$

Ainsi, on choisira de préférence un mélange équimolaire $0,5 \text{ TMOS} + 0,5 \text{ MTMOS}$ afin de favoriser la nanocrystallisation des molécules organiques au centre des pores de la matrice sol-gel. En ce qui concerne les précurseurs avec groupe espaceur TMSE et TMSp , nous avons utilisé ces précurseurs en ajoutant différentes quantités de TMOS en tant qu'agent réticulant car, comme nous l'avons vu au paragraphe 3.5.3, l'ajout de TMOS en tant qu'agent réticulant permet d'obtenir des matrices sol-gel à la structure plus isotrope et plus ouverte.

CONCLUSION

Ce premier chapitre met en évidence l'intérêt de notre procédé de nanocrystallisation en couche mince sol-gel. Ce type de matériau hybride nanocomposite tire profit d'une part du procédé sol-gel pour la partie minérale et d'autre part, des cristaux moléculaires fluorescents pour la partie organique.

Nous avons vu que le procédé sol-gel est une technologie attractive et très flexible car on peut moduler de nombreux paramètres (pH , taux d'hydrolyse, taux de solvant, type de précurseur) pour obtenir la structure souhaitée. De plus, l'élaboration est de faible coût et se fait à des températures proches de l'ambiante. Enfin, la mise en forme du matériau sol-gel est facile, en particulier sous forme de couche mince. En particulier, le « spin-coating », mode de dépôt que nous avons utilisé, permet d'obtenir des couches homogènes et reproductibles sur une large gamme de substrats (lame de verre, silicium, quartz, polymères,...).

Dans un deuxième temps, nous avons montré l'originalité de notre méthode de nanocrystallisation en matrice sol-gel par rapport aux solutions libres. Le confinement spatial et temporel du procédé de

nucléation-croissance qui en résulte nous permet d'élaborer des nanocristaux monodisperses parfaitement insérés dans le réseau sol-gel comme nous le verrons dans le prochain chapitre.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I

- [1] Yacaman, M. J.; Rendon, L.; Arenas, J.; Serra, M. C., "Maya Blue Paint: An Ancient Nanostructured Material", *Science*, **273**, 223-225, 1996
- [2] Gomez-Romero, P.; Sanchez, C., *Hybrid Materials, Functional Applications. An Introduction, Functional Hybrid Materials*. 2004, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. p. 1-14.
- [3] Avnir, D.; Kaufman, V. R.; Reisfeld, R., "Organic fluorescent dyes trapped in silica and silica-titania thin films by the sol-gel method. Photophysical, film and cage properties", *J. Non-Cryst. Solids*, **74**, 395-406, 1985
- [4] Boury, B.; Corriu, R. J. P., "Auto-organisation of hybrid organic-inorganic materials prepared by sol-gel process", *Chem. Commun.*, , 795-802, 2002
- [5] Iskandar, F.; Abdullah, M.; Yoden, H.; Okuyama, K., "Silica Films Containing Ordered Pores Prepared by Dip Coating of Silica Nanoparticles and Polystyrene Neads Colloidal Mixture", *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **29**, 41-47, 2003
- [6] Crepaldi, E. L.; Soller-Illia, G. J. d. A. A.; Grosso, D.; Cagnol, F.; Ribot, F.; Sanchez, C., "Controlled Formation of Highly Organized Mesoporous Titania Thin Films: From Mesostructured Hybrids to Mesoporous Nanoanatase TiO₂", *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 9770-9786, 2003
- [7] Bosc, F.; Ayral, A.; Albouy, P. A.; Datas, L.; Guizard, C., "Mesostructure of anatase thin films prepared by mesophase templating", *Chem. Mater.*, **16**, 2208-2214, 2004
- [8] Avnir, D.; Coradin, T.; Lev, O.; Livage, J., "Recent bio-applications of sol-gel materials", *J. Mat. Chem.*, **16**, 1013-1030, 2006
- [9] Masse, R., *Nonlinear Optics*, **9**, 113, 1995
- [10] Masse, R.; Zyss, J., "A new approach in the design of polar crystals for quadratic nonlinear optics exemplified by the synthesis and crystal structure of 2-amino-5-nitropyridinium dihydrogen monophosphate (2A5NPDP)", *Molecular Engineering*, **1**, 141-152, 1991
- [11] Kotler, Z.; Hierle, R.; Josse, D.; Zyss, J.; Masse, R., "Quadratic nonlinear-optical properties of a new transparent and highly efficient organic-inorganic crystal: 2-amino-5-nitropyridinium-dihydrogen phosphate (2A5NPDP)", *J. Opt. Soc. Am. B: Opt. Phys.*, **9**, 534-539, 1992
- [12] Zaccaro, J. *Cristallogénèse et Caractérisations de la solution solide Dihydrogénophosphate-Arséniate de 2-Amino-5-Nitropyridinium, Cristaux organiques pour l'optique non linéaire*, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 1998.
- [13] Zaccaro, J.; Härtzweg, J.; Baruchel, J.; Ibanez, A., "Rapid growth of hybrid organic-inorganic crystals for nonlinear optics", *J. Cryst. Growth*, **204**, 325-332, 1999

- [14] Ibanez, A.; Maximov, S.; Guiu, A.; Chaillout, C.; Baldeck, P. L., "Controlled Nanocrystallization of Organic Molecules in Sol-Gel Glasses", *Adv. Mater.*, **10**, 1540-1543, 1998
- [15] Sanz, N.; Gaillot, A. C.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Organic nanocrystals grown in sol-gel coating", *J. Mater. Chem.*, **10**, 2723-2726, 2000
- [16] Sanz, N.; Ibanez, A.; Morel, Y.; L., B. P., "Organic nanocrystals grown in gel-glasses for optical power limiting applications", *Appl. Phys. Lett.*, **78**, 2569-2571, 2001
- [17] Sanz, N.; Wang, I.; Zaccaro, J.; Beaunon, E.; Baldeck, P. L.; Ibanez, A., "Orientation of Organic Nanocrystals Grown in Sol-Gel Matrices under a High Magnetic Field", *Adv. Funct. Mater.*, **12**, 352-358, 2002
- [18] Botzung-Appert, E.; Monnier, V.; Ha Duong, T.; Pansu, R.; Ibanez, A., "Polyaromatic luminescent nanocrystals for chemical and biological sensors", *Chem. Mater.*, **16**, 1609-1611, 2004
- [19] Ebelmen, M., "Chimie sur une production artificielle de silice diaphane", *Compt. Rendus Acad. Sci.*, **21**, 502-505, 1845
- [20] Ebelmen, M., "Sur les éthers siliciques", *Compt. Rendus Acad. Sci.*, **19**, 398-400, 1844
- [21] Phalippou, J., "From Gel to Glass", *C. R. Chimie*, **5**, 855-863, 2002
- [22] Scriven, L. E., *Better Ceramics through Chemistry III*, C.J. Brinker, Editor. 1988, Mat. Res. Soc.: Pittsburgh. p. 717.
- [23] Schroeder, H., *Physics of Thin Films*, E.G. Hass, Editor. 1969, Academic Press, New York. p. 87-141.
- [24] Dislich, H.; Hussmann, E., "Amorphous and crystalline dip-coatings obtained from organometallic solutions: Procedures, chemical processes and products", *Thin Solid Films*, **77**, 129-140, 1981
- [25] Schmidt, H., *Better Ceramics Through Chemistry*. Elsevier, New York ed, ed. D.E.C. Eds. C. J. Brinker, and D. R. Ulrich. 1984. 397.
- [26] Livage, J.; Henry, M.; Sanchez, C., "Sol-gel Chemistry of Transition Metal Oxides", *Prog. Solid State Chem.*, **18**, 259, 1988
- [27] Iler, R. K., *The Chemistry of Silica*. 1979: Wiley, New York.
- [28] Timms, R. E., *J. Chem. Soc. A*, , 1969-1974, 1971
- [29] Pohl, E. R.; Osterholtz, F. D., *Molecular Characterization of Composite interfaces*, ed. H. Ishida and G. Kumar. 1985: Plenum, New York.
- [30] Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E., "Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range", *J. Colloid Interface Sci.*, **26**, 62-69, 1968

- [31] Brinker, C. J., "Hydrolysis and condensation of silicates: effects on structure", *J. Non-Cryst. Solids*, **100**, 31-50, 1988
- [32] Gallagher, D.; Ring, T. A., *Chimia*, **43**, 298, 1989
- [33] Cerveau, G.; Corriu, R. J. P.; Framery, E., "Sol-gel process-influence of ageing on the textural properties of organosilsesquioxane materials", *J. Mater. Chem.*, **11**, 713-717, 2001
- [34] Cerveau, G.; Corriu, R. J. P.; Framery, E., "Sol-gel process: influence of the temperature on the textural properties of organosilsesquioxane materials", *J. Mater. Chem.*, **10**, 1617-1622, 2000
- [35] Flory, P. J., "Molecular Size Distribution in Three Dimensional Polymers. I. Gelation", *J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 3083-3090, 1941
- [36] Flory, P. J., *Principles of Polymer Chemistry*, ed. C.U. Press. 1953, Ithaca, New York. Chap. 9.
- [37] Stockmayer, W. H., "Theory of Molecular Size Distribution and Gel Formation in Branched-Chain Polymers", *J. Chem. Phys.*, **11**, 45-55, 1943
- [38] Winter, H. H.; Chambon, F., "Analysis of linear Viscoelasticity of a crosslinking polymer at the Gel point", *J. Rheol.*, **30**, 367-382, 1987
- [39] Scherer, G. W., "Stress and fracture during drying of gels", *J. Non-Cryst. Solids*, **121**, 104-109, 1990
- [40] LaMer, V. K., "Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols", *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4847-4854, 1950
- [41] LaMer, V. K., "Nucleation in Phase Transitions", *Ind. Eng. Chem.*, **44**, 1270-1277, 1952
- [42] Kurihara, K.; Kizling, J.; Stenius, P.; Fendler, J. H., "Laser and pulse radiolytically induced colloidal gold formation in water and in water-in-oil microemulsions", *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 2574-2579, 1983
- [43] Komai, Y., *et al.*, "Preparation of Organic Microcrystals Using Supercritical Fluid Crystallization Method", *Jpn. J. Appl. Phys.*, **38**, L81-L83, 1999
- [44] Bornside, D. E.; Macosko, C. W.; Scriven, L. E., "On the modeling of spin-coating", *J. Imaging Sci. Technol.*, **13**, 122-130, 1987
- [45] Emslie, A. G.; Bonner, F. T.; Peck, L. G., "Flow of viscous liquid on rotating disk", *J. Appl. Phys.*, **29**, 858-862, 1958
- [46] Cvrckova, O.; Ciganeck, M., "Photostability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (NPAHs) in Dichloromethane and Isooctane Solutions", *Polycyclic Aromat. Compd.*, **25**, 141-156, 2005
- [47] Löhmansröben, H. G., "Photophysical properties and laser performance of rubrene", *Appl. Phys. B*, **47**, 195-199, 1998

- [48] Goudket, H. *Etude de matériaux polymères, organiques et organo-minéraux, dopés par des colorants organiques: Application à la réalisation de sources laser intégrées*, Thèse de doctorat de l'Université d'Orsay Paris XI, 2004.
- [49] Reisfeld, R.; Brusilovsky, D.; Eyal, M.; Miron, E.; Burstein, Z., "A new solid-state tunable laser in the visible", Chem. Phys. Lett., **160**, 43-44, 1989
- [50] Wadsworth, W.; McKinnie, I.; Woolhouse, A.; Haskell, T., "Efficient distributed feedback solid state dye laser with a dynamic grating", Appl. Phys. B, **69**, 163-165, 1999
- [51] Badré, S. *Etude de nouvelles molécules fluorescentes pour la mise au point de nanocapteurs*, Rapport de DEA de Physico-Chimie Moléculaire - Université d'Orsay Paris XI, 2004.
- [52] Sanz, N. *Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des Propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel*, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2000.
- [53] Sanz, N.; Zaccaro, J.; Delmotte, L.; Le Luyer, C.; Ibanez, A., "Preparation and Characterization of N-4-Nitrophenyl-L-prolinol Nanocrystals in Sol-Gel Matrices", J. Sol. State Chem., **165**, 25-34, 2002

Chapitre II

ELABORATION DE NANOCRISTAUX ORGANIQUES LUMINESCENTS ET CARACTERISATION DE LEUR CROISSANCE CONFINÉE

PLAN DU CHAPITRE II

INTRODUCTION	55
1. PRINCIPE DE LA MICROSCOPIE OPTIQUE CONFOCALE.....	55
2. ETUDE DE CRISTAUX NON SUPPORTES	57
2.1. Conditions d'élaboration des cristaux non supportés.....	58
2.2. Cristaux non supportés de rubrène.....	59
2.3. Cristaux non supportés de tétracène.....	60
2.4. Cristaux non supportés de pérylène P.....	61
3. EFFET DES PARAMETRES D'ELABORATION SUR LA DISTRIBUTION DES NANOCRISTAUX DANS LA MATRICE SOL-GEL	63
3.1. Paramètres d'élaboration des nanocristaux organiques en couches minces sol-gel	63
3.2. Intérêt de la matrice sol-gel pour le confinement spatial des nanocristaux	64
3.3. Nature du fluorophore organique.....	66
3.4. Nature des précurseurs sol-gel : les précurseurs sol-gel avec groupements espaceurs organiques.....	68
3.4.1. Effet des interactions entre fluorophore et matrice sol-gel.....	68
3.4.2. Effet de l'ajout de TMOS en tant qu'agent réticulant avec le précurseur TMSE	71
3.5. Nature des conditions d'hydrolyse-condensation.....	73
3.5.1. Effet du taux d'hydrolyse h en catalyse acide	73
3.5.2. Effet du pH de la catalyse sur le confinement spatial des nanocristaux	75
4. VISUALISATION PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE EN TRANSMISSION ...	79
4.1. Principe et préparation des échantillons	79
4.2. Observation des nanocristaux	80
5. EPAISSEURS DES COUCHES SOL-GEL PREPAREES A PARTIR DU PRECURSEUR TMSE	82
CONCLUSION.....	84
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II	85

INTRODUCTION

Afin d'optimiser la nanocristallisation des phases organiques dans la matrice sol-gel, il est nécessaire d'observer nos échantillons avec la meilleure résolution possible. Plusieurs techniques ont été utilisées dans cette étude pour visualiser des objets de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres. Cependant, toutes ne sont adaptées à nos matériaux. Par exemple, la microscopie électronique à balayage (MEB), même si elle présente une résolution suffisante (de l'ordre de la dizaine de nm) ne permet pas d'observer les nanocristaux qui sont d'une part enterrés dans la couche sol-gel et qui d'autre part, ne présentent qu'un très faible contraste électronique avec le dépôt silicaté. Nous avons donc utilisé des techniques plus adaptées. Nous avons tout d'abord tiré profit des propriétés de fluorescence des nanocristaux en utilisant la microscopie optique confocale qui est facile à mettre en œuvre sur nos échantillons. Cependant, nous verrons que cette technique ne présente pas une résolution suffisante pour visualiser des nanoparticules de diamètre inférieur à 200 nm. Dans ce cas, nous avons aussi utilisé la microscopie électronique en transmission. Enfin, nous présentons également des mesures d'épaisseur que nous avons réalisées sur les couches minces obtenues.

1. PRINCIPE DE LA MICROSCOPIE OPTIQUE CONFOCALE

J'ai réalisé les images en microscopie optique confocale à l'aide du microscope Zeiss LSM 510 de l'Institut de l'Ingénierie et de l'Information de Santé (IN3S), de l'Université Joseph Fourier, Grenoble. Nous avons pu utiliser ce microscope dans le cadre d'une collaboration avec Y. Usson. Le principe du microscope confocal a été proposé en 1957 [1] puis utilisé expérimentalement à partir de 1980 suite au développement de sources laser adaptées et aux progrès des instrumentations électroniques et informatiques. La microscopie optique confocale est aussi appelée FCM (pour « Fluorescence Confocal Microscopy »). Cette technique est couramment utilisée en biologie pour l'observation de cultures cellulaires ou de tranches de tissus marqués par des fluorophores. En effet, la microscopie de fluorescence est non-destructive et permet donc la détection *in-vivo* d'objets qui ne peuvent être visualisés en microscopie électronique. Son principe est schématisé sur la figure II.1. Suite à une excitation laser dans le domaine du visible, la fluorescence de l'échantillon est générée sur la totalité du trajet du faisceau. Le faisceau excitateur est réfléchi sur un miroir dichroïque puis focalisé sur un point de l'échantillon grâce à un objectif. La profondeur de champ d'un microscope de fluorescence conventionnel est 2-3 μm et la résolution maximale est approximativement égale à la moitié de la longueur d'onde utilisée, c'est-à-dire autour de 250 nm. Pour des échantillons plus épais que la profondeur de champ, les images sont rendues floues par la fluorescence émise hors du plan focal.

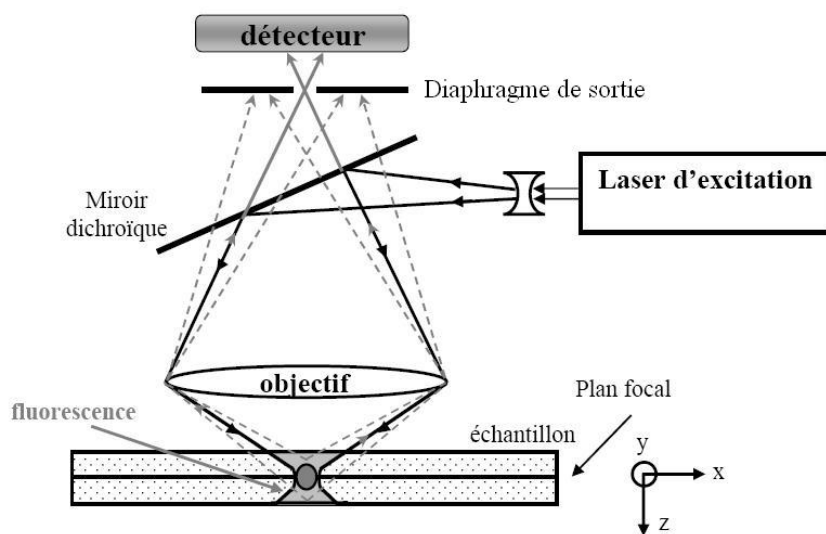


Figure II. 1 : Principe du microscope optique confocal

En mode confocal, un diaphragme est placé devant le détecteur (photomultiplicateur) dans le plan focal image de l'objectif du microscope. Les photons émis ou réfléchis dans le volume illuminé au niveau du plan focal sont alors détectés point par point par le photomultiplicateur pendant que le faisceau laser incident se déplace sur l'échantillon en balayant une zone de $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$. Les photons provenant de régions hors plan focal sont éliminés car ils ne passent pas à travers l'ouverture du diaphragme. Cette technique permet donc d'éliminer quasi-totalement les rayons lumineux émis par fluorescence ou par réflexion qui ne proviennent pas du plan focal objet. Les résolutions axiales et latérales sont donc nettement améliorées par rapport à un microscope optique classique. Cependant, les performances des systèmes optiques sont limitées lorsque le faisceau de lumière passe par une ouverture finie. En effet, au passage par l'objectif, les rayons issus d'un point de l'objet sont diffractés et en donnent une image sous la forme d'une tache d'Airy. Lorsque deux objets sont de plus en plus proches, leurs taches d'Airy se superposent partiellement jusqu'à devenir indiscernables. Rayleigh définit le pouvoir séparateur (la limite de résolution) comme la distance qui sépare deux objets tels que le premier minimum d'une tache d'Airy de l'un se confonde avec le maximum de l'autre. Le diamètre minimal du diaphragme (égal à la limite de résolution) impose les résolutions théoriques suivantes :

$$r_{xy} = 0,46 \frac{\lambda}{NA} \qquad r_z = 1,4 \frac{n\lambda}{NA^2}$$

NA est l'ouverture numérique de l'objectif ($NA = n \sin \alpha$ où α est la demi-ouverture de l'objectif), n l'indice de réfraction de la goutte d'huile placée entre l'objectif et l'échantillon. Nous avons travaillé à la longueur d'onde $\lambda = 488\ \text{nm}$ d'un laser Argon à la puissance $15\ \text{mW}$ et avec un objectif d'ouverture

numérique $NA = 1,4$. L'huile que nous avons utilisé à un indice $n = 1,515$. Pour ces valeurs, on obtient les résolutions : $r_{xy} = 160$ nm et $r_z = 528$ nm. Des cristaux dont le diamètre est inférieur à 160 nm seront donc mal résolus en microscopie optique confocale. C'est pourquoi, nous avons aussi utilisé la microscopie électronique en transmission (voir paragraphe 4).

Dans le cas de nanocristaux de molécules organiques qui fluorescent pour cette longueur d'onde d'excitation (rubrène, tétracène, pérylènes diimides), les cristaux ont été visualisés par émission de fluorescence. Le faisceau est séparé par un miroir dichroïque à 510 nm et l'émission de fluorescence vers 550 nm est sélectionnée grâce à un filtre laissant passer les longueurs d'onde supérieures à 515 nm. La longueur d'onde minimale d'excitation de ce microscope étant 488 nm, nous ne pouvons pas observer par émission de fluorescence des fluorophores nécessitant d'être excités à des longueurs d'onde plus faibles. Dans ce cas, les cristaux sont visualisés par réflexion du laser sur l'échantillon. Le faisceau est séparé par un miroir semi-réfléchissant (80% réfléchi-20% transmis) et la lumière parasite réfléchie par l'optique du microscope est éliminée en plaçant un filtre polariseur croisé devant le détecteur. Les images de microscopie confocale ont été analysées grâce au logiciel de traitement d'images NIH (Scion Corporation) qui nous permet d'obtenir la distribution de taille des particules sous forme d'histogrammes.

2. ETUDE DE CRISTAUX NON SUPPORTES

Le but de cette thèse est d'élaborer des cristaux luminescents en vue d'une application de capteur. Des solutions contenant les espèces à détecter sont mises en contact avec la surface des nanocristaux et modifient les propriétés spectroscopiques de luminescence. Le point important est d'avoir un bon recouvrement spectral entre le spectre d'absorption de la molécule à détecter et le spectre d'émission de fluorescence des cristaux organiques : en effet, en favorisant le transfert de l'excitation entre les deux espèces, on abaisse la limite de détection (voir chapitre IV, § 4). Nous avons commencé par préparer des cristaux à partir de molécules organiques simplement dissoutes dans un solvant. Ces cristaux, non supportés par la matrice sol-gel, sont directement en contact avec les solutions aqueuses contenant les espèces à détecter. Ainsi ce type de cristaux nous a permis de faire les premiers tests de spectroscopie de luminescence en s'affranchissant de l'effet de la matrice sol-gel, et ainsi de sélectionner les fluorophores les plus intéressants comme nous le verrons au chapitre IV. Nous allons voir que les résultats obtenus dépendent fortement de la nature du fluorophore et surtout de leur solubilité dans le solvant.

2.1. Conditions d'élaboration des cristaux non supportés

Nous avons commencé par préparer des solutions de THF dans lesquelles nous avons dissout les différents fluorophores organiques. Ces solutions ont été placées dans des flacons étanches et mises à l'étuve à 80°C pour accélérer la dissolution. Selon la solubilité des molécules organiques, différentes concentrations et différents temps de dissolution à 80°C ont été utilisés. Enfin, ces solutions ont été déposées par spin-coating sur des lames de microscope avec les conditions de centrifugation suivante : vitesse de rotation $v = 4000$ trs/min, accélération $a = 3000$ trs/min² et durée de centrifugation $t = 3$ s ou 10 s. L'évaporation du solvant à la fin de la rotation induit la cristallisation des molécules organiques sur la lame de verre. Un recuit à 100°C permet d'éliminer totalement le solvant résiduel. Différentes concentrations de phase organique dans le solvant ont été testées pour ajuster la sursaturation de la solution à déposer. En effet, le taux de nucléation n^* augmente lorsque la sursaturation S augmente (équation 6, chapitre I). La distribution de taille des cristaux obtenus est donc directement liée à la sursaturation appliquée. Les conditions d'élaboration des cristaux non supportés sont résumées dans le tableau suivant.

Fluorophore organique	Temps de dissolution à 80°C	Concentration massique C (g/L)
Rubrène	16 h	5,3
	16 h	2,6
	16 h	1,6
Tétracène	16 h	3,5
	16 h	1,8
	16 h	1,1
	4 h	1,1
	4 h	0,9
	4 h	0,7
	4 h	0,6
	4 h	0,5
Pérylène P	24 h	1
	24 h	0,5
Pérylène A	2 h	Faible et inconnue
Trimésitylbodipy	2 h	11,4
	1 h	6,2
	1 h	2,3
Diphénylanthracène	40 min	67,6
	40 min	33,8
	40 min	20

Les concentrations de pérylène A n'ont pas pu être déterminées car nous ne disposions pas de suffisamment de produit, issu d'une synthèse organique (voir chapitre I, 6.1). Pour chaque solution, des

dépôts par centrifugation ont été réalisés pendant des durées de 3 s et 10 s, avec et sans le gyrset (voir chapitre I, § 5.3.a) pour entraîner une évaporation plus ou moins rapide ou lente du solvant. Nous n'avons pas réussi à obtenir des cristaux non supportés avec le Trimésitylbodipy : le plus souvent nous avons seulement observé des gouttes de solution séchées sur la lame. Quant au diphénylanthracène, les cristaux obtenus n'étaient pas bien dispersés. De plus, leur fluorescence doit être générée par un rayonnement U.V. ce qui n'est adapté ni à la visualisation par microscopie confocale, ni à la spectroscopie de fluorescence résolue en temps, car nous ne disposons pas d'un objectif de microscope adapté à une excitation U.V. Nous allons maintenant présenter les images obtenues par microscopie confocale pour les cristaux non supportés de rubrène, tétracène et pérylène P.

2.2. Cristaux non supportés de rubrène

Le rubrène est assez soluble dans le THF. Nous avons déposé des solutions sur des lames de verre pour différentes concentrations. Une image typique des cristaux obtenus est présentée sur la figure II.2.

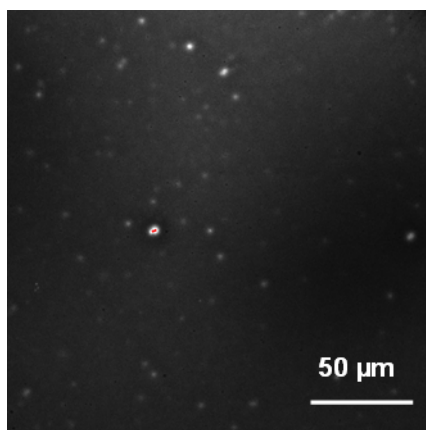


Figure II. 2 : Image par microscopie confocale de cristaux non supportés de rubrène obtenus à partir d'une solution à 5,3 g/L

Quelle que soit la concentration de rubrène en solution dans le THF et les conditions de centrifugation, on observe très peu de cristaux mais plutôt une laque. De plus, les quelques microcristaux non supportés de rubrène obtenus sont très sensibles au photoblanchiment sous faisceau laser et sont ainsi difficilement observables en microscopie confocale. Nous verrons au paragraphe 3.2 que l'insertion des nanocristaux de rubrène dans une matrice sol-gel permet d'augmenter sensiblement leur photostabilité.

2.3. Cristaux non supportés de tétracène

Le tétracène est moins soluble que le rubrène dans le THF et dans la plupart des solvants organiques en général. Les figures II.3 et II.4 montrent les images obtenues par microscopie confocale pour les différentes durées de centrifugation $t=3$ s et $t=10$ s.

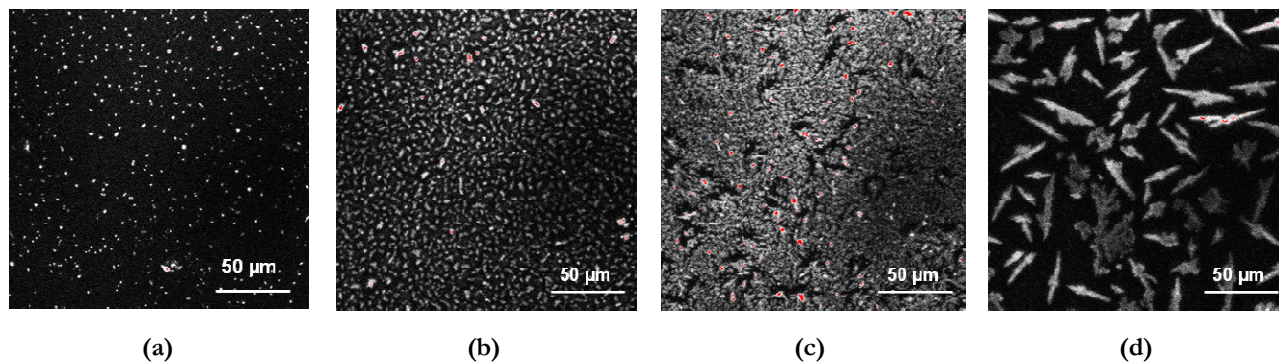


Figure II. 3 : Image par microscopie confocale de cristaux non supportés de tétracène obtenus pour $t = 3$ s et pour différentes concentrations de solutions initiales : $C=0,7$ g/L (a), $C=1,1$ g/L (b), $C=1,8$ g/L (c) et $C=3,5$ g/L (d)

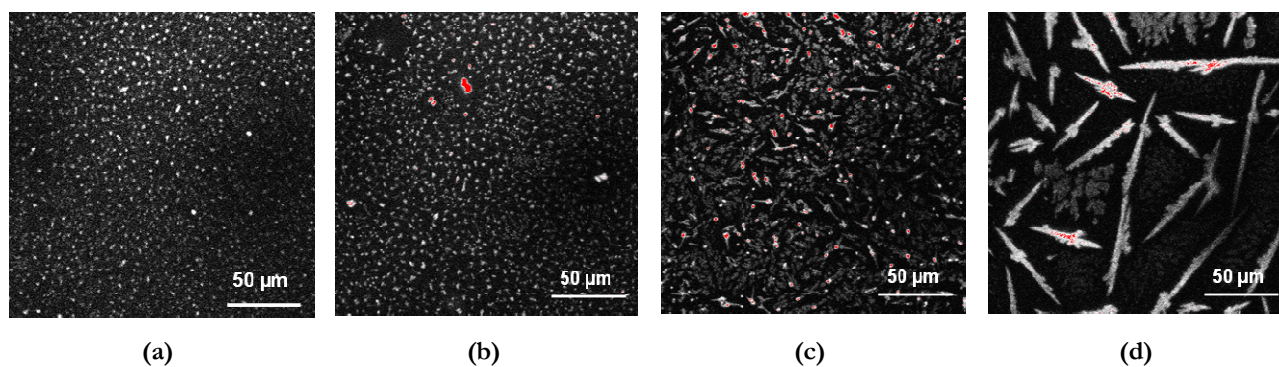


Figure II. 4 : Image par microscopie confocale de cristaux non supportés de tétracène obtenus pour $t = 10$ s et pour différentes concentrations de solutions initiales : $C=0,7$ g/L (a), $C=1,1$ g/L (b), $C=1,8$ g/L (c) et $C=3,5$ g/L (d)

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Concentration en g/L	Temps de dépôt en secondes	Taille et forme des cristaux
0,7	3	Cristaux de 1-2 μm
	10	Cristaux de 1-2 μm
1,1	3	Cristaux de 3-4 μm
	10	Cristaux de 3-4 μm
1,8	3	Dendrites de 5-10 μm
	10	Aiguilles de quelques dizaines de μm
3,5	3	Aiguilles de 20 μm et dendrites
	10	Aiguilles de 50 μm et dendrites

Effet de la concentration

Pour de faibles concentrations en tétracène, $C = 0,7$ g/L (figures II.3a et II.4a) et $C = 1,1$ g/L (figures II.3b et II.4b), les cristallites obtenus sont en majorité de forme sphérique, seuls quelques uns ont une forme allongée. Lorsque la concentration C augmente, la proportion de cristaux de forme allongée augmente, on commence à observer des croissances dendritiques (figures II.3c et II.4c). Pour de fortes concentrations (figures II.3d et II.4d), on observe de longs cristaux en forme d'aiguilles. Quand la concentration en tétracène augmente, on passe donc de cristallites sphéroïdes assez bien définis mais avec des distributions de taille très larges à des cristaux allongés puis à un début de croissance dendritique.

Effet du temps de dépôt

Pour une même concentration, on observe toujours une distribution plus homogène en taille pour 3 s que pour 10 s. En effet, un temps de dépôt court permet de confiner le processus de nucléation dans le temps conduisant ainsi à une distribution de taille de cristaux plus étroite. En effet, d'après le diagramme de La Mer présenté au chapitre I, figure I.18, la nucléation doit être un processus confiné dans le temps pour avoir des cristallites de taille homogène. Ainsi pour des durées courtes de centrifugation, les nuclei formés pendant l'étape de nucléation démarrent pratiquement tous leur croissance de manière identique à l'instant t_i . Ceci permet d'obtenir une distribution plus étroite de cristallites.

2.4. Cristaux non supportés de pérylène P

Le pérylène P est peu soluble dans le THF. Nous présentons figure II.5 les images obtenues par microscopie confocale de cristaux préparés à une concentration de 0,5 g/L. Les dépôts ont été faits d'une part avec gyrset (présenté au chapitre I, § 5.3) et d'autre part sans gyrset.

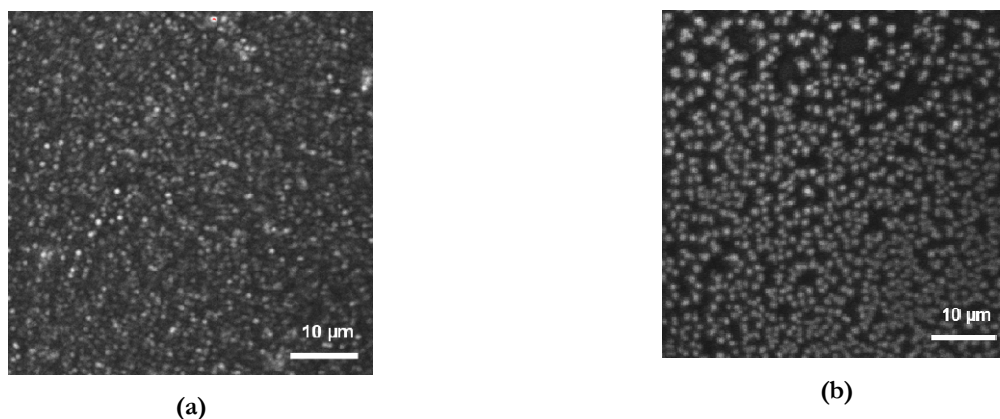


Figure II. 5 : Image par microscopie confocale de cristaux non supportés de pérylène P : Dépôt avec gyrset (a), dépôt sans gyrset (b)

Sur la figure II.5a, obtenue avec gyrset, les cristaux sont plus petits (de diamètre moyen 500 nm) et présentent une distribution de taille relativement étroite. De plus, ces cristaux sont répartis de manière homogène sur le substrat. Sur la figure II.5b, obtenue sans gyrset, la taille moyenne des cristaux est autour de 700 nm, la distribution de taille est plus large, il existe des zones plus ou moins denses en cristaux ; certains cristaux ont même tendance à coalescer. Le gyrset est le couvercle monté sur le capot du spin-coater qui permet de maintenir la solution étalée sur le substrat par centrifugation dans une atmosphère saturée en solvant durant tout le processus de centrifugation (voir chapitre I, § 5.3.c). Ainsi, après centrifugation, lorsqu'on retire ce gyrset, on applique une très forte sursaturation qui entraîne une augmentation du confinement temporel du processus de nucléation. En présence du gyrset, la nucléation est un phénomène quasi-instantané qui se produit à la fin de la rotation, les nuclei ainsi formés vont tous croître ensuite dans des conditions identiques. Sans gyrset, l'évaporation du solvant se produit sur une couche liquide plus épaisse en début de centrifugation. Par conséquent, pendant que certains agrégats sont déjà en train de croître, il y a formation de nouveaux nuclei, qui vont croître dans des conditions différentes, d'où la distribution de taille plus large que l'on obtient. On montre donc ainsi le rôle joué par le gyrset qui accentue le confinement temporel du processus de nanocristallisation.

3. EFFET DES PARAMETRES D'ELABORATION SUR LA DISTRIBUTION DES NANOCRISTAUX DANS LA MATRICE SOL-GEL

3.1. Paramètres d'élaboration des nanocristaux organiques en couches minces sol-gel

Le tableau suivant résume les échantillons de nanocristaux en couches minces sol-gel que nous allons présenter par la suite.

Précurseur 1	Précurseur 2	s	h	$k = \frac{n_{NH_4OH}}{n_{HCl}}$	Molécule organique	d	t_{ha} (80°C)	t_{hb} (25°C)
TMOS	MTMOS	5	1	-	rubrène	2.10^{-3}	15 h	-
TMOS	MTMOS	5	2	-	rubrène	2.10^{-3}	15 h	-
TMOS	MTMOS	5	3	-	rubrène	2.10^{-3}	15 h	-
TMOS	MTMOS	5	4	-	rubrène	2.10^{-3}	15 h	-
TMOS	MTMOS	5	0,5	1	rubrène	5.10^{-3}	24 h	1 h à 192 h
TMOS	MTMOS	5	0,5	2	rubrène	5.10^{-3}	24 h	1 h à 192 h
TMOS	MTMOS	5	0,5	4	rubrène	5.10^{-3}	24 h	1 h à 192 h
TMSE		7	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	1 TMOS	7	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	1,5 TMOS	7	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	2 TMOS	7 à 12	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	3 TMOS	7	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	4 TMOS	7	1	-	rubrène	1.10^{-3}	1 h à 18 h	-
TMSE	2 TMOS	7	0,5	1	rubrène	1.10^{-3}	3h	2 h à 24 h
TMSP	2 TMOS	8	0,5	-	rubrène	2.10^{-3}	7 h	-
TMSE	2 TMOS	10	1	-	tétracène	5.10^{-4} - 1.10^{-3}	4 h	-
TMSE	2 TMOS	7	1	-	pérylène A	1.10^{-3}	4 h	-

Dans ce tableau :

- les formules développées des alcoxydes de silicium TMOS, MTMOS, TMSE et TMSP ont été données au chapitre I, § 6.2.
- s est le taux de solvant, h le taux d'hydrolyse et d est le taux de dopage organique. Ces paramètres ont été définis au chapitre I, § 3.3 et 3.4.

- k est le rapport de la quantité de base ajouté sur la quantité d'acide dans le cas d'une catalyse acido-basique en deux étapes que nous préciserons au § 3.5.2 de ce chapitre.
- t_{ha} est le temps d'hydrolyse en milieu acide, qu'on effectue toujours à 80°C.
- t_{hb} est le temps d'hydrolyse après ajout de la base, dans le cas d'une catalyse en deux étapes. Ce paramètre sera aussi précisé au paragraphe 3.5.2.

Toutes les couches minces que nous présentons par la suite ont été déposées avec une vitesse de 4000 trs/min, une accélération de 3000 trs/min² et une durée de centrifugation de 3 s. Dans tous les cas également, le gyrset était présent lors de la rotation, pour limiter l'évaporation du solvant et ainsi obtenir un meilleur confinement temporel du processus de nucléation.

3.2. Intérêt de la matrice sol-gel pour le confinement spatial des nanocristaux

Afin de démontrer l'intérêt de notre méthode de nanocristallisation en matrice sol-gel, nous comparons dans ce paragraphe les résultats de nucléation et croissance obtenus pour :

- des microcristaux élaborés à partir de solutions classiques libres;
- des nanocristaux que l'on fait nucléer dans les pores de couches minces sol-gel.

Nous avons donc préparé des nanocristaux de rubrène et de tétracène par la méthode d'élaboration précédemment décrite au chapitre I, § 5.2.2. Une image obtenue par microscopie confocale pour des nanocristaux de rubrène élaborés à partir d'une solution contenant TMSE + 2 TMOS + THF ($s = 12$) + HCl 0,1M ($h = 1$) + rubrène ($d = 1.10^{-3}$) est présentée sur la figure II.6. La concentration de rubrène dissous dans le THF est de 0,5 g/L.

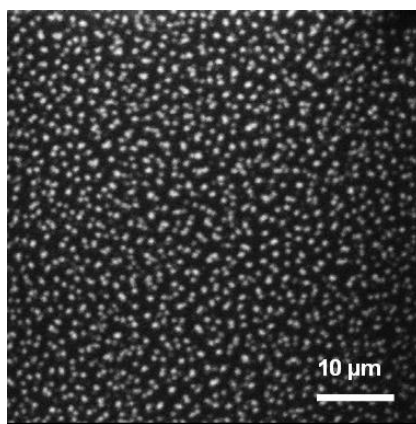


Figure II. 6 : Image par microscopie confocale de nanocristaux de rubrène obtenus avec le sol de départ TMSE + 2 TMOS + THF($s=12$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$)

Nous avons vu au paragraphe 2.2 que la molécule de rubrène ne permettait pas de préparer des cristaux non supportés bien dispersés sur le substrat. En revanche, nous voyons sur la figure II.6 qu'il est possible de préparer des nanocristaux de rubrène très bien dispersés dans la matrice sol-gel.

Quant au tétracène, nous avons vu au paragraphe 2.3 que cette molécule permet d'obtenir même en solution libre des microcristaux bien répartis et de taille assez homogène. Les microcristaux ont ici été préparés à partir d'une solution de tétracène dans THF à $C = 0,5$ g/L et les nanocristaux à partir d'un sol contenant TMSE (1,2-bis(triméthoxysilyl)éthane) + 2 TMOS (tétraméthoxysilane) + THF ($s = 10$) + HCl 0,1M ($h = 1$) + tétracène ($d = 5.10^{-4}$), ce qui correspond à une concentration massique de tétracène dans le THF de 0,2 g/L. Les images obtenues par microscopie optique confocale sont présentées figure II.7.

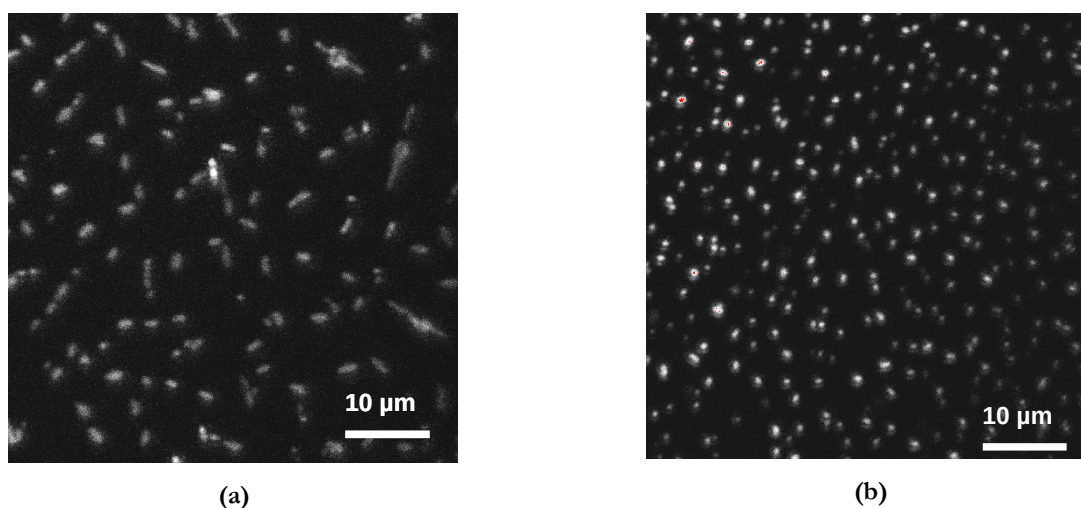


Figure II. 7 : Image par microscopie confocale de microcristaux non supportés de tétracène obtenus pour une solution de départ à $C=0,5$ g/L (a) et nanocristaux de tétracène obtenus avec le sol de départ TMSE + 2 TMOS + THF($s=10$) + HCl 0,1M ($h=1$) + tétracène ($d=5.10^{-4}$)

Sur la figure II.7a, on peut voir des microcristaux de forme allongée dont la taille varie de 500 nm à 3-4 μm et dont certains sont agrégés. Par contre, sur la figure II.7b, les nanocristaux en matrice sol-gel sont bien dispersés et ont une distribution de taille étroite (autour de 600 nm). La comparaison des images obtenues par microscopie optique confocale des cristaux non supportés et des nanocristaux illustre les différences typiques de nucléation et croissance en solution libre et en matrice sol-gel. En effet, en solution libre, lorsque l'on peut obtenir des microcristaux, pour diminuer la taille et la distribution de taille des cristaux de tétracène, nous appliquons une très forte sursaturation par l'évaporation rapide du solvant THF. Ceci entraîne la formation d'un très grand nombre de nucléi, et par conséquent, une rapide diminution de la sursaturation en molécules organiques en solution ; ce qui stoppe rapidement l'étape de nucléation. Ainsi, selon les principes de base établis par V. K. La Mer [2] (voir chapitre I, § 5.2.1), on confine dans le temps la nucléation en abaissant rapidement la sursaturation. Cependant, même si la nucléation a lieu dans un court laps de temps, la vitesse de croissance n'est pas négligeable pendant cette étape. Ce couplage entre nucléation et croissance explique la croissance significative des

cristaux (de plusieurs microns). D'autre part, quand la nucléation et la croissance ont lieu en matrice sol-gel, le confinement temporel de la nucléation est associé à un confinement spatial. Ce dernier permet d'une part de limiter le développement des cristallites en réduisant la taille des réacteurs de croissance que sont les pores de la matrice sol-gel et d'autre part, de diminuer la vitesse de croissance par la faible diffusion des molécules organiques dans le gel (milieu visqueux). De plus, les mécanismes de nucléation et de croissance sont ici relativement bien découplés. Comme la croissance devient négligeable par rapport à la vitesse de nucléation, les différences de vitesse de croissance selon l'orientation cristalline ont un effet négligeable qui ne conduit pas au développement de cristaux facettés. Par conséquent, on obtient des nanocristaux de forme sphérique. De plus, le réseau sol-gel silicaté permet d'éviter la coalescence et l'agrégation des nanocristaux. Enfin, la matrice sol-gel qui supporte les nanocristaux organiques les stabilise thermiquement, mécaniquement et chimiquement en limitant les interactions avec l'environnement : la matrice poreuse joue alors le rôle de filtre en charge, polarité et interactions non spécifiques comme nous le verrons au chapitre IV, § 5.

3.3. Nature du fluorophore organique

Afin d'éviter tout effet lié à la nature de la matrice sol-gel sur la nanocristallisation, nous avons préparé des nanocristaux de rubrène, pérylène A et tétracène dans des matrices sol-gel identiques. Cette matrice a été élaborée à partir d'un sol contenant : TMSE + 2 TMOS + THF + HCl 0,1M ($h = 1$) hydrolysé pendant 4 h à 80°C. Quel que soit le chromophore, le taux de molécules organiques a été fixé à $d = 1.10^{-3}$. Cependant, nous avons choisi $s=7$ pour le rubrène et le pérylène A qui sont très solubles dans le THF; par contre, pour le tétracène, moins soluble, nous avons dû prendre un taux de solvant plus élevé, $s=10$. Les images obtenues par microscopie confocale sont présentées sur la figure II.8 pour le rubrène et le pérylène A et sur la figure II.9 pour le tétracène.

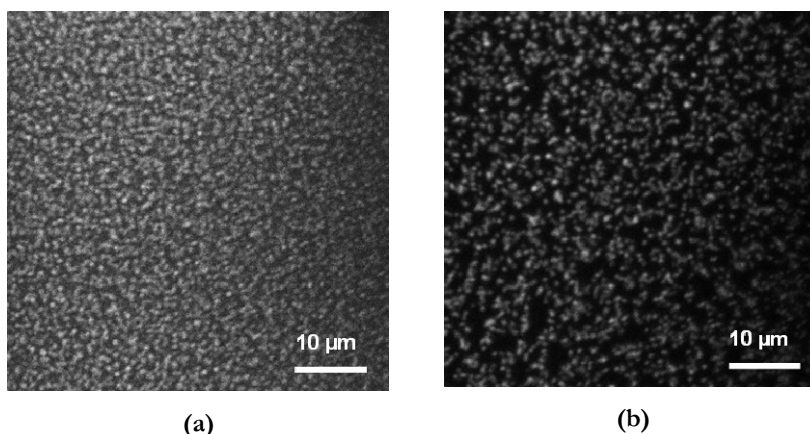


Figure II. 8 : Image par microscopie confocale de nanocristaux préparés dans la même matrice sol-gel TMSE + 2 TMOS + THF ($s=7$) + HCl 0,1M ($h=1$) pour un taux de dopage organique $d=1.10^{-3}$ pour un même temps d'hydrolyse $t_h=4h$ à 80°C: nanocristaux de rubrène (a) et pérylène A (b)

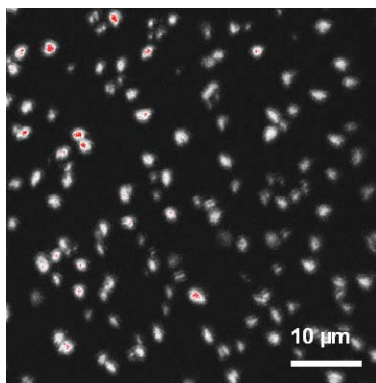


Figure II. 9 : Image par microscopie confocale de nanocristaux de tétracène dans la matrice sol-gel TMSE + 2 TMOS + THF ($s=10$) + HCl 0,1M ($h=1$) pour un taux de dopage organique $d=1.10^{-3}$ pour un même temps d'hydrolyse $t_h=4h$ à 80°C

Nous constatons que les dopages au rubrène et au pérylène A (figures II.8a et II.8b) entraînent la formation de petits cristaux avec une distribution de taille étroite centrée autour de 500 nm. En revanche, dans le cas du tétracène, les cristaux obtenus sont beaucoup plus gros (de l'ordre de 900 à 1000 nm) et la distribution de taille est élargie. Comme nous l'avons vu, nous avons choisi les molécules organiques pour leurs propriétés de fluorescence dans l'état cristallin. Cependant, celles-ci sont plus ou moins bien adaptées pour nanocristalliser dans une matrice sol-gel. En effet, la nanocristallisation dépend fortement de la sursaturation appliquée lors de l'évaporation du solvant, donc de la solubilité des molécules organiques dans le solvant. Ainsi, le rubrène est très soluble dans le THF, alors que le tétracène l'est très peu. Entre les nanocristaux de rubrène, on crée une forte déplétion de concentration, ce qui évite d'obtenir des molécules dispersées entre les nanocristaux. En revanche, avec le tétracène, de nombreuses molécules n'ont pas nanocristallisé. De plus, la distribution de taille obtenue est beaucoup plus large. En effet, la faible solubilité du tétracène dans le THF abaisse le palier de nucléation par rapport au rubrène ou au pérylène A, ce qui rallonge l'étape de nucléation. Ainsi, le processus de nucléation n'est pas aussi bien confiné dans le temps (chapitre I, figure I.18). La croissance des premiers nuclei débute pendant que d'autres nuclei apparaissent dans la solution. Ainsi, les nuclei formés ne croissent pas tous dans les mêmes conditions et on obtient des nanocristaux avec une distribution de taille étendue. En conclusion, notre méthode de nanocristallisation est d'autant plus adaptée que les molécules organiques mises en jeu sont solubles. Les seules difficultés rencontrées sont dans le cas de molécules très peu solubles comme dans cette étude, le tétracène.

3.4. Nature des précurseurs sol-gel : les précurseurs sol-gel avec groupements espaceurs organiques

3.4.1. Effet des interactions entre fluorophore et matrice sol-gel

Afin d'obtenir une matrice sol-gel plus poreuse pour la réalisation de capteurs (voir chapitre IV, § 6), nous avons utilisé des précurseurs sol-gel contenant des groupes espaceurs organiques, du type $R[Si(OCH_3)_3]_n$, où R est un groupe organique et où $n \geq 2$. Deux précurseurs issus de cette famille ont été utilisés, ces précurseurs étant synthétisés par B. Boury du Laboratoire de Chimie et Organisation du Solide de Montpellier [3, 4]. Notre premier choix s'est porté sur un précurseur contenant un groupe organique très rigide « biphenyl », le TMSP (1,4-bis(triméthoxysilyl)biphényl) dont la formule développée est rappelée figure II.10.

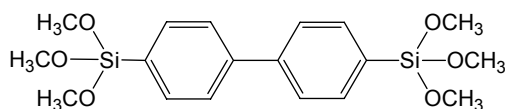


Figure II. 10 : Précurseur « biphenyl » (TMSP)

Nous avons voulu préparer des nanocristaux de rubrène dans des couches sol-gel formées à partir d'un sol contenant un mélange de TMSP et de différentes quantités de TMOS. Nous avons pris $h = 0,5$ au lieu de $h = 1$ choisi habituellement car nous avons remarqué que les réactions d'hydrolyse-condensation sur ce précurseur étaient beaucoup plus rapides que dans le cas du mélange TMOS / MTMOS. En effet, les électrons sont délocalisés grâce aux deux cycles phényle, ce qui augmente la charge δ^+ sur les deux atomes de silicium par effet inductif (voir chapitre I, § 3.5.2) et donc favorise l'attaque de la molécule d'eau lors de l'hydrolyse, et de l'oxygène des fonctions silanol lors de la condensation. Cependant, nous ne sommes pas parvenus à obtenir de nanocristaux avec ce type de précurseur comme on le constate sur la figure II.11, et ce quels que soient les paramètres de nanocristallisation.

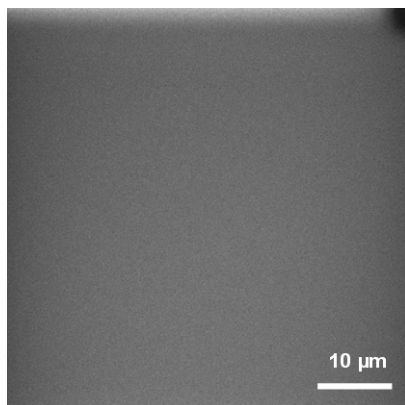


Figure II. 11 : Image caractéristique obtenue par microscopie optique confocale d'une couche mince sol-gel contenant TMSP+ 2 TMOS + THF(s= 8) + HCl (h=0,5) + rubrène ($d=2.10^{-3}$)

En effet, il existe de fortes interactions entre le nuage d'électrons π des cycles aromatiques du précurseur sol-gel et celui des molécules organiques qu'on souhaite faire nanocristalliser. Cette interaction, appelée « π -stacking », a été présentée au chapitre I, § 3.5.3. Elle peut être assimilée à une très forte interaction de Van der Waals entre les nuages électroniques π de cycles aromatiques plans, ces groupes tendant à s'arranger comme une pile de pièces de monnaie. Elle joue par exemple un rôle très important dans la stabilisation de la structure en « double-hélice » de la molécule d'ADN et dans les protéines [5]. Dans ce cas, le processus de nanocristallisation est donc fortement défavorisé. La couche obtenue est fluorescente mais on observe seulement la fluorescence des molécules dispersées dans la matrice. De plus la couche se photodégrade très rapidement, ce qui est caractéristique de la présence de molécules isolées, beaucoup moins photostables que les nanocristaux. Ainsi, comme nous l'avons vu précédemment, lorsqu'on a des interactions de type liaison hydrogène ou « π -stacking », on a un « greffage »* des molécules organiques sur la matrice sol-gel qui perturbe la nanocristallisation. Les interactions existant entre fluorophore et matrice sol-gel ont déjà été mises en évidence lors de précédents travaux par microcalorimétrie différentielle [6] et par spectroscopie RMN [7] : ces études ont montré qu'il existe des interactions du type liaison hydrogène entre les silanols $-OH$ de la matrice qui ne se sont pas condensées et les groupements $-NO_2$ des molécules organiques (CMONS, NPP). On se rapproche ainsi d'un matériau hybride de classe II (voir chapitre I, § 1.1). La figure II.12 obtenue par MEB illustre bien ce problème.

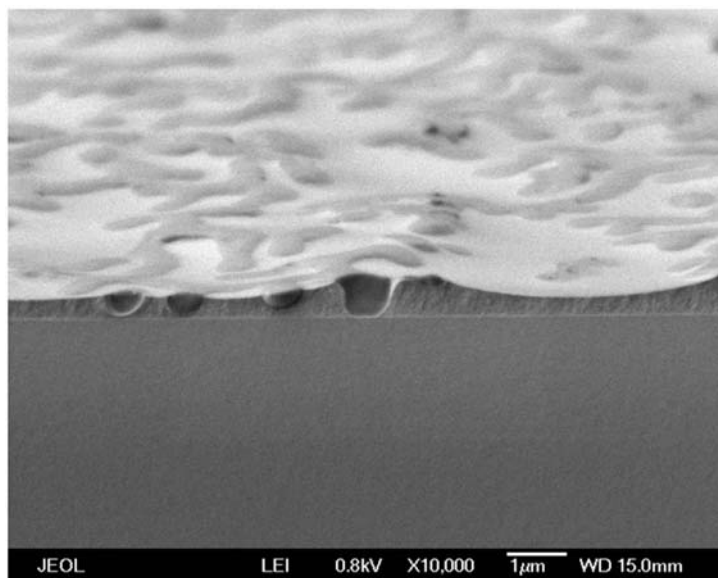


Figure II. 12 : Image MEB de la couche sol-gel contenant TMSP+ 2 TMOS + THF(s= 8) + HCl (h=0,5) + rubrène ($d=2.10^{-3}$)

* On parlera de « greffage » des molécules organiques sur la matrice sol-gel même si les interactions restent faibles, du type liaison hydrogène ou « π -stacking ».

On ne voit pas de nanocristaux mais seulement deux phases. La phase claire correspond aux éléments les plus lourds : c'est la matrice sol-gel silicatée. La phase sombre correspond aux éléments les plus légers : dans ces zones, les molécules organiques de rubrène se sont probablement liées aux fonctions phényl du groupement espaceur. Les molécules organiques n'ont donc pas cristallisé, elles se sont simplement « greffées » à l'interface de la matrice sol-gel. Pour obtenir des nanocristaux comparables à ceux obtenus en matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS, nous avons donc porté ensuite notre choix sur un autre précurseur, le TMSE (1,2-bis(triméthoxysilyl)éthane) dont la formule développée est rappelée figure II.13.

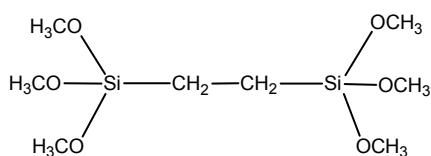


Figure II. 13 Précurseur TMSE

Ce précurseur présente un groupe espaceur court et relativement rigide qui ne peut engendrer que des interactions de Van der Waals faibles entre les molécules organiques et la matrice, comme c'est le cas avec le précurseur MTMOS. Nous avons préparé des couches sol-gel contenant un mélange du précurseur TMSE pour différentes quantités de TMOS. Nous verrons au paragraphe suivant l'effet de l'ajout de TMOS en co-condensation avec le TMSE. L'image par microscopie optique confocale de nanocristaux de rubrène insérés dans une matrice TMSE + 2 TMOS + THF(s=7) + HCl 0,1M (h=1) + rubrène ($d = 1.10^{-3}$) est présentée figure II.14.

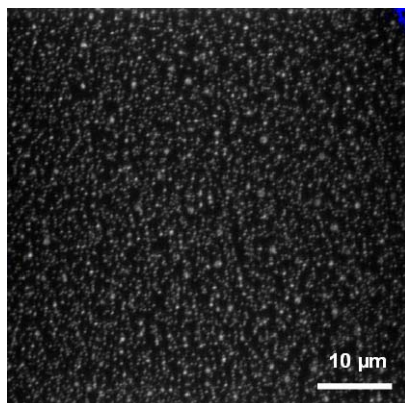


Figure II. 14 : Image par microscopie confocale d'une couche mince sol-gel contenant TMSE + 2TMOS + THF(s=7) + HCl 0,1M(h=1) + rubrène($d=1.10^{-3}$)

On obtient ainsi des nanocristaux bien dispersés dans la matrice sol-gel. Ceci montre donc bien l'effet important de la force de l'interaction fluorophore-matrice : il faut éviter la formation de liaison

hydrogène, d'interaction π - π ou de véritable greffage par liaison forte si l'on veut obtenir des nanocristaux.

3.4.2. Effet de l'ajout de TMOS en tant qu'agent réticulant avec le précurseur TMSE

Nous avons voulu préciser l'influence de la co-condensation du précurseur TMSE avec le précurseur classique TMOS. Pour cela, nous avons comparé les caractéristiques de couches minces préparées avec et sans le précurseur TMOS en tant que co-agent réticulant. Nous avons donc préparé une couche à partir du sol : TMSE + n TMOS + THF ($s = 7$) + HCl 0,1M ($h = 1$) + rubrène ($d = 1.10^{-3}$) pour $n=0$; 1 ; 1,5 ; 2 et 3, pour un temps d'hydrolyse à 80°C $t_h = 4$ heures. Les images obtenues par microscopie optique confocale sont présentées figure II.15.

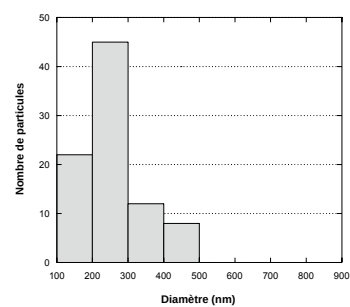
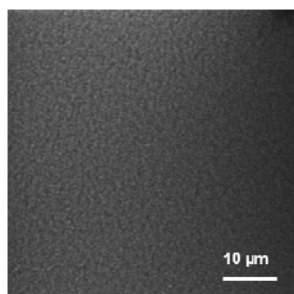
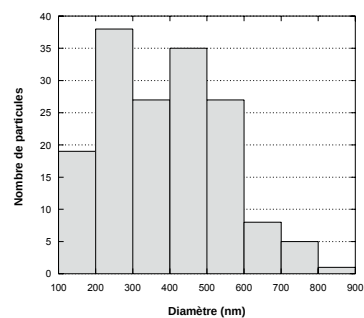
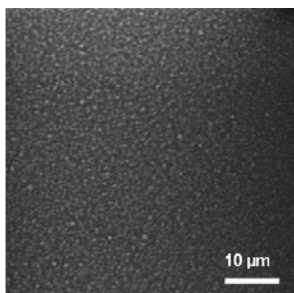
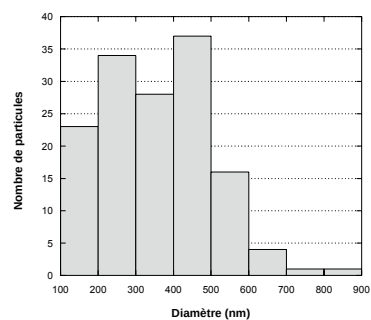
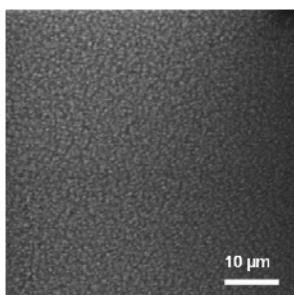
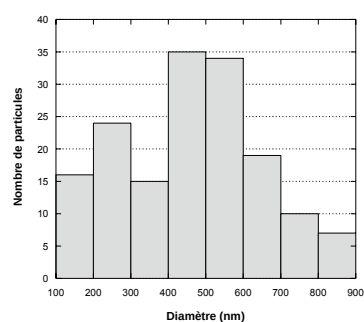
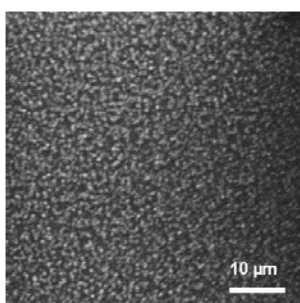
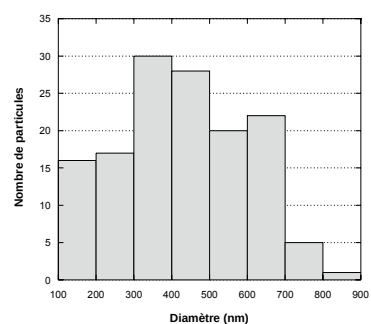
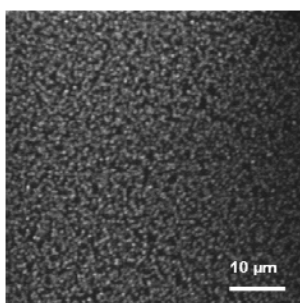
$n = 0$  $n = 1$  $n = 1,5$  $n = 2$  $n = 3$ 

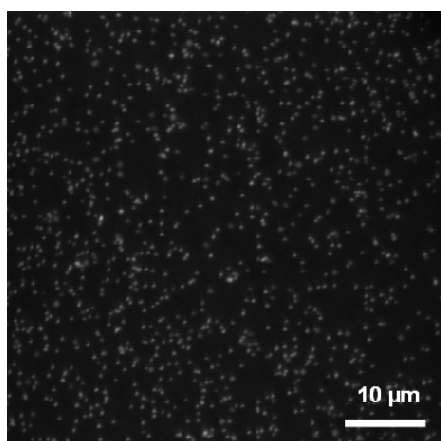
Figure II. 15 : Images par microscopie confocale de nanocristaux de rubrène ($d=1.10^{-3}$) en matrice : TMSE + n TMOS + THF ($s=7$) + HCl 0,1M ($h=1$) pour $n=0$; 1 ; 1,5 ; 2 et 3 et histogrammes correspondants

Grâce au logiciel NIH [8], nous avons tracé les histogrammes donnant la distribution de tailles des particules observées sur les différentes images présentées figure II.15. On constate que lorsque n (quantité de TMOS) augmente, le diamètre moyen des nanocristaux augmente. Ceci signifie que dans le gel humide, les microréacteurs de croissance cristalline en solution sont de plus en plus larges lorsque la quantité de TMOS augmente. Nous pouvons donc supposer que le diamètre des pores augmente dans le gel humide lorsque la proportion n de précurseur TMOS augmente. En effet, nous avons vu au chapitre I, § 3.5.3 que l'ajout de TMOS en co-condensation avec le précurseur TMSE permet d'obtenir une structure isotrope avec des pores plus larges, puisque TMOS agit en tant qu'agent réticulant et se place entre les molécules de TMSE et permet d'agrandir le diamètre des pores. Ainsi, nous avons donc montré que la proportion de TMOS influence la taille des pores de la matrice sol-gel ainsi que le diamètre final des nanocristaux puisque les réacteurs de croissance cristalline que sont les pores s'élargissent quand la proportion n de précurseur TMOS augmente.

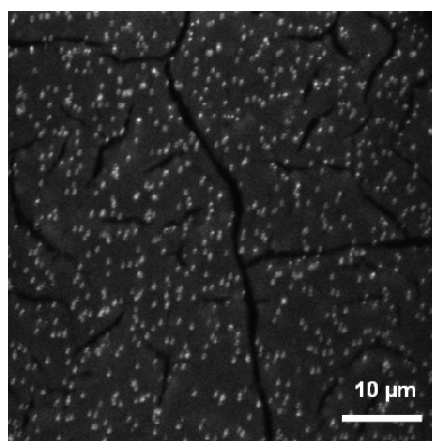
3.5. Nature des conditions d'hydrolyse-condensation

3.5.1. Effet du taux d'hydrolyse h en catalyse acide

Nous avons voulu d'autre part voir l'effet du taux d'hydrolyse h (rapport du nombre de molécules d'eau sur le nombre de fonctions alcoxyde $-OR$) sur la nanocristallisation et l'aspect de la matrice sol-gel. Pour cela, nous avons préparé des couches sol-gel à partir d'un sol contenant : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF($s = 5$) + HCl 0,1M (h) + rubrène ($d = 2.10^{-3}$). Nous avons fait varier le taux d'hydrolyse h en prenant des valeurs allant de 1 à 4. Les images obtenues en microscopie confocale sont présentées sur la figure II.16.



(a) $h = 1$



(b) $h = 2$

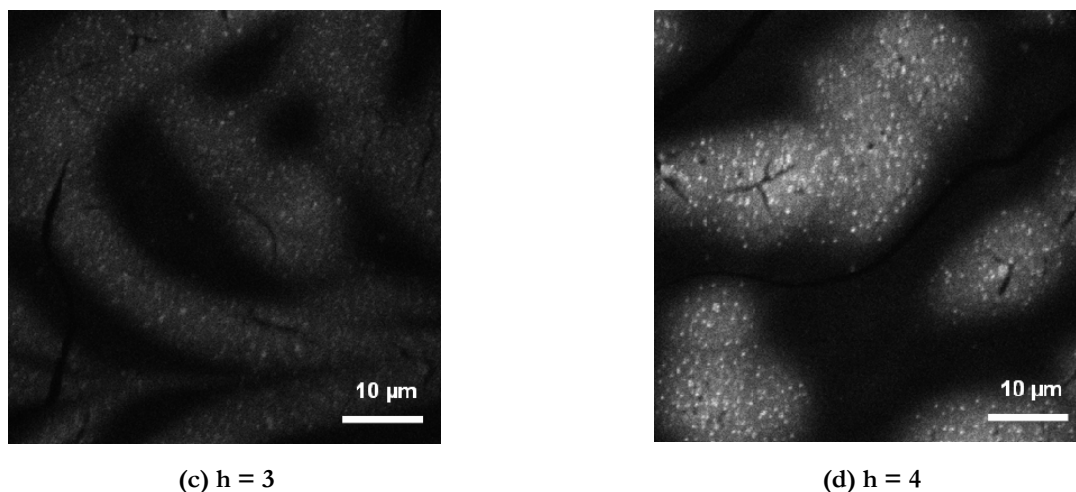


Figure II. 16 : Image par microscopie confocale de nanocristaux de rubrène en matrice TMOS/MTMOS pour différents taux d'hydrolyse : (a) $h=1$, (b) $h=2$, (c) $h=3$ et (d) $h=4$

Nous constatons que seule la couche sol-gel obtenue pour $h = 1$ (figure II.16a) est homogène et présente des nanocristaux bien dispersés. Pour $h = 2$ (figure II.16b), on commence par observer des craquelures puis des trous pour $h = 3$ (figure II.16c). Enfin, pour $h = 4$ (figure II.16d), seules quelques zones éparses de la couche sol-gel semblent contenir des nanocristaux. Différentes structures de gel sont observées car la vitesse de la réaction d'hydrolyse est directement liée au taux d'hydrolyse h [9]. Ainsi, pour un taux d'hydrolyse moyen ($h = 1$), on obtient un gel plus dense sans aucun macrodéfaut visible. Le dépôt est donc bien homogène et les nanocristaux observés sont répartis uniformément dans toute la couche (figure II.16a). Quand la proportion d'eau augmente, l'hydrolyse devient plus rapide et les chaînes polymères formées sont plus longues et plus ramifiées. Ainsi, lors de l'évaporation du solvant, il y a génération de fortes contraintes dans la couche et avec le substrat. Par conséquent, on observe une fissuration de la couche sol-gel (figure II.16b). D'autre part, nous constatons que pour $h=3-4$ (figures II.16c et II.16d), la nanocristallisation ne se produit que dans certaines zones. Ceci peut provenir du fait qu'à ce taux d'hydrolyse, la vitesse d'hydrolyse-condensation du précurseur MTMOS devient très supérieure à celle de TMOS. En effet, le groupe méthyl $-CH_3$ non hydrolysable présent sur MTMOS entraîne un effet inductif qui rend l'atome de silicium plus facilement hydrolysable. Ainsi, les réactions de polycondensation des molécules de MTMOS entre elles sont favorisées par rapport à la co-condensation de MTMOS avec TMOS. Par conséquent, dans les zones riches en TMOS, les liaisons pendantes $-SiOH$ sont probablement plus nombreuses : il peut alors y avoir « greffage » des fluorophores sur la matrice (voir chapitre I, § 6.2), c'est pourquoi on n'observe pas de nanocristaux. Les zones contenant des nanocristaux sont donc les zones riches en MTMOS où les groupements méthyl non pontants viennent empêcher le « greffage » des fluorophores sur la matrice sol-gel. Nous avons

donc utilisé de préférence un taux d'hydrolyse inférieur ou égal à 1 pour obtenir des nanocristaux bien dispersés dans une matrice sol-gel.

3.5.2. Effet du pH de la catalyse sur le confinement spatial des nanocristaux

Nous avons vu au chapitre I que le pH était un paramètre déterminant dans la structure finale du gel (chapitre I, § 3.2). En particulier, le point de charge nulle de la silice à $\text{pH} = 2$ définit deux domaines de pH bien distincts. Pour un $\text{pH} < 3$, on obtient des gels polymériques constitués essentiellement de chaînes silicatées linéaires. Par contre, pour des valeurs de $\text{pH} > 2$, on obtient des gels polymériques contenant des chaînes plus ramifiées. En effet, par augmentation de la vitesse de condensation, on augmente le nombre d'interconnexions des chaînes, ce qui diminue la taille des pores dans le gel humide. Par conséquent, la taille des microréacteurs dans lesquels se font la nucléation et la croissance confinée des nanocristaux diminue : ceci devrait permettre d'obtenir un meilleur confinement spatial des nanocristaux et donc des cristaux encore plus petits. L'intérêt, comme nous le verrons au chapitre IV, § 5, est que la détection de molécules en solution est d'autant plus sensible que les cristaux sont plus petits. Nous avons donc préparé des couches sol-gel par une catalyse en deux étapes : acide puis basique selon le protocole suivant. Dans une première étape, on prépare un sol en catalyse acide qui contient 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s = 5$) + HCl 0,1M ($h = 0,4$) et on laisse hydrolyser pendant 24 h à 80°C . Dans une deuxième étape, on ajoute NH_4OH en différentes quantités par rapport à la quantité d'acide, ce qui équivaut à différents pH de la solution, comme le montre le tableau suivant.

$k = \frac{n_{\text{NH}_4\text{OH}}}{n_{\text{HCl}}} = 1$	$k = \frac{n_{\text{NH}_4\text{OH}}}{n_{\text{HCl}}} = 2$	$k = \frac{n_{\text{NH}_4\text{OH}}}{n_{\text{HCl}}} = 4$
$\text{pH} = 5$	$\text{pH} = 5,5$	$\text{pH} = 6$

Nous avons choisi comme catalyseur basique NH_4OH car il s'élimine facilement par recuit à 100°C sous forme NH_3 ou NO_x . On laisse ensuite hydrolyser à température ambiante et on fait des dépôts à différents temps d'hydrolyse basique t_{hb} (temps après ajout de la base). Lors de cette deuxième étape, nous avons laissé évoluer la solution à température ambiante pour éviter une gélification trop rapide. En effet, il a été montré que, lorsqu'on utilise une catalyse acido-basique en deux étapes, le temps de gélification diminue plus rapidement lorsque la température d'hydrolyse en milieu basique augmente [10]. Nous avons constaté que deux paramètres agissent sur le diamètre moyen des nanocristaux : la quantité de base ajoutée par rapport à la quantité d'acide et le temps d'hydrolyse en milieu basique.

Effet du pH de la catalyse

Dans un premier temps, nous avons fait varier la quantité de base ajoutée à la solution lors de la deuxième étape de la catalyse pour changer le pH de la solution à déposer. Nous avons préparé des nanocristaux de rubrène à partir d'une solution contenant : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s=5$) + HCl 0,1M ($h=0,4$) + rubrène ($d=5.10^{-3}$). Après une hydrolyse en milieu acide pendant 24 h à 80°C, on rajoute dans la solution différentes quantités de NH_4OH de manière à obtenir différents pH au-dessus du point de charge zéro $pH=3$. On laisse ensuite hydrolyser ces solutions en milieu basique à 25°C et on fait des dépôts à différents temps. Les images obtenues par microscopie optique confocale de ces différentes couches sont présentées pour deux temps d'hydrolyse en milieu basique (24 h et 48 h) sur les figures II.17 et II.18.

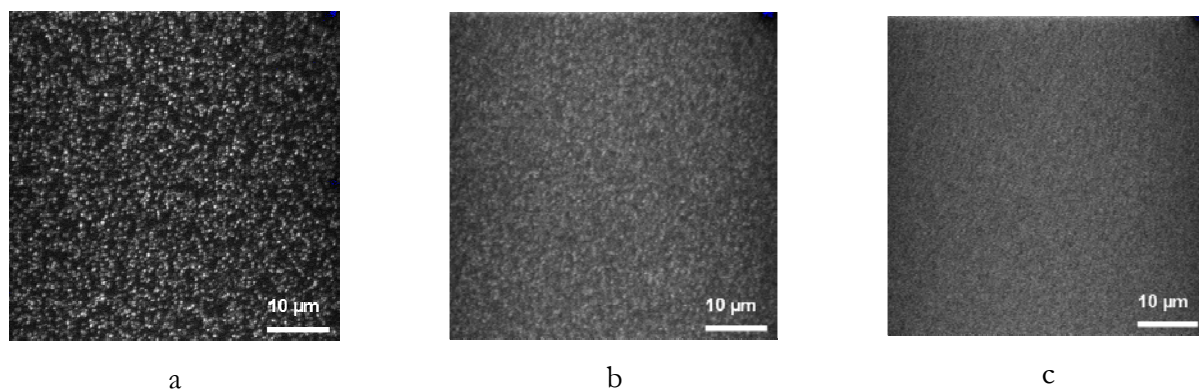


Figure II. 17 : Images obtenues par microscopie optique confocale pour un temps d'hydrolyse basique de 24 heures pour $pH = 5$ (a), $pH = 5,5$ (b) et $pH = 6$ (c)

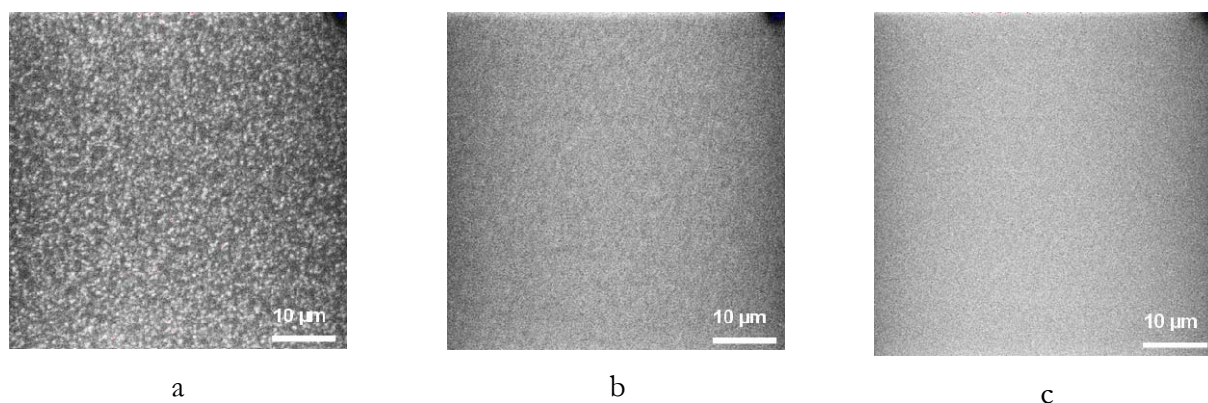


Figure II. 18 : Images obtenues par microscopie optique confocale pour un temps d'hydrolyse basique de 48 heures pour $pH = 5$ (a), $pH = 5,5$ (b) et $pH = 6$ (c)

Nous constatons que pour un temps d'hydrolyse en milieu basique fixe, la densité de nanocristaux dans la couche sol-gel augmente lorsque le pH augmente. On observe également une diminution du diamètre moyen des nanocristaux.

Effet du temps d'hydrolyse basique

La figure II.19 présente les images obtenues par microscopie optique confocale de nanocristaux de rubrène préparés à partir de la solution : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s=5$) + HCl 0, 1M ($h=0,5$) + rubrène ($d=5.10^{-3}$) hydrolysée pendant 24 heures en milieu acide à 80°C. Puis la base NH_4OH a été rajoutée avec un rapport $k=4$ ($pH=6$) et l'hydrolyse s'est poursuivie à 25°C. Les dépôts ont été faits à différents temps d'hydrolyse après l'ajout de la base t_{hb} .

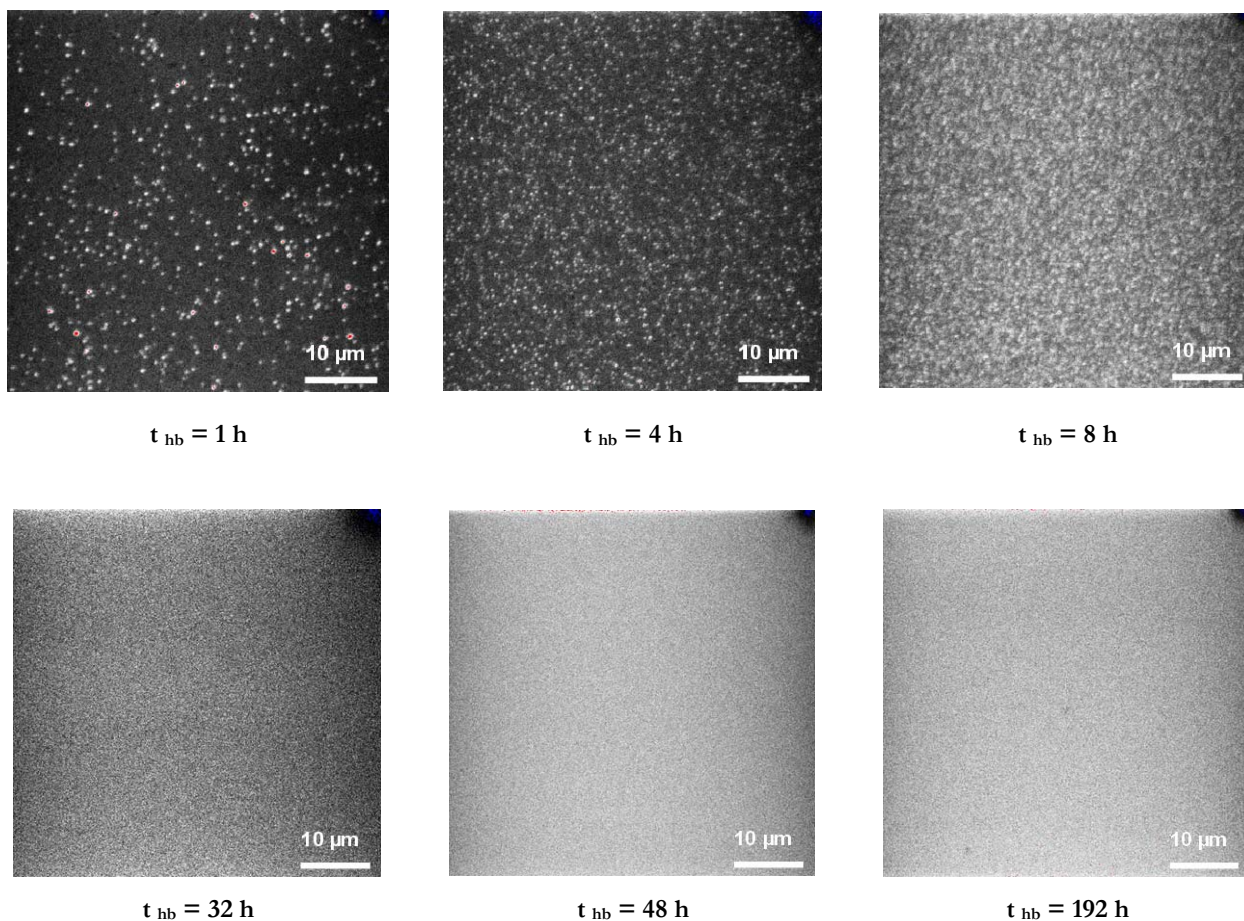


Figure II. 19 : Images en microscopie confocale de couches minces déposées à différents temps d'hydrolyse en milieu basique

Nous constatons que lorsque le temps d'hydrolyse en milieu basique augmente, la densité de nanocristaux augmente. Nous avons également mesuré la taille moyenne des nanocristaux obtenus pour chaque temps d'hydrolyse en milieu basique. Les résultats sont présentés sur la figure II.20.

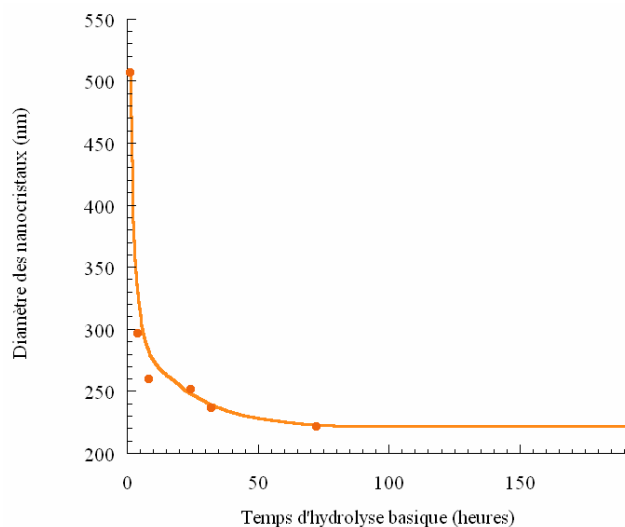


Figure II. 20 : Diamètre des nanocristaux en fonction de t_{hb} (temps après l'ajout de NH_4OH) pour un pH de la solution égal à 6

On constate qu'après 4 heures d'hydrolyse en milieu basique, le diamètre moyen des nanocristaux diminue très rapidement de 500 nm à 300 nm. En effet, juste après l'ajout de la base, le sol est dans des conditions très instables : la vitesse de condensation augmente assez rapidement (ce qui est vérifié par des temps de gélification plus courts). Ensuite, le diamètre des nanocristaux continue à diminuer mais moins rapidement lorsque l'hydrolyse en milieu basique se poursuit. Néanmoins, la résolution limite du microscope confocal nous empêche d'observer des nanocristaux dont le diamètre est inférieur à 200 nm. C'est pourquoi nous avons poursuivi cette étude par microscopie électronique en transmission. Pour expliquer l'effet de confinement spatial des nanocristaux observé, nous avons schématisé ci-dessous la structure des gels humides obtenus à pH = 1 (figure II.21a) et à pH = 5 (figure II.21b) en présence de nanocristaux.

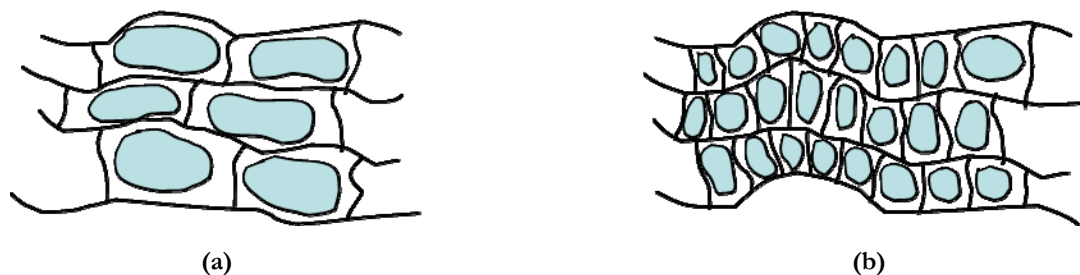


Figure II. 21 : Nanocristaux obtenus dans un gel à pH = 1 (a) et dans un gel à pH = 5 (b)

A pH très acide (inférieur au point de charge zéro de la silice), les chaînes polymères formées en solution sont peu réticulées car les réactions de condensation se font majoritairement en bout de chaîne (voir chapitre I, § 3.2.2). Ainsi on a tendance à former un gel polymérique peu interconnecté, qui se densifie beaucoup lors du séchage. La matrice sol-gel obtenue contient donc majoritairement des micropores (pores de diamètre inférieur à 2 nm). Cependant, dans le gel humide (figure II.21a), les microréacteurs de croissance cristalline en solution sont grands laissant plus de volume pour la croissance de nanocristaux lorsqu'une phase organique est mise en solution. Lorsque le pH devient supérieur au point de charge zéro de la silice, le nombre d'interconnexions dans le gel humide augmente et limite la densification lors du séchage [11]. On obtient ainsi un gel dont la porosité est plus tridimensionnelle que dans le cas de l'hydrolyse à pH = 1. Cependant, les microréacteurs de croissance cristalline en solution sont plus petits dans le gel humide par rapport à une hydrolyse-condensation en une seule étape en milieu acide donc il se forme de plus petits nanocristaux, avec une distribution de taille plus étroite (figure II.21b). En appliquant une catalyse acido-basique en deux étapes, on obtient donc une densité de nanocristaux plus importante et présentant un diamètre moyen plus petit qu'en appliquant une catalyse acide en une étape. En augmentant la quantité de base ajoutée par rapport à la quantité d'acide : la taille des nanocristaux diminue d'autant plus rapidement que le pH est élevé. Pour des couches minces sol-gel préparées à pH = 6 ($k = 4$), en seulement 4 heures d'hydrolyse basique, le diamètre des nanocristaux a déjà été divisé par deux. Ceci montre donc bien que l'augmentation du pH au-dessus du point de charge zéro de la silice permet d'améliorer le confinement spatial du processus de nanocristallisation [12]. Enfin, la figure II.20 montre qu'il est préférable d'avoir un temps d'hydrolyse basique t_{hb} le plus long possible avant de faire le dépôt en couche mince pour obtenir des conditions sol-gel stabilisées.

4. VISUALISATION PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE EN TRANSMISSION

4.1. Principe et préparation des échantillons

La microscopie électronique en transmission (MET) permet d'observer des échantillons très minces à l'aide d'un faisceau d'électrons : les électrons, émis par chauffage d'un filament de tungstène, sont accélérés par application d'une tension puis focalisés sur l'échantillon grâce à des lentilles magnétiques. Enfin, ils traversent l'échantillon et frappent un écran fluorescent. On obtient alors une image de l'échantillon. Cette technique sera présentée plus en détails au chapitre III. Les images des nanocristaux en matrice sol-gel ont été réalisées sur le microscope électronique Philips CM300 du Laboratoire de Cristallographie de Grenoble, fonctionnant à une tension accélératrice de 300 kV. La résolution maximale obtenue est de l'ordre du nanomètre. Un point clé de cette technique réside dans la préparation des échantillons qui doivent être suffisamment minces, de l'ordre de quelques centaines de

nm d'épaisseur, pour pouvoir être traversés par le faisceau d'électrons. Pour cela, nous avons déposé nos couches par spin-coating sur des lames monocristallines de NaCl clivées. Ensuite, nous avons récupéré les dépôts après dissolution du substrat NaCl dans l'eau. Le film qui flotte à la surface est placé sur une grille en cuivre. Ainsi, les dépôts et les nanocristaux organiques qui sont insolubles dans l'eau ne subissent aucune dégradation avant l'observation sous microscope électronique.

4.2. Observation des nanocristaux

Cette technique est donc bien adaptée à l'observation de nanocristaux lorsqu'on veut obtenir une bonne résolution. La figure II.22 présente les images obtenues pour deux taux de dopage organique différents.

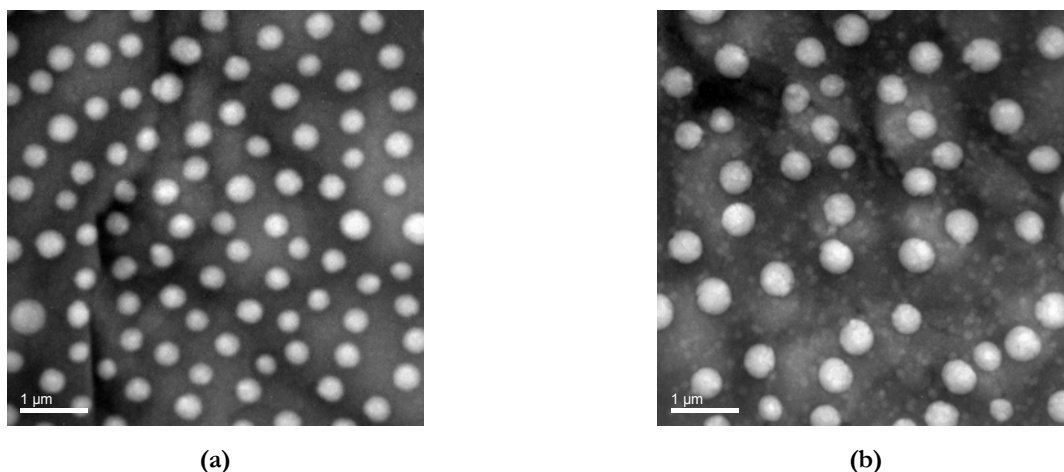


Figure II. 22 : Images par MET de nanocristaux de rubrène en matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS ($s=8$, $h=1$) pour deux taux de dopages organiques : (a) $d=1.10^{-3}$ et (b) $d=2.10^{-3}$

Quel que soit d , on observe des nanocristaux sphériques bien définis. Cette forme est bien celle attendue pour des cristaux de cette dimension, car c'est cette forme qui minimise l'énergie de surface [13]. Les nanocristaux apparaissent plus clairs que la matrice car ils possèdent des densités électroniques inférieures à celles de la matrice silicatée. Les histogrammes correspondant à ces images sont présentés sur la figure II.23.

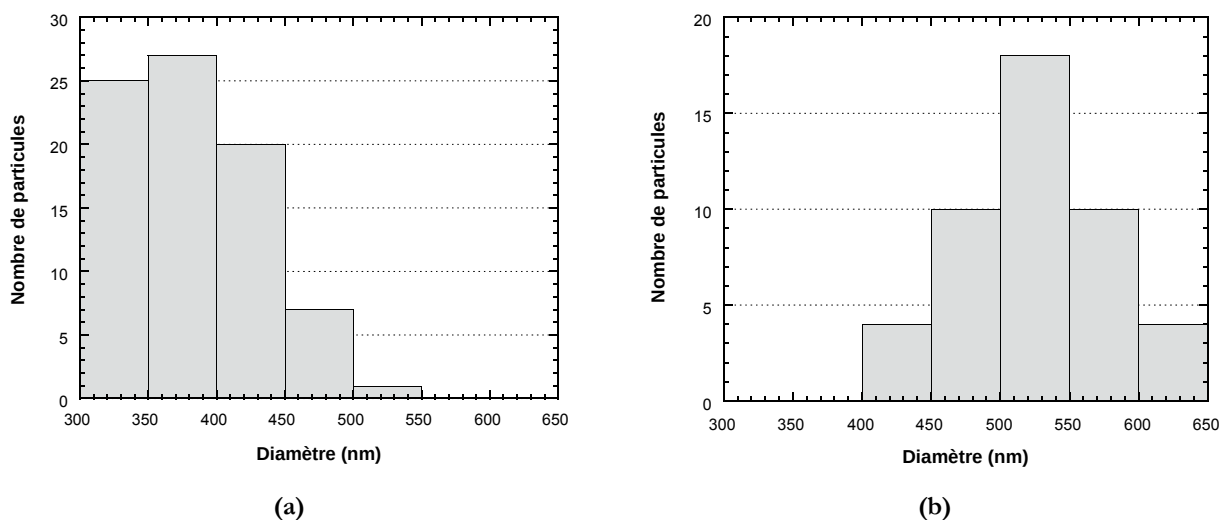


Figure II. 23 : Histogrammes correspondant aux images MET : (a) $d=1.10^{-3}$ et (b) $d=2.10^{-3}$

Les nanocristaux ont donc une distribution de taille assez étroite, centrée autour de 350 nm pour $d = 1.10^{-3}$ et autour de 500 nm pour $d = 2.10^{-3}$. Ces nanocristaux étant suffisamment gros pour être observés par microscopie confocale, nous avons vérifié leur taille par cette autre technique et nous avons obtenu les mêmes résultats. La microscopie électronique en transmission permet donc d'obtenir une meilleure résolution que les microscopies optiques classiques. Cette technique nous a donc aussi permis de visualiser des nanocristaux de plus petite taille avec une très bonne résolution spatiale (figure II.24). Dans le chapitre III, nous montrerons que par MET, on peut observer avec une bonne résolution des nanocristaux jusqu'à 10 nm de diamètre.

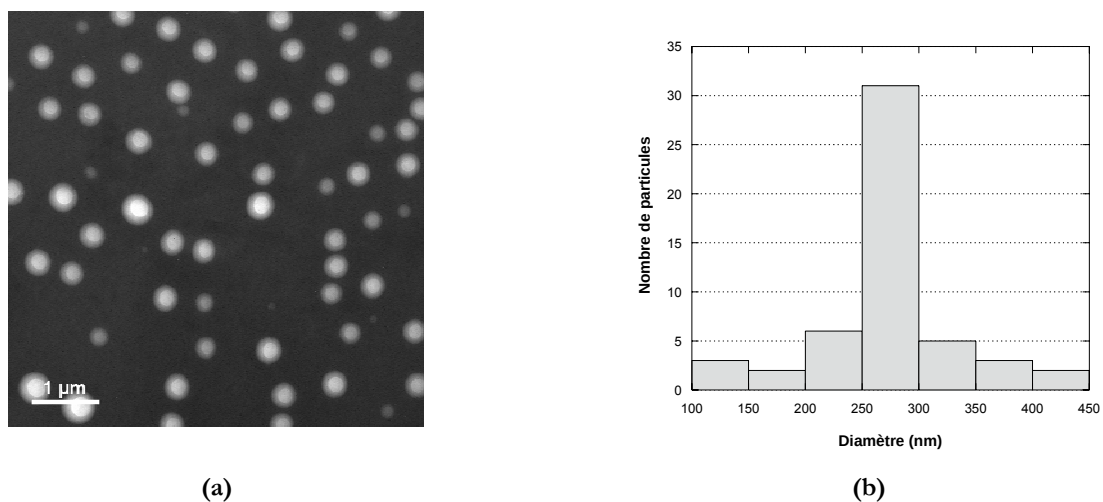


Figure II. 24 : Images par MET (a) de nanocristaux de rubrène en matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS ($s=8$, $h=1$) pour un taux de dopage organique $d = 4.10^{-4}$ et histogramme correspondant (b)

5. EPAISSEURS DES COUCHES SOL-GEL PREPAREES A PARTIR DU PRECURSEUR TMSE

Pour des paramètres de centrifugation fixés, les couches préparées à partir d'un mélange équimolaire 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS en catalyse acide ont une épaisseur comprise entre 500 nm pour des couches préparées à $s=5$ et 250 nm pour $s=10$. Dans ce cas, l'épaisseur varie peu en fonction du temps d'hydrolyse à 80°C. Dans ce travail de thèse, les matrices sol-gel préparées à partir du précurseur TMSE se sont avérées plus intéressantes pour des applications de capteurs, comme nous le verrons au chapitre IV, § 6. C'est pourquoi dans ce paragraphe, nous nous intéressons plus particulièrement à l'épaisseur de couches minces préparées à partir de TMSE et de différentes quantités de TMOS. Pour ce type de solutions, le temps d'hydrolyse à 80°C est un paramètre important puisque, comme nous l'avons vu au chapitre I, § 3.5.1, l'hydrolyse des matrices sol-gel préparées avec TMSE est beaucoup plus rapide que l'hydrolyse des matrices 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS. Les solutions de départ sont composées d'un mélange : TMSE + n TMOS + THF ($s=7$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$). La quantité n de TMOS varie de 0 à 3. L'hydrolyse en milieu acide (de 1h à 18h) a été réalisée à 80°C. Les épaisseurs ont été mesurées par profilométrie sur l'appareil Dektat 32 situé à Nanofab, au CNRS de Grenoble. Les résultats sont présentés figure II.25.

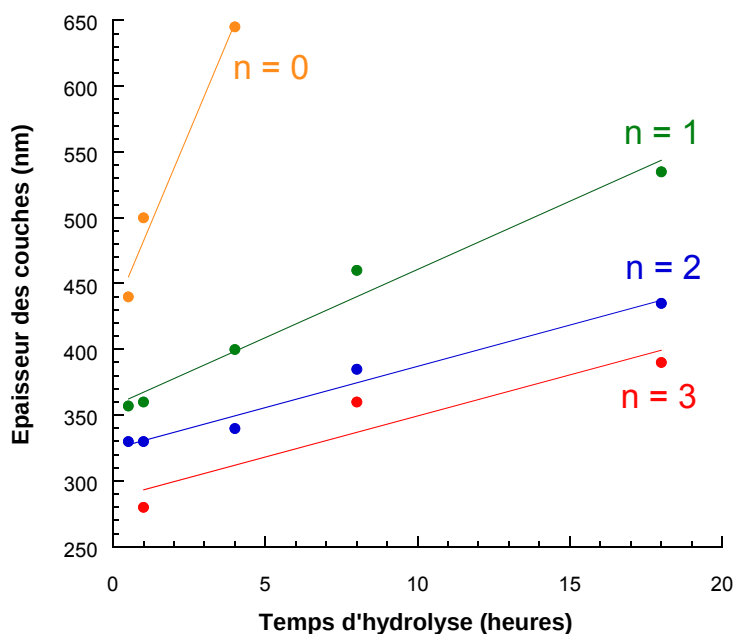


Figure II. 25 : Epaisseur des couches en fonction du temps d'hydrolyse des couches sol-gel TMSE + n TMOS

On constate que l'épaisseur augmente d'autant plus vite avec le temps d'hydrolyse que la quantité n de TMOS est faible. En effet, l'épaisseur mesurée est liée à la viscosité des solutions qu'on dépose, et donc

au temps de gélification. Pour $n = 0$, la solution est si rapidement visqueuse qu'elle gélifie entre 6 h et 8 h d'hydrolyse à 80°C. Cette gélification rapide est due à l'hydrolyse-condensation du précurseur TMSE plus rapide que celle du précurseur TMOS. En effet, le nombre de fonctions hydrolysables dans TMSE (6 fonctions $-OCH_3$) est plus important que dans TMOS (4 fonctions $-OCH_3$). De plus, l'hydrolyse de TMSE est favorisée par l'effet inductif donneur provenant des groupements méthyls de l'espaceur organique. Ceci nous permet de mettre en évidence le rôle de TMOS en tant qu'agent réticulant. En effet, lorsque le précurseur TMSE est seul, la condensation (donc la polymérisation) est très rapide puisque chaque molécule possède 6 fonctions alcoxydes. Ainsi, la viscosité du sol et par conséquent l'épaisseur des couches augmentent rapidement avec le temps d'hydrolyse. En présence de TMOS, on limite la condensation de TMSE avec lui-même, et on crée des interconnexions entre les chaînes polymères de TMSE. Ainsi, en rajoutant du TMOS en co-condensation avec TMSE, on diminue la vitesse de polymérisation du sol en gel, on diminue donc la viscosité des sols et l'épaisseur des couches augmente moins rapidement. Ainsi pour préparer des couches sol-gel à partir du précurseur TMSE, nous avons choisi des temps d'hydrolyse à 80°C plus courts qu'en matrice TMOS / MTMOS pour éviter une gélification trop rapide.

CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons montré l'intérêt de notre méthode d'élaboration pour obtenir une croissance confinée des nanocristaux dans la matrice sol-gel. Pour cela, nous avons d'abord préparé des cristaux non supportés par la matrice sol-gel. La préparation de ce type de cristaux s'avère très importante dans l'étude des propriétés de capteurs que nous présenterons au chapitre IV. En effet, la matrice sol-gel peut jouer le rôle de filtre en taille, charge et polarité contre les interactions non spécifiques. Il faut donc préalablement s'affranchir de son effet pour sélectionner les meilleurs fluorophores. Par ailleurs, la préparation de cristaux non supportés nous a permis de mettre en évidence les différences des processus de nucléation-croissance en solution libre et dans des matrices sol-gel. En solution libre, on obtient, lorsque c'est possible, des microcristaux très polydisperses, d'autant plus qu'on augmente la concentration de molécules organiques dissoutes dans le solvant. En revanche, en matrice sol-gel, on parvient à obtenir une distribution étroite de nanocristaux grâce à l'application d'une sursaturation très élevée.

L'imagerie des nanocristaux réalisée par microscopie confocale nous a permis de mettre en évidence le rôle joué par les différents paramètres d'élaboration sur la distribution des nanocristaux dans la matrice sol-gel. Ainsi, selon la solubilité du fluorophore dans le solvant utilisé, les répartitions des nanocristaux dans la matrice sol-gel peuvent être assez différentes en densité. Par ailleurs, selon le type de précurseur sol-gel, il peut exister des interactions fluorophore-matrice qui favorisent ou non la nanocristallisation dans les pores du gel humide. L'utilisation de TMOS en tant qu'agent réticulant permet aussi d'aboutir à différentes tailles de nanocristaux en modifiant la taille des réacteurs de croissance cristalline en solution. Ensuite, nous avons montré l'influence des conditions d'hydrolyse-condensation sur la nanocristallisation des fluorophores organiques. Un taux d'hydrolyse inférieur ou égal à 1 en milieu acide permet d'obtenir des couches et une nanocristallisation homogène. Une catalyse d'hydrolyse-condensation en deux étapes (acide puis basique) améliore sensiblement le confinement spatial des nanocristaux dans la matrice sol-gel. Nous avons aussi utilisé la microscopie électronique en transmission qui nous a permis d'observer des nanocristaux sphériques bien définis et ce jusqu'à des tailles de l'ordre de 50 nm. Cette technique pourra donc être utilisée lorsque la microscopie confocale ne sera plus utilisable pour des problèmes de résolution. Enfin, nous avons mesuré l'influence du temps d'hydrolyse en température sur l'épaisseur des couches sol-gel préparées à partir du mélange TMSE + 2 TMOS. Nous avons montré que des temps d'hydrolyse courts étaient préférables avec ce type de matrice si on veut éviter une gélification trop rapide du sol. Nous allons maintenant dans le chapitre suivant utiliser la microscopie électronique en transmission en mode diffraction pour caractériser la qualité cristalline et la structure des nanocristaux.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

- [1] Minsky, M., *Microscopy Apparatus*, . 1957, 3073467: US Patent.
- [2] LaMer, V. K., "Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols", J. Am. Chem. Soc., **72**, 4847-4854, 1950
- [3] Boury, B.; Corriu, R. J. P., "Auto-organisation of hybrid organic-inorganic materials prepared by sol-gel process", Chem. Commun., , 795-802, 2002
- [4] Cerveau, G.; Corriu, R. J. P.; Framery, E., "Sol-gel process: influence of the temperature on the textural properties of organosilsesquioxane materials", J. Mater. Chem., **10**, 1617-1622, 2000
- [5] McGaughey, G. B.; Gagné, M.; Rappé, A. K., "Pi-Stacking interactions", J. Biol. Chem., **273**, 15458-15463, 1998
- [6] Sanz, N.; Boudet, A.; Ibanez, A., "Melting behavior of organic nanocrystals grown in sol-gel matrices", J. Nanopart. Res., **4**, 99-105, 2002
- [7] Sanz, N.; Zaccaro, J.; Delmotte, L.; Le Luyer, C.; Ibanez, A., "Preparation and Characterization of N-4-Nitrophenyl-L-prolinol Nanocrystals in Sol-Gel Matrices", J. Sol. State Chem., **165**, 25-34, 2002
- [8] Scion Corporation - <http://www.scioncorp.com>
- [9] Brinker, C. J.; Keefer, K. D.; Schaefer, D. W.; Ashley, C. S., "Sol-Gel transition in simple silicates", J. Non-Cryst. Solids, **48**, 47-64, 1982
- [10] Boonstra, A. H.; Bernards, T. N. M., "The dependence of the gelation time on the hydrolysis time in a two-step SiO₂ sol-gel process", J. Non-Cryst. Sol., **105**, 207-213, 1988
- [11] McDonagh, C.; Bowe, P.; Mongey, K.; MacCraith, B. D., "Characterisation of porosity and sensor response times of sol-gel derived thin films for oxygen sensor applications", J. Non-Cryst. Solids, **306**, 138-148, 2002
- [12] Monnier, V.; Sanz, N.; Botzung-Appert, E.; Bacia, M.; Ibanez, A., "Confined nucleation and growth of organic nanocrystals in sol-gel matrices", J. Mater. Chem., **16**, 1401-1409, 2006
- [13] Myerson, A. S.; Izmailov, A. F., *Chapter 5 - The structure of supersaturated solutions, Handbook of Crystal Growth*, E.S. Publishers, Editor. 1993. p. 262-267.

Chapitre III

CARACTERISATION DE LA CRISTALLINITE DES NANOPARTICULES ORGANIQUES

PLAN DU CHAPITRE III

INTRODUCTION	89
1. METHODES DE CARACTERISATION.....	89
1.1. Preuves indirectes de la cristallinité.....	89
1.2. La diffraction des rayons X	90
1.3. La diffraction électronique	90
1.3.1. Interaction électrons-matière	90
1.3.2. La diffraction électronique en microscopie électronique en transmission	91
1.3.3. Configuration du MET pour la diffraction : mode « sélection d'aire »	93
2. ETUDE PREALABLE DES DIFFERENTES FORMES CRISTALLINES DES FLUOROPHORES ORGANIQUES OBTENUES EN SOLUTIONS LIBRES.....	95
2.1. Le rubrène.....	95
2.1.1. Etude bibliographique des phases cristallines du rubrène.....	95
2.1.2. Comparaison des phases cristallines du rubrène obtenues par diffraction des rayons X.....	96
2.2. Le tétracène.....	97
2.2.1. Etude bibliographique des polymorphes du tétracène.....	97
2.2.2. Comparaison des phases cristallines du tétracène obtenues par diffraction des rayons X	98
3. ETUDE DE LA CRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR DIFFRACTION ELECTRONIQUE	99
3.1. Imagerie des micro et des nanocristaux par MET	99
3.1.1. Imagerie des microcristaux non supportés de rubrène et de tétracène	99
3.1.2. Imagerie des nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel.....	100
3.1.3. Imagerie des nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel.....	101
3.2. Conditions expérimentales du MET en mode diffraction	102
3.2.1. Procédure « low-dose ».....	102
3.2.2. Adaptation de la procédure au microscope du Laboratoire de Cristallographie.....	103
3.2.3. Indexation des figures de diffraction.....	104
3.3. Diffraction électronique des cristaux de rubrène	104
3.3.1. Microcristaux de rubrène	104
3.3.2. Nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel.....	106
3.4. Diffraction électronique des cristaux de tétracène.....	108
3.4.1. Stabilité des microcristaux de tétracène sous faisceau d'électrons.....	108
3.4.2. Microcristaux de tétracène	110
3.4.3. Nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel.....	113
4. ETUDE DE LA MONOCRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE BIPHOTONIQUE RESOLUE EN POLARISATION.....	115
4.1. Fluorescence à deux photons	115
4.2. Montage expérimental	116
4.3. Cartographie de fluorescence à deux photons.....	117
4.4. Diagrammes polaires des nanocristaux	118
CONCLUSION.....	121
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III.....	123

INTRODUCTION

Notre but est de concevoir un nouveau type de nanocapteur fluorescent présentant une plus grande sensibilité de détection. Pour cela, il faut que la fonction de signalisation possède de meilleures propriétés de fluorescence et soit plus photostable que des molécules fluorescentes actuellement utilisées qui sont simplement dispersées dans un support. Le fait d'avoir des nanoparticules sous forme cristallisée contribue beaucoup à l'amélioration de ces propriétés. De plus, nous montrerons au chapitre IV que, dans un nanocristal, on observe une délocalisation partielle de l'excitation lumineuse, due à une meilleure diffusion de proche en proche entre molécules fluorescentes. Un nanocristal excité par un rayonnement lumineux tend donc à se comporter comme un émetteur unique de fluorescence, tout en présentant une luminosité nettement supérieure à une seule molécule fluorescente. Nous devons donc connaître la structure de ces très petites particules pour mettre en évidence des corrélations entre leur cristallinité et leurs propriétés optiques. C'est pourquoi nous consacrerons ce chapitre aux premières caractérisations de la cristallinité des nanoparticules organiques que nous avons élaborées dans cette étude.

1. METHODES DE CARACTERISATION

La caractérisation et la mise en évidence de nanocristaux organiques sont très délicates à mettre en œuvre. C'est certainement pour cela que très peu de travaux ont été réalisés jusqu'à présent dans ce domaine [1, 2]. Cette difficulté de caractériser les nanocristaux moléculaires est due au fait que ces particules sont constituées d'éléments légers et sont relativement instables sous différents types de faisceaux (lumière UV, rayons X, laser, électrons,...). Dans notre cas, l'étude de la cristallinité des nanoparticules organiques est rendue difficile d'une part car celles-ci sont dispersées dans une matrice amorphe présentant une densité électronique très faiblement supérieure à celle des nanocristaux ; d'autre part, à cause de leur petite taille. En effet, la sensibilité des nanoparticules à l'environnement est améliorée lorsque leur taille diminue, comme nous le verrons au chapitre IV, § 6. Ainsi, nous devons caractériser des nanoparticules dont le diamètre est compris entre 10 et 100 nm.

1.1. Preuves indirectes de la cristallinité

Dans notre équipe, il a déjà été démontré par microcalorimétrie différentielle (DSC) que des nanoparticules organiques incluses dans des gels massifs présentaient un point de fusion. Ceci a permis de démontrer que ces particules, dont la taille était comprise entre 12 et 23 nm, étaient cristallisées [3]. D'autre part, les spectroscopies d'absorption et de luminescence ont aussi été utilisées pour identifier différentes phases cristallines dans des nanocristaux en gels massifs [4]. Enfin, la cristallinité de

nanocristaux non-centrosymétriques a également été prouvée en utilisant des techniques de microscopie non-linéaire polarisée qui combinent la fluorescence par excitation à deux photons et la génération de seconde harmonique [5, 6]. Néanmoins, ces expériences ont seulement contribué à apporter des preuves de la cristallinité des nanoparticules mais n'ont pas permis de déterminer leur structure cristalline.

1.2. La diffraction des rayons X

En diffraction de rayons X classique, d'une part, les raies de diffraction sont élargies à cause de la taille nanométrique des particules. D'autre part, le faible contraste de densité électronique entre les nanocristaux et la matrice ne permet pas d'extraire les raies de diffraction des nanocristaux organiques des anneaux de diffusion de la matrice amorphe silicatée [7]. Par contre, la diffraction électronique en transmission (MET en mode diffraction) permet d'avoir un faisceau focalisé sur l'objet diffractant ou au moins sur une zone de quelques dizaines de microns de l'échantillon. Cette technique est donc bien adaptée à l'étude de la cristallinité de nanoparticules.

1.3. La diffraction électronique

1.3.1. Interaction électrons-matière

Un électron de charge e , accéléré par une tension V , a une longueur d'onde associée égale à :

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_0 eV}}$$

où h est la constante de Planck qui vaut $6,6261.10^{-34}$ J.s et m_0 est la masse d'un électron qui vaut $9,1094.10^{-31}$ kg. Cependant, pour des tensions d'accélération élevées (supérieures à 100 keV), les électrons ont un déplacement relativiste donc il faut tenir compte de la correction de relativité de la masse :

$$m = \frac{m_0}{1 - \frac{v^2}{c^2}}$$

où v est la vitesse de l'électron et c est la vitesse de la lumière. Ce qui donne numériquement pour la longueur d'onde associée :

$$\lambda = \frac{0,387}{\sqrt{V(1 + 0,979.10^{-3} V)}}$$

avec λ en Å et V en kV. Ainsi, pour quelques valeurs usuelles de la tension d'accélération, on obtient les longueurs d'onde suivantes :

V (kV)	100	200	300	400
λ (Å)	0,037	0,025	0,0196	0,0164

L'interaction des électrons avec la matière est plus forte que celle des rayons X. Les échantillons que nous souhaitons étudier en mode diffraction doivent donc être très minces pour que l'absorption des électrons ne soit pas trop élevée. La diffusion des électrons peut se faire soit sans perte d'énergie (diffusion élastique) soit avec perte d'énergie (diffusion inélastique). Il y aura interaction élastique lorsque la distance d'interaction est grande vis-à-vis des dimensions de l'atome. Alors, l'interaction a lieu entre l'électron et l'atome dans son ensemble. La diffusion élastique, également appelée diffusion cohérente, conserve la cohérence du rayonnement : elle peut donc conduire à des phénomènes d'interférences et de diffraction. Comme la masse de l'électron est très petite par rapport à celle de l'atome, le transfert relatif d'énergie est très faible. La longueur d'onde associée est donc conservée en première approximation. Cependant, l'énergie cédée à l'atome produit les effets suivants, par ordre d'énergie croissante :

- effet thermique
- effet chimique : rupture des liaisons faibles, du type Van der Waals
- effet de déplacement atomique : rupture des liaisons fortes (liaisons covalentes) et formation de radicaux libres pouvant conduire à l'amorphisation du matériau

Lorsque la distance d'interaction est du même ordre de grandeur que le rayon de l'atome concerné par l'interaction, il y a diffusion inélastique entre l'électron incident et les électrons du nuage électronique de l'atome. Comme ce sont des particules de même masse, il peut y avoir un transfert d'énergie non négligeable. La longueur d'onde n'est pas conservée lors de l'interaction donc on n'obtient pas de phénomènes d'interférences et de diffraction.

1.3.2. La diffraction électronique en microscopie électronique en transmission

La diffraction des électrons correspond à la diffusion élastique de ces électrons par un ensemble périodique d'atomes. La théorie de la diffraction des électrons est identique à celle des rayons X. On définit le vecteur d'onde $\vec{k}_0$ qui permet d'indiquer simultanément la direction de propagation et la longueur d'onde ($|\vec{k}_0| = \frac{1}{\lambda}$). Les directions dans lesquelles il y aura diffraction seront données par l'intersection d'une sphère de rayon $\frac{1}{\lambda}$, appelée sphère d'Ewald, avec les sphères de rayon

$\left| \vec{k}_{hkl} \right| = \frac{1}{d_{hkl}}$ définissant les nœuds du réseau réciproque, l'origine du réseau réciproque étant placée à l'extrémité du vecteur d'onde incident $\vec{k}_0$ (figure III.1).

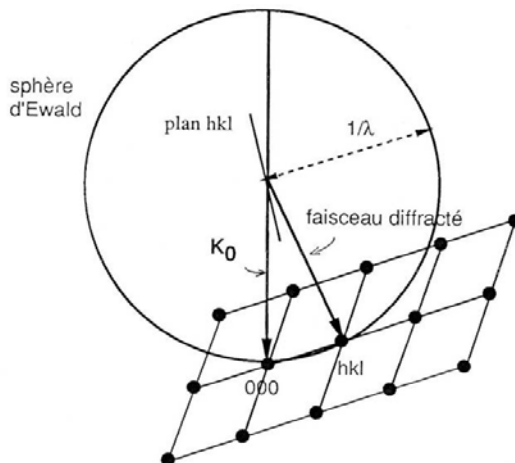


Figure III. 1 : Schématisation de la sphère d'Ewald

La spécificité de la diffraction électronique en MET réside dans le fait que les longueurs d'onde des électrons sont très petites par rapport aux paramètres cristallins usuels : $\frac{\lambda}{d_{hkl}} \ll 1$. Par conséquent, le rayon de la sphère d'Ewald est très grand devant les paramètres du réseau réciproque (de l'ordre de 100 fois plus grand). De plus, l'amplitude des facteurs de diffusion atomique pour les électrons variant en $\frac{1}{(\sin \theta)^2}$, leur décroissance est donc nettement plus rapide en fonction de θ que celle des rayons X. Par conséquent, on peut considérer en première approximation que dans le domaine où les réflexions ont une intensité appréciable, la sphère d'Ewald peut être assimilée à son plan tangent (figure III.2).

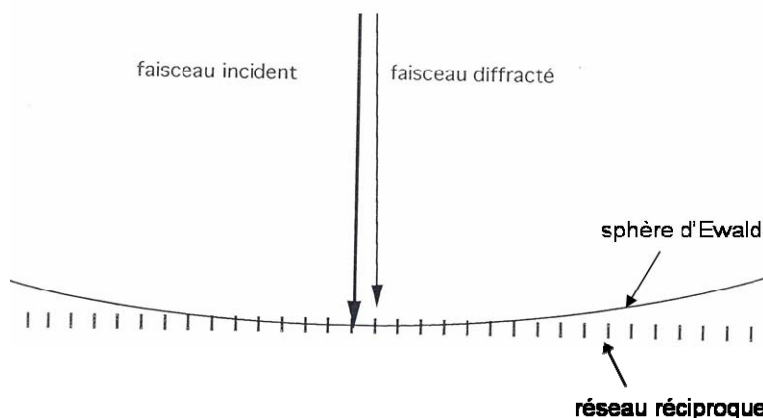


Figure III. 2 : Sphère d'Ewald assimilée à son plan tangent en diffraction électronique

De plus, comme le rayon de la sphère d'Ewald est grand devant la distance séparant les plans du réseau réciproque, celle-ci coupe plusieurs plans parallèles du réseau réciproque. Ceux-ci apparaissent donc sous formes de zones circulaires concentriques appelées zones de Laue (figure III.3).

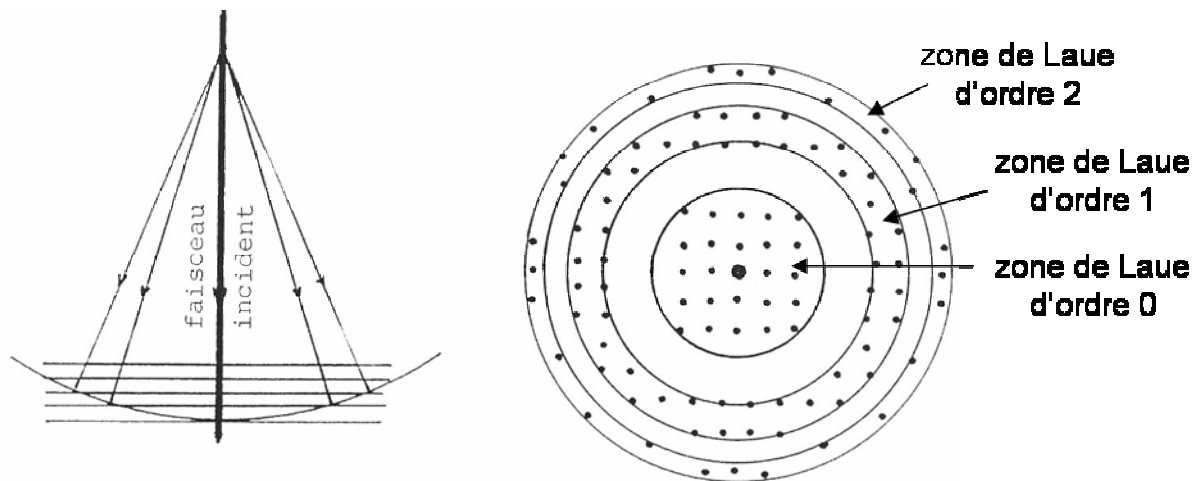


Figure III. 3 : Sphère d'Ewald coupant plusieurs plans du réseaux réciproques et figure de diffraction correspondante

Les zones de Laue sont nommées suivant leur rayon par rapport à la tâche centrale : ainsi, la zone centrale est appelée zone de Laue d'ordre 0, la première couronne de tâches zone de Laue d'ordre 1, ...etc. L'observation des zones de Laue sur les figures de diffraction nous permet de savoir si la direction du faisceau incident est perpendiculaire à une famille de plans réticulaires du réseau réciproque. Si tel est le cas, les zones de Laue sont centrées sur la tâche centrale, correspondant au faisceau incident, et la figure de diffraction est parfaitement symétrique, comme sur la figure III.3 : on dit alors que le faisceau incident est orienté suivant un axe de zone. Si par contre, le cristal est légèrement désorienté par rapport à un axe de zone, la figure de diffraction ne sera plus symétrique et les zones de Laue ne seront plus centrées sur le faisceau incident.

1.3.3. Configuration du MET pour la diffraction : mode « sélection d'aire »

Les images et les diffractions correspondantes ont été enregistrées en mode « sélection d'aire » (SAD en anglais pour « Selected Area Diffraction »). Cette technique consiste à faire diffracter l'échantillon à l'aide d'un faisceau d'électrons parallèle. On place un diaphragme de sélection d'aire de 4 μm de diamètre dans le plan focal image de la lentille objectif. On limite ainsi la zone diffractante. Lorsque les plans $h\ k\ l$ sont en position de Bragg θ , une partie des électrons incidents est transmise sans être déviée alors qu'une autre partie est diffractée sous un angle 2θ par rapport au faisceau incident. La figure de diffraction est projetée ensuite sur un écran fluorescent sur lequel on observe les tâches de diffraction (figure III.4).

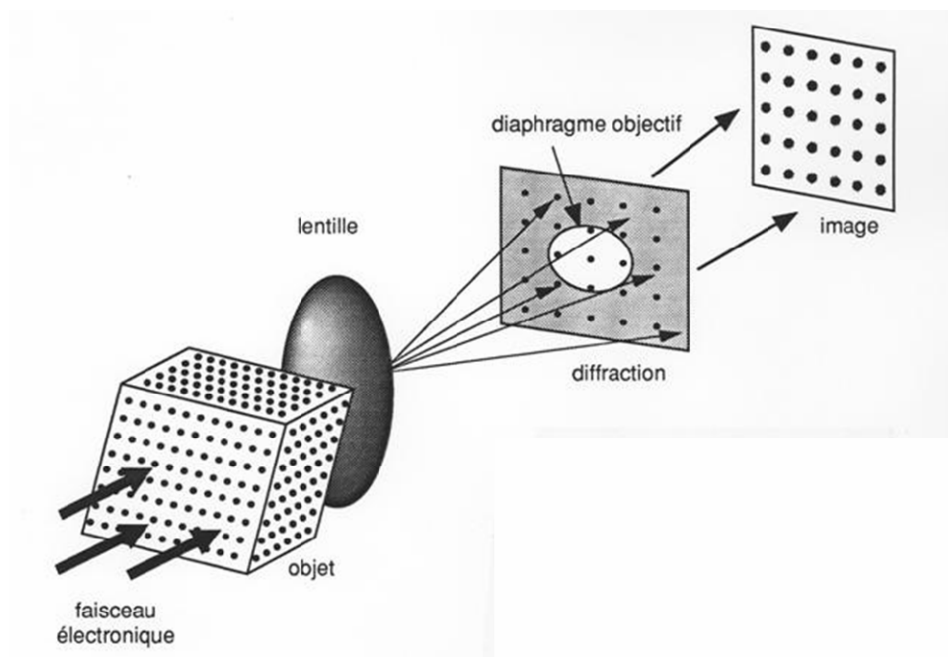


Figure III. 4 : Schéma de la configuration du microscope électronique en mode diffraction

2. ETUDE PREALABLE DES DIFFERENTES FORMES CRISTALLINES DES FLUOROPHORES ORGANIQUES OBTENUES EN SOLUTIONS LIBRES

2.1. Le rubrène

2.1.1. Etude bibliographique des phases cristallines du rubrène

Les études donnant la structure cristalline du rubrène ont conduit à des résultats différents selon le type de recristallisation. Le tableau suivant résume les structures trouvées dans les bases de données du logiciel Cambridge Structural Database (CSD).

Méthode d'obtention des cristaux de rubrène	Système cristallin	Groupe d'espace	Paramètres de maille	Référence bibliographique, année de la publication
Recristallisé dans l'acide acétique	Triclinique	<i>P1</i>	a = 7,16 Å b = 9,15 Å c = 14,65 Å $\alpha = 52,2^\circ$ $\beta = 115,24^\circ$ $\gamma = 112,58^\circ$	[8], 1962
Purifié par chromatographie puis par sublimation	Orthorhombique	<i>Aba2</i> ou <i>Acam</i>	a = 14,44 Å b = 7,18 Å c = 26,97 Å	[9], 1971
Non précisée	Orthorhombique	<i>Bbam</i>	a = 7,184 Å b = 14,433 Å c = 26,897 Å	[10], 1983

Les deux références [9] et [10], correspondent à la même variété de rubrène. En effet, les deux groupes d'espace *Bbam* et *Acam* sont deux alternatives non standard du groupe d'espace *Cmca* (n° 64). L'étude structurale complète effectuée dans la référence [10] ne semble pas contestable, donc l'incertitude sur le groupe, *Aba2* ou *Acam*, dans la référence [9], n'est pas à retenir. Le groupe triclinique *P1* de la référence [8] n'a pas été vérifié par une étude structurale complète.

Il apparaît donc probable que deux systèmes cristallins et groupes d'espaces (*Bbam* et *P1*) sont obtenus pour le rubrène selon la méthode de recristallisation utilisée. Ainsi, le rubrène semble présenter un phénomène de polymorphisme, ce qui est souvent le cas pour les molécules organiques [11]. Nous avons donc comparé ces résultats antérieurs à nos différents essais de recristallisation du rubrène.

2.1.2. Comparaison des phases cristallines du rubrène obtenues par diffraction des rayons X

Afin de prévoir les phases cristallines que nous pourrions obtenir pour des nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel, nous avons tout d'abord fait des essais de recristallisation en solution libre de THF de la poudre de rubrène sous différentes conditions de sursaturation. Ainsi, la poudre organique a été placée dans un cristallisateur et dissoute dans THF. Puis deux types de sursaturation ont été appliquées : une faible sursaturation obtenue par évaporation lente du THF de plusieurs jours en laissant le cristallisateur sur la paillasse à température ambiante ; une forte sursaturation obtenue par évaporation rapide du THF en plaçant le cristallisateur sous une hotte aspirante. Dans le cas d'une évaporation lente, des microcristaux en formes de plaquettes sont obtenus en quatre jours. Dans le cas d'une évaporation rapide, des agrégats de fines aiguilles en forme « d'oursins » sont obtenus en deux heures. Ceci met d'emblée en évidence le rôle de la sursaturation sur la taille et la morphologie des cristaux. Nous comparons sur la figure III.5 le diffractogramme de rayons X sur poudre du rubrène simulé pour un groupe d'espace *Bbam* dans un système cristallin orthorhombique (courbe a) aux diffractogrammes obtenus pour une poudre commerciale de rubrène pure à 99% (Acros Organics) (courbe b) et pour des cristaux obtenus par évaporation rapide (courbe c) et lente (courbe d).

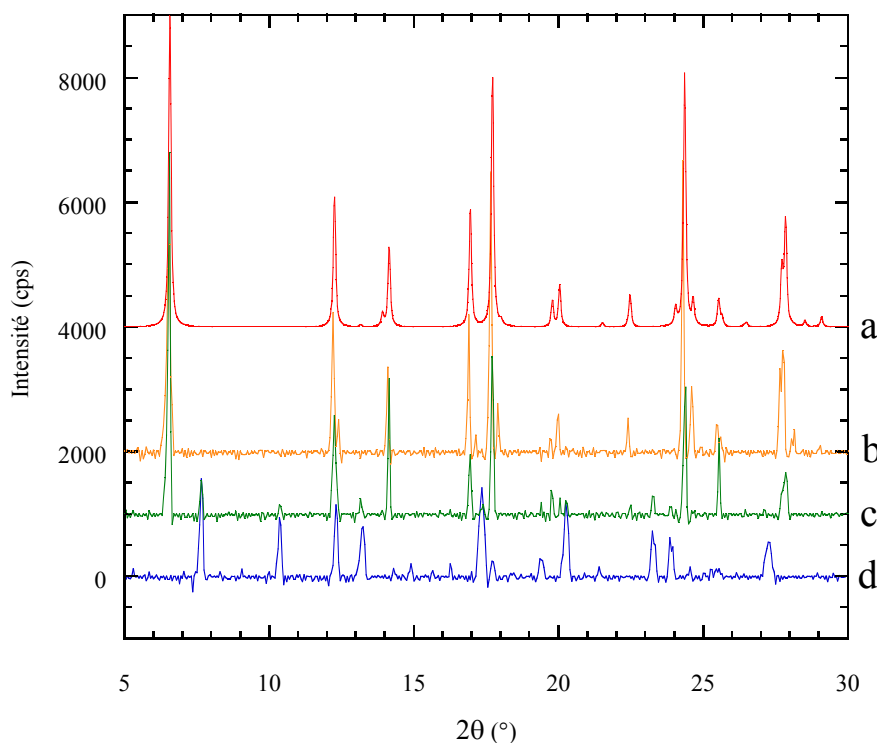


Figure III. 5 : Diffractogramme sur poudre du rubrène simulé pour un groupe d'espace *Bbam* (a) comparé aux diffractogrammes obtenus pour le rubrène pur à 99% (b), recristallisé rapidement dans THF (c), recristallisé lentement dans THF (d)

Seule la poudre de rubrène commerciale (courbe b) a exactement la structure Bbam (courbe a). Pour les cristaux obtenus par recristallisation rapide (courbe c), on observe quelques raies supplémentaires qui sont probablement dues au fait qu'on a un mélange du polymorphe Bbam avec une autre forme cristalline. Quant aux cristaux obtenus par recristallisation lente (courbe d), ils ont un diffractogramme très différent du diffractogramme simulé. Nous présentons en annexe A § 1 la structure orthorhombique Bbam du rubrène projetée selon les trois axes du réseau cristallin.

2.2. Le tétracène

2.2.1. Etude bibliographique des polymorphes du tétracène

De même que pour le rubrène, nous avons commencé par faire une étude bibliographique de la structure cristalline du tétracène en utilisant le logiciel CSD. Les structures répertoriées sont résumées dans le tableau suivant.

Méthode d'obtention des cristaux de tétracène	Système cristallin	Groupe d'espace	Paramètres de maille	Référence bibliographique, année de la publication
Purifié par sublimation	Triclinique	Non précisé	$a = 6,02 \text{ \AA}$ $b = 7,94 \text{ \AA}$ $c = 13,5 \text{ \AA}$ $\alpha = 67,5^\circ$ $\beta = 80,4^\circ$ $\gamma = 92,4^\circ$	[12], 1936
Purifié par sublimation	Triclinique	$P1$ ou $P\bar{1}$	$a = 6,14 \text{ \AA}$ $b = 7,98 \text{ \AA}$ $c = 13,57 \text{ \AA}$ $\alpha = 113,2^\circ$ $\beta = 101,3^\circ$ $\gamma = 87,5^\circ$	[13], 1961
Purifié par sublimation	Triclinique	$P\bar{1}$	$a = 6,03 \text{ \AA}$ $b = 7,90 \text{ \AA}$ $c = 13,53 \text{ \AA}$ $\alpha = 113,2^\circ$ $\beta = 100,3^\circ$ $\gamma = 86,3^\circ$	[14], 1962
Recristallisé dans le trichlorobenzène	Triclinique	$P\bar{1}$	$a = 6,0565 \text{ \AA}$ $b = 7,8376 \text{ \AA}$ $c = 13,0104 \text{ \AA}$ $\alpha = 77,127^\circ$ $\beta = 72,118^\circ$ $\gamma = 85,792^\circ$	[15], 1999

Les trois premières études ([12], [13], [14]) conduisent au même système cristallin et à la même maille. L'étude structurale complète menée dans la référence [14] confirme le groupe d'espace $P\bar{1}$ sans

ambiguïté. La référence [15], plus récente (1999), d'un cristal obtenu dans le trichlorobenzène indique aussi le groupe $P\bar{1}$ avec des paramètres de maille légèrement différents ; le volume de maille est égal à $572,97 \text{ \AA}^3$ alors qu'il est égal à $583 \text{ \AA}^3$ dans la référence [14]. L'étude de 1999 étant beaucoup plus précise que celle de 1962, il semble évident que toutes ces références proposent la même structure cristalline et que le tétracène ne présente pas de polymorphisme. Le tétracène paraît donc être un candidat relativement simple et adapté à une première étude en diffraction électronique puisqu'on a une forte probabilité d'obtenir des nanocristaux de tétracène possédant une structure triclinique avec un groupe d'espace $P\bar{1}$. Nous présentons en annexe A § 2 la structure triclinique $P\bar{1}$ du rubrène projetée selon les trois axes du réseau cristallin.

2.2.2. Comparaison des phases cristallines du tétracène obtenues par diffraction des rayons X

Nous comparons sur la figure III.6 le diffractogramme sur poudre du tétracène simulé pour un groupe d'espace $P\bar{1}$ dans un système cristallin triclinique (courbe a) aux diffractogrammes obtenus pour une poudre commerciale de tétracène pur à 98% (Aldrich) (courbe b), pour des cristaux obtenus par recristallisation rapide dans THF (courbe c) et par évaporation lente dans THF (d).

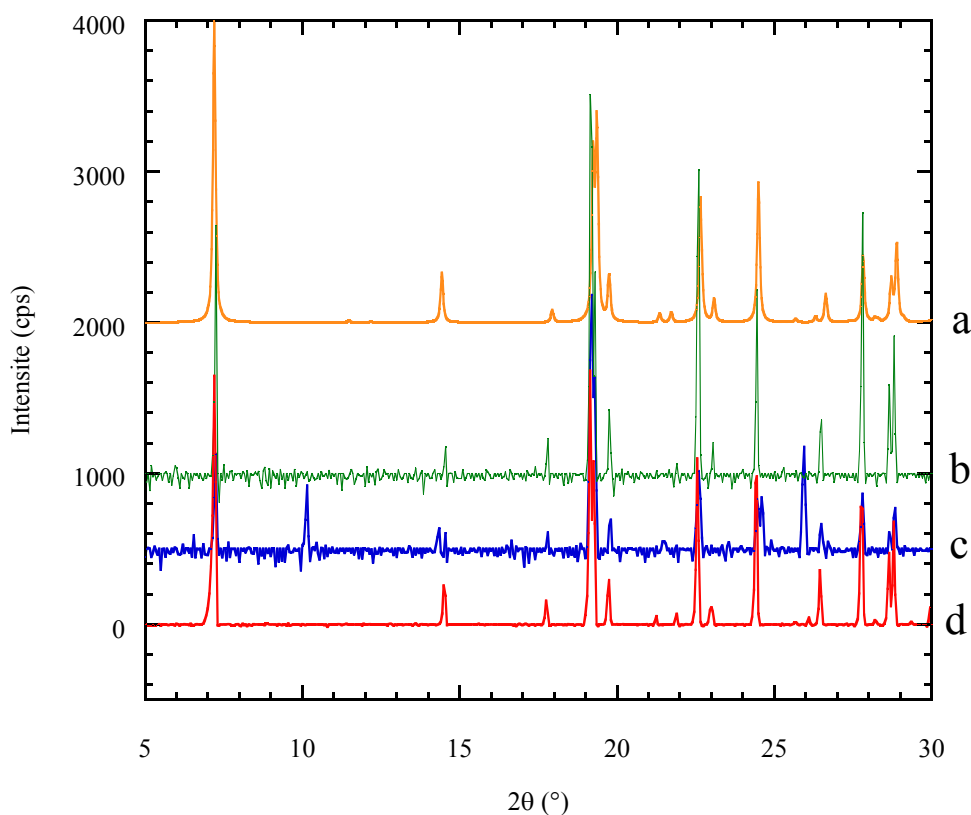


Figure III. 6 : Diffractogramme sur poudre du tétracène simulé pour un groupe d'espace $P\bar{1}$ (a) comparé aux diffractogrammes obtenus pour le tétracène pur à 98% (b), recristallisé rapidement dans THF (c) et recristallisé lentement dans THF

La poudre commerciale (courbe b) et la poudre obtenue par recristallisation lente dans THF (courbe d) ont exactement la structure $P\bar{I}$ (courbe a). Les cristaux obtenus par recristallisation rapide (courbe c) ont un spectre qui comporte quelques raies supplémentaires. On a probablement dans ces cristaux un mélange du polymorphe $P\bar{I}$ en grande majorité avec une autre forme cristalline.

3. ETUDE DE LA CRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR DIFFRACTION ELECTRONIQUE

3.1. Imagerie des micro et des nanocristaux par MET

Nous avons commencé par visualiser des micro et nanocristaux que nous souhaitons faire diffracter. Les images ont été réalisées dans les mêmes conditions que celles présentées au chapitre II § 4.1. Pour observer les microcristaux, nous n'avons pas eu besoin d'utiliser un cristal de NaCl. Une fois que les microcristaux sont obtenus par évaporation du solvant, on rajoute de l'eau (non solvant) dans le cristalliseur : les microcristaux en suspension dans l'eau sont ensuite directement récupérés sur les grilles de cuivre.

3.1.1. Imagerie des microcristaux non supportés de rubrène et de tétracène

Les microcristaux non supportés de rubrène ont été préparés de la façon suivante. On dissout dans le THF la poudre de rubrène (Acros Organics 99%). On dépose une goutte de cette solution sur une grille de cuivre recouverte d'un film de carbone. Après évaporation totale du THF (en quelques secondes), on obtient des microcristaux de couleur rouge. Un exemple de microcristal de rubrène observé en MET est présenté figure III.7.

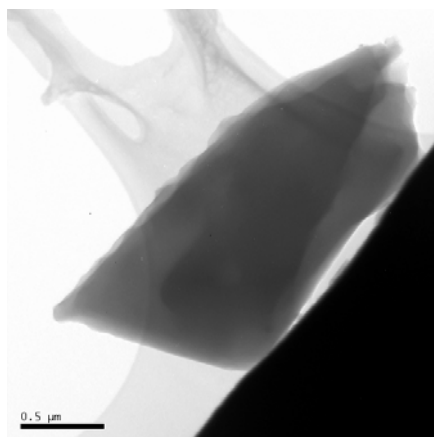


Figure III. 7 : Image MET d'un microcristal de rubrène

Les microcristaux non supportés de tétracène sont obtenus de la même manière que les microcristaux non supportés de rubrène. Après évaporation totale du THF, on obtient des microcristaux sous forme de plaquettes de couleur rouge-orangé. Les images de ces microcristaux en MET sont présentées figure III.8.

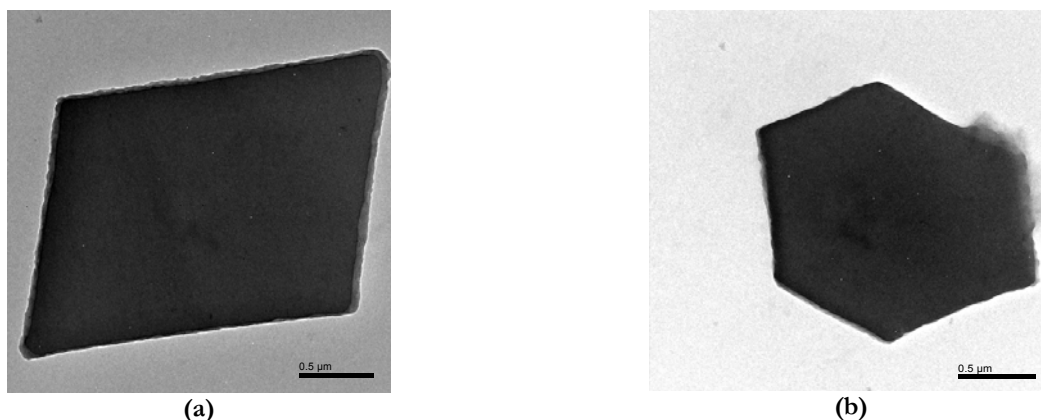


Figure III. 8 : Quelques exemples d'images MET de microcristaux non supportés de tétracène

Tous les microcristaux non supportés que nous avons observés ont la même morphologie : ce sont des plaquettes de quelques microns. Les figures III.8a et III.8b montrent deux microcristaux qui ont des faciès différents. Néanmoins, ils ont bien la même morphologie, la seule différence est l'importance relative des différentes faces cristallines.

3.1.2. Imagerie des nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel

Les nanocristaux de rubrène obtenus en couches sol-gel ont été préparés à partir d'une solution contenant : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s=10$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=8.10^{-4}$). La solution a été hydrolysée pendant 15 heures à 80°C, puis déposée à une vitesse de 4000 trs/min sur une lame monocristalline clivée de chlorure de sodium NaCl. Les dépôts ont été recuits 5 min à 80°C puis les substrats de NaCl ont été dissous dans l'eau. La fine couche sol-gel remontant à la surface de l'eau a été placée sur une grille de cuivre 400 mesh pour les observations par MET. Une des nombreuses images obtenues est présentée figure III.9.

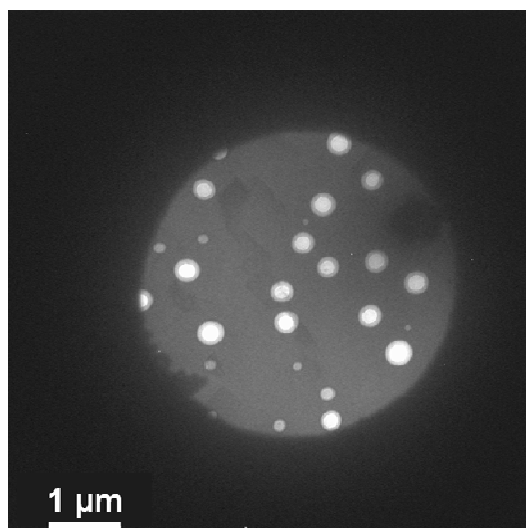
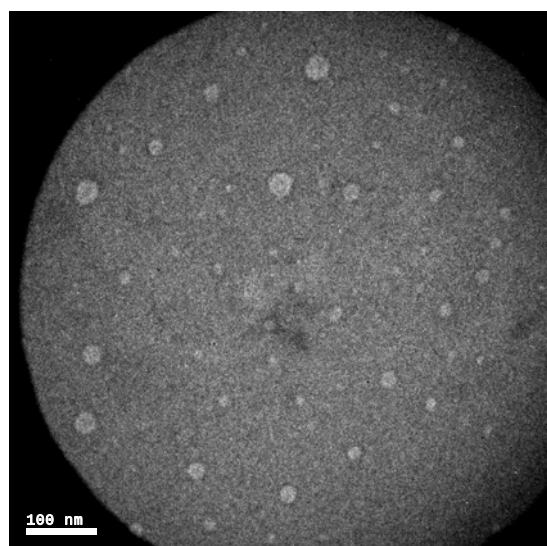


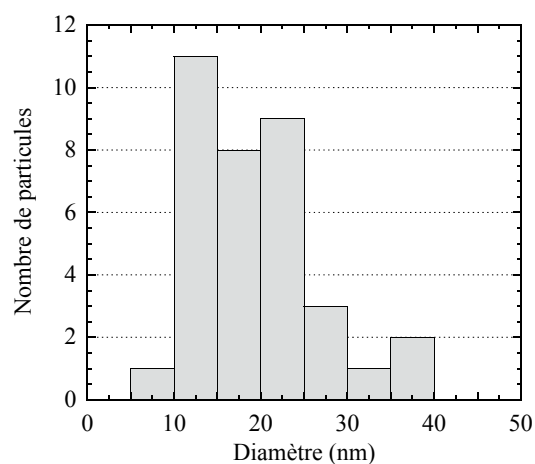
Figure III. 9 : Image MET de nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel

3.1.3. Imagerie des nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel

Les nanocristaux de tétracène obtenus en couches sol-gel ont été préparés à partir d'une solution contenant un mélange TMSE + 2 TMOS + THF ($s = 10$) + HCl 0,1M ($h = 1$) + tétracène ($d = 1.10^{-3}$). La solution a été hydrolysée pendant 4 heures à 80°C, puis déposée à une vitesse de 4000 trs/min sur NaCl. De la même manière que pour les nanocristaux de rubrène, les échantillons ont été placés sur des grilles de cuivre pour la MET. Une des nombreuses images obtenues et l'histogramme correspondant sont présentés figure III.10.



(a)



(b)

Figure III. 10 : Image MET de nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel (a) et histogramme correspondant (b)

La figure III.10a montre que dans les conditions de nanocristallisation introduites au chapitre I, on peut obtenir par notre méthode des cristallites de très petite taille (de 10 à 30 nm). D'autre part, les

nanocristaux de tétracène sont bien dispersés et de forme sphérique. Leur aspect blanc sur la matrice grise est dû à leur coefficient d'absorption des électrons qui est plus faible que le coefficient d'absorption de la matrice sol-gel. En effet, la matrice contient essentiellement des atomes de silicium, d'oxygène et de carbone tandis que les nanocristaux de tétracène ne contiennent que des atomes de carbone et d'hydrogène. Sur la figure III.10a, on peut également apercevoir le diaphragme de sélection d'aire utilisé en mode diffraction de diamètre 4 μm qui, en mode image, apparaît avec un diamètre de 850 nm sur l'écran fluorescent. Grâce à ce diaphragme, nous avons pu sélectionner une zone suffisamment petite de l'échantillon où il y avait une grande densité de nanocristaux, ce qui limitait l'écrantage des tâches de diffraction par la matrice sol-gel amorphe. L'histogramme correspondant (figure III.10b) montre une distribution de taille étroite des nanocristaux, d'environ 20 nm de diamètre (entre 10 et 40 nm). Nous avons vu au paragraphe 1.3.1 que l'enregistrement des figures de diffraction en MET nécessitait d'avoir des échantillons de faible épaisseur (environ 100 nm), c'est pourquoi nous avons dû diminuer d'un ordre de grandeur le diamètre moyen des nanocristaux par rapport à ceux observés au chapitre II. De plus, nous avons voulu tester la cristallinité sur les plus petites nanoparticules que nous avons élaborées car ce sont elles qui risquaient d'être les moins bien cristallisées.

3.2. Conditions expérimentales du MET en mode diffraction

3.2.1. Procédure « low-dose »

Nos premières expériences de diffraction électronique sur des nanocristaux ont été réalisées au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV), de l'Université Joseph Fourier, avec l'aide de J. L. Putaux. Le microscope électronique en transmission est un Philips CM200 de résolution 0,3 nm, possédant un porte-objet froid pour l'observation de structures biologiques hydratées ou congelées en mode « low dose », à la température de l'azote liquide. Dans ce mode de fonctionnement, tout est fait pour limiter le temps d'irradiation de l'échantillon par le faisceau d'électrons. D'une part, nous travaillons à une tension d'accélération de 200 kV. L'utilisation du microscope en mode « low dose » inclut trois modes successifs:

- 1) mode recherche : on déplace le faisceau sur l'échantillon à faible grandissement et faisceau étendu pour chercher une zone diffractante intéressante
- 2) mode focal : lorsque cette zone est repérée, on augmente le grandissement et on fait la mise au point
- 3) mode diffraction : on défléchit très légèrement le faisceau de manière à ce qu'il arrive sur une zone très proche de la zone sélectionnée et on fait très rapidement l'acquisition du cliché de diffraction

Les figures de diffraction obtenues au CERMAV n'ont pas été acquises par l'interface d'un logiciel informatique. Les tâches de diffraction s'inscrivent sur un plan-film. On révèle ensuite le négatif par des techniques classiques photographiques. Ensuite, nous avons scanné ces clichés puis ajusté le contraste et la luminosité des images dans le logiciel Photoshop. Nous avons utilisé comme calibre pour ajouter une échelle sur nos images un cliché de diffraction de cellulose de J. L. Putaux. Nous pouvons donc ensuite mesurer directement les distances interéticulaires correspondantes sur nos clichés de diffraction.

3.2.2. *Adaptation de la procédure au microscope du Laboratoire de Cristallographie*

Nous avons ensuite transféré cette procédure avec M. Bacia, sur le microscope Philips CM300 du Laboratoire de Cristallographie, utilisé à une tension d'accélération de 300 kV. Le porte-objet est refroidi à -173°C à l'azote liquide pour limiter l'échauffement local ce qui permet de stabiliser davantage les nanocristaux moléculaires sous le faisceau d'électrons.

Nous avons adapté ensuite la procédure d'observation utilisée au CERMAV aux caractéristiques de notre appareillage.

- 1) On ajuste tout d'abord la focalisation du faisceau d'électrons en mode image dans une zone de l'échantillon.
- 2) Ensuite, on utilise principalement le mode diffraction avec un temps d'exposition de 0,25 s en déplaçant de manière continue l'échantillon sous le faisceau en utilisant un faible grossissement.
- 3) Quand des tâches de diffraction apparaissent sur la caméra, on les enregistre avec un temps d'exposition très court de 0,25 s.

On peut donc estimer le temps total d'irradiation des nanocristaux sous faisceau d'électrons comme inférieur à 0,5 s. Quand on dépasse un temps total d'irradiation de 0,5 s, les nanocristaux de tétracène deviennent amorphes, ce qui conduit à la disparition des diagrammes de diffraction. Grâce à cette procédure, nous avons pu ajuster les conditions de focalisation dans des zones proches des régions intéressantes pour éviter toute irradiation inutile avant enregistrement des figures de diffraction. Dans ce cas, les diagrammes de diffraction sont enregistrées directement sous format numérique et sont visibles dans le logiciel d'acquisition Digital Micrograph. Ce logiciel nous permet d'ajuster le contraste et la luminosité des images ainsi que de mesurer les distances et angles entre tâches de diffraction.

Dans un premier temps, nous avons utilisé le microscope du CERMAV qui possède la procédure « low-dose » automatisée. Nous avons d'abord observé des micro et nanocristaux de rubrène, puisque c'est la molécule que nous avons la plus étudiée en spectroscopie de luminescence (chapitre IV). Nous avons obtenu des tâches de diffraction aussi bien pour les micro que pour les nanocristaux. Cependant, lorsque nous avons voulu reproduire la procédure sur le microscope du Laboratoire de Cristallographie,

nous n'avons pas réussi à observer de tâches de diffraction pour les nanocristaux de rubrène. Par contre, nous avons ensuite observé des nanocristaux de tétracène.

3.2.3. Indexation des figures de diffraction

Les figures de diffraction obtenues sont ensuite indexées avec le logiciel JEMS [16, 17]. D'une part, on doit donner les paramètres du système cristallin que nous supposons avoir dans nos échantillons. Nous avons donc supposé que les cristaux de rubrène ont la structure orthorhombique Bbam et les cristaux de tétracène triclinique $P\bar{1}$. D'autre part, nous devons insérer dans le logiciel les paramètres d'acquisition des figures : voltage (300 kV), longueur de caméra (450 mm). La figure de diffraction à indexer est ensuite rentrée dans le logiciel. Nous devons placer un vecteur reliant le faisceau central à une tâche de diffraction, en précisant la distance en nm^{-1} pour fixer l'échelle. Le logiciel place alors un « masque » sur toutes les distances équivalentes qu'il trouve sur le cliché de diffraction. Enfin, on peut donner une marge d'erreur en % sur la distance et les angles pour limiter le nombre de résultats possible. Le logiciel se charge ensuite de calculer quelles sont les indexations les plus probables des tâches de la figure de diffraction. Il peut obtenir plusieurs possibilités pour une seule figure, même en diminuant les marges d'erreur au minimum. C'est pourquoi, nous devons ensuite trouver la bonne indexation parmi celles proposées par le logiciel JEMS. Nous procédons alors par la démarche inverse : le logiciel permet aussi de simuler des clichés de diffraction pour un axe de zone donné.

3.3. Diffraction électronique des cristaux de rubrène

3.3.1. Microcristaux de rubrène

Les figures de diffraction des microcristaux de rubrène ont pu être obtenues sur le microscope du Laboratoire de Cristallographie. Nous avons observé de nombreuses figures de diffraction. Nous présentons sur les figures III.11 et III.12 deux clichés correspondant à des orientations différentes que nous avons fréquemment observées. Ces clichés ont été indexés par le logiciel JEMS en supposant la structure orthorhombique Bbam présentée en Annexe A, § 1.

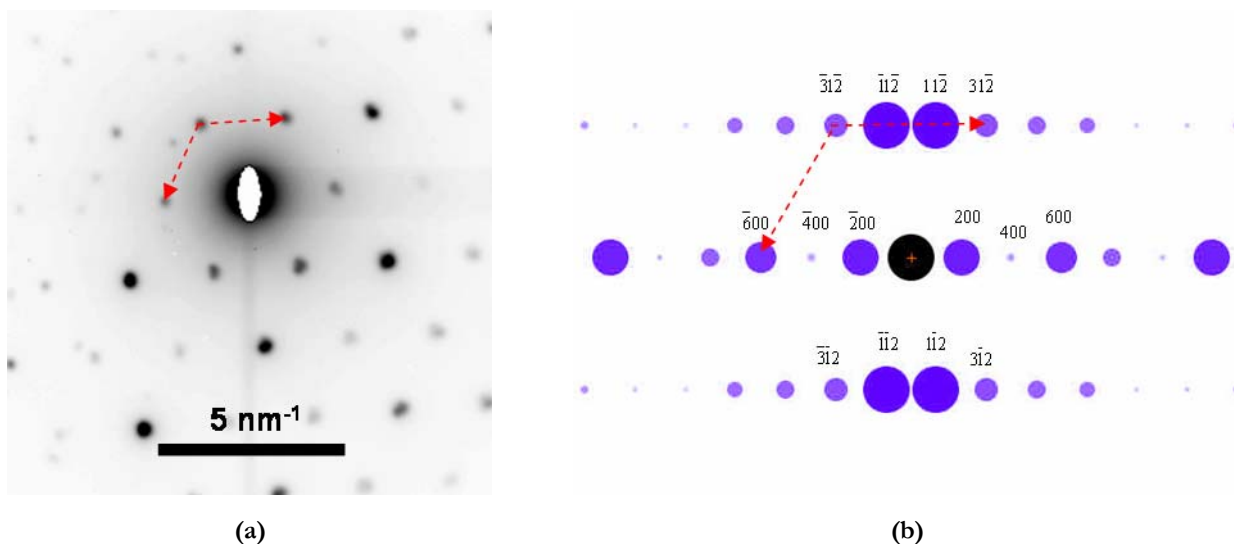


Figure III. 11 : Figures de diffraction obtenue expérimentalement (a) et simulée dans JEMS (b) identifiée selon l'axe de zone $\langle 021 \rangle$

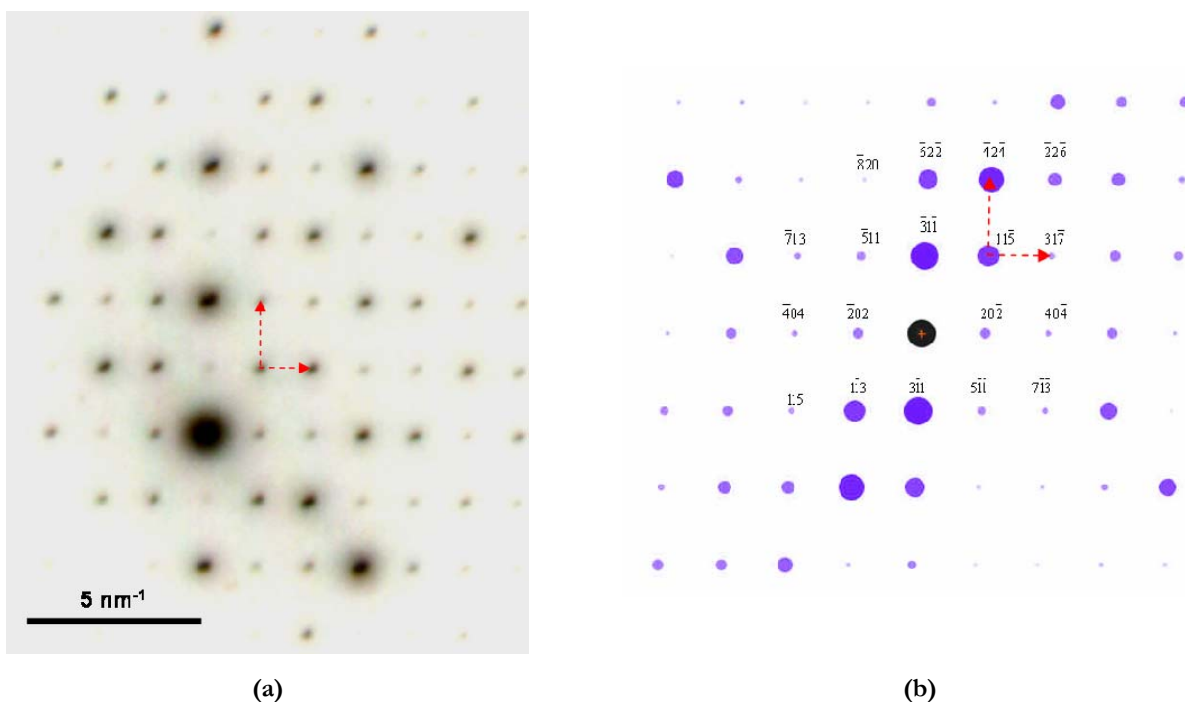
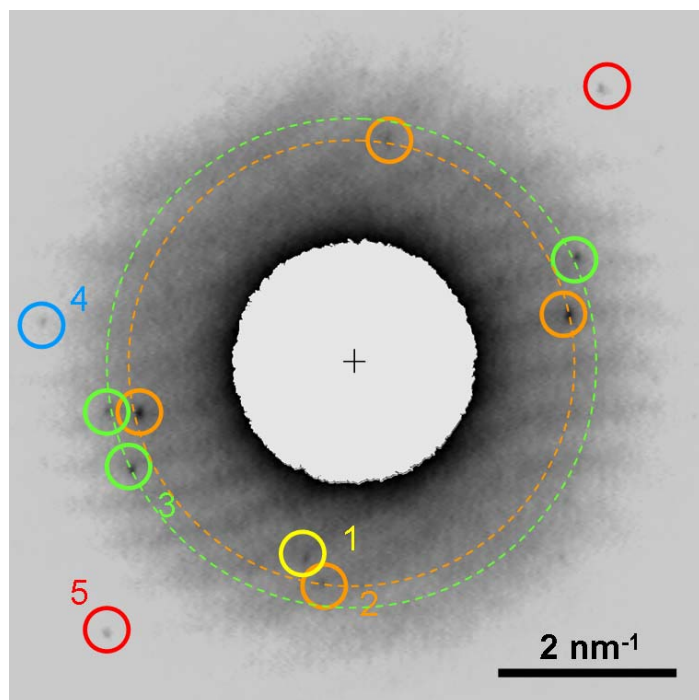


Figure III. 12 : Figures de diffraction obtenue expérimentalement (a) et simulée dans JEMS (b) identifiée selon l'axe de zone $\langle 010 \rangle$

Dans les deux cas, vu le grand nombre de taches de diffraction obtenues et en accordant une marge d'erreur faible (4%) sur les distances et sur les angles, nous avons obtenu une seule possibilité pour l'indexation. L'image de la figure III.11 a été indexée comme étant selon un axe de zone $\langle 021 \rangle$ et celle de la figure III.12 comme étant selon un axe de zone $\langle 010 \rangle$. Cette indexation permet d'affirmer que les microcristaux de rubrène ont bien la structure cristalline orthorhombique Bbam.

3.3.2. Nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel

Dans ce cas, les figures de diffraction n'ont pas pu être enregistrées au Laboratoire de Cristallographie en raison de la décomposition des nanocristaux sous le faisceau. Nous avons donc utilisé le microscope du CERMAV qui dispose de la procédure « low-dose » automatisée. La figure III.13 présente un des clichés de diffraction obtenus. Les taches de diffraction étant trop peu nombreuses, nous ne sommes pas parvenus à les indexer par le logiciel JEMS. Nous les avons donc indexé « à la main » en mesurant les distances entre tâches.



(a)

N° de la famille de tâches	d_{hkl} (Å)
1	5,26
2	4,00
3	3,66
4	2,80
5	2,40

(b)

Figure III. 13 : Figure de diffraction obtenue au CERMAV pour des nanocristaux de rubrène et distances interréticulaires correspondantes

La figure III.13 montre un exemple des figures de diffraction obtenues pour les nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel. Le centre de la figure a été éliminé dans le logiciel Photoshop pour pouvoir ajuster la luminosité et le contraste de la figure de diffraction en ne tenant pas compte du faisceau incident (très étendu et intense par rapport aux taches de diffraction). On observe 5 distances interréticulaires d_{hkl} différentes correspondant à 5 plans hkl différents qui diffractent. Pour les familles de tâches 2 (orange) et 3 (vert), plus de deux taches ont été observées à la même distance du centre, nous les avons donc représentées sur des cercles. La précision sur les distances mesurées ne porte que sur la deuxième décimale. En effet, il existe de nombreux facteurs d'incertitude sur les distances mesurées : scan et agrandissement de l'image, position des tâches et du centre de la figure de diffraction. L'ensemble des distances d_{hkl} mesurées sur la totalité des figures de diffraction que nous

avons obtenues pour les nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel est listé dans le tableau suivant et comparé avec les distances d_{hkl} correspondant aux groupes d'espaces Bbam et P1.

Rubrène sol-gel	Bbam	P1	
7,64	13,448	11,172	...
5,26	7,216	8,390	3,265
4,76	6,724	7,123	3,264
4,00	6,359	6,472	3,236
3,87	6,255	6,380	3,224
3,66	5,226	6,360	3,190
3,44	5,002	6,296	3,180
3,09	4,920	6,081	3,148
2,80	4,483	5,586	3,118
2,40	4,427	5,218	3,080
2,29	4,126	5,005	3,059
2,27	3,954	4,924	3,047
2,21	3,808	4,884	3,040
2,00	3,698	4,650	3,008
1,93	3,651	4,416	2,999
1,83	3,608	4,403	2,972
1,77	3,592	4,393	2,963
1,67	3,486	4,317	2,942
1,51	3,485	4,195	2,937
1,47	3,470	4,179	2,927
1,32	3,374	4,089	2,909
1,29	3,362	4,018	2,905
1,13	3,299	3,904	2,902
	3,216	3,892	2,875
	3,209	3,784	2,847
	3,201	3,745	2,814
	3,179	3,739	2,797
	3,168	3,724	2,793
	3,128	3,661	
	3,095	3,569	
	3,067	3,562	
	3,048	3,561	
	3,034	3,558	
	2,901	3,504	
	2,878	3,478	
	2,815	3,365	
	2,811	3,327	
	2,803	3,305	
		...	

D'une part, on constate que la grande majorité des d_{hkl} obtenues pour les nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel sont inférieures à 3 Å. Ceci est dû au fait que les grandes valeurs des d_{hkl} correspondent à de petites valeurs mesurées dans l'espace réciproque. Les taches de diffraction associées aux grands d_{hkl} sont donc trop proches du faisceau incident pour être distinguées. Or ce sont justement ces valeurs qui permettent d'identifier facilement une phase cristalline puisque les grandes distances d_{hkl} sont peu

nombreuses et suffisamment éloignées les unes des autres, contrairement aux d_{hkl} inférieures à 3 Å. D'autre part, on retrouve les distances d_{hkl} que nous avons mesuré aussi bien dans la phase Bbam que dans la phase P1. Par conséquent, nous n'avons pas pu associer l'un des deux groupes d'espace aux figures de diffraction des nanocristaux. Enfin, les distances mesurées ne correspondent pas toutes à des d_{hkl} des phases connues du rubrène (Bbam et P1). Il y a donc probablement un nouveau polymorphe ou un mélange de deux phases polymorphes dans les nanocristaux. Nous ne pouvons donc pas identifier le système dans lequel cristallisent les nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel. Il faudrait obtenir des taches de diffraction plus proches du centre de la figure et en plus grand nombre. Néanmoins, on obtient des tâches fines et bien définies, ce qui montre bien que les nanoparticules de rubrène en matrice sol-gel que nous synthétisons sont cristallisées.

3.4. Diffraction électronique des cristaux de tétracène

Nous avons ensuite étudié la diffraction électronique de cristaux de tétracène. Les expériences de diffraction ont dans ce cas pu être menées sur le microscope du Laboratoire de Cristallographie car le tétracène est une molécule beaucoup plus stable que le rubrène. Pour nous assurer de cette stabilité, nous avons commencé par tester la résistance de microcristaux de tétracène sous le faisceau d'électrons.

3.4.1. Stabilité des microcristaux de tétracène sous faisceau d'électrons

Nous avons tout d'abord testé la résistance des microcristaux sous irradiation d'électrons sur le microscope du Laboratoire de Cristallographie. Des figures de diffraction obtenues à différentes durées d'irradiation prolongée d'un microcristal de tétracène, pour un même temps d'exposition de l'image de 0,25 s sont présentées sur la figure III.14.

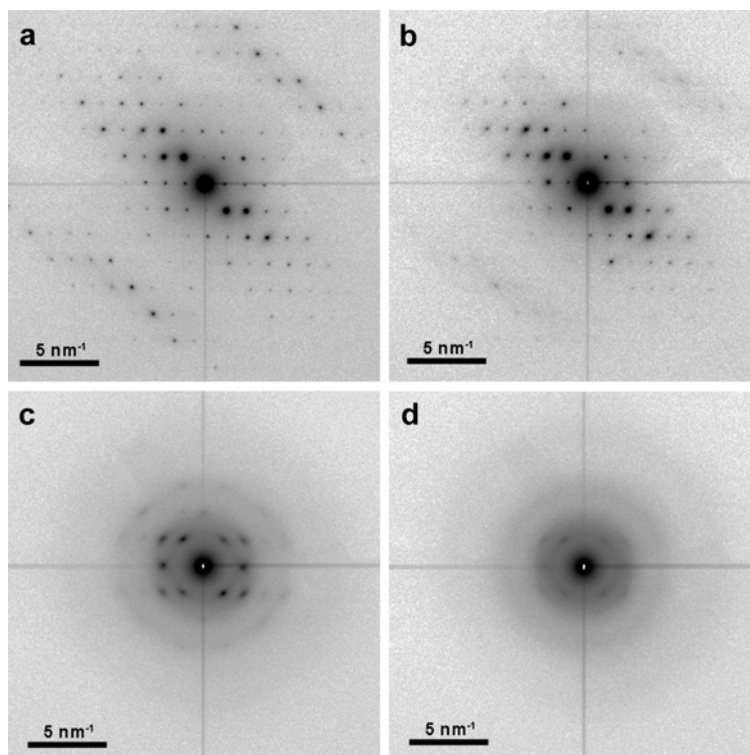


Figure III. 14 : Figures de diffraction du microcristal de tétracène présenté sur la figure III.3a à différents temps d'exposition du faisceau d'électrons : 1^{ère} acquisition à $t = 0$ (a), 2^{ème} acquisition à $t = 4$ min (b), 3^{ème} acquisition à $t = 7$ min (c) et 4^{ème} acquisition à $t = 9$ min (d)

Sur les figures III.14a et III.14b, on peut facilement repérer l'orientation du cristallite puisqu'on voit des taches de différentes intensités. Sur la figure III.14a, on aperçoit même la zone de Laue d'ordre 1 (taches situées dans les coins en haut à droite et en bas à gauche de la figure). L'apparition d'une zone de Laue d'ordre 1 signifie que la sphère d'Ewald coupe plusieurs plans réticulaires. Après 4 min d'exposition (figure III.14b), il reste uniquement la zone de Laue d'ordre zéro. Pour 7 min d'irradiation (figure III.14c), les taches de diffraction sont moins ponctuelles et ont toutes la même intensité, ce qui ne permet plus d'identifier l'orientation du cristal. Enfin, au bout de 9 min (figure III.14d), on observe seulement des anneaux de diffusion, ce qui signifie que l'on a amorphisé le microcristal. Nous pouvons donc supposer que, dans un premier temps (figure III.14b), la disparition de la zone de Laue d'ordre 1 signifie qu'il y a rupture de l'ordre à longue distance (liaisons intermoléculaires), ce qui entraîne la désorientation des molécules de tétracène. Dans un deuxième temps (figure III.14c), nous pouvons supposer que ce sont les liaisons covalentes intramoléculaires qui sont détruites. Les liaisons coupées forment alors des radicaux libres qui réagissent entre eux pour former des chaînes réticulées. Ce phénomène est souvent observé lors de l'irradiation de cristaux organiques [18] ou de polymères organiques [19]. En particulier, pour le tétracène, il a été montré qu'une irradiation prolongée conduisait à une rupture de l'ordre à grande distance, mais qu'une réorganisation intermoléculaire à

courte distance était possible [20]. Enfin, après un temps relativement long d'irradiation, on observe seulement des anneaux de diffusion (figure III.14d), ce qui est synonyme d'une amorphisation totale du matériau. L'évolution de la figure de diffraction sous faisceau d'électrons de cristaux parfaitement orientés selon différents axes de zone permet d'obtenir des informations sur les conditions d'enregistrement les plus favorables des figures de diffraction des nanoparticules en matrice sol-gel. Les cristaux de tétracène sont très stables par rapport aux cristaux de rubrène. Ils présentent donc des conditions nettement plus favorables pour faire de la diffraction électronique.

3.4.2. Microcristaux de tétracène

Pour comprendre le comportement des nanocristaux sous faisceau d'électrons, il a d'abord été nécessaire de regarder les figures de diffraction obtenues sur des microcristaux de tétracène. Un grand nombre de clichés de diffraction a pu être obtenu en déplaçant l'échantillon de manière continue sous le faisceau. La figure III.15a montre un des clichés de diffraction de microcristaux de tétracène que nous avons obtenu le plus fréquemment pour des cristaux en forme de plaquettes comme ceux présentés sur la figure III.8. La figure III.15b montre un cliché de diffraction de microcristaux de tétracène que nous avons observé pour des microcristaux selon une autre orientation.

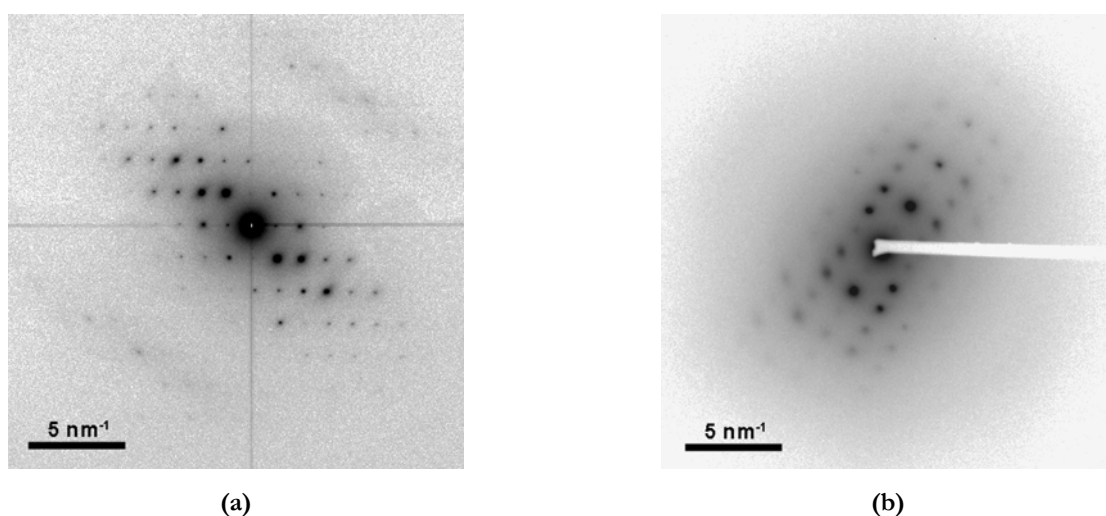


Figure III. 15 : Figures de diffraction obtenues pour des microcristaux de tétracène selon deux orientations différentes

Nous avons traité ces différents clichés avec le logiciel JEMS en supposant la structure triclinique $P\bar{1}$ présentée en Annexe A, § 2. Pour l'ensemble des clichés obtenus, le logiciel donne toujours les mêmes axes de zones les plus probables : $\langle 111 \rangle$, $\langle 101 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$. Il est impossible au logiciel JEMS de parvenir à discriminer un des trois axes sur les figures de diffractions expérimentales. Pour arriver à indexer correctement les taches, nous avons dû comparer les clichés simulés pour ces trois axes de zone avec nos figures expérimentales. Pour cela, nous avons procédé de la façon suivante. Les valeurs les

plus précises que nous pouvons mesurer sur les clichés de diffraction sont les angles entre les rangées de taches de diffraction. En effet, les distances entre taches sont entachées d'erreur car certaines sont trop larges (figure III.15). Nous ne pouvons pas non plus nous fier aux intensités relatives des taches : les clichés simulés sont des figures symétriques qui correspondent à une orientation parfaite du faisceau direct selon l'axe de zone. Dans notre cas, les figures ne sont pas symétriques, ce qui prouve qu'il existe toujours une légère désorientation par rapport à l'axe de zone, ce qui est tout à fait logique du fait que l'orientation des microcristaux déposés sur la grille ou des nanocristaux sphériques dans une matrice amorphe est tout à fait aléatoire. Nous avons donc mesuré les angles entre les plans réticulaires sur nos figures de diffraction pour associer chaque cliché à une observation suivant un axe de zone. La figure III.15a a été identifiée à l'axe aisément à une observation selon un axe de zone $\langle 101 \rangle$ comme nous le présentons sur la figure III.16. Sur les figures de diffraction simulées, la taille des tâches est proportionnelle à leur intensité et les indexations $h\ k\ l$ des différentes tâches ont été reportées.

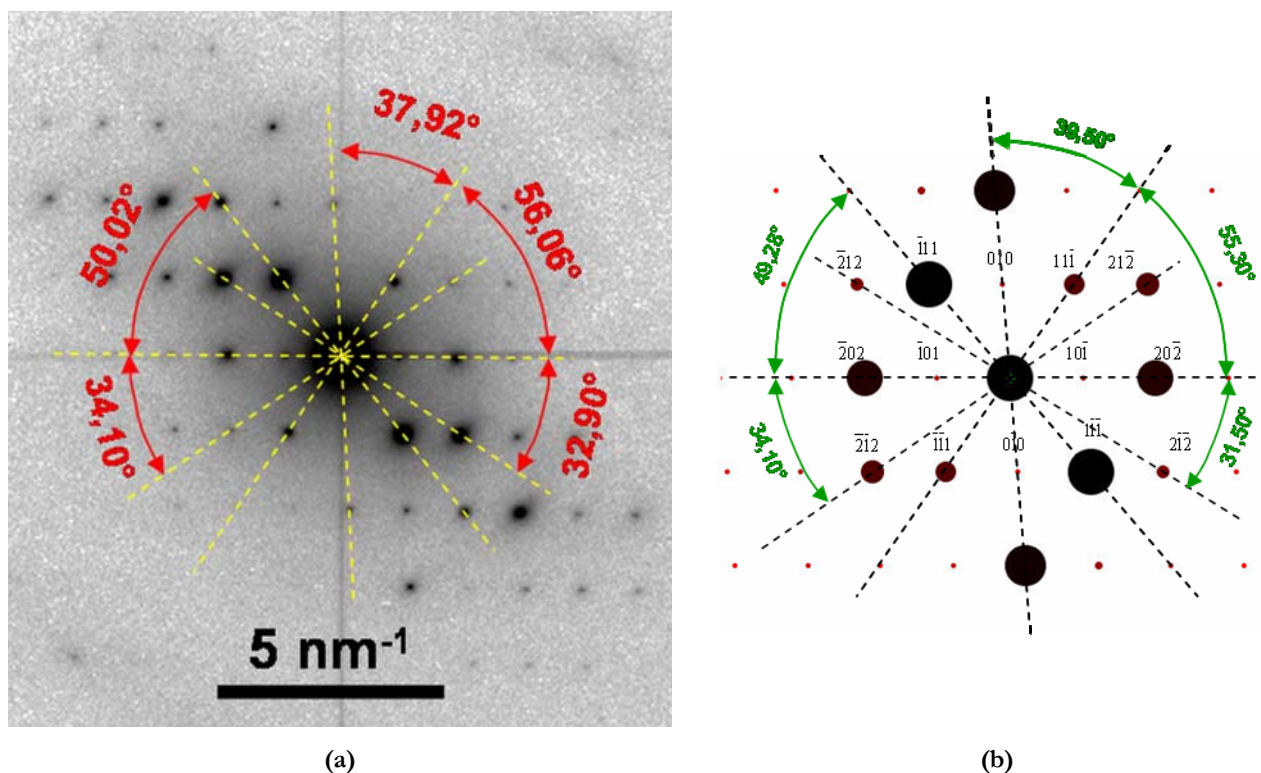
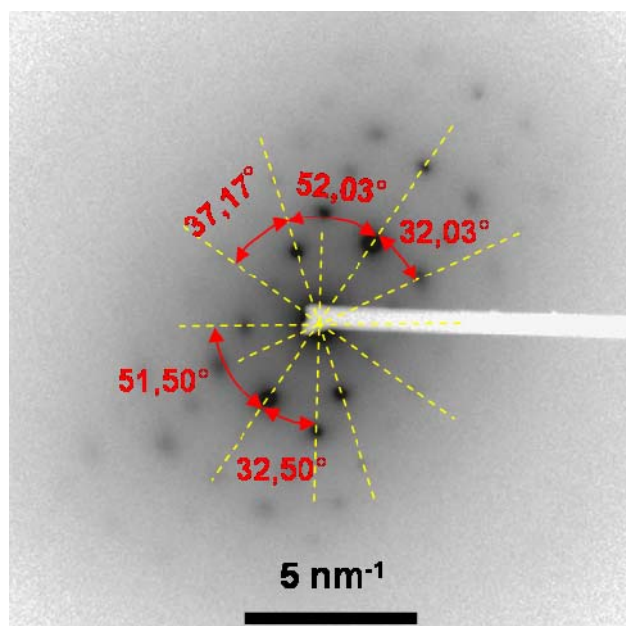


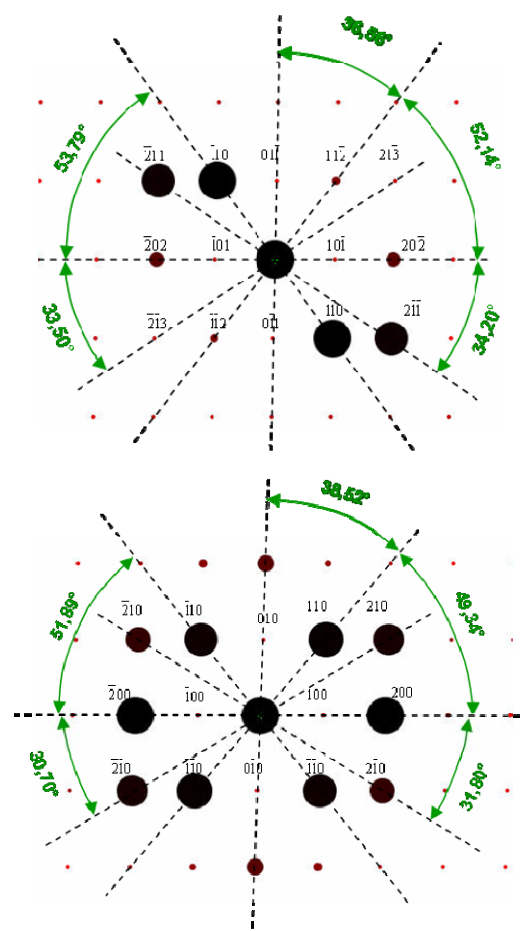
Figure III. 16 : Figure de diffraction identifiée selon un axe de zone $\langle 101 \rangle$

Les angles mesurés sur la figure III.19a sont proches de ceux mesurés sur le cliché de diffraction simulé selon l'axe de zone $\langle 101 \rangle$ (figure III.19b). Cette figure de diffraction a donc été indexée sans problème comme correspondant à l'axe de zone $\langle 101 \rangle$.

Par contre, il est plus difficile d'arriver à conclure pour la figure de diffraction présentée sur la figure III.15b. Nous avons mesuré les angles entre rangées de taches sur la figure III.17.



(a)



(b)

Figure III. 17 : Figure de diffraction identifiée selon $\langle 111 \rangle$ ou $\langle 001 \rangle$

Les angles mesurés sont donc proches des angles observés sur les clichés simulés suivant les axes de zone $\langle 111 \rangle$ et $\langle 001 \rangle$. Pour parvenir à la bonne indexation, nous avons mesuré l'écart relatif des valeurs mesurées par rapport aux valeurs théoriques.

Angle mesuré α (°)	Angle simulé pour un axe de zone $\langle 111 \rangle$ α_{111} (°)	Angle simulé pour un axe de zone $\langle 001 \rangle$ α_{001} (°)	Ecart relatif par rapport à $\langle 111 \rangle$	Ecart relatif par rapport à $\langle 001 \rangle$
			$\left \frac{\alpha - \alpha_{111}}{\alpha_{111}} \right $	$\left \frac{\alpha - \alpha_{001}}{\alpha_{001}} \right $
52,03	52,14	49,34	0,002	0,054
37,17	36,56	38,52	0,017	0,035
51,50	53,79	51,89	0,042	0,007
32,50	33,50	30,70	0,030	0,059
32,03	34,20	31,80	0,063	0,007
Moyenne des écarts relatifs			0,031	0,032

Nous voyons que les moyennes des écarts relatifs obtenues sont très proches : elles ne permettent donc pas de trancher entre un axe de zone $\langle 111 \rangle$ ou un axe de zone $\langle 001 \rangle$. Pour faire une indexation correcte, il faudrait obtenir un plus grand nombre de tâches ou des tâches plus ponctuelles.

3.4.3. Nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel

Les figures de diffraction électronique que nous avons obtenues pour les microcristaux de tétracène ont ensuite servi de référence pour étudier la diffraction des nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel. Dans ce cas, nous n'avons pu enregistrer qu'une seule figure de diffraction par nanocristal, ceux-ci résistant beaucoup moins bien que les microcristaux à l'irradiation et devenant amorphes dès la fin de l'exposition. La plupart des clichés enregistrés ne contenaient que deux taches de diffraction et l'information cristalline était généralement perdue durant l'enregistrement. La figure III.18 montre les meilleures figures de diffraction pour lesquelles nous avons réussi à observer plusieurs taches de diffraction d'intensité non négligeable.

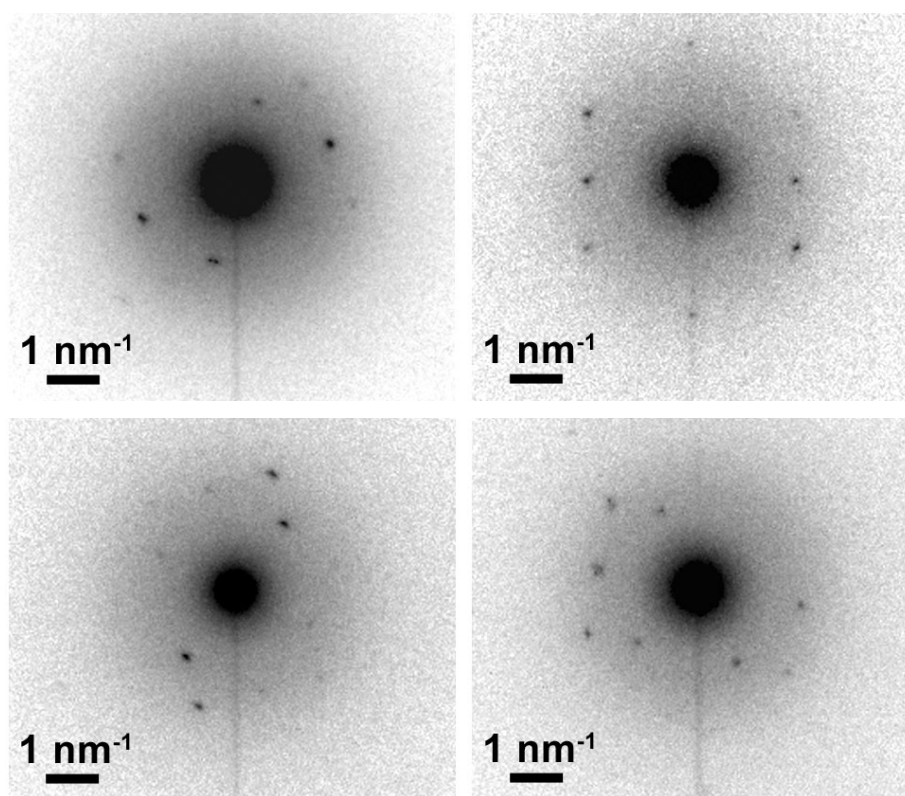


Figure III. 18 : Figures de diffraction obtenues pour des nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel

On constate que les taches de diffraction observées sont beaucoup moins intenses que dans le cas des microcristaux : seules les taches de faibles indices $h\ k\ l$ sont visibles. Cependant les taches de diffraction sont fines et bien définies, ce qui est synonyme de nanoparticules bien cristallisées. Ceci nous a donc permis de mesurer les angles entre les rangées de plans réticulaires. Dans ce cas, l'indexation des figures

s'avère difficile puisque nous ne disposons pas de suffisamment de taches sur un même cliché. Pour les clichés présentés sur la figure III.18, nous pouvons seulement en conclure que les nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel ont la même structure cristalline que les microcristaux préparés en solution libre, soit triclinique $P\bar{1}$. Nous pouvons également supposer que les nanocristaux sont monocristallins car pour chaque nanocristal, on obtient une seule figure de diffraction. On ne peut cependant l'affirmer avec certitude par cette technique de caractérisation car les taches de diffraction ont une intensité très faible. C'est pourquoi nous allons étudier la monocristallinité par un autre moyen que nous présentons au paragraphe suivant.

4. ETUDE DE LA MONOCRISTALLINITE DES NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE BIPHOTONIQUE RESOLUE EN POLARISATION

Nous avons montré que les nanocristaux de rubrène et de tétracène étaient bien cristallisés puisqu'on observe des tâches bien définies par diffraction électronique. Nous allons maintenant nous intéresser à la monocristallinité des nanocristaux. Cette étude a pu être réalisée en étudiant la réponse en polarisation des nanocristaux sur un montage de microscopie de fluorescence à deux photons [21]. Une étude antérieure a déjà été réalisée par cette technique sur des nanocristaux de CMONS (cyano-méthoxy-niro-stilbène) [5]. La monocristallinité des nanocristaux de CMONS, cristaux non-centrosymétriques, a ainsi été mise en évidence en comparant les signaux de fluorescence à deux photons et de génération de seconde harmonique. Dans ce travail de thèse, seule la fluorescence à deux photons a été utilisée puisque nous avons étudié des nanocristaux de rubrène, inefficace en génération de seconde harmonique.

4.1. Fluorescence à deux photons

La fluorescence à deux photons (FDP) correspond à l'émission d'un photon de fluorescence après l'absorption résonante et simultanée de deux photons comme l'illustre la figure III.19.

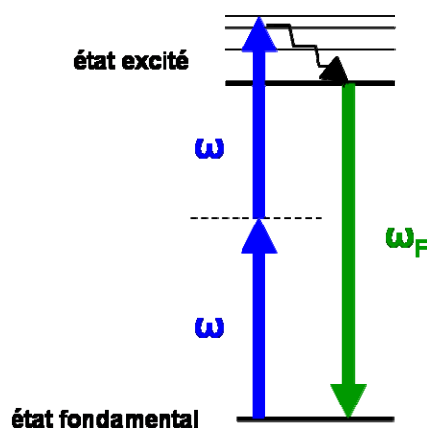


Figure III. 19 : Principe de la fluorescence à deux photons

L'énergie des photons incidents doit donc être bien adaptée à la transition mise en jeu. C'est typiquement le cas avec une source d'excitation située dans le proche infrarouge et des molécules fluorescentes dont l'absorption est située autour de 500 nm. La microscopie sous excitation biphotonique est une technique couramment utilisée depuis 1990 [22]. Cette technique présente de nombreux avantages par rapport à la microscopie confocale à un photon. D'une part, on obtient

intrinsèquement une meilleure résolution spatiale, à longueur d'onde d'excitation égale, puisque l'excitation à deux photons n'a lieu que dans un petit volume centré sur le point de focalisation du faisceau de pompe. D'autre part, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont bien séparées puisque la longueur d'onde d'excitation est quasiment le double de la longueur d'onde d'émission. On peut ainsi isoler facilement le rayonnement émis de la longueur d'onde excitatrice diffusée par l'échantillon. La microscopie sous excitation biphotonique est donc très bien adaptée à l'étude de nano-objets, la résolution du microscope permettant de les analyser individuellement. C'est pourquoi l'étude de monocristallinité des nanocristaux que nous présentons a été réalisée sous excitation à deux photons.

4.2. Montage expérimental

Les mesures ont été réalisées en collaboration avec S. Brasselet au Laboratoire de Photonique Quantique et Moléculaire de l'E.N.S. de Cachan. Le montage expérimental est présenté sur la figure III.20.

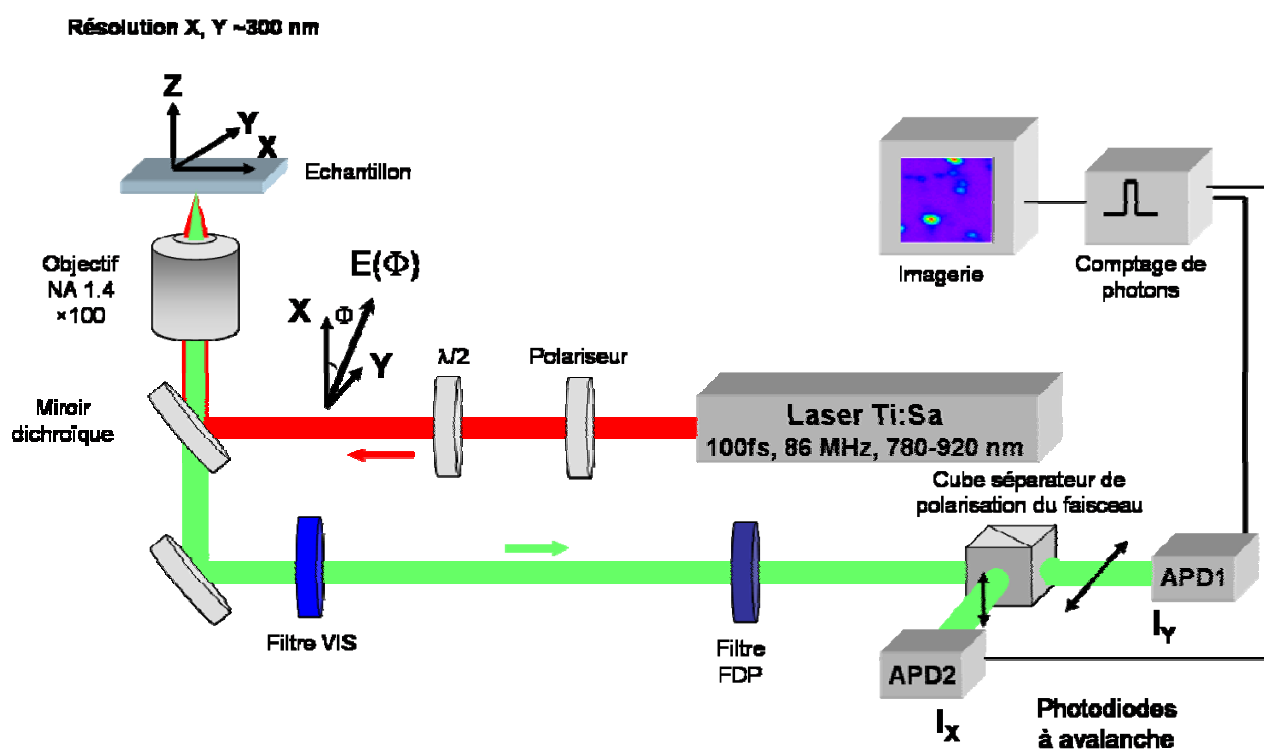


Figure III. 20 : Montage de spectroscopie de fluorescence à deux photons

Le faisceau exciteur provient d'un laser saphir dopé titane (Ti :Sa) générant des impulsions de 100 fs avec un taux de répétition de 86 MHz, à une longueur d'onde ajustable entre 780 et 920 nm. A 920 nm, longueur d'onde à laquelle nous avons travaillé, la puissance moyenne de sortie du laser est de l'ordre de

90 mW. L'analyse en polarisation consiste à enregistrer le signal de fluorescence à deux photons dans deux états de polarisation perpendiculaires, lorsque la polarisation du faisceau excitateur tourne dans son plan. On place ainsi à la sortie du laser un polariseur suivi d'une lame demi-onde, dont la rotation permet de faire tourner la direction de la polarisation du faisceau incident. L'angle que fait le champ électrique incident $\vec{E}$ avec l'axe X du repère associé à l'échantillon est noté Φ . L'orientation de la lame demi-onde est contrôlée par le programme d'acquisition par l'intermédiaire d'un moteur pas à pas. Un miroir dichroïque est placé sur le trajet du faisceau laser : il réfléchit le rayonnement infrarouge et transmet le rayonnement visible. Avant d'être focalisé sur l'échantillon, le faisceau laser est donc réfléchi par ce miroir dichroïque. Puis le signal de FDP émis au niveau de l'échantillon et collecté par l'objectif est transmis par ce miroir. Un filtre VIS permet ensuite de rejeter la radiation infrarouge résiduelle due à la diffusion du faisceau laser incident. On peut alors sélectionner le signal de FDP par un filtre optique très large coupant toutes les radiations de longueur d'onde inférieure à 530 nm. Le signal lumineux passe ensuite par un cube séparateur qui permet d'isoler la polarisation selon l'axe X d'une part et la polarisation selon Y d'autre part. Les détecteurs ADP1 et ADP2 suivant les deux directions de polarisation X et Y sont des photodiodes à avalanche au silicium en régime comptage de photons.

4.3. Cartographie de fluorescence à deux photons

Pour étudier la réponse en polarisation des nanocristaux, nous avons réalisé des couches minces sol-gel contenant des nanocristaux de rubrène à partir d'une solution contenant : TMSE + 2 TMOS + THF (s=12) + HCl 0,1M (h=1) + rubrène (d compris entre 5.10^{-4} et 1.10^{-3}). Le taux de solvant s a volontairement été choisi assez élevé et le taux de dopage organique d relativement faible pour avoir des nanocristaux suffisamment éloignés les uns des autres de manière à pouvoir étudier la spectroscopie d'un nanocristal unique. L'échantillon est fixé sur une platine piézo-électrique dont la position en (X, Y, Z) est commandée par un ordinateur. En déplaçant la platine piézo-électrique, le programme d'acquisition permet de réaliser une cartographie des signaux émis au niveau de l'échantillon. Une des cartographies obtenue pour cet échantillon est présentée figure III.21.

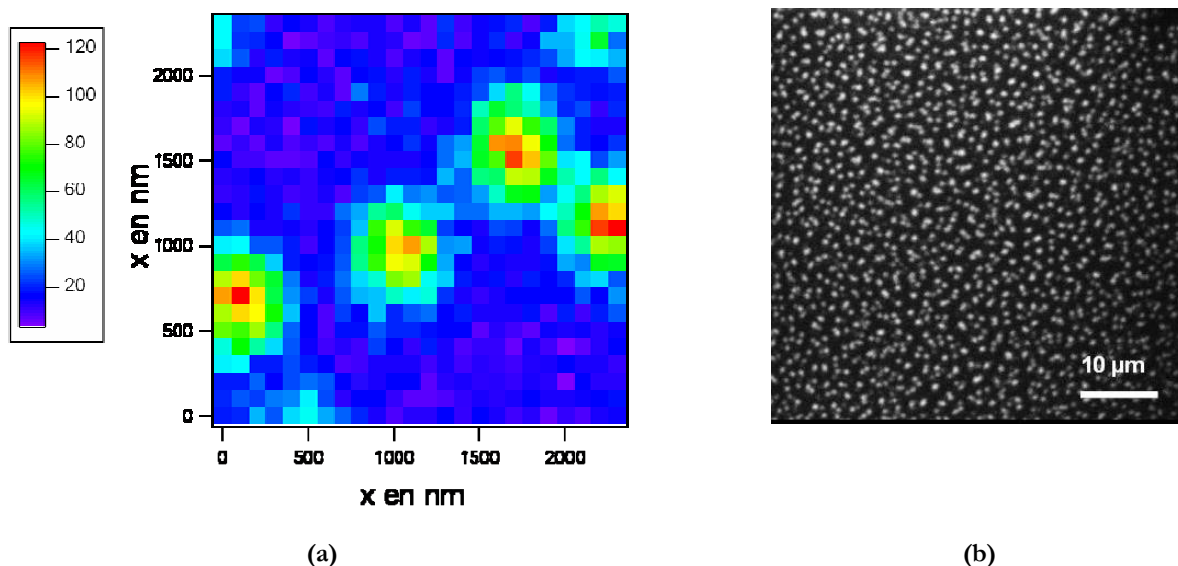


Figure III. 21 : Cartographie de fluorescence induite à deux photons (a) et image obtenue par microscopie confocale à un photon (b) de nanocristaux de rubrène en couche mince sol-gel préparés à partir de la solution :
 TMSE + 2 TMOS + THF ($s=12$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=5.10^{-4}$)

La figure III.21a montre l'image de fluorescence induite à deux photons d'un échantillon dont une surface de $20 \mu\text{m}^2$ a été balayée. On voit des nanocristaux isolés les uns des autres de diamètre moyen 600 nm, ce qui correspond bien à ce que nous avons observé par microscopie confocale (figure III.21b). On observe bien des émetteurs uniques de fluorescence, ayant une distribution homogène dans la couche. On est limité par la résolution optique du microscope qui est de 300 nm : la résolution est donc moins bonne que pour l'image obtenue en microscopie confocale à un photon (figure III.21b) où la résolution est de 160 nm. En effet, bien que la microscopie à deux photons présente intrinsèquement une meilleure résolution que la microscopie confocale à un photon, la résolution est ici moins bonne à cause de la grande longueur d'onde d'excitation dans l'infrarouge (920 nm) comparée à la longueur d'onde d'excitation de 488 nm pour la microscopie confocale.

4.4. Diagrammes polaires des nanocristaux

L'intensité de fluorescence à deux photons, émise par une molécule et détectée suivant l'état de polarisation $I = X, Y$, est donnée par l'expression :

$$I_I^{Fluo} = \left| \vec{\mu} \cdot \vec{E} \right|^4 \left| \vec{\mu} \cdot \vec{u}_I \right|^2$$

où $\vec{\mu}$ est le moment dipolaire induit associé à la molécule, $\vec{E}$ est le champ incident monochromatique et $\vec{u}_I$ est la direction d'analyse du détecteur. La probabilité d'excitation à deux photons est proportionnelle à $|\vec{\mu} \cdot \vec{E}|^4$ et la probabilité de détection est proportionnelle à $|\vec{\mu} \cdot \vec{u}_I|^2$.

Pour modéliser la réponse en polarisation d'un nanocristal monocristallin de rubrène, on définit l'orientation de la maille cristalline élémentaire par les angles d'Euler $\Omega = (\theta, \phi, \psi)$ présentés sur la figure III. 22 [5, 21].

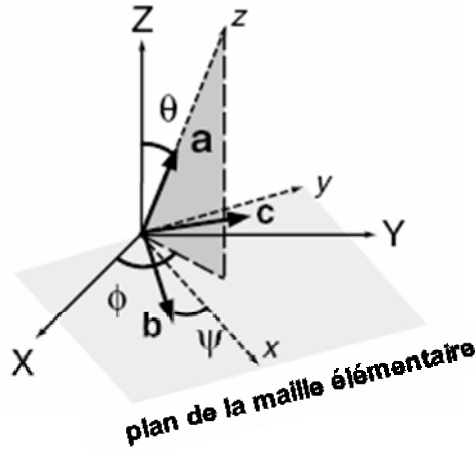


Figure III. 22 : Orientation de la maille cristalline élémentaire définie par le repère (a, b, c) dans le repère macroscopique lié à l'échantillon (X, Y, Z). Le repère (x, y, z) est lié au nanocristal, (x, y) définissant le plan de la maille élémentaire

L'intensité de fluorescence à deux photons mesurée dans la direction I de polarisation I_I^{Fluo} dépend de Ω selon la relation suivante [23] :

$$I_I^{Fluo}(\Omega) = P_I(\Omega) \sum_{J,K,L,M} \gamma_{JKLM}(\Omega) \overline{E_J E_K E_L E_M}$$

où les indices I, J, K, L, M sont liés au repère macroscopique et $\overline{(\dots)}$ tient compte de la photodétection moyennée dans le temps. Les composantes E_I sont les projections de la polarisation du champ incident sur les différents axes du repère macroscopique. La composante $P_I(\Omega)$ est un tenseur de susceptibilité d'ordre 4 qui participe à l'absorption à deux photons. La composante $\gamma_{JKLM}(\Omega)$ est un tenseur de susceptibilité d'ordre 2 qui intervient dans le processus d'émission d'un photon.

Pour une orientation donnée du cristal, les diagrammes polaires $I_X^{Fluo}(\Omega)$ et $I_Y^{Fluo}(\Omega)$ sont identiques à un facteur multiplicatif près. En effet, d'après l'expression précédente, le rapport :

$$\frac{I_X^{Fluo}(\Omega)}{I_Y^{Fluo}(\Omega)} = \frac{P_X(\Omega)}{P_Y(\Omega)}$$

est constant. Cette propriété est due au fait que les processus d'excitation et d'émission sont découplés. Ainsi, si la structure est parfaitement monocristalline, on observe une forme identique pour les diagrammes polaires $I_X^{Fluo}(\Omega)$ et $I_Y^{Fluo}(\Omega)$.

Nous présentons ci-dessous les intensités détectées I_X et I_Y en fonction de l'angle Ω , sous la forme d'un diagramme polaire dans le plan (X, Y) du repère macroscopique. Les signaux obtenus expérimentalement pour des nanocristaux distincts présents dans l'échantillon sont présentés sur la figure III.23. La courbe rouge correspond à la détection analysée dans la direction X tandis que la courbe noire correspond à celle enregistrée selon la direction Y.

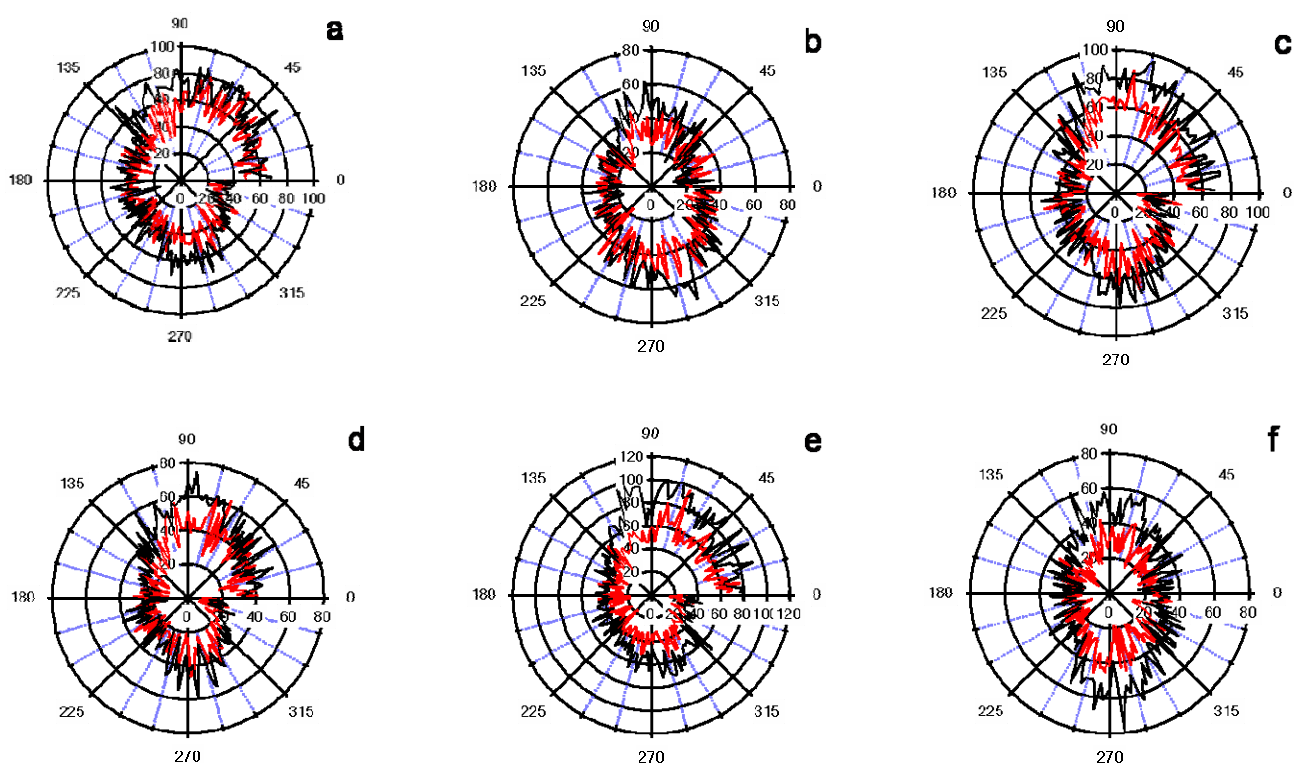


Figure III. 23 : Diagrammes polaires obtenus par focalisation du faisceau laser sur six nanocristaux différents contenus dans l'échantillon

Nous constatons que les réponses en polarisation dans les directions X et Y ont la même forme bien qu'elles soient d'amplitudes différentes. Comme nous l'avons vu, cette réponse est caractéristique d'une nanoparticule monocristalline. A cause du photoblanchiment rapide des nanocristaux de rubrène, ces signaux sont cependant très bruités. Si le rapport signal/bruit avait été plus fort, ces diagrammes polaires auraient permis de déterminer les angles d'Euler (θ, ϕ, ψ) et par conséquent de connaître l'orientation cristalline du nanocristal.

Nous avons donc synthétisé des nanocristaux monocristallins. Nous verrons au chapitre IV que la cristallinité des nanoparticules permet d'obtenir une délocalisation importante de l'excitation lumineuse dans les nanocristaux. Le fait d'avoir des monocristaux au lieu d'agrégats polycristallins contribue d'autant plus à cette délocalisation et par conséquent à l'amélioration des propriétés de luminescence des nanocristaux.

CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons étudié en parallèle la structure cristalline de microcristaux préparés en solutions libres et de nanocristaux confinés en matrice sol-gel. Pour cette étude cristallographique sur des petits objets, la diffraction électronique en transmission s'est avérée être la technique la mieux adaptée. Nous avons choisi d'étudier les deux fluorophores organiques dont nous connaissions la structure cristallographique grâce à la littérature : le rubrène et le tétracène. L'imagerie et la diffraction du rubrène ont d'abord été réalisées sur un microscope électronique possédant une procédure « low-dose » intégrée, au CERMAV, à la température de l'azote liquide. Dans le cas du rubrène, des figures de diffraction ont été observées aussi bien sur les microcristaux que sur les nanocristaux en matrice sol-gel. Par contre, la structure cristallographique des nanocristaux n'a pas pu être identifiée, on a probablement obtenu un polymorphe non identifié du rubrène ou un mélange de deux polymorphes. Nous avons ensuite adapté la procédure suivie sur le microscope du CERMAV au microscope électronique du Laboratoire de Cristallographie. Etant donné que nous ne disposions pas de la procédure « low-dose », nous n'avons pas pu obtenir sur ce microscope des figures de diffraction pour les nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel. Nous avons donc choisi d'étudier la structure cristalline du tétracène, d'une part parce que cette molécule est plus photostable, d'autre part parce qu'elle ne présente qu'une seule phase cristalline. Nos études par diffraction électronique ont conduit à l'obtention de taches de diffraction aussi bien pour les microcristaux que pour les nanocristaux en matrice sol-gel. Dans les deux cas, les mêmes symétries de taches ont été obtenues, la structure cristalline $P\bar{1}$ trouvée pour les microcristaux par rayons X a donc été confirmée pour les nanocristaux en matrice sol-gel [24].

Il ressort donc de cette étude que les nanoparticules que nous synthétisons sont bien cristallisées. Ceci est très important dans le cadre de l'amélioration des propriétés de luminescence des nanocristaux. En effet, comme nous le verrons au chapitre IV, le transfert d'excitation à l'intérieur d'un agrégat constitué de molécules fluorescentes est favorisé lorsque ces molécules sont organisées en réseau cristallin. Néanmoins, il n'est pas toujours évident d'identifier la structure cristalline et le groupe d'espace obtenu dans le cas des nanocristaux, à cause de la faible stabilité sous faisceau. Enfin, la spectroscopie de fluorescence résolue en polarisation a permis de mettre en évidence que ces nanoparticules organiques sont bien monocristallines. Un tel diagnostic à l'échelle du nanocristal était

impossible à réaliser au moyen des techniques usuelles de caractérisation physico-chimique des structures cristallines.

Des travaux sont maintenant en cours pour identifier l'orientation cristalline des différents types de nanocristaux mis en jeu dans cette recherche en étudiant la réponse par spectroscopie de fluorescence à deux photons résolue en polarisation de nanocristaux de fluorophores suffisamment photostables.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III

- [1] Oikawa, H.; Mitsui, T.; Onodera, T.; Kasai, H.; Nakanishi, H.; Sekiguchi, T., "Crystal Size Dependence of Fluorescence Spectra from Perylene Nanocrystals Evaluated by Scanning Near-Field Optical Microspectroscopy", *Jpn. J. Appl. Phys.*, **42**, L111-L113, 2003
- [2] Wei, Z.; Miura, H.; Masuhara, A.; Kasai, H.; Okada, S.; Nakanishi, H., "Monodispersed Polydiacetylene-Polystyrene Composite Particles", *Jpn. J. Appl. Phys.*, **42**, L1213-L1215, 2003
- [3] Sanz, N.; Boudet, A.; Ibanez, A., "Melting Behavior of Organic Nanocrystals Grown in Sol-gel Matrices", *J. Nanoparticle Res.*, **4**, 99-105, 2002
- [4] Sanz, N.; Baldeck, P. L.; Nicoud, J. F.; Le Fur, Y.; Ibanez, A., "Polymorphism and luminescence properties of CMONS organic crystals: bulk crystals and nanocrystals confined in gel-glasses", *Solid State Sci.*, **3**, 867-875, 2001
- [5] Brasselet, S.; Le Floch, V.; Treussart, F.; Roch, J. F.; Zyss, J.; Botzung, E.; Ibanez, A., "In Situ Diagnostics of the Crystalline Nature of Single Organic Nanocrystals by Nonlinear Microscopy", *Phys. Rev. Lett.*, **92**, 207401-207402, 2004
- [6] Treussart, F.; Botzung-Appert, E.; Ha-Duong, N.-T.; Ibanez, A.; Roch, J. F.; Pansu, R., "Second Harmonic Generation and Fluorescence of CMONS Dye Nanocrystals Grown in a Sol-Gel Thin Film", *Chem. Phys. Chem.*, **4**, 757-760, 2003
- [7] Sanz, N. *Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des Propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel*, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2000.
- [8] Akopyan, Z. A.; Avoyan, R. L.; Struchkov, Y. T., "Crystallographic data on certain sterically strained naphthalene derivatives", *Zh. Strukt. Khim.*, **3**, 602-605, 1962
- [9] Henn, D. E.; Williams, W. G.; Gibbons, D. J., "Crystallographic data for an orthorhombic form of rubren", *J. Appl. Cryst.*, **4**, 256, 1971
- [10] Bulgarovskaya, I.; Vozzhennikov, V.; Aleksandrov, S.; Belsky, V., "Growth Structure and Optical Properties of Single Crystals of Rubrene", *Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis*, **4**, 53-59, 1983
- [11] Vrcelj, R. M.; Shepherd, E. E.; Yoon, C. S.; Sherwood, J. N.; Kennedy, A. R., "Preparation and Structural Evaluation of the Conformational Polymorphs of alpha-[(4-Methoxyphenyl)methylene]-4-nitrobenzeneacetonitrile", *Cryst. Growth Des.*, **2**, 609-617, 2002
- [12] Hertel, E.; Bergk, H. W., "Der strukturelle Feinbau von kondensierten aromatischen Kohlen wasserstoffen und ihren Molekülverbindungen mit Trinitrobenzol", *Z. Phys. Chem.*, **33**, 319-333, 1936

- [13] Monteath Robertson, J.; Sinclair, V. C.; Trotter, J., "The Crystal and Molecular Structure of Tetracene", *Acta Cryst.*, **14**, 697-704, 1961
- [14] Campbell, R. B.; Monteath Robertson, J., "The crystal structure of hexacene, and a revision of the crystallographic data for tetracene and pentacene", *Acta Cryst.*, **15**, 289, 1962
- [15] Holmes, D.; Kumaraswamy, S.; Matzger, A. J.; Vollhardt, K. P. C., "On the Nature and Nonplanarity in the [N]Phenylenes", *Chem. Eur. J.*, **11**, 3399-3412, 1999
- [16] Stadelmann, P. A., "JEMS - a software package for electron diffraction analysis and HREM image simulation in materials science", *Ultramicroscopy*, **21**, 131-145, 1987
- [17] Stadelmann, C. P., *JEMS*, . 1999-2005, CIME-EPFL: Switzerland.
- [18] Fryer, J. R., "Radiation Damage in Organic Crystalline Films", *Ultramicroscopy*, **14**, 227-236, 1984
- [19] Grubb, D. T., "Radiation damage and electron microscopy of organic polymers", *J. Mater. Sci.*, **9**, 1715-1736, 1974
- [20] Eiermann, R.; Parkinson, G. M.; Bäessler, H.; Thomas, J. M., "Structural Investigations of Amorphous Tetracene and Pentacene by Low-Temperature Electron Diffraction", *J. Phys. Chem.*, **87**, 544-551, 1983
- [21] Le Floch, V. *Caractérisation de l'organisation moléculaire par microscopie non-linéaire cohérente et incohérente*, Thèse de doctorat de l'Ecole Normale Supérieure de Cachan, 2004.
- [22] Denk, W.; Strickler, J. H.; Webb, W. W., "Two-photon laser scanning fluorescence microscopy", *Science*, **248**, 73-76, 248
- [23] Le Floch, V.; Brasselet, S.; Roch, J. F.; Zyss, J., "Monitoring of Orientation in Molecular Assemblies by Polarization Sensitive Nonlinear Microscopy", *J. Phys. Chem. B*, **107**, 12403-12410, 2003
- [24] Monnier, V.; Bacia, M.; Putaux, J. L.; Ibanez, A., "TEM Characterization of Organic Nanocrystals grown in Sol-Gel thin films", soumis à *J. Nanopart. Res.*, , 2006

Chapitre IV

REALISATION DE CAPTEURS CHIMIQUES

PLAN DU CHAPITRE IV

INTRODUCTION	127
1. PRINCIPE DES CAPTEURS PAR TRANSFERT D'ENERGIE	127
1.1. Transferts d'énergie radiatif et non radiatif	127
1.2. Mécanisme d'interaction entre donneur et accepteur dans le cas du transfert résonant	129
2. EMISSION ET INHIBITION DE FLUORESCENCE	131
2.1. Emission de fluorescence	131
2.1.1. <i>Transitions radiatives et non-radiatives entre états électroniques.....</i>	<i>131</i>
2.1.2. <i>Durée de vie de fluorescence.....</i>	<i>132</i>
2.1.3. <i>Rendement quantique de fluorescence</i>	<i>134</i>
2.2. Mécanisme d'inhibition de fluorescence	135
2.2.1. <i>Processus d'inhibition</i>	<i>135</i>
2.2.2. <i>Modèle de la sphère d'inhibition effective.....</i>	<i>136</i>
3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE RESOLUE EN TEMPS	138
3.1. Principe.....	138
3.2. Montage expérimental	138
3.2.1. <i>Source</i>	<i>139</i>
3.2.2. <i>Détection</i>	<i>139</i>
3.2.3. <i>Microscope</i>	<i>140</i>
3.3. Préparation des échantillons	140
3.4. Traitement des données brutes.....	142
3.5. Mesure des durées de vie de fluorescence	143
3.5.1. <i>Rayon de Förster.....</i>	<i>143</i>
3.5.2. <i>Effet du transfert donneur-donneur de l'énergie d'excitation</i>	<i>143</i>
3.5.3. <i>Ajustement bi-exponentiel des déclins de fluorescence</i>	<i>145</i>
4. SELECTION DES FLUOROPHORES ORGANIQUES	146
4.1. Le rubrène.....	147
4.2. Le tétracène.....	148
4.3. Le pérylène A	149
5. EFFET DE LA POROSITE DE LA MATRICE SOL-GEL.....	152
5.1. Echelle de porosité.....	153
5.2. Principe de la mesure indirecte de la porosité par spectroscopie de fluorescence	153
5.3. Matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS	154
5.4. Matrice TMSE + n TMOS en catalyse acide.....	155
5.4.1. <i>Effet de l'agent réticulant TMOS</i>	<i>155</i>
5.4.2. <i>Effet de la quantité de TMOS.....</i>	<i>156</i>
5.5. Matrice TMSE + 2 TMOS en catalyse acido-basique.....	158
5.6. Mesure directe de la porosité par ellipsométrie couplée à l'adsorption-désorption de gaz ..	159
5.6.1. <i>Matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS</i>	<i>160</i>
5.6.2. <i>Matrice TMSE + 2 TMOS</i>	<i>161</i>
6. EFFET DE LA TAILLE DES NANOCRISTAUX.....	164
7. CAPTEUR CHIMIQUE	167
7.1. Effet capteur sur des nanocristaux de rubrène.....	168
7.2. Effet capteur sur des nanocristaux de tétracène.....	170
7.2.1. <i>Capteur rédox</i>	<i>170</i>
7.2.2. <i>Capteur de pH</i>	<i>171</i>
CONCLUSION.....	173
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV	175

INTRODUCTION

Notre but est de concevoir un capteur dans lequel la fonction de détection est séparée de la fonction de signalisation, basée sur l'émission de fluorescence des nanocristaux. La transmission de l'information entre ces deux fonctions peut se faire de différentes manières : par transfert d'électron photoinduit, transfert de proton photoinduit ou transfert de l'énergie d'excitation. Les transferts d'électron ou de proton nécessitent un recouvrement orbitalaire donc une liaison chimique forte entre les molécules de la fonction de détection et celles de la fonction de signalisation. Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser une transmission par transfert d'énergie pour laquelle les contraintes sont moins grandes puisque les molécules de la fonction de détection peuvent être simplement physisorbées à la surface de la fonction de signalisation.

Après avoir présenté le principe de ce transfert d'énergie entre deux molécules, nous rappellerons les principaux mécanismes d'émission et d'inhibition de fluorescence. Puis nous introduirons notre méthode de mesure expérimentale du transfert d'énergie par spectroscopie de fluorescence résolue en temps. Nous présenterons ensuite les déclins de fluorescence obtenus pour des cristaux non supportés puis pour des nanocristaux inclus en matrice sol-gel. Dans le cas des nanocristaux en matrice sol-gel, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'effet de deux paramètres sur l'inhibition de fluorescence entraînée par le transfert d'énergie. Nous considérerons d'abord la porosité de la matrice sol-gel puis la taille des nanocristaux. Enfin, nous démontrerons la validité de fonctionnement de nos matériaux comme capteurs chimiques.

1. PRINCIPE DES CAPTEURS PAR TRANSFERT D'ENERGIE

1.1. Transferts d'énergie radiatif et non radiatif

Le transfert d'énergie d'une molécule excitée (donneur d'énergie D) à une autre molécule différente (accepteur d'énergie A) se fait selon la réaction [1] :



Ce processus, appelé **hétérotransfert**, est possible à condition que le spectre d'absorption de A recouvre partiellement le spectre d'émission de fluorescence de D. Dans le cas où le spectre d'émission de fluorescence du donneur recouvre son spectre d'absorption, il peut y avoir **homotransfert** :



Il faut faire la distinction entre transfert radiatif et non radiatif. Le transfert radiatif est un processus à deux étapes : un photon émis par un donneur D est absorbé par un accepteur chimiquement différent (A) ou identique (D) :



Un tel transfert ne requiert aucune interaction entre les partenaires mais dépend seulement du recouvrement spectral des espèces et de la concentration. Une des conséquences du transfert radiatif est une diminution de l'intensité de fluorescence dans la région de recouvrement spectral.

Au contraire, le transfert non radiatif se produit sans émission de photon. Il résulte d'une interaction à courte ou moyenne distance entre molécules. Les transferts radiatif et non radiatif ont diverses conséquences sur les caractéristiques de l'émission de fluorescence du donneur, qui sont résumées dans le tableau suivant :

Caractéristiques de l'émission de fluorescence du donneur	Transfert <u>radiatif</u>	Transfert <u>non radiatif</u>
Forme du spectre de fluorescence	Modifiée dans la région de recouvrement spectral	Inchangée
Intensité de fluorescence stationnaire	Diminuée dans la région de recouvrement spectral	Diminuée dans le même rapport quelle que soit la longueur d'onde d'émission
Déclin de fluorescence	Inchangé	Plus rapide

Nous allons voir que dans notre cas, il y a modification du déclin de fluorescence. Nous nous intéresserons donc dans la suite uniquement au transfert non radiatif. Il existe alors une correspondance en énergie entre les transitions vibroniques du donneur et celles de l'accepteur. De telles transitions sont couplées, c'est-à-dire en résonance, ainsi on parle aussi de transfert résonant ou transfert de Förster. En biologie, ce type d'interaction est aussi appelé FRET (Fluorescent Resonant Energy Transfer). Le diagramme d'énergie suivant (figure IV.1) représente les niveaux associés au donneur et à l'accepteur lorsqu'il y a transfert d'énergie [1].

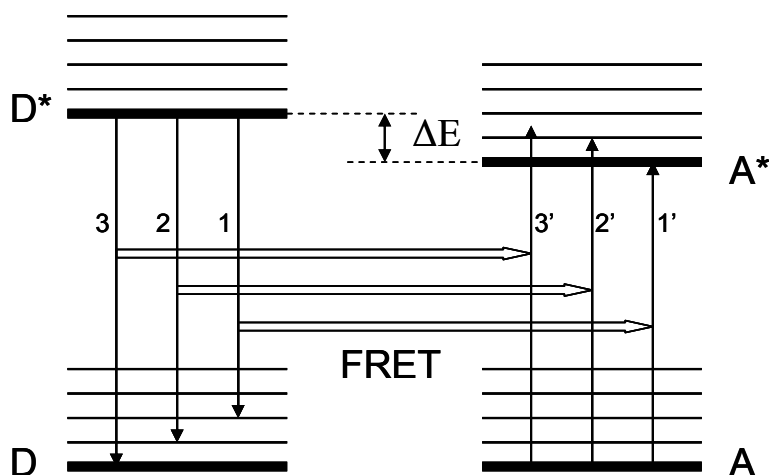


Figure IV. 1 : Diagramme des niveaux d'énergie intervenant dans un mécanisme de FRET entre un donneur d'énergie D et un accepteur d'énergie A

Les transitions 1-1', 2-2' et 3-3' sont couplées, on dit que ce sont des transitions résonantes.

1.2. Mécanisme d'interaction entre donneur et accepteur dans le cas du transfert résonant

Les interactions entre donneur et accepteur peuvent être de deux types :

- coulombiennes : interaction dipôle-dipôle à grande distance (mécanisme de Förster) ou multipolaire à courte distance
- dues à un recouvrement d'orbitales moléculaires : dans ce cas, elles s'établissent forcément à courte distance.

Lorsque les transitions impliquées dans D et A sont permises, l'interaction coulombienne est prédominante, même à courte distance. C'est le cas dans notre étude où le donneur D est une molécule organique fluorescente à l'intérieur d'un nanocristal et l'accepteur A est une molécule appelée « molécule sonde » dont le spectre d'absorption recouvre partiellement le spectre d'émission de fluorescence de A. Ce transfert requiert une interaction entre la molécule D et la molécule A, il est donc fonction de la distance R qui sépare D de A. Förster a ainsi défini une distance critique R_0 pour laquelle l'efficacité du transfert est de 50% [2]. Nous verrons au paragraphe 3.5.3 que cette distance définit deux populations de fluorophores à l'intérieur d'un même nanocristal. Ainsi, nous souhaitons concevoir des capteurs fluorescents fonctionnant sur le principe présenté figure IV.2.

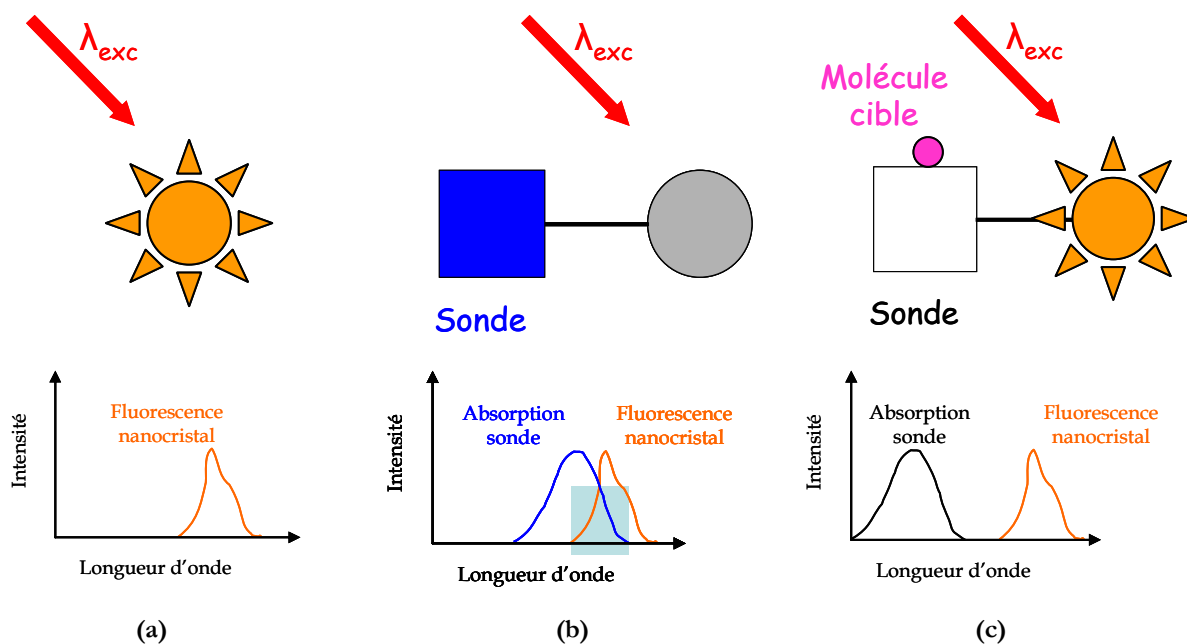


Figure IV. 2 : Schéma de principe du nanocapteur: nanocrystal fluorescent (a), nanocrystal fonctionnalisé par une molécule sonde adsorbée à sa surface qui inhibe sa fluorescence (b) et nanocrystal détectant une molécule cible reconnue par retour de sa fluorescence lorsque le spectre d'absorption de la molécule sonde ne recouvre plus le spectre d'émission de fluorescence du nanocrystal (c).

On soumet le système à une excitation lumineuse. Lorsque la molécule sonde n'est pas associée au nanocrystal, il n'y a pas recouvrement spectral et le transfert d'énergie est impossible: le nanocrystal présente ses propriétés intrinsèques de fluorescence (étape a, figure IV.2). Lorsque la molécule sonde associée vient s'adsorber à la surface du nanocrystal, celui-ci est dit « fonctionnalisé », il y a recouvrement spectral entre l'absorption de la molécule sonde et l'émission de fluorescence du nanocrystal : le système est « éteint » (étape b, figure IV.2). On a ainsi élaboré un « interrupteur moléculaire ». L'étape suivante consiste en la détection d'une molécule cible (étape c, figure IV.2) qui modifie le spectre d'absorption de la sonde (par effet rédox, de pH, complexation,...). Le spectre d'absorption de la sonde est alors déplacé et il n'y a plus recouvrement spectral avec le spectre d'émission de fluorescence du nanocrystal donc plus de transfert d'énergie. Le nanocrystal retrouve sa fluorescence initiale, on détecte ainsi la molécule cible par retour de la luminescence du nanocrystal.

2. EMISSION ET INHIBITION DE FLUORESCENCE

Pour évaluer le transfert d'énergie qui se produit lors de l'interaction entre un nanocristal et une molécule sonde, nous avons étudié les propriétés de fluorescence des nanocristaux en présence des différents environnements chimiques, et en particulier la durée de vie de fluorescence des nanocristaux que nous définirons au paragraphe 2.1.2.

2.1. Emission de fluorescence

2.1.1. Transitions radiatives et non-radiatives entre états électroniques

Une molécule se trouve naturellement dans son état fondamental. Si elle est irradiée par un faisceau lumineux, l'absorption d'un photon la fait passer dans un état excité. Son retour vers l'état fondamental peut alors s'accompagner ou non d'une émission de photons. Le diagramme de Perrin-Jablonski (figure IV.3) permet de représenter les différents processus de désexcitation possibles.

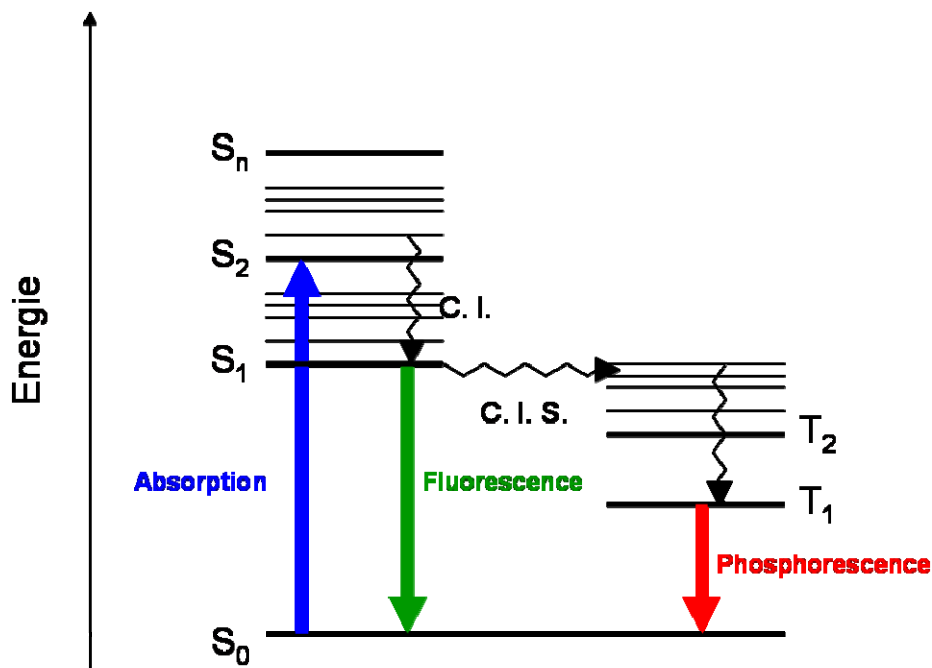


Figure IV. 3 : Diagramme de Perrin-Jablonski

Le niveau d'énergie S_0 est l'état fondamental de la molécule, les niveaux $S_1, S_2, \dots, S_n$ correspondent aux états électroniques excités. Les états triplets T_1 et T_2 se distinguent des états singulets $S_1, S_2, \dots, S_n$ par la multiplicité du spin total de leur configuration électronique (3 pour un état triplet, 1 pour un état singulet). Un état triplet correspond à trois états d'égale énergie, cette énergie étant inférieure à celle de l'état singulet de même configuration conformément à la règle de Hund. A chaque état singulet est associé une série de niveaux vibrationnels. La plupart des molécules fluorescentes en solution ont des bandes d'absorption et de fluorescence larges, dues à la solvation. On observe d'une part, un

élargissement dit inhomogène, à cause des fluctuations de la cage de solvation entourant chaque fluorophore : ceci conduit à une distribution statistique des énergies de transitions électroniques. D'autre part, il existe un élargissement dit homogène, à cause de la fréquence des collisions avec le solvant. Les processus de désexcitation possibles suite à l'absorption d'un photon peuvent être séparés en deux groupes :

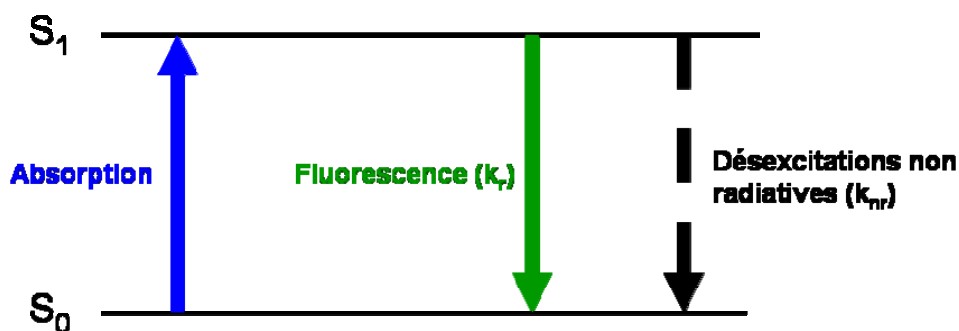
- Les désexcitations **radiatives**, c'est-à-dire s'accompagnant d'une émission de photons, qui comprennent :
 - La fluorescence, qui est l'émission de photons associée à la relaxation $S_1 \rightarrow S_0$.
 - La phosphorescence, qui est l'émission de photons associée à la relaxation $T_1 \rightarrow S_0$.

Cependant, la probabilité de désexcitation $T_1 \rightarrow S_0$ demeure faible puisque cette transition est théoriquement interdite (mais possible par couplage spin-orbite). Ceci se traduit par une valeur numérique de la constante de vitesse radiative qui peut être au moins 100 à 1000 fois plus petite que pour une transition $S_1 \rightarrow S_0$.

- Les désexcitations **non radiatives** (sans émission de photons):
 - La conversion interne (CI): elle a lieu entre deux états électroniques de même multiplicité de spin (transition singulet-singulet $S_n \rightarrow S_1$ ou triplet-triplet $T_2 \rightarrow T_1$). Il existe aussi une conversion interne $S_1 \rightarrow S_0$, mais elle est moins efficace que $S_n \rightarrow S_{n-1}$ car la différence d'énergie est beaucoup plus grande entre S_1 et S_0 .
 - Le croisement inter-système (CIS) : il intervient entre deux niveaux vibrationnels appartenant à des états électroniques de multiplicités différentes, ici entre un état singulet et un état triplet.

2.1.2. Durée de vie de fluorescence

L'émission d'un photon est aussi rapide que l'absorption d'un photon (de l'ordre de 10^{-15} s). Cependant, les molécules excitées restent un certain temps dans l'état S_1 (de 10^{-11} à 10^{-7} s) avant d'émettre un photon ou d'utiliser un autre processus de désexcitation. Ainsi, après excitation d'une population de molécules par une impulsion de lumière très brève, l'intensité de fluorescence décroît avec un temps caractéristique qui reflète la durée de vie moyenne des molécules dans l'état excité S_1 . Si on considère un diagramme de Perrin-Jablonski simplifié (figure IV.4), on peut définir deux vitesses de désexcitation des molécules dans l'état S_1 : une radiative k_r (associée à la fluorescence) et une non radiative k_{nr} .

Figure IV. 4 : Transitions possibles entre S_0 et S_1

Soit un émetteur de fluorescence constitué de molécules D. Une impulsion lumineuse très courte fait passer à l'instant $t = 0$ un certain nombre de molécules D dans l'état S_1 par absorption de photons. Puis ces molécules retournent à l'état fondamental S_0 de façon radiative ou non radiative. Notons $[D^*]$ la concentration de molécules fluorescentes excitées dans l'état S_1 à l'instant t . Alors la vitesse de disparition des molécules excitées s'exprime par l'équation différentielle suivante :

$$-\frac{d[D^*]}{dt} = (k_r + k_{nr})[D^*] \quad (\text{eq.5})$$

Soit $[D^*]_0$ la concentration en molécules excitées à l'instant $t = 0$. La résolution de l'équation 5 conduit à :

$$[D^*] = [D^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (\text{eq.6})$$

où τ_s est la durée de vie de l'état excité S_1 , donnée par :

$$\tau_s = \frac{1}{k_r + k_{nr}} \quad (\text{eq.7})$$

Par abus de langage, τ_s est également appelé temps de déclin de fluorescence ou durée de vie de fluorescence, même s'il comprend aussi des processus de désexcitation non radiative. L'intensité de fluorescence i_F à l'instant t est proportionnelle à la concentration de molécules excitées à l'instant t , le facteur de proportionnalité étant la constante de vitesse de désexcitation radiative k_r (aussi appelée taux de désexcitation radiative par fluorescence).

$$i_F(t) = k_r[D^*] = k_r[D^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (\text{eq.8})$$

Ainsi, l'intensité de fluorescence décroît de manière exponentielle (figure IV.5a). Habituellement, on représente plutôt le logarithme de l'intensité (figure IV.5b). Un déclin monoexponentiel apparaîtra donc comme une droite dont la pente est l'inverse de la durée de vie de fluorescence.

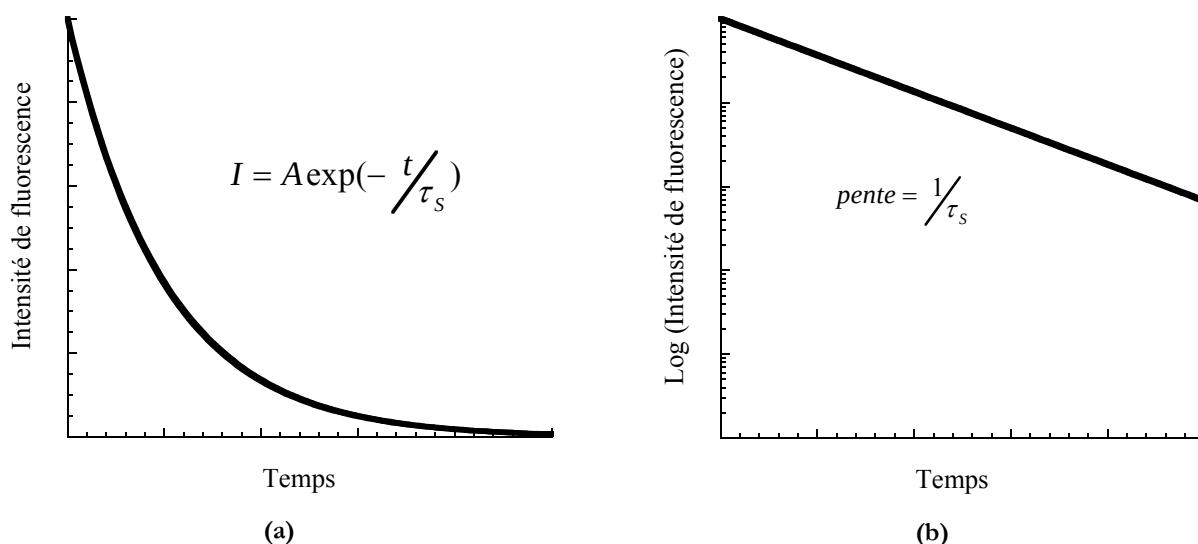


Figure IV. 5: Représentation en échelle linéaire (a) et logarithmique (b) d'un déclin de fluorescence

2.1.3. Rendement quantique de fluorescence

Le rendement quantique de fluorescence ϕ_F est la fraction de molécules excitées qui retournent à l'état fondamental S_0 avec émission de photons de fluorescence. Il s'exprime de la façon suivante :

$$\phi_F = \frac{k_r}{k_r + k_{nr}} = k_r \tau_s \quad (\text{eq.9})$$

En d'autres termes, le rendement quantique de fluorescence est le rapport du nombre de photons émis (sur toute la durée du déclin de l'émission) et du nombre de photons absorbés. En effet, le rapport de la réponse impulsionnelle $i_F(t)$ au nombre de photons absorbés est donné par :

$$\frac{i_F(t)}{[D^*]_0} = k_r \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \quad (\text{eq.10})$$

L'intégration de cette relation sur toute la durée du déclin (mathématiquement de 0 à l'infini) donne ϕ_F :

$$\frac{1}{[D^*]_0} \int_0^\infty i_F(t) dt = k_r \tau_s \quad (\text{eq.11})$$

Ci-dessous sont données quelques valeurs typiques du rendement quantique et de la durée de vie de fluorescence mesurées en solution des molécules polyaromatiques que nous utilisons [3].

Molécule	Solvant	ϕ_F	τ_s (ns)
Rubrène	Benzène	0,96	16,4
Tétracène	Benzène	0,16	5,2

On constate que le rendement quantique de fluorescence ainsi que la durée de vie de fluorescence en solution sont bien meilleurs dans le cas du rubrène que du tétracène. Les dérivés polyaromatiques portant des groupements phényle voient leur rendement quantique augmenter très largement par rapport à leurs homologues non substitués. En effet, dans le tétracène, le deuxième état excité triplet T_2 se trouve au même niveau énergétique que l'état S_1 ; la désexcitation par conversion inter-système (C. I. S. , voir figure IV.3) est donc favorisée par rapport à la fluorescence. Il a été montré que la substitution par des groupements phényle, comme sur la molécule de rubrène, induit un déplacement vers les hautes énergies de l'état S_1 et vers les basses énergies de l'état T_2 [4]. Ceci rend donc quasi inexistante la conversion inter-système et conduit à une augmentation du rendement quantique de fluorescence important pour le rubrène.

2.2. Mécanisme d'inhibition de fluorescence

Nous allons maintenant nous intéresser aux processus qui interviennent lorsqu'une molécule sonde, c'est-à-dire un inhibiteur de fluorescence (« quencher » en anglais), vient s'adsorber à la surface du nanocristal. Lors de la désexcitation (passage de D^* à D), il se produit en plus une interaction entre une molécule fluorescente excitée D^* et une molécule inhibitrice A . Nous nous limiterons ici aux processus photophysiques intermoléculaires, c'est-à-dire lorsque la molécule D se retrouve inchangée dans son état fondamental et qu'il n'y a pas de transformations internes des molécules impliquées (rupture ou formation de liaisons).

2.2.1. Processus d'inhibition

Les caractéristiques de la fluorescence (durée de vie et rendement quantique) de D^* sont affectées par la présence de A car il y a compétition entre la désexcitation intrinsèque (passage de D^* à D) et les processus intermoléculaires (interaction entre D^* et A d'une part, et D et A d'autre part). Dans notre cas, le processus est contrôlé par la diffusion mutuelle de A vers le fluorophore excité D^* . L'interaction

entre A et D* se produit sous forme d'une collision pendant la durée de vie de l'état excité. D'une part, l'accepteur A peut diffuser de la solution vers la surface du nanocristal. D'autre part, nous verrons au § 3.5.2 que l'excitation lumineuse peut diffuser du cœur du nanocristal vers sa périphérie. On ne peut donc pas conclure simplement sur la nature statique ou dynamique du processus d'inhibition. Soit D* est créé près de la surface du nanocristal, il est alors rapidement éteint par A. Soit D* est créé loin de la surface, l'excitation n'aura donc pas le temps d'atteindre la surface du nanocristal pendant la durée de vie de l'état excité. Ainsi, une modélisation plus simple s'est avérée suffisante pour rendre compte de nos résultats : la sphère d'inhibition effective.

2.2.2. Modèle de la sphère d'inhibition effective

Le modèle de la sphère d'inhibition effective [5] a été proposé en particulier pour interpréter le transfert d'énergie non radiatif en milieu rigide (comme par exemple dans le cas de fluorophores piégés dans une matrice sol-gel). Dans ce modèle, l'inhibition de fluorescence d'un fluorophore est supposée totale si un inhibiteur A est situé à l'intérieur d'une sphère, dite sphère d'inhibition effective, de volume V_A entourant le fluorophore D (figure IV.6)

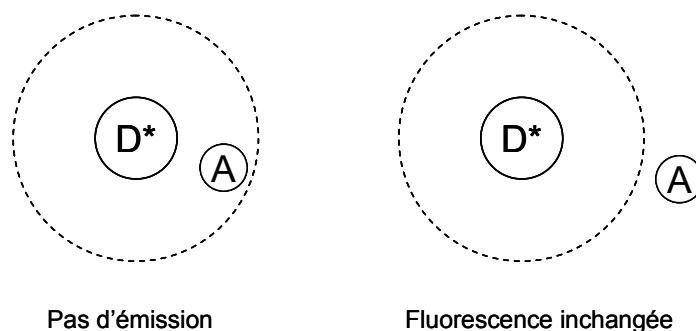


Figure IV. 6 : Schéma de la sphère d'inhibition effective

Si un inhibiteur est situé hors de la sphère, il n'a aucun effet sur D* : son déclin de fluorescence après une excitation impulsionnelle est inchangé. La probabilité que n inhibiteurs résident dans le volume V_A s'écrit selon une loi de Poisson :

$$P_n = \frac{\langle n \rangle^n}{n!} \exp(-\langle n \rangle) \quad (\text{eq.12})$$

où $\langle n \rangle = V_A N_a [A]$ est le nombre moyen d'inhibiteurs contenus dans V_A et N_a est le nombre d'Avogadro.

La probabilité P_0 qu'il n'y ait aucun inhibiteur dans le volume est donc :

$$P_0 = \exp(-\langle n \rangle) = \exp(-V_A N_a [A]) \quad (\text{eq.13})$$

Puisque l'intensité de fluorescence est proportionnelle à P_0 , on obtient l'expression suivante :

$$\frac{I_0}{I} = \exp(V_A N_a [A]) \quad (\text{eq.14})$$

où I_0 et I sont respectivement les intensités de fluorescence en absence et en présence d'inhibiteur.

On obtient donc : $I(t) = I_0(t) \exp(-V_A N_a [A])$, ce qui donne en échelle logarithmique :

$$\log(I(t)) = \log(I_0(t)) - V_A N_a [A] \quad (\text{eq.15})$$

Si la concentration d'inhibiteurs A est constante, la courbe donnant le logarithme de l'intensité après ajout de l'inhibiteur sera la translation verticale de la courbe obtenue avant ajout de l'inhibiteur. Supposons que le déclin de fluorescence initial des donneurs est monoexponentiel, c'est-à-dire ne contient qu'une seule espèce fluorescente de durée de vie τ_1 . Après ajout de l'accepteur A , on obtiendra donc un déclin de fluorescence biexponentiel dont la durée de vie longue restera τ_1 puisqu'elle concerne les donneurs de fluorescence situés hors de la sphère d'inhibition effective qui n'interagissent pas avec l'accepteur A . La durée de vie courte, notée τ_2 , concerne les donneurs qui interagissent avec l'accepteur A . Les déclins obtenus sans A et après ajout de A auront donc l'allure présentée sur la figure IV.7.

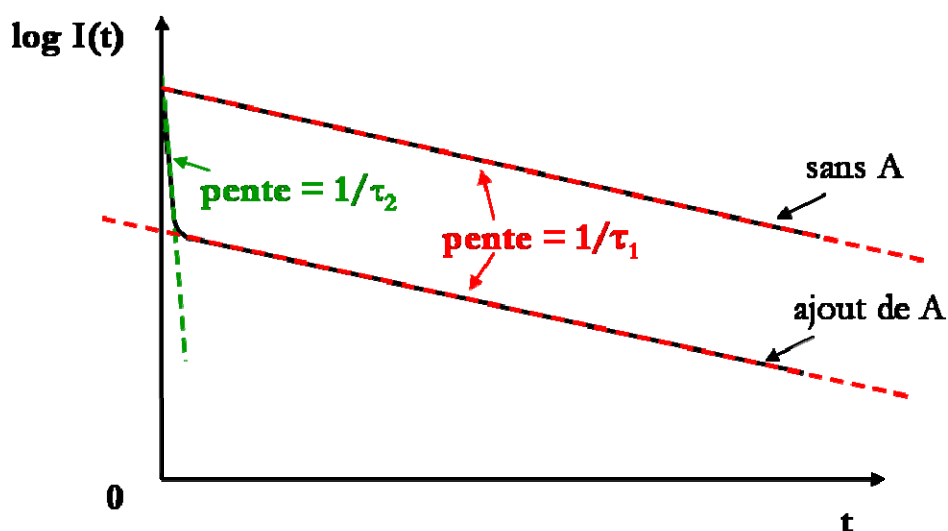


Figure IV. 7 : Allure des déclins de fluorescence en échelle logarithmique sans inhibiteur A et après ajout de A

L'ajustement des déclins par des fonctions mono ou biexponentielles sera précisé au § 3.5.3.

3. SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE RESOLUE EN TEMPS

3.1. Principe

Pour comprendre les phénomènes photophysiques, il est nécessaire de disposer d'informations sur la dynamique des états excités. La spectroscopie résolue en temps est couramment utilisée dans ce but. Elle permet de déterminer les durées de vie, ou, plus généralement, les paramètres caractérisant la réponse impulsionnelle d'un échantillon fluorescent. Pour cela, l'échantillon est excité par une impulsion lumineuse très courte, de l'ordre de 10^{-15} s. On observe alors la réponse impulsionnelle du système, convoluée par la réponse instrumentale. Dans ce travail, il n'a pas été nécessaire de déconvoluer nos données car on mesure des durées de vie plus longues que l'impulsion lumineuse excitatrice. Nous obtenons ainsi une courbe donnant la décroissance de l'intensité de fluorescence des nanocristaux en fonction du temps, après excitation au temps $t=0$.

3.2. Montage expérimental

Le montage de spectroscopie de fluorescence résolue en temps que j'ai utilisé est situé au laboratoire de Photophysique et Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires (PPSM) de l'E.N.S. de Cachan. Nous avons pu l'utiliser lors de plusieurs campagnes d'expériences dans le cadre d'une collaboration étroite avec l'équipe de R. Pansu. Ce montage permet d'enregistrer, en cuve et sur lames de microscope, des déclins de fluorescence, et de réaliser en même temps des images en microscopie optique plein champ. Ce montage comporte trois parties (figure IV.8):

- une source de lumière
- un microscope
- une chaîne de détection

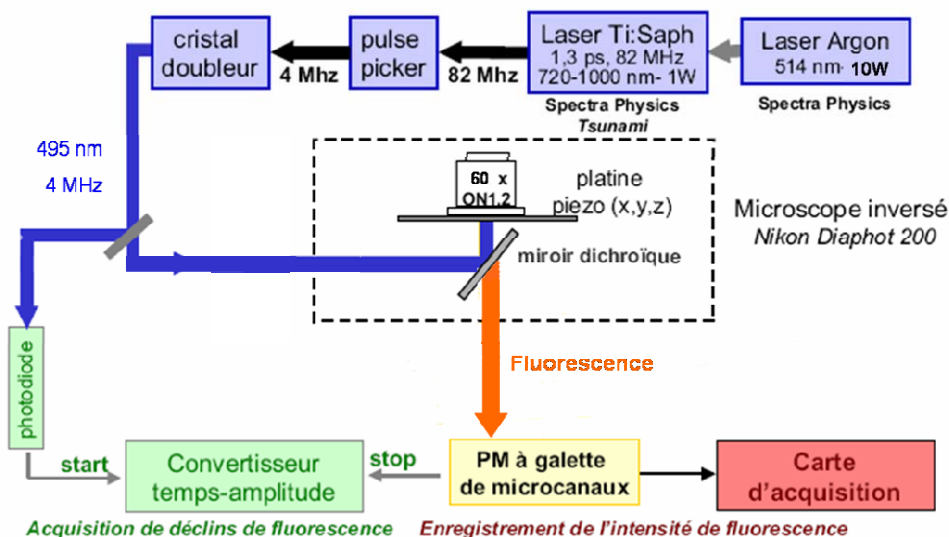


Figure IV. 8 : Montage de spectroscopie de fluorescence résolue en temps

3.2.1. Source

La source lumineuse pour les mesures de fluorescence résolue en temps est un laser Titane : Saphir à modes bloqués, pompé par un laser à Argon ionisé (Spectra Physics) dont la puissance est ajustée à 10 W. L'ensemble délivre des impulsions d'une durée de 1,3 ps à la fréquence de 82 MHz qui peut être abaissée à 4 MHz (soit 250 ns entre deux impulsions) par une cellule de Bragg implantée dans le module doubleur. Ceci permet une relaxation complète des échantillons entre deux excitations successives. La baisse de la fréquence des excitations permet également d'éviter le photoblanchiment de l'échantillon en diminuant la quantité de lumière reçue. Après la cellule de Bragg, le faisceau laser (émettant dans l'infrarouge) passe par un cristal de LBO (LiB_3O_5) permettant d'obtenir des longueurs d'onde du visible par doublage de fréquence. Dans toute cette étude, les expériences ont été réalisées avec une longueur d'onde d'excitation de 495 nm. Enfin, le faisceau éclaire l'échantillon au travers d'un objectif de microscope de grandissement $\times 60$ et d'ouverture numérique 1,2.

3.2.2. Détection

Le détecteur est un photomultiplicateur Europhoton GmbH (Berlin) corrélé dans l'espace et dans le temps, composé de galetes de microcanaux. Il permet d'enregistrer, d'une part, le retard à la fluorescence, c'est-à-dire le temps qui s'écoule entre l'absorption de l'impulsion laser et la fluorescence du premier photon, pour obtenir les déclins de fluorescence et, d'autre part, la position des photons émis pour faire de l'imagerie. Pour enregistrer le retard à la fluorescence, on divise le faisceau en deux parties. Une partie est envoyée sur une photodiode, ceci nous permet d'obtenir le temps $t = 0$ de l'excitation et déclenche le chronométrage du compteur de photons. L'autre partie va sur l'échantillon : les photons émis par fluorescence sont collectés puis focalisés au niveau d'une photocathode. Chaque

photon éjecte un électron par effet photoélectrique. Ce photoélectron engendre une avalanche d'électrons dans deux galettes de microcanaux. L'amplification se produit par contact des électrons avec les parois des microcanaux, il y a alors formation d'une avalanche d'électrons secondaires accélérés. La seconde galette contient un détecteur temporel qui enregistre le temps d'arrivée. Les électrons sont ensuite collectés par un détecteur multianode comprenant quatre anodes disposées selon quatre cadrans et une anode circulaire. Cette géométrie a été optimisée afin d'obtenir précisément la position d'émission du photoélectron. Pour chaque avalanche, les charges collectées par les cinq anodes sont mesurées et un calcul de barycentre permet d'obtenir le centre de l'avalanche et donc le point d'impact du photon.

3.2.3. Microscope

L'échantillon est placé sur la platine d'un microscope NIKON TE 2000 et éclairé en champ large, pour limiter le photoblanchiment des échantillons pendant l'acquisition des déclinés de fluorescence.

3.3. Préparation des échantillons

Comme nous l'avons vu, nous étudions les déclinés de fluorescence des nanocristaux en présence de différents environnements chimiques. La molécule sonde « type » que nous avons choisie est le Bleu de Cibacron ($C_{30}H_{18}ClN_6O_{11}S_3$). Sa formule développée est présentée sur la figure IV.9.

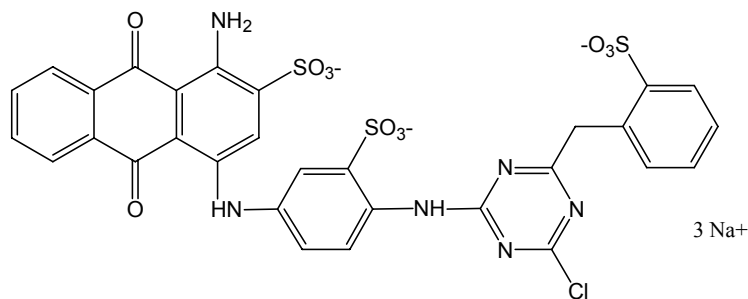


Figure IV. 9 : Formule développée de la molécule de Bleu de Cibacron

Le Bleu de Cibacron (BC) présente l'avantage d'avoir un large spectre d'absorption dans le visible, donc un bon recouvrement spectral avec le spectre d'émission de fluorescence des nanocristaux de rubrène élaborés dans cette thèse (figures IV.10 et 11) [6].

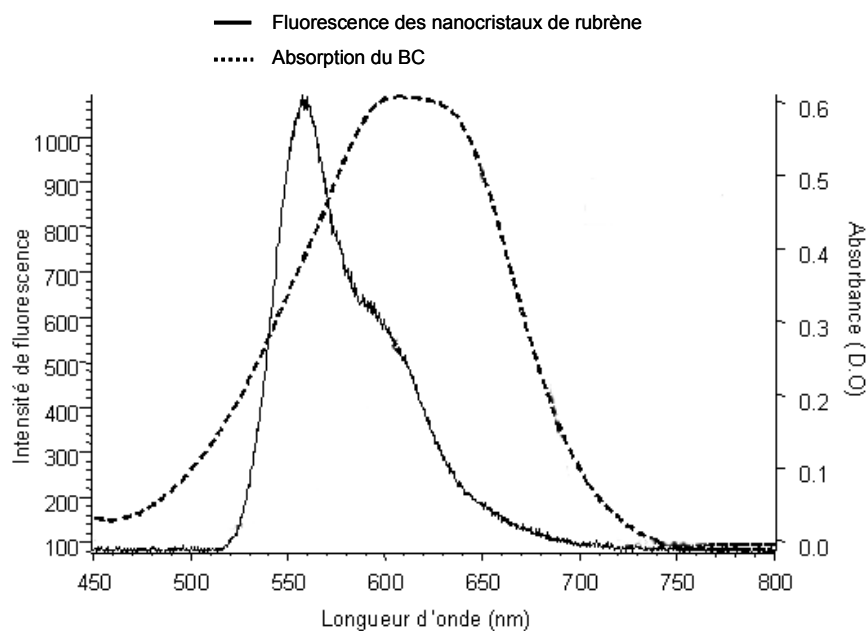


Figure IV. 10 : Spectre de fluorescence des nanocristaux de rubrène dans des couches minces sol-gel superposé au spectre d'absorption du Bleu de Cibacron

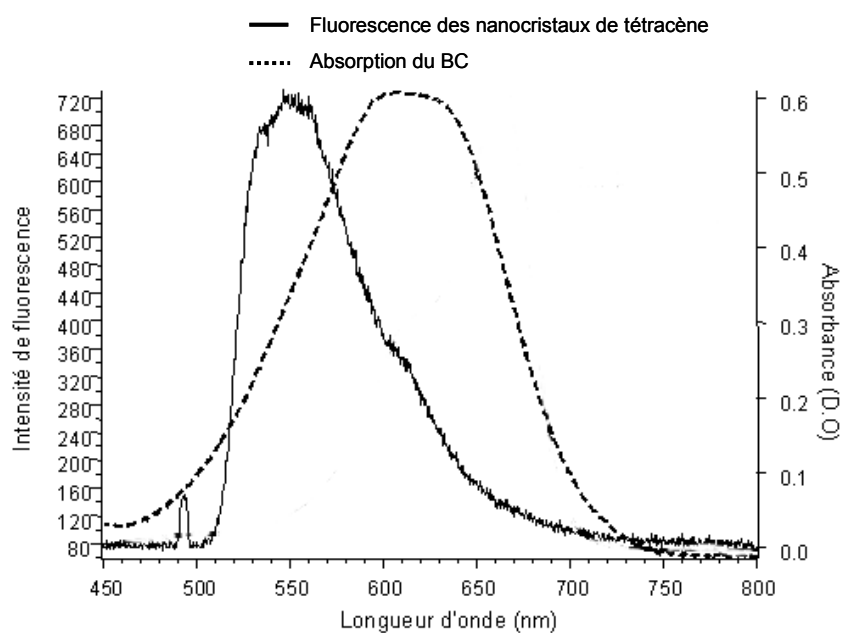


Figure IV. 11 : Spectre de fluorescence des nanocristaux de tétracène dans des couches minces sol-gel superposé au spectre d'absorption du Bleu de Cibacron

Le recouvrement entre les spectres de fluorescence du rubrène et du tétracène et le spectre d'absorption du BC est important, ce qui permet de supposer que le transfert d'énergie nanocristaux-molécule sonde sera satisfaisant.

De plus, le BC est peu fluorescent, contrairement à d'autres indicateurs colorés, ce qui limite les artefacts de mesure avec la fluorescence des nanocristaux. Enfin, il est stable en solution, il n'y donc pas de risque d'évolution de sa coloration. Nous utilisons le BC en solution aqueuse à une concentration de 1.10^{-3} mol/L. Cette solution est déposée sur la surface de la couche mince afin que les molécules de BC diffusent à travers les pores de la matrice sol-gel et viennent s'adsorber à la surface des nanocristaux. Cette goutte de solution aqueuse en surface constitue un dioptre pour le passage du faisceau laser. Par conséquent, l'intensité de fluorescence mesurée est diminuée par rapport à une intensité qui serait mesurée sans présence de liquide. Pour pouvoir comparer l'intensité de fluorescence des nanocristaux en présence ou en absence de molécule sonde, on commence toujours par faire une acquisition du déclin de fluorescence des nanocristaux dans un milieu inerte, c'est-à-dire en présence d'eau désionisée à la surface des films. Par ailleurs, pour être exactement dans les mêmes conditions, on colle à la surface de la couche un réacteur de volume 35 μ L, appelé « chambre d'incubation » (CoverWell Perfusion Chambers). Ce type de réacteur est couramment utilisé en biologie pour la croissance de bactéries. Le schéma ci-dessous résume le montage réalisé sur l'échantillon (figure IV.12).

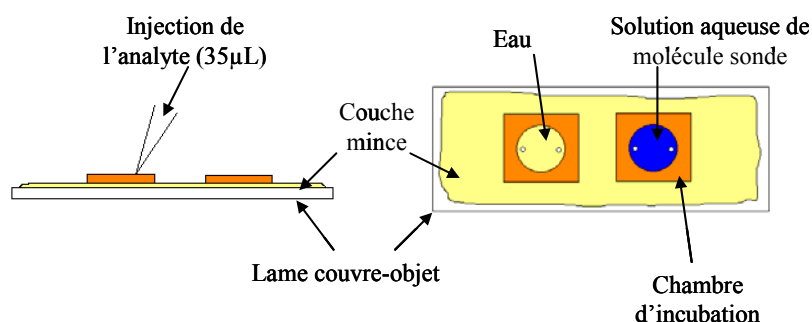


Figure IV. 12 : Préparation des échantillons en vue de la mesure des déclins de fluorescence pour évaluer la fonctionnalisation des nanocristaux par une molécule sonde (« extinction » de la fluorescence)

3.4. Traitement des données brutes

La puissance fournie par le laser peut varier de manière assez importante au cours d'une série d'acquisitions. Lors de chaque acquisition, la puissance incidente du laser arrivant sur l'échantillon a été mesurée par un wattmètre. Ainsi, en faisant un traitement de normalisation sur les intensités brutes obtenues, on ajuste toutes les intensités au même nombre de coups (ou nombre de photons) initiaux.

$$I_{nor} = I_{mesurée} \frac{\langle P_{Laser} \rangle}{P_{incidente}} \quad (\text{eq.16})$$

D'autre part, afin de mesurer uniquement l'intensité de fluorescence des nanocristaux, il faut éliminer toute autre trace de fluorescence, pouvant provenir par exemple de la lamelle couvre-objet ou des solutions aqueuses placées dans les chambres d'incubation. C'est pourquoi on corrige systématiquement

chaque déclin obtenu du déclin mesuré sans nanocristaux (lamelle couvre-objet sur laquelle est déposée la solution aqueuse).

$$I_{cor}(eau) = I_{nor}(nanocristaux + eau) - I_{nor}(lamelle + eau) \quad (eq.17)$$

$$I_{cor}(BC) = I_{nor}(nanocristaux + sonde) - I_{nor}(lamelle + sonde) \quad (eq.18)$$

3.5. Mesure des durées de vie de fluorescence

3.5.1. Rayon de Förster

Les réponses spectroscopiques des systèmes donneur-accepteur sont complexes, il nous faut donc définir un modèle pour ajuster les déclins de fluorescence obtenus et calculer les durées de vie. Comme nous l'avons vu, le transfert de l'énergie d'excitation entre un donneur et un accepteur a d'abord été étudié par Förster [2]. Il considère que le couplage des états électroniques et vibroniques du donneur D vers l'accepteur A est très faible, et du type interaction dipôle-dipôle. Ceci lui permet de définir une distance critique de transfert R_0 qui est liée au recouvrement du spectre d'absorption de A et du spectre d'émission de D selon la relation :

$$R_0 = 0,2108 * \left[\kappa^2 \phi_D n^{-4} \int_0^\infty I_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \right]^{1/6} \quad (eq.19)$$

où κ^2 est le facteur d'orientation, qui dépend de l'angle entre les moments dipolaires de transition de D et A, ϕ_D est le rendement quantique de fluorescence du donneur, n est l'indice de réfraction du milieu, $I_D(\lambda)$ est l'intensité de fluorescence du donneur en fonction de la longueur d'onde (normalisée à l'unité sous la courbe), $\varepsilon_A(\lambda)$ est le coefficient d'absorption molaire en fonction de la longueur d'onde. R_0 est en général de l'ordre de 1,5 à 6 nm pour une molécule de donneur en interaction avec une molécule d'accepteur. Cependant, en général, l'interaction se fait simultanément entre un ensemble de donneurs et un ensemble d'accepteurs. D'autres effets viennent donc s'ajouter à ce transfert de Förster direct de D^* vers A, et plus particulièrement le transfert de l'énergie d'excitation entre donneurs, comme nous allons le voir au paragraphe suivant.

3.5.2. Effet du transfert donneur-donneur de l'énergie d'excitation

Dans notre cas, les molécules fluorescentes D sont regroupées dans un nanocristal, qui contient un très grand nombre de fluorophores. Connaissant (pour les cristaux de rubrène et de tétracène) le volume de

la maille élémentaire V_{maille} et le nombre de molécules par maille n , nous pouvons calculer le nombre de fluorophores contenus dans un nanocristal N en fonction de son diamètre d :

$$N = \frac{n}{V_{\text{maille}}} \frac{4}{3} \pi \left(\frac{d}{2} \right)^3 = \frac{n\pi}{6 * V_{\text{maille}}} d^3 \quad (\text{eq.20})$$

Les données cristallographiques du rubrène et du tétracène, données en annexe A, sont rappelées dans le tableau suivant :

Molécule	V_{maille}	n
Rubrène	2,7889 nm ³	4
Tétracène	0,5992 nm ³	2

Nous pouvons donc tracer l'évolution de N en fonction de d pour les deux types de nanocristaux (figure IV.13).

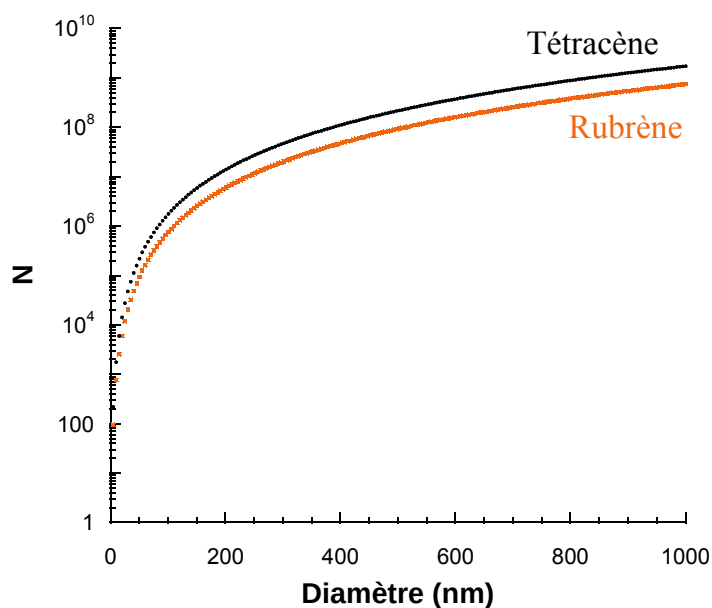


Figure IV. 13 : Nombre de fluorophores par nanocristal N en fonction du diamètre d pour des nanocristaux de tétracène et de rubrène

On constate que, même pour des petits nanocristaux ($d < 100$ nm), N est déjà de l'ordre de 10^5 . Un nanocristal est donc un émetteur de fluorescence contenant un très grand nombre de sources fluorescentes. On peut donc s'attendre à ce que sa luminosité soit au moins 10^5 fois plus forte que celle

d'un simple fluorophore isolé. De plus, le nanocristal est une phase condensée dans laquelle les molécules sont proches les unes des autres. Le transfert d'énergie dans des phases condensées a été décrit par plusieurs modèles théoriques, notamment dans le cas de distributions à symétrie sphérique de donneurs [7, 8]. Millar et al. [9] ont mis en évidence les différents effets pouvant intervenir en plus du transfert de Förster direct. Entre molécules de donneur, il peut également se produire un homotransfert D-D* (« hopping ») si le spectre d'absorption et le spectre de fluorescence de D se recouvrent partiellement (on parle d'auto-recouvrement), c'est notamment le cas du rubrène.

Si la concentration de donneur est suffisamment faible, par exemple dans des systèmes dilués (solutions), pour que la distance D-D soit supérieure au rayon de Förster R_0 , alors on peut négliger l'homotransfert. Cependant, si le taux de transfert D-D* est du même ordre de grandeur que le taux de transfert D-A, alors il faut tenir compte du transfert de l'excitation entre molécules de donneur. C'est le cas en milieu solide, et c'est d'autant plus vrai dans les solides ordonnés, comme les cristaux. Les distances entre donneurs étant fixes, la diffusion de l'excitation va être favorisée dans toutes les directions. Par opposition, dans un matériau amorphe, l'excitation se déplace par sauts préférentiels lorsque des molécules sont plus proches. L'excitation est donc délocalisée dans un matériau cristallin. Cette délocalisation serait totale dans le cas d'un cristal parfait. Dans un cristal réel, il y a un certain nombre de défauts dans lesquels l'excitation peut rester piégée : on n'obtient donc qu'une délocalisation partielle de l'excitation [10]. Nous verrons au § 5 que la distance de délocalisation de l'excitation que nous obtenons est tout de même bien supérieure au rayon de Förster R_0 .

3.5.3. Ajustement bi-exponentiel des déclins de fluorescence

Comme nous l'avons vu, la délocalisation de l'excitation dans un nanocristal reste seulement partielle puisque le cristal n'est jamais parfait (c'est-à-dire sans aucun défaut). Il y a donc toujours une partie des fluorophores dont la fluorescence n'est pas inhibée en présence d'accepteurs. Nous avons donc fait l'hypothèse suivante : un nanocristal est composé de deux populations de fluorophores :

- une population de fluorophores située au cœur du nanocristal qui ne subit aucune interaction avec les molécules inhibitrices A. Leur durée de vie de fluorescence reste inchangée en absence ou présence de A. On notera cette durée de vie τ_1 .
- une population accessible à l'inhibiteur A, située sur une zone plus proche de la surface du nanocristal (« coquille »), pour laquelle le transfert d'énergie est possible entre la sonde et le nanocristal. Ces fluorophores subissent un changement de durée de vie. On note τ_2 leur durée de vie après ajout de l'inhibiteur.

Le logiciel « Igor Pro » nous permet d'ajuster les déclins de fluorescence de manière bi-exponentielle selon la relation :

$$I(t) = A_1 \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + A_2 \exp\left(-\frac{t}{\tau_2}\right) \quad (\text{eq.21})$$

Pour analyser les déclin de fluorescence, on considérera donc les paramètres suivants :

- en présence d'eau, le déclin de fluorescence est bi-exponentiel : la durée de vie longue τ_1^{eau} correspond à la durée de vie des fluorophores de « coeur » et la durée de vie courte τ_2^{eau} correspond à la durée de vie des fluorophores de « coquille ».
- en présence de molécule sonde, le déclin de fluorescence est toujours bi-exponentiel : la durée de vie longue τ_1^{sonde} est fixe et égale à la durée de vie longue τ_1^{eau} puisque ces fluorophores ne sont pas concernés par l'inhibition. On a donc $\tau_1^{\text{eau}} = \tau_1^{\text{sonde}} = \tau_1$. Par contre, la durée de vie courte varie pour les fluorophores situés en périphérie, on mesure maintenant τ_2^{sonde} .

Le paramètre qui nous permet de mesurer l'efficacité de l'inhibition de fluorescence est donc le poids de la durée de vie courte en présence de BC. On définit le poids de la durée de vie τ_2^x , noté $P(\tau_2^x)$ de la manière suivante :

$$P(\tau_2^x) = 100 * \frac{A_2}{A_1 + A_2} \quad (\text{eq.22})$$

où l'indice x représente soit l'eau, soit la molécule sonde. Selon cette hypothèse, on peut donc relier directement $P(\tau_2)$ au pourcentage de molécules éteintes par la molécule sonde dans un nanocristal donc à l'efficacité de « quenching ». Pour l'ensemble des déclin, les ajustements bi-exponentiels ont été faits entre les valeurs de temps de 1 ns et 60 ns.

4. SELECTION DES FLUOROPHORES ORGANIQUES

Les critères que nous avons retenu pour sélectionner des fluorophores organiques comme fonction de signalisation d'un capteur fluorescent sont les suivants :

- une fluorescence élevée dans l'état cristallin
- une durée de vie suffisamment longue dans l'état cristallin (de l'ordre de 5 à 20 ns)
- une signature de fluorescence simple (déclin mono-exponentiel ou bi-exponentiel)

- un bon recouvrement spectral entre son émission de fluorescence et l'absorption de la molécule sonde
- une bonne photostabilité

Ces différents critères ont d'abord été testés, pour des raisons pratiques de mise en forme plus aisée, sur des cristaux non supportés. En effet, l'élaboration de nanocristaux en matrice sol-gel est plus délicate : à chaque fois, on doit ajuster de manière reproductibles plusieurs paramètres physico-chimiques afin de mettre au point la nanocristallisation du fluorophore. Les fluorophores une fois sélectionnés sur des cristaux non supportés, nous pourrons ensuite les tester sous forme de nanocristaux en matrice sol-gel.

4.1. Le rubrène

Nous avons d'abord étudié les propriétés de fluorescence et d'inhibition de fluorescence de cristaux non supportés de rubrène. Nous présentons sur la figure IV.14 les déclin de fluorescence obtenus pour des cristaux non supportés de rubrène préparés à partir d'une solution de rubrène dans THF à 4 g/L.

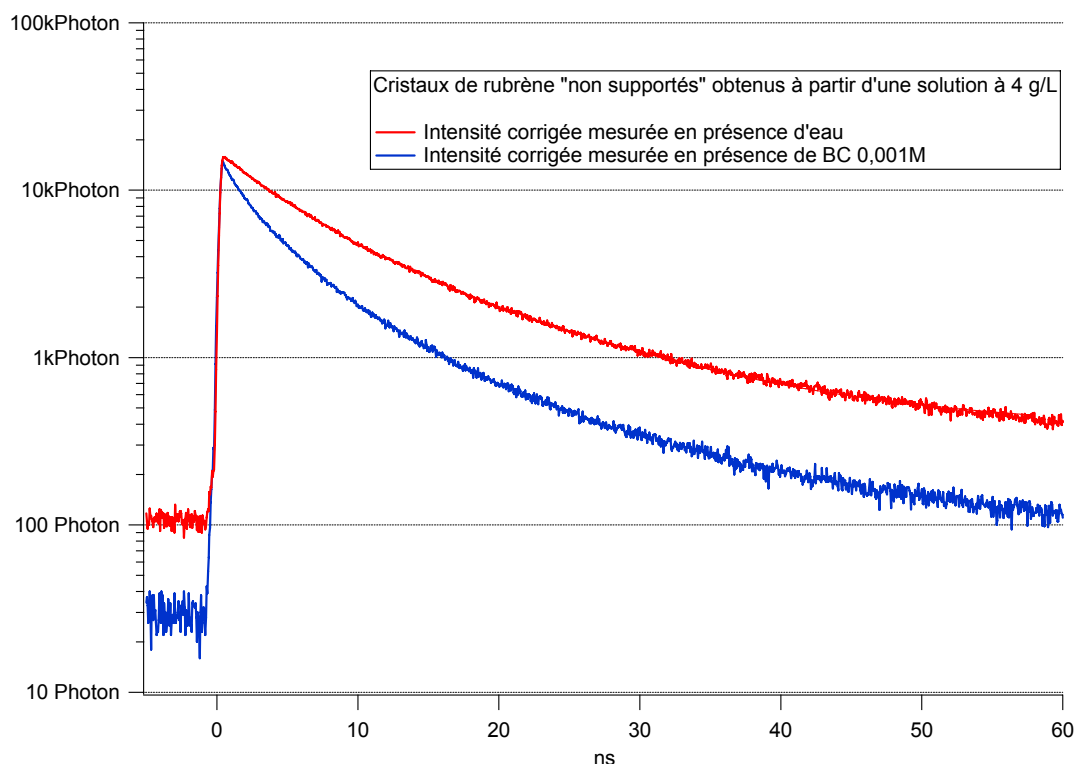


Figure IV. 14 : Déclins de fluorescence obtenus pour des cristaux de rubrène « non supportés » en présence d'eau (courbe rouge) et de BC 1.10⁻³ M (courbe bleue)

L'intensité de fluorescence mesurée en début de déclin est très importante (supérieure à 10 000 photons). Les déclin de fluorescence des cristaux de rubrène en présence d'eau et de BC ont été ajustés par une fonction bi-exponentielle (eq.21). Les durées de vie mesurées et leurs poids respectifs sont présentés dans le tableau suivant.

Microcristaux de rubrène	τ_1	τ_2	$P(\tau_1)$	$P(\tau_2)$
En présence d'eau	12,7 ns	4,6 ns	44 %	56 %
En présence de BC	8,1 ns	2,2 ns	40 %	60 %

Cet ajustement montre que les cristaux de rubrène présentent deux durées de vie de fluorescence : leur signature de fluorescence est donc assez simple, avec une durée de vie relativement longue de 12,7 ns correspondant aux fluorophores situés au « cœur » des cristaux. Enfin, en présence de BC (courbe bleue), on observe une inhibition de fluorescence assez importante, caractérisée par un changement de durée de vie : il y a donc un bon recouvrement spectral entre l'émission de fluorescence des cristaux de rubrène et l'absorption du BC. Le seul problème que présente le rubrène est de se photodégrader assez rapidement sous irradiation, comme nous l'avons vu au chapitre II, § 2.2 et au chapitre III, sous faisceau d'électrons. Le rubrène vérifie donc la majorité des différents critères que nous exigeons d'un fluorophore pour être utilisé comme fonction de signalisation d'un capteur fluorescent.

4.2. Le tétracène

Nous avons ensuite étudié les propriétés de fluorescence et d'inhibition de fluorescence de cristaux non supportés de tétracène. Les images obtenues par microscopie optique confocale (chapitre II, § 2.3) montrent des cristaux non supportés homogènes en taille et bien dispersés sur le substrat. De plus, cette molécule est très photostable. Nous présentons sur la figure IV.15 les déclin de fluorescence obtenus pour des cristaux non supportés de tétracène préparés à partir d'une solution de tétracène dans THF à 0,5 g/L.

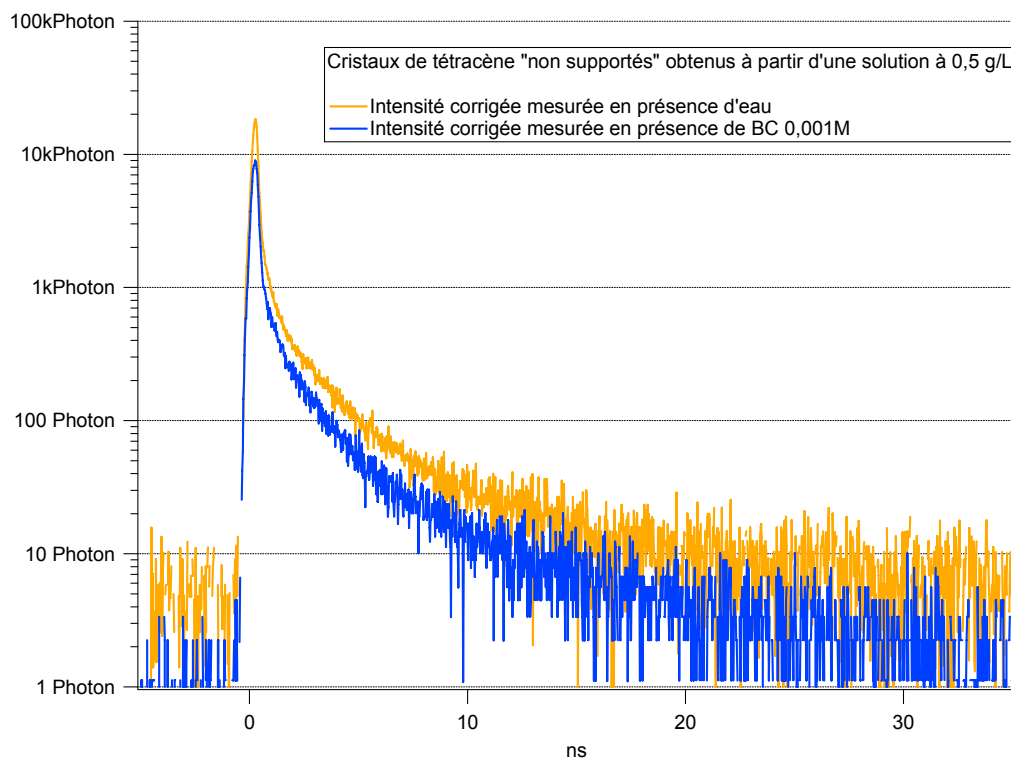


Figure IV. 15 : Déclins de fluorescence obtenus pour des cristaux de tétracène « non supportés » en présence d'eau et de BC 1.10^{-3} M

L'intensité de fluorescence mesurée en début de déclin est très importante (supérieure à 10 000 photons). Cependant, le déclin obtenu en présence d'eau est très multi-exponentiel : on mesure au minimum quatre durées de vie différentes allant de 0,06 ns à 4,50 ns. L'intensité de fluorescence décroît donc très rapidement avec le temps. En présence de BC, on observe un effet d'inhibition assez faible (courbe bleue). Il peut tout de même s'avérer intéressant de tester l'inhibition de nanocristaux de tétracène puisque dans ce cas, les cristaux étant plus petits, on peut espérer obtenir une inhibition plus marquée de la fluorescence. Un autre avantage de la molécule de tétracène est d'être très photostable, comme nous l'avons vu au chapitre III. Nous pouvons donc tout de même envisager d'utiliser les nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel en tant que fonction de signalisation de nos capteurs luminescents.

4.3. Le pérylène A

Nous avons étudié un autre fluorophore : le pérylène A. La quantité de produit (issu d'une synthèse organique) dont nous disposions étant très faible ($<0,1$ mg), nous n'avons pu préparer qu'une solution très diluée, qui nous a cependant permis d'obtenir de nombreux cristaux assez espacés et homogènes en taille, comme le montre l'image réalisée par microscopie optique sur la figure IV.16.

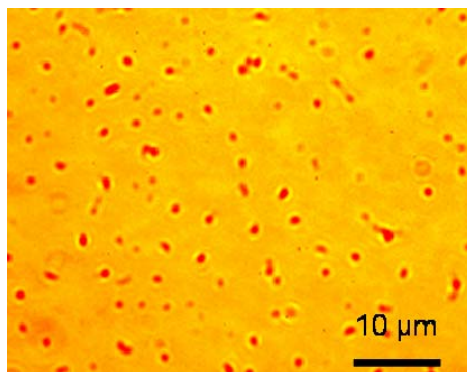


Figure IV. 16 : Image de cristaux non supportés de pérylène A obtenus à partir d'une solution de concentration inférieure à 0,2 g/L

Nous présentons sur la figure IV.17 les déclin de fluorescence obtenus pour ces cristaux en présence d'eau et de BC.

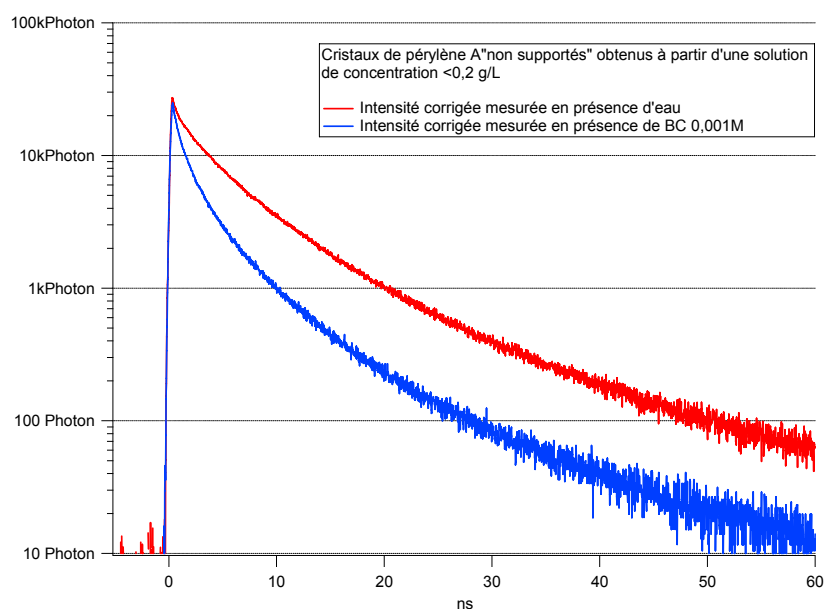


Figure IV. 17 : Déclin de fluorescence obtenus pour des cristaux de pérylène A « non supportés » en présence d'eau et de BC 1.10^{-3} M

L'intensité de fluorescence mesurée en début de déclin est très importante (supérieure à 10 000 photons). Les déclin obtenus en présence d'eau et de BC ont été ajustés par la fonction bi-exponentielle (eq.21). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Microcristaux de pérylène A	τ_1	τ_2	$P(\tau_1)$	$P(\tau_2)$
En présence d'eau	7,0 ns	1,6 ns	53 %	47 %
En présence de BC	4,2 ns	0,9 ns	30 %	70 %

En présence d'eau, on obtient une durée de vie longue de 7 ns, correspondant aux fluorophores situés au « cœur » du cristal. La durée de vie de fluorescence des cristaux de pérylène A est donc moins longue que celle des cristaux de rubrène. Néanmoins, la signature de fluorescence reste simple (déclin bi-exponentiel). En présence de BC, on observe un effet d'inhibition (courbe bleue) de l'ordre de celui observé pour le rubrène (figure IV.14). On a donc également un bon recouvrement spectral entre l'émission de fluorescence du pérylène A et l'absorption du BC. La molécule de pérylène A est de plus beaucoup plus photostable que le rubrène, comme nous avons pu le constater en enregistrant les déclins de fluorescence. Ce fluorophore semble donc être un bon candidat pour être testé sous forme de nanocristaux en matrice sol-gel. Nous avons donc enregistré les déclins de fluorescence de nanocristaux de pérylène A en matrice sol-gel (figure IV.18).

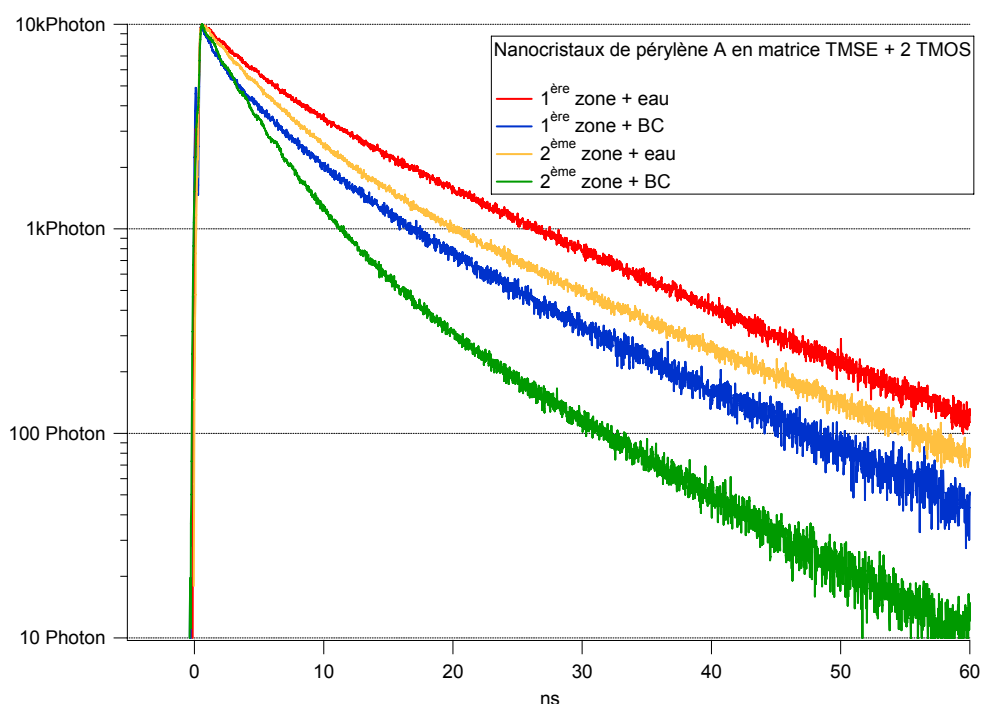


Figure IV. 18 : Déclins de fluorescence obtenus pour des nanocristaux de pérylène A en matrice TMSE + 2 TMOS sur deux zones différentes d'un même échantillon en présence d'eau et de BC 1.10^{-3} M

Ceci nous a permis de mettre en évidence un inconvénient majeur de ce fluorophore. D'une part, on constate que les déclins de fluorescence des nanocristaux en présence d'eau ne sont pas superposables pour deux zones différentes de l'échantillon. Ces déclins différents peuvent être caractéristiques de deux espèces fluorescentes différentes. En effet, dans le pérylène A, il peut se former des excimères DD^* (couplage entre un fluorophore excité et non excité). Nous pouvons associer le déclin des excimères DD^* au déclin de fluorescence obtenu sur la 1^{ère} zone (courbe rouge, figure IV.18). En effet, dans un excimère DD^* , l'excitation est « auto-entretenue » D^* transmet l'excitation à D qui le retransmet ensuite et ainsi de suite... La durée de vie de fluorescence des excimères est donc plus longue que celle des monomères. Le déclin de fluorescence obtenu sur la 2^{ème} zone (courbe orange, figure

IV.18) peut donc être associé aux monomères ou à une zone contenant une plus faible proportion d'excimères. Les déclins de fluorescence en présence de BC qui en résultent sont aussi présentés sur la figure IV.18. Dans le cas des excimères (courbe bleue), le changement de durée de vie est moins important que dans le cas des monomères (courbe verte). Nous pouvons supposer que dans les excimères, le transfert d'énergie donneur-donneur D-D* que nous avons présenté au § 3.5.2, se fait moins facilement car, dans ce cas, l'excitation peut rester localisée dans une seule molécule (dans l'excimère DD*, D* transmet l'excitation à D qui le retransmet ensuite et ainsi de suite...). Le pérylène A apparaîtrait donc comme un bon fluorophore organique si on était sûr d'avoir uniquement des monomères, ou uniquement des excimères. Il faudrait de plus favoriser l'obtention des monomères pour obtenir de meilleures propriétés d'inhibition. Des études sont en cours pour optimiser la nanocristallisation du pérylène A en matrice sol-gel sous une seule forme (monomère ou excimère). Pour cela, le groupe qui a synthétisé la molécule (H. Langhals, Munich) travaille sur son ingénierie moléculaire.

Au vu de ces résultats, nous avons donc éliminé le pérylène A comme fluorophore potentiel pour la réalisation d'un capteur luminescent. La suite des études réalisées dans ce chapitre porte donc uniquement sur des nanocristaux de rubrène et de tétracène.

5. EFFET DE LA POROSITE DE LA MATRICE SOL-GEL

La matrice sol-gel que nous utilisons présente une porosité ouverte à l'échelle du nanomètre. Ceci nous permet donc à la fois de filtrer certaines molécules pour des interactions non spécifiques, ou de laisser passer des molécules plus volumineuses lorsque cela est nécessaire, selon la taille des pores (figure IV.19).

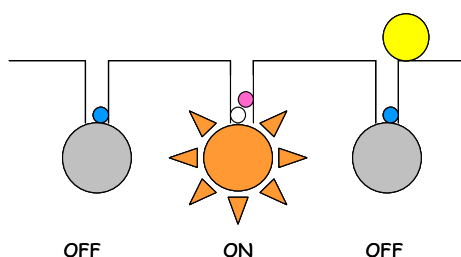


Figure IV. 19 : Principe du filtrage par la matrice poreuse des molécules détectées

Dans ce paragraphe, notre but est de mesurer la porosité des matrices sol-gel que nous avons synthétisé en étudiant les déclins de fluorescence de nanocristaux en présence de BC, pour différents types de matrices sol-gel. Cette mesure indirecte sera comparée ensuite à des mesures de porosité réalisées par ellipsométrie couplée à l'adsorption-désorption d'un gaz.

5.1. Echelle de porosité

Les matériaux poreux possèdent des cavités ou des canaux, appelés pores, dont les parois sont responsables de l'augmentation de l'aire spécifique. Par définition, un pore est une cavité plus profonde que large qui existe dans un grain de matière : on parle aussi de pore intragranulaire. Les propriétés d'un solide poreux dépendent essentiellement de la géométrie et de la taille des pores ainsi que de leur distribution. Traditionnellement, on distingue trois types de pores [11] :

- les **macropores**, dont la taille est supérieure à 50 nm
- les **mésopores**, dont la taille est comprise entre 2 et 50 nm
- les **micropores**, dont la taille est inférieure à 2 nm. On peut encore définir deux catégories de micropores en considérant le rapport de leur ouverture w au diamètre d d'une molécule sonde prise comme référence. Lorsque la taille des pores est inférieure à 0,7 nm, on parle d'**ultramicro-pores** ; lorsqu'elle est supérieure à 0,7 nm, on parle de **supermicropores**.

5.2. Principe de la mesure indirecte de la porosité par spectroscopie de fluorescence

La mesure de porosité par étude des propriétés optiques a déjà été réalisée sur des matériaux sol-gel en mesurant par exemple l'absorbance de solutions de Bleu de Méthylène avant et après introduction dans une matrice poreuse [12]. Ici c'est la spectroscopie de luminescence résolue en temps qui nous permet, de manière indirecte, d'avoir un ordre de grandeur de la porosité de différentes matrices sol-gel. En effet, si la molécule sonde que nous avons choisie (le BC voir paragraphe 3.3) parvient à inhiber la fluorescence des nanocristaux, alors cela signifie que la matrice sol-gel contient des pores qui ont au moins la taille de la molécule sonde. Nous pouvons même supposer que cette taille est bien supérieure, car toutes les molécules en solution ont autour d'elles une couche de solvation plus ou moins volumineuse. La taille d'une molécule de BC est de 1,6 nm x 1 nm x 1 nm (figure IV.20).

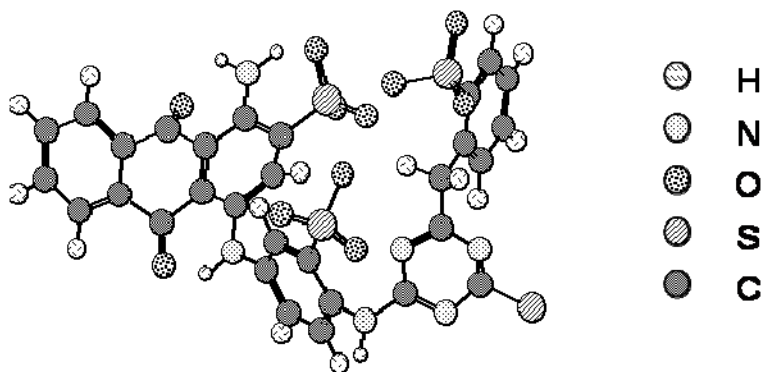


Figure IV. 20 : Molécule de BC dessinée en trois dimensions

En tenant compte du fait qu'en solution, la molécule de BC a probablement une couche de solvation autour d'elle, nous pouvons estimer son volume comme supérieur à 2 nm³.

5.3. Matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS

Nous avons commencé par insérer les nanocristaux organiques dans des matrices sol-gel constituées à partir d'un mélange équimolaire 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS. Deux types de catalyse ont été utilisés.

- la catalyse acide en une seule étape : ajout de HCl 0,1M à $h = 1$. On obtient une solution de $\text{pH} = 1$.
- la catalyse acido-basique en deux étapes : ajout de HCl à $h = 0,4$ puis ajout de base NH_4OH à $n_{\text{NH}_4\text{OH}} = 4 * n_{\text{HCl}}$ pour obtenir une solution à $\text{pH} = 6$ (voir chapitre II, § 3.5.2).

Les déclins obtenus pour des nanocristaux de rubrène insérés dans ces deux types de matrice sont présentés figures IV.21 et IV.22.

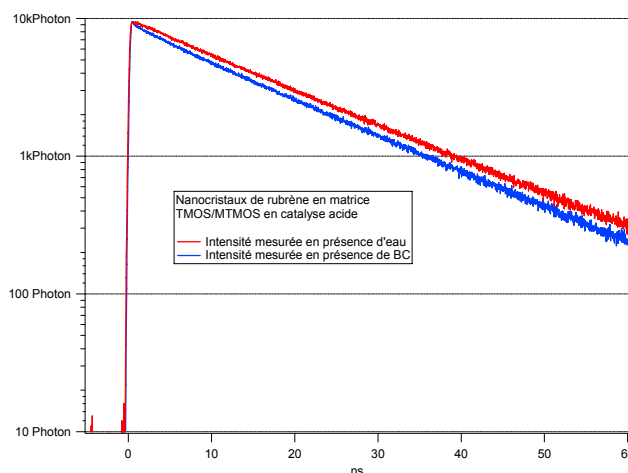


Figure IV. 21 : Nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel préparée en catalyse acide: 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF($s=5$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$)

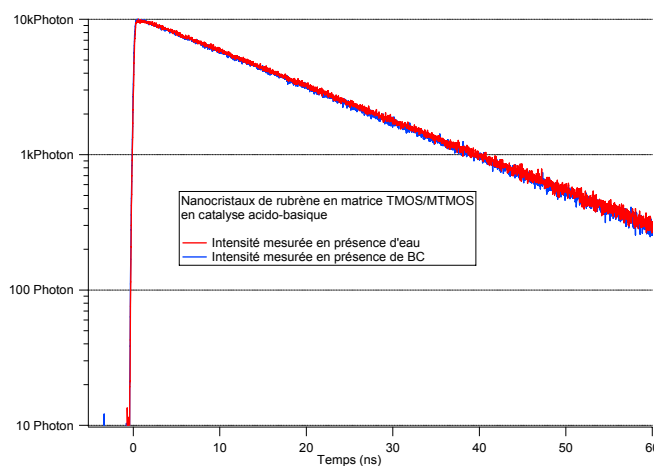


Figure IV. 22 : Nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel préparée en catalyse acido-basique : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF($s=5$) + HCl 0,1M ($h=0,4$) + rubrène ($d=3.10^{-3}$) + NH_4OH ($n_{\text{NH}_4\text{OH}} = 4 n_{\text{HCl}}$)

Les déclins de fluorescence mesurés en présence d'eau sont bien mono-exponentiels. En présence d'eau ou de BC, il n'y a quasiment aucune modification du déclin de fluorescence des nanocristaux de

rubrène. Les matrices sol-gel préparées à partir du mélange équimolaire 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS ne semblent donc pas assez poreuses pour laisser passer le BC. Au vu du volume occupé par cette molécule (supérieur à 1 nm^3), il semblerait donc que les matrices TMOS + MTMOS que nous avons préparées, soient microporeuses, même lorsqu'on augmente la réticulation du gel par une catalyse acido-basique. La microporosité des matrices TMOS + MTMOS a déjà été montrée dans des études antérieures [13, 14]. Cette hypothèse sera confirmée par les mesures d'ellipsométrie présentées au § 5.6 de ce chapitre. C'est pourquoi nous avons utilisé le précurseur TMSE (présenté au chapitre II, § 3.4.1) contenant un groupe espaceur organique, afin d'obtenir des tailles de pores plus élevées.

5.4. Matrice TMSE + n TMOS en catalyse acide

5.4.1. Effet de l'agent réticulant TMOS

Nous avons préparé des couches minces sol-gel contenant des nanocristaux de rubrène à partir des solutions suivantes : TMSE + n TMOS + THF ($s=10$) + HCl 0,1 M + rubrène ($d=5.10^{-4}$). Nous présentons sur la figure IV.23 les déclinés obtenus pour $n = 0$ et $n = 2$.

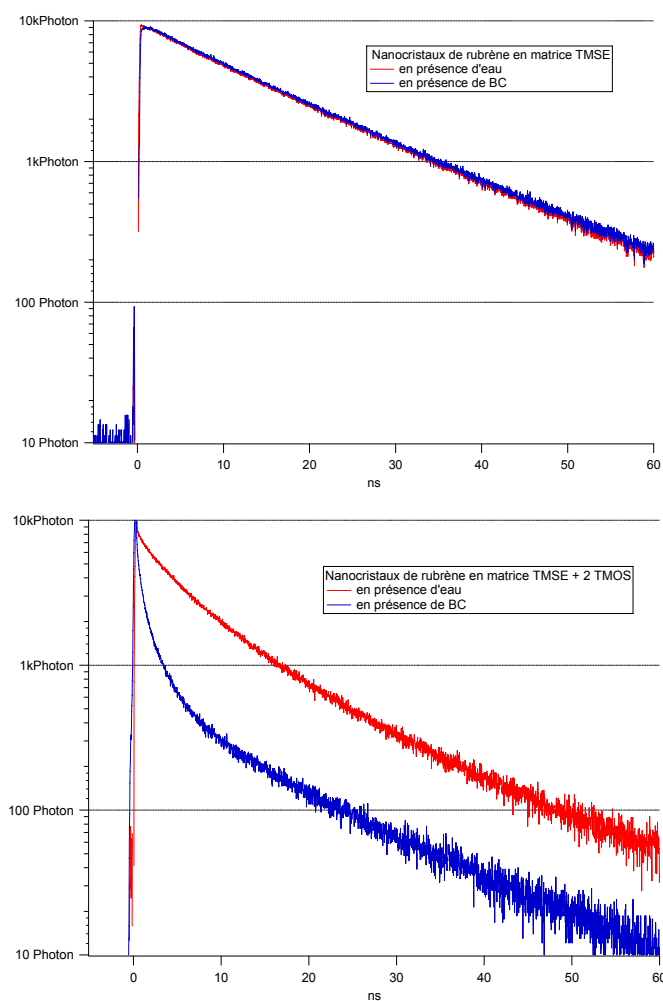


Figure IV. 23 : Nanocristaux de rubrène en matrice TMSE+ n TMOS pour $n=0$ et $n=2$ en présence d'eau et de BC à 1.10^{-3} M

On constate qu'en absence de TMOS l'effet d'inhibition par le BC est nul alors qu'en présence de 2 moles de TMOS pour 1 mole de précurseur TMSE on observe un effet d'inhibition très fort. Nous pouvons donc supposer que l'ajout de TMOS en co-condensation avec TMSE permet de passer d'une matrice microporeuse (en absence de TMOS) à une matrice mésoporeuse (en présence de 2 moles de TMOS pour 1 mole de TMSE). De plus, nous avons vu au chapitre I, § 3.5.3 que l'ajout de TMOS en tant qu'agent réticulant permet d'obtenir un gel humide à la structure plus tridimensionnelle. Ainsi, lorsqu'il n'y a pas de TMOS, les chaînes polymères formées ont tendance à se rétracter à cause d'une synérèse plus forte : on obtient donc un gel sec microporeux à travers lequel le BC ne pénètre pas. En présence de TMOS, ce dernier vient s'intercaler entre les molécules de TMSE pour empêcher la fermeture de la porosité [15] (voir chapitre I, § 3.5.3). On obtient donc un gel sec mésoporeux et un effet d'inhibition de fluorescence des nanocristaux par le BC important. Cette hypothèse sera confirmée par les résultats d'ellipsométrie présentés dans ce chapitre au § 5.6.

5.4.2. Effet de la quantité de TMOS

Nous avons ensuite enregistré les déclin de fluorescence de nanocristaux de rubrène dans des matrices sol-gel formées à partir du TMSE et d'une quantité variable de TMOS. Ces matrices sol-gel ont été préparées à partir d'un sol contenant : TMSE + n TMOS + THF(s=7) + HCl 0,1M (h=1) + rubrène ($d=1.10^{-3}$), pour un temps d'hydrolyse de 18 h à 80°C. Nous comparons sur la figure IV.24 les déclin obtenus pour des quantités de TMOS n=2, 3 et 4 en présence d'eau et de BC.

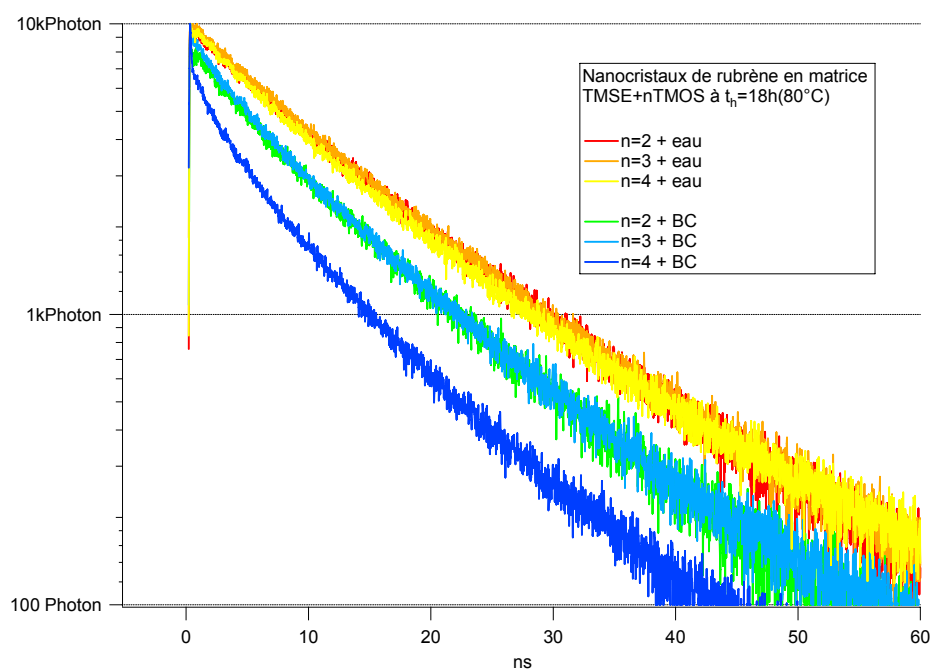


Figure IV. 24 : Déclin de fluorescence obtenus pour des nanocristaux de rubrène en matrice TMSE+ n TMOS pour n=2, n=3 et n=4 en présence d'eau et de BC à 0,001M

Les déclin de fluorescence des nanocristaux en présence d'eau se superposent. En présence de BC, on observe un changement de pente des déclin dû à une inhibition de fluorescence. On constate que l'ajout de BC est efficace dès $n=2$, la même efficacité est obtenue pour $n=3$. Pour $n=4$, l'effet est environ deux fois plus important. Afin de quantifier ces effets, nous avons ajusté ces courbes de manière bi-exponentielle et nous avons comparé le poids de la durée de vie courte obtenue en présence de BC $P(\tau_2^{BC})$. Les résultats des ajustements bi-exponentiels sont donnés dans le tableau suivant.

Déclin	τ_1	τ_2^{BC}	$P(\tau_1^{BC})$	$P(\tau_2^{BC})$
$n=2 + BC$	13,55 ns	4,98 ns	56,65 %	43,35 %
$n=3 + BC$	13,55 ns	4,95 ns	52,10 %	47,90 %
$n=4 + BC$	13,55 ns	4,18 ns	37,46 %	62,54 %

Nous avons commencé par ajuster de façon bi-exponentielle les déclin des nanocristaux en présence d'eau, ceci nous a donné une durée de vie longue $\tau_1^{eau}=13,55$ ns et une durée de vie courte $\tau_2^{eau}=5,3$ ns. La durée de vie longue trouvée a été fixée pour les ajustements suivants, en supposant que cette durée de vie, associée aux fluorophores de cœur, ne change pas après ajout du BC (voir § 3.5.3). Les déclin en présence de BC ont donc été ajustés avec une durée de vie longue $\tau_1^{BC}=\tau_1^{eau}=13,55$ ns. On obtient une durée de vie courte τ_2^{BC} de l'ordre de 4,9 ns pour $n=2$ et $n=3$ et égale à 4,18 ns pour $n=4$. L'efficacité d'inhibition de fluorescence est mesurée par le poids de la durée de vie courte en présence de BC $P(\tau_2^{BC})$. On constate que $P(\tau_2^{BC})$ augmente significativement entre $n=2$ et $n=4$ (de 43,3 % à 62,5 %). L'effet d'inhibition de la fluorescence des nanocristaux par le BC est donc d'autant plus important que la proportion de TMOS augmente. Nous pouvons supposer que cet effet est lié à une augmentation de la porosité de la matrice sol-gel. En effet, comme nous l'avons vu au chapitre I, § 3.5.3, il a été montré que l'insertion d'un agent réticulant TMOS en co-condensation avec TMSE permet d'obtenir une matrice sol-gel contenant une certaine proportion de mésopores [15]. L'augmentation de la taille des pores quand la quantité n de TMOS augmente a aussi été montrée au chapitre II, § 3.4.2, puisque nous avons vu que quand n augmente, le diamètre moyen des nanocristaux augmente. Ceci implique donc des réacteurs de croissance cristalline dans le gel humide plus larges et donc nous permet de supposer qu'on obtient une matrice avec des pores plus gros.

5.5. Matrice TMSE + 2 TMOS en catalyse acido-basique

La matrice TMSE + 2 TMOS conduisant à des effets d'inhibition suffisamment importants, nous avons voulu tester son effet en catalyse en deux étapes (acido-basique), ce type de catalyse permettant d'obtenir un gel plus réticulé, comme nous l'avons vu au chapitre II, § 3.5.2. Nous avons donc enregistré les déclins de fluorescence de nanocristaux de rubrène dans des matrices sol-gel préparées à partir d'un sol contenant : TMSE + n TMOS + THF(s=7) + HCl 0,1M ($h^+=0,5$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$), en catalyse acide pendant 3h à 80°C. On ajoute alors une quantité de base NH_4OH égale à la quantité d'acide et on continue l'hydrolyse à 25°C pendant 2h pour le premier échantillon et 24h pour le deuxième. Les déclins de fluorescence obtenus sont présentés sur la figure IV.25.

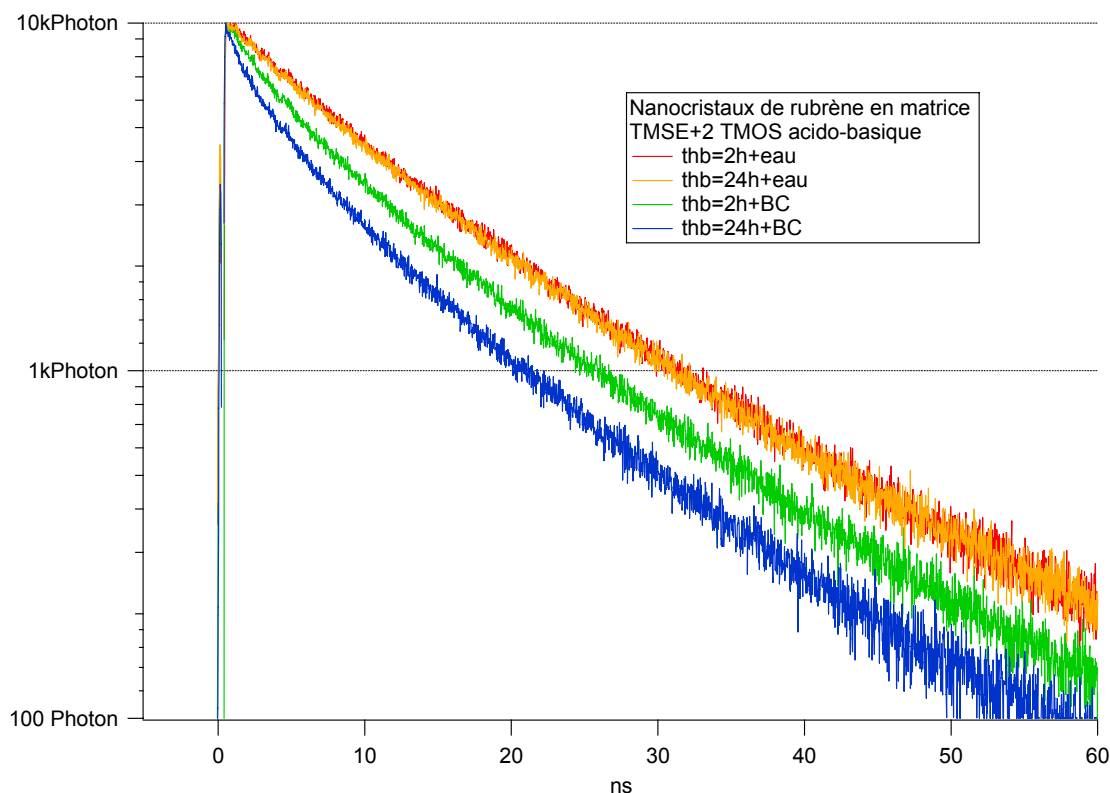


Figure IV. 25 Déclins de fluorescence obtenus pour des nanocristaux de rubrène en matrice TMSE+2 TMOS obtenue en catalyse acido-basique pour les temps d'hydrolyse en milieu basique à 25°C : 2h et 24h, en présence d'eau et de BC 0,001M

On constate que l'ajout de BC sur les nanocristaux en matrice sol-gel préparée en catalyse acido-basique entraîne un changement de la durée de vie de fluorescence, d'autant plus important que l'hydrolyse en milieu basique est longue. L'effet d'inhibition de la fluorescence des nanocristaux par le BC augmente donc lorsque le temps d'hydrolyse en milieu basique est plus long. Nous avons ajusté ces courbes de manière bi-exponentielle et comparé les poids de la durée de vie courte obtenus en présence de BC $P(\tau_2^{BC})$. Les résultats des ajustements bi-exponentiels sont donnés dans le tableau suivant.

Déclin	τ_1	τ_2^{BC}	$P(\tau_1^{BC})$	$P(\tau_2^{BC})$
2 h + BC	14,79 ns	4,43 ns	53,28 %	46,72 %
24 h + BC	14,79 ns	4,15 ns	42,07 %	57,93 %

Nous avons commencé par ajuster de façon bi-exponentielle les déclin des nanocristaux en présence d'eau, ceci nous a donné une durée de vie longue $\tau_1^{eau}=14,79$ ns et une durée de vie courte $\tau_2^{eau}=5,9$ ns. Nous avons fixé la durée de vie longue pour les ajustements suivants pour les mêmes raisons que précédemment. Les déclin en présence de BC ont donc été ajustés avec une durée de vie longue $\tau_1^{BC}=\tau_1^{eau}=14,79$ ns. On obtient une durée de vie courte $\tau_2^{BC}=4,43$ ns pour 2 h d'hydrolyse basique et $\tau_2^{BC}=4,15$ ns pour 24 h d'hydrolyse basique. On constate que $P(\tau_2^{BC})$ augmente de 46,7 % à 57,9 % entre 2 h et 24 h d'hydrolyse basique. L'effet d'inhibition de la fluorescence des nanocristaux par le BC est donc d'autant plus important que le temps d'hydrolyse en milieu basique augmente. Nous pouvons de nouveau supposer que cet effet est lié à une augmentation de la porosité de la matrice sol-gel. En effet, en catalyse acido-basique, on augmente le nombre d'interconnexions dans le gel humide, qui s'opposent à la densification du gel lors du séchage. Le nombre d'interconnexions augmentant avec le temps d'hydrolyse en milieu basique, on peut donc supposer qu'on obtient un gel final mésoporeux, laissant davantage diffuser les molécules de BC vers la surface des nanocristaux.

5.6. Mesure directe de la porosité par ellipsométrie couplée à l'adsorption-désorption de gaz

J'ai réalisé les mesures de porosité des couches minces sol-gel à l'Institut Européen des Membranes de l'Université Montpellier II avec l'aide de V. Rouessac et A. Ayral. La technique utilisée est l'ellipsométrie couplée à l'adsorption de gaz, technique que nous présentons plus en détails en Annexe B. L'ellipsométrie permet de mesurer l'indice optique et l'épaisseur de couches minces. En faisant pénétrer un adsorbat pendant la mesure, on peut donc suivre à la fois la variation d'indice et la variation d'épaisseur de la couche mince au cours de l'adsorption et de la désorption de l'adsorbat. Nous avons utilisé comme adsorbat l'éthanol car c'est un solvant volatil à température ambiante avec une pression de vapeur saturante P_0 suffisante (plusieurs dizaines de mbars). La mesure étant réalisée à température constante (25°C), on trace les isothermes d'absorption-désorption en portant l'indice optique n ou l'épaisseur de la couche e en fonction de la pression relative d'équilibre P/P_0 . On peut ensuite déduire du tracé des isothermes la fraction volumique de porosité ouverte par l'équation de Lorentz-Lorenz (eq.

5, Annexe B). On peut également accéder à la distribution de taille de pores, en utilisant une méthode adaptée à la porosité de notre échantillon, comme la méthode MP (« Micropore Analysis ») [16, 17], que nous présentons au § 3 de l'Annexe B. Dans ce paragraphe, nous évaluons la porosité de deux matrices sol-gel précédemment étudiées par spectroscopie de fluorescence : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS (§ 5.3) et TMSE + 2 TMOS (§ 5.4.1).

5.6.1. Matrice 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS

Les couches minces étudiées ont été préparées à partir d'une solution contenant : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s=5$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$). La fraction volumique de porosité ouverte a été évaluée à 9% en utilisant l'équation de Lorentz-Lorenz (eq.5, Annexe B). Cette équation, nous a également permis, à partir de l'isotherme d'adsorption, de tracer l'évolution de la fraction de volume d'éthanol adsorbé V_{eth}/V_0 (où V_0 est le volume d'éthanol lorsque l'échantillon est totalement rempli de solvant) en fonction de l'épaisseur statistique de la couche, notée t_s , c'est-à-dire l'épaisseur de la couche d'éthanol condensé présente à la surface des pores, qui augmente avec la pression partielle de l'adsorbat. On obtient ainsi la courbe suivante (figure IV.26)

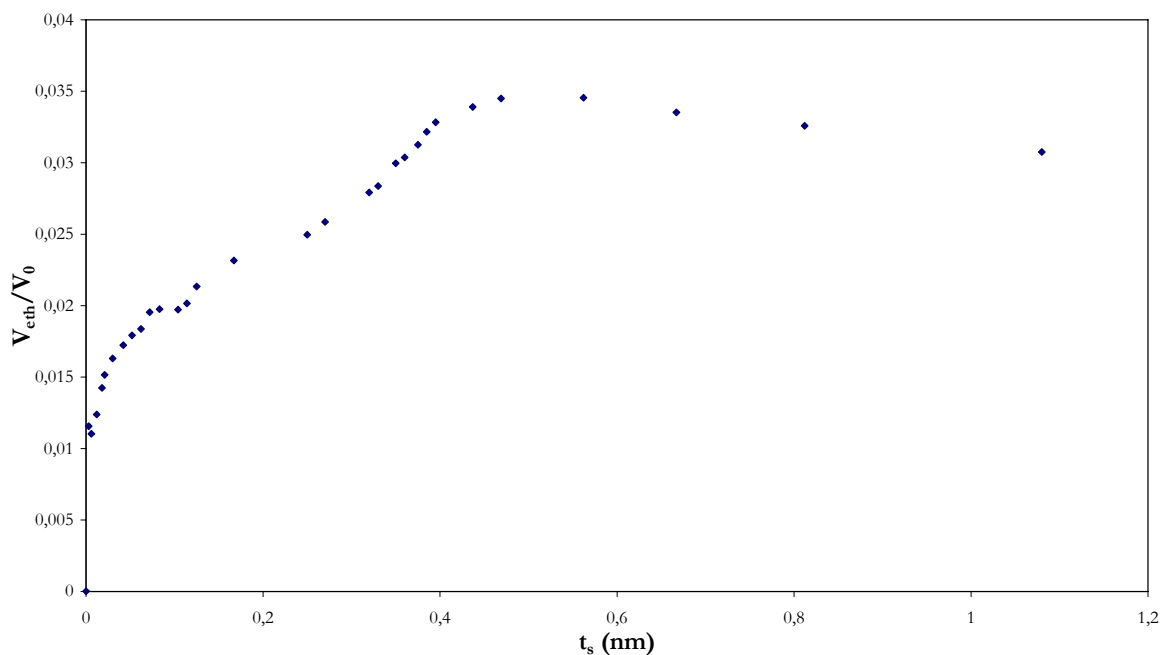


Figure IV. 26 : Tracé de V_{eth}/V_0 en fonction de l'épaisseur statistique t_s pour la matrice sol-gel 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS

La mesure des pentes des tangentes de cette courbe permet d'obtenir la distribution de taille de pores, selon la méthode décrite en Annexe B, § 3. Nous avons supposé que nos échantillons étaient composés d'un mélange de pores cylindriques, en forme de « canaux », et de pores sphériques, en forme de

«bouteilles» (figure B.4, Annexe B). Les distributions de tailles de pores cylindriques et sphériques que nous avons mesurées sont présentées sur la figure IV.27.

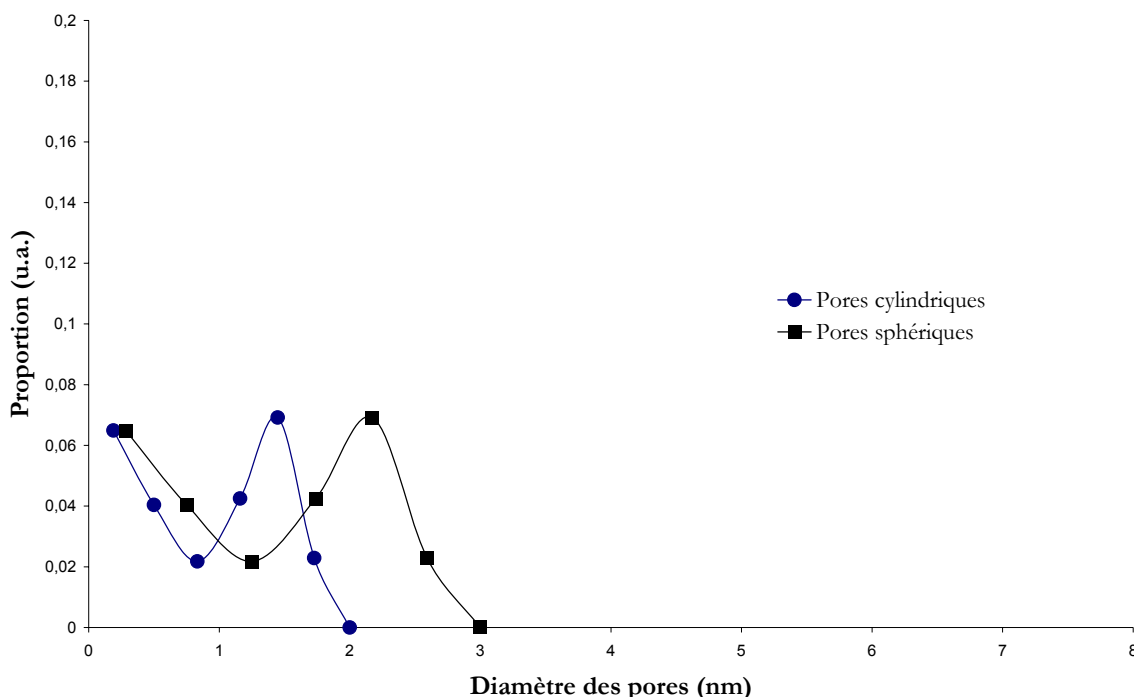


Figure IV. 27 : Distribution de tailles de pores cylindriques et sphériques pour la matrice TMOS + MTMOS

Pour ce type matrice, le matériau poreux est donc composé en majorité de micropores (de diamètre inférieur à 2 nm). Si on regarde le déclin de luminescence des nanocristaux contenus dans cette matrice en présence de BC (figure IV.21), on voit que l'inhibition de fluorescence en présence de BC est presque négligeable. En effet, vu que le diamètre maximal des pores dans ce type de matrice est inférieur à 3 nm, une molécule tel que le BC, d'au moins 2 nm³ de diamètre pénètre difficilement.

5.6.2. Matrice TMSE + 2 TMOS

Nous avons ensuite évalué la porosité d'une couche mince préparée à partir d'une solution contenant : TMSE + 2 TMOS + THF (s=10) + HCl 0,1M (h=1) + rubrène (d= 5.10⁻⁴). La fraction volumique de porosité ouverte a été évaluée à 13% en utilisant l'équation de Lorentz-Lorenz. L'évolution de la fraction de volume d'éthanol adsorbé V_{eth}/V_0 en fonction de l'épaisseur statistique de la couche t_s est représentée sur la figure IV.28.

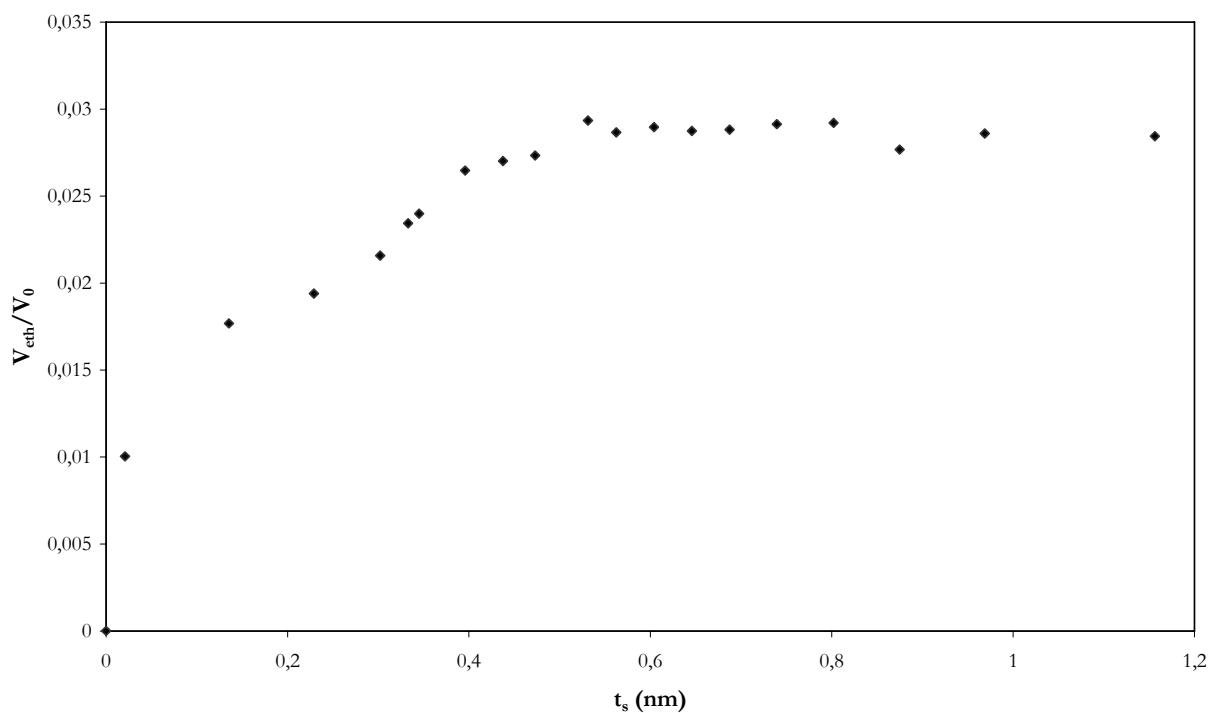


Figure IV. 28 : Tracé de V_{eth}/V_0 en fonction de l'épaisseur statistique t_s pour la matrice sol-gel TMSE + 2 TMOS

Les distributions de tailles de pores cylindriques et sphériques que nous avons mesurées sont présentées sur la figure IV.29.

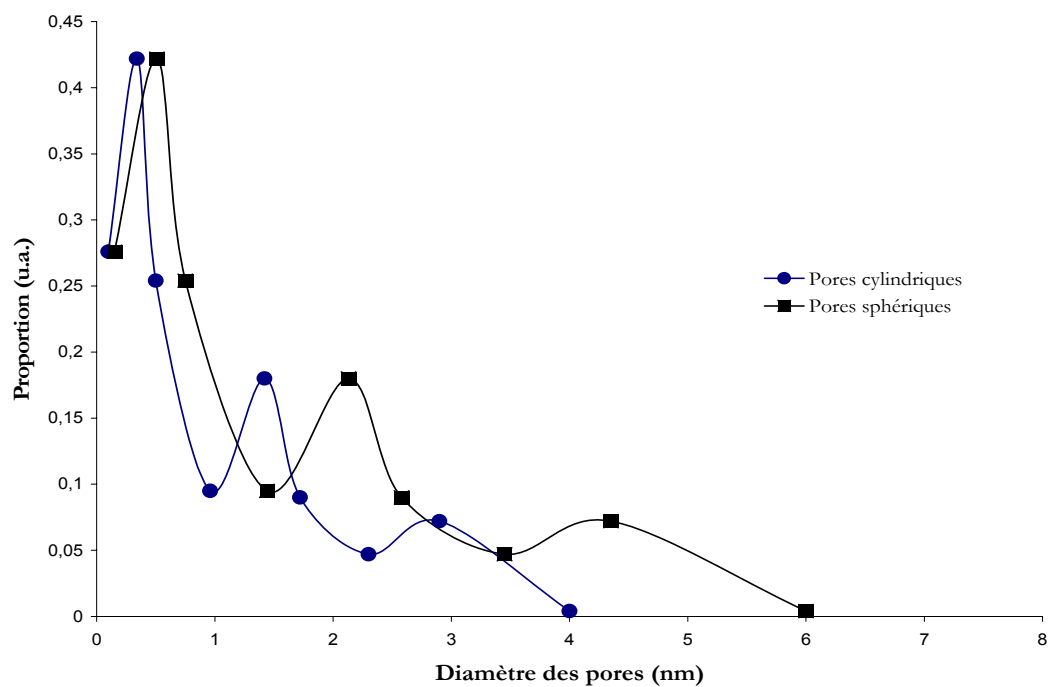


Figure IV. 29 : Distribution de tailles de pores cylindriques et sphériques pour la matrice TMSE + 2 TMOS

On remarque qu'il apparaît deux populations de tailles de pores :

- une population de micropores (diamètre inférieur à 2 nm)
- une population non négligeable de mésopores (diamètre supérieur à 2 nm)

Le déclin de luminescence des nanocristaux contenus dans cette matrice a été présenté figure IV.23. L'inhibition de fluorescence très importante qu'on observe en présence de BC est donc due à la présence de mésopores dans ce type de matrice. En supposant qu'il y a à la fois des pores cylindriques et sphériques dans l'échantillon, il y a une quantité non négligeable de pores dont le diamètre est compris entre 2,5 et 6 nm, ce qui favorise le passage de la molécule de BC à travers la matrice sol-gel.

Pour favoriser la diffusion de molécules sondes de dimensions comparables à celles du BC vers les nanocristaux, nous préparons donc de préférence des matrices sol-gel formées à partir d'un mélange de précurseurs TMSE + 2 TMOS plutôt qu'un mélange TMOS + MTMOS.

6. EFFET DE LA TAILLE DES NANOCRISTAUX

Après avoir sélectionné les meilleurs fluorophores sur des cristaux non supportés et choisi une matrice sol-gel de porosité suffisante pour permettre la diffusion de notre molécule sonde « type », le BC, vers les nanocristaux, nous avons cherché à optimiser le transfert d'énergie entre les nanocristaux en matrice sol-gel et le BC. Pour cela, nous avons testé l'effet d'une diminution du diamètre des nanocristaux sur l'inhibition de fluorescence. Nous avons préparé dans une matrice sol-gel identique des nanocristaux de tailles différentes en faisant varier d , taux de molécules organiques. Ainsi, pour une matrice sol-gel élaborée à partir d'un sol TMSE + 2 TMOS + THF ($s=10$) + HCl 0,1M ($h=1$) pour 4h d'hydrolyse à 80°C, nous avons utilisé des taux d différents de rubrène : $d=5.10^{-4}$ et $d=1.10^{-3}$. Les images de ces couches minces obtenues par microscopie optique confocale sont présentées figure IV.30.

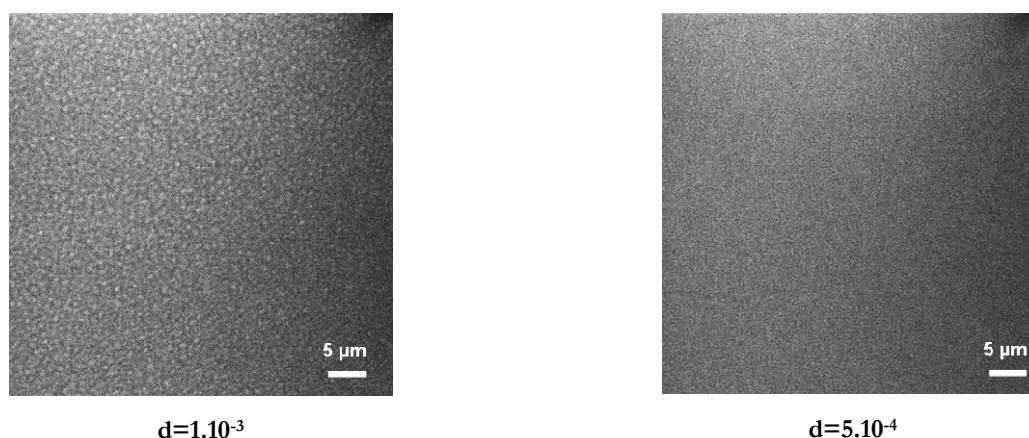


Figure IV. 30 : Images obtenues en microscopie confocale de nanocristaux de rubrène en matrice TMSE + 2 TMOS + THF($s=10$) + HCl 0,1M ($h=1$)+ rubrène pour $d=1.10^{-3}$ et $d=5.10^{-4}$

Pour $d=1.10^{-3}$, les nanocristaux sont bien visibles par microscopie optique confocale, nous avons mesuré une distribution de taille moyenne autour de 300 nm. Pour $d=5.10^{-4}$, on est en limite de résolution, nous avons tout de même réussi à mesurer un diamètre moyen d'environ 150 nm. L'acquisition des déclins de fluorescence de ces nanocristaux en présence d'eau et de BC donne les résultats présentés figure IV.31.

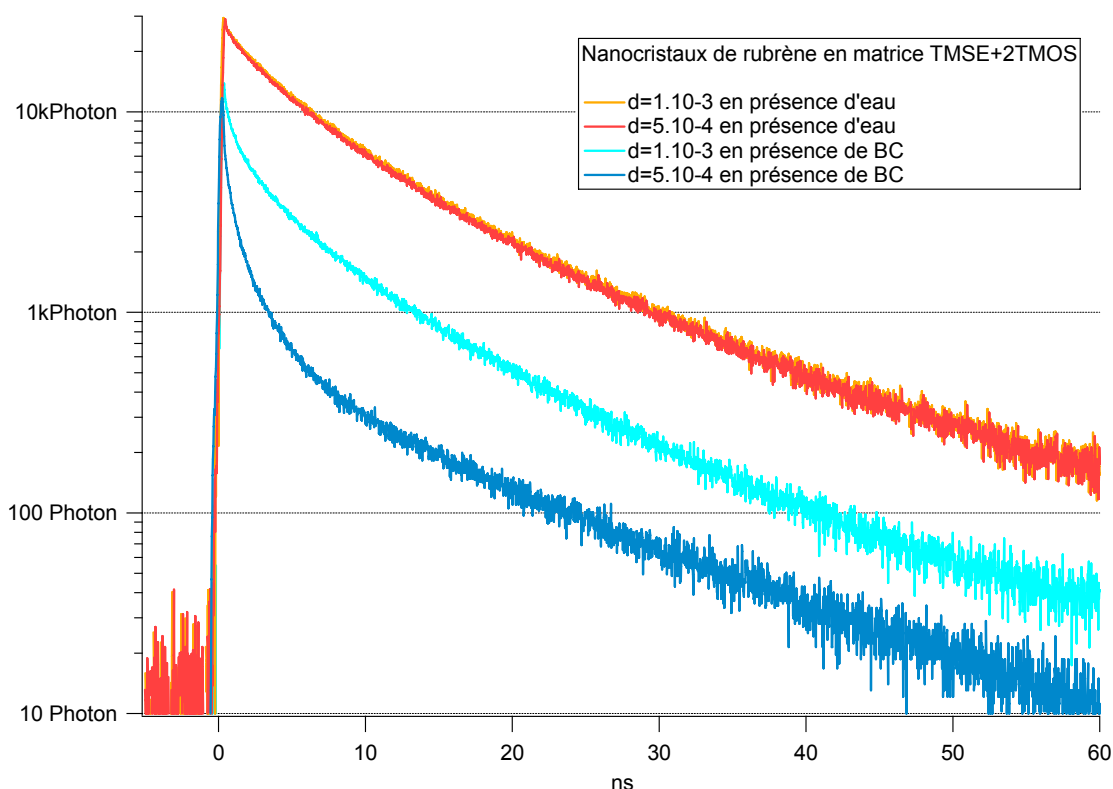


Figure IV. 31 : Déclins de fluorescence obtenus pour des nanocristaux de 300 nm et de 150 nm avant et après ajout de BC à 0,001 mol/L

Nous remarquons d'abord que les déclins obtenus en présence d'eau se superposent parfaitement : la durée de vie de fluorescence des molécules situées au cœur des nanocristaux est donc indépendante de la taille des nanocristaux (au moins pour cette gamme de tailles). On constate ensuite que l'ajout de BC sur les nanocristaux de 300 nm entraîne une atténuation de l'intensité de fluorescence beaucoup moins forte que sur les nanocristaux de 150 nm. De plus, la composante rapide du début de déclin est beaucoup plus importante dans le cas des petits nanocristaux. Ceci confirme l'hypothèse formulée au paragraphe 3.5.3 selon laquelle il existe deux populations de fluorophores à l'intérieur d'un même nanocristal, une population de cœur de durée de vie longue τ_1 non atteinte par l'inhibiteur et une population en périphérie de durée de vie courte τ_2 subissant une inhibition de fluorescence. Pour confirmer ce résultat, nous avons fait un ajustement bi-exponentiel de ces déclins présenté dans le tableau suivant.

	Nanocristaux de 300 nm	Nanocristaux de 150 nm
τ_1	10,36 ns	10,36 ns
τ_2^{eau}	3,25 ns	3,25 ns
$P(\tau_2^{eau})$	47%	47%
τ_2^{BC}	2,25 ns	1,38 ns
$P(\tau_2^{BC})$	64%	86%

Nous avons commencé par ajuster de façon biexponentielle le déclin des nanocristaux en présence d'eau, ceci nous a donné une durée de vie longue $\tau_1 = 10,36$ ns, que nous avons fixée pour les ajustements suivants, en supposant que cette durée de vie (associée aux fluorophores de cœur) ne changeait pas après ajout du BC. En fixant cette valeur, nous obtenons un ajustement identique pour les nanocristaux de 300 et 150 nm en présence d'eau, ce qui est normal vu que l'eau n'est pas un inhibiteur de fluorescence. En ce qui concerne les déclins en présence de BC, on remarque que pour les deux types de nanocristaux, la durée de vie courte en présence de BC, τ_2^{BC} , (2,25 ns pour un diamètre de 300 nm et 1,38 ns pour un diamètre de 150 nm) est plus faible que la durée de vie courte en présence d'eau τ_2^{eau} (3,25 ns). De plus, toujours pour les deux types de nanocristaux, le poids de la durée de vie courte en présence de BC, $P(\tau_2^{BC})$, (64% pour un diamètre de 300 nm et 86% pour un diamètre de 150 nm) est plus important qu'en présence d'eau $P(\tau_2^{eau})$ (47%). L'effet de la diminution de la durée de vie courte τ_2 et de l'augmentation du poids de cette durée de vie courte $P(\tau_2)$ lorsqu'on ajoute du BC sur les nanocristaux est caractéristique d'une inhibition de la fluorescence des nanocristaux par le BC. De plus, on constate que la durée de vie courte en présence de BC, $P(\tau_2^{BC})$, est plus importante pour des nanocristaux de 150 nm (86%) que pour des nanocristaux de 300 nm (64%). L'inhibition de fluorescence est donc favorisée pour des petits nanocristaux. Ceci peut être expliqué par le fait que ce sont les molécules situées sur une « coquille » externe qui sont en interaction directe avec le BC. Lorsque le diamètre des nanocristaux diminue, le rapport surface/volume augmente et un pourcentage plus important de molécules sont éteintes proportionnellement à la taille du nanocristal.

D'autre part, cette expérience permet de montrer que le transfert d'énergie est augmenté dans un nanocristal par rapport à des molécules fluorescentes dispersées ou simplement agrégées. En effet, nous avons vu au § 3.5.1 que le transfert d'énergie entre une molécule sonde et un fluorophore n'était possible que sur une distance de 1,5 à 6 nm, déterminée par le rayon de Förster. Or dans le cas d'un nanocristal de fluorophores, nous pouvons évaluer la distance de transfert de la façon suivante.

La proportion de molécules du nanocristal dont la fluorescence n'a pas été inhibée par le BC est égale au poids de la durée de vie longue en présence de BC, $P(\tau_1^{BC})$. On peut ainsi calculer, connaissant le diamètre des nanocristaux, le diamètre du cœur du nanocristal dont la fluorescence n'a pas été inhibée. Par soustraction, on en déduit la distance du transfert d'énergie à la périphérie du nanocristal. Le tableau suivant présente les distances de transfert obtenues pour les deux types de nanocristaux.

	Nanocristaux de 300 nm	Nanocristaux de 150 nm
$P(\tau_1^{BC})$	36%	14%
Diamètre du cœur du nanocristal non « quenché »	214 nm	68 nm
Distance d'inhibition à la périphérie du nanocristal	43 nm	41 nm

Pour les deux types de nanocristaux, on obtient des distances de transfert similaires, de l'ordre de 40 nm, soit un ordre de grandeur supérieur à la distance qu'on obtient entre un seul fluorophore et une molécule sonde qui lui est associée (de 1,5 à 6 nm). Comme nous l'avons présenté au § 3.5.2, dans un cristal, l'excitation diffuse de proche en proche, plus facilement que dans un agrégat non cristallin car les distances entre fluorophores sont constantes. C'est pourquoi on obtient une distance de délocalisation de l'excitation beaucoup plus importante que pour un seul fluorophore en interaction avec une molécule sonde [18].

Nous avons donc montré que la taille des nanocristaux joue un rôle important dans l'efficacité d'inhibition de fluorescence : l'inhibition de fluorescence sera favorisée pour des nanocristaux de petite taille. De plus, nous avons également évalué la distance moyenne de délocalisation de l'excitation, et cela pour deux diamètres de nanocristaux différents.

7. CAPTEUR CHIMIQUE

Le but de notre étude est de concevoir un capteur réversible dont le changement d'état est caractérisé par des changements de durée de vie et d'intensité de fluorescence [19]. Puisque les molécules cibles sont des molécules en solution aqueuse, nous pouvons élaborer une large gamme de capteur avec les mêmes nanocristaux mais avec des molécules sondes différentes. Dans ce paragraphe, nous présentons deux effets capteurs que nous avons mis en évidence : capteur rédox et capteur de pH. Les tests de capteur ont été réalisés sur des nanocristaux des deux fluorophores que nous avons sélectionné au § 4 : rubrène et tétracène. Pour valider le fonctionnement en capteur de ces deux fonctions de signalisation,

nous avons utilisé plusieurs molécules sondes. Pour ces différents tests de capteurs, le BC n'a pas été utilisé car son spectre d'absorption n'est modifié (figure IV.2, étape c) qu'en présence de molécules biologiques, trop volumineuses pour diffuser au travers des pores des matrices sol-gel que nous avons élaboré.

7.1. Effet capteur sur des nanocristaux de rubrène

Le Bleu de Méthylène (BM) est un indicateur rédox dont la forme oxydée en solution est bleue alors que la forme réduite est incolore. La formule développée de la forme oxydée est présentée figure IV.32.

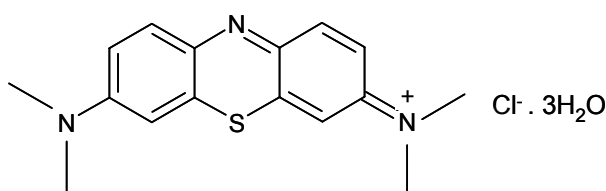


Figure IV. 32 : Formule développée du BM sous sa forme oxydée

Le spectre d'absorption du BM sous sa forme oxydée est présenté sur la figure IV.33.

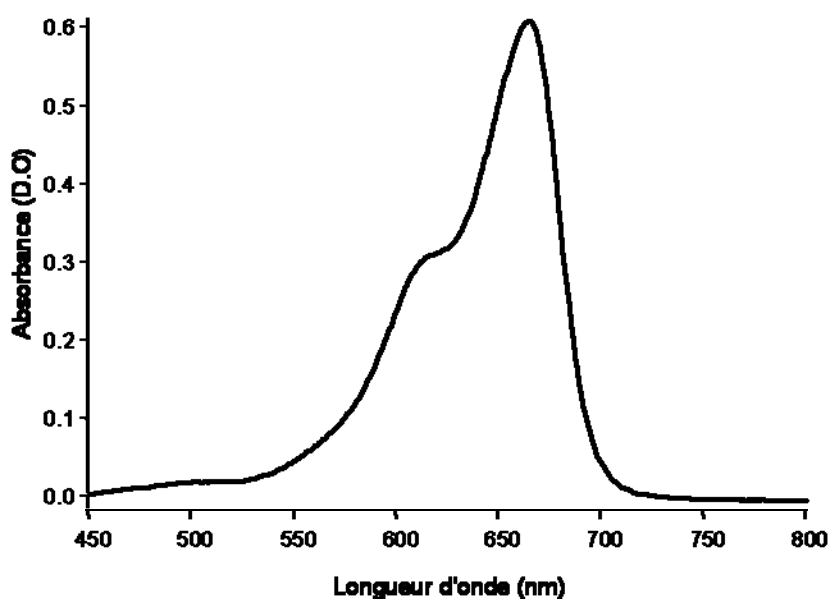


Figure IV. 33 : Spectre d'absorption du BM sous sa forme oxydée (forme bleue)

Ce spectre d'absorption se situe donc dans la bonne gamme de longueur d'onde pour qu'il y ait recouvrement spectral avec le spectre d'émission de fluorescence des nanocristaux de rubrène (émission maximale à $\lambda = 550$ nm). Nous avons enregistré les déclins de fluorescence de nanocristaux de rubrène

en matrice sol-gel en présence du BM sous sa forme oxydée ainsi qu'en présence d'un sucre réducteur, le glucose. Les résultats sont présentés sur la figure IV.34.

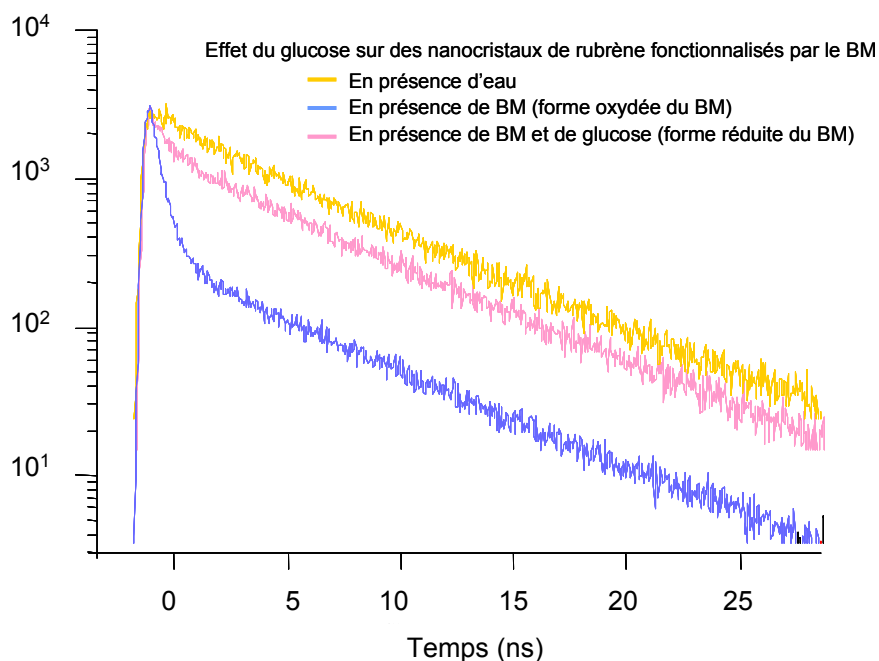


Figure IV. 34 : Déclins de fluorescence de nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel en présence d'eau (courbe jaune), de BM (courbe bleue) et de BM auquel on a rajouté du glucose (courbe rose)

Lorsque les nanocristaux de rubrène sont en présence de BM sous sa forme oxydée (solution bleue), il y a transfert d'énergie entre la sonde et les nanocristaux ce qui entraîne une modification significative du déclin de fluorescence. Par contre, lorsque le bleu de méthylène est réduit (solution incolore) par le glucose (molécule cible), le transfert d'énergie entre la sonde et le nanocristal n'a pas lieu et le déclin de fluorescence revient quasiment à son état initial (en présence d'eau) [19]. On constate qu'une faible partie des nanocristaux de rubrène n'ont pas retrouvé leur état de fluorescence initial. On peut supposer que la réduction du BM ne s'est pas faite totalement, ou bien qu'une partie des molécules de BM en solution s'est « greffée » aux nanocristaux et a inhibé de manière définitive leur fluorescence.

7.2. Effet capteur sur des nanocristaux de tétracène

7.2.1. Capteur rédox

L'orthophénantroline (notée oph) est un indicateur rédox du fer. En effet, c'est un ligand qui peut former un complexe avec les ions ferreux Fe^{2+} et ferrique Fe^{3+} . Sa formule développée est donnée sur la figure IV.35.

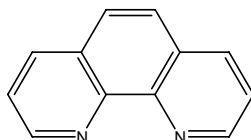


Figure IV. 35 : Formule développée de l'orthophénantroline

Le complexe formé avec Fe^{2+} est rouge (orthophénantroline ferreuse) alors que le complexe formé avec Fe^{3+} est bleu (orthophénantroline ferrique). Le spectre d'absorption de l'orthophénantroline ferrique est présenté sur la figure IV.36.

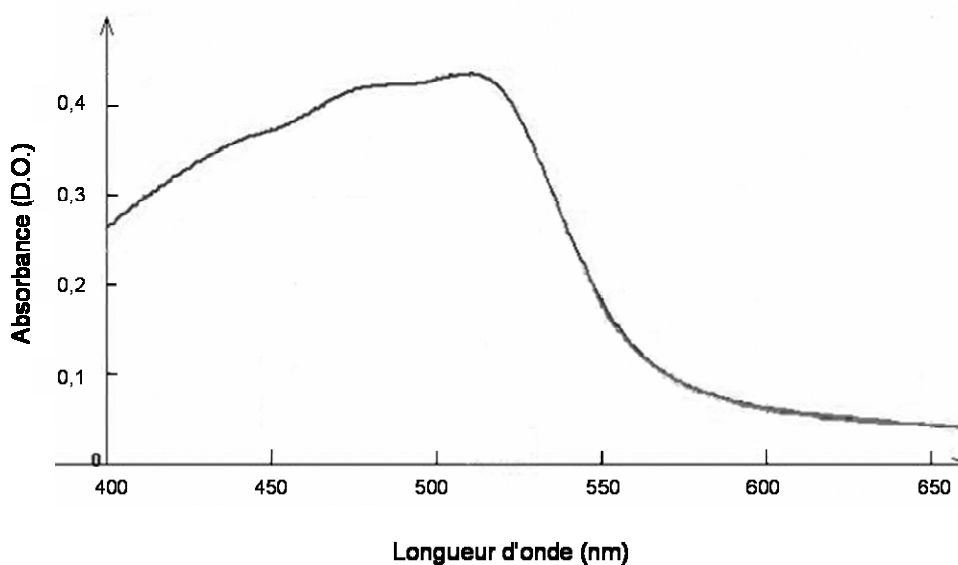


Figure IV. 36 : Spectre d'absorption de l'orthophénantroline ferrique (forme bleue)

Ce spectre d'absorption se situe donc dans la bonne gamme de longueur d'onde pour qu'il y ait recouvrement spectral avec le spectre d'émission de fluorescence des nanocristaux de tétracène (émission maximale à $\lambda = 550$ nm). Nous avons mesuré les déclins de fluorescence des nanocristaux de tétracène en présence des différentes formes du complexe. Les résultats sont présentés sur la figure IV.37.

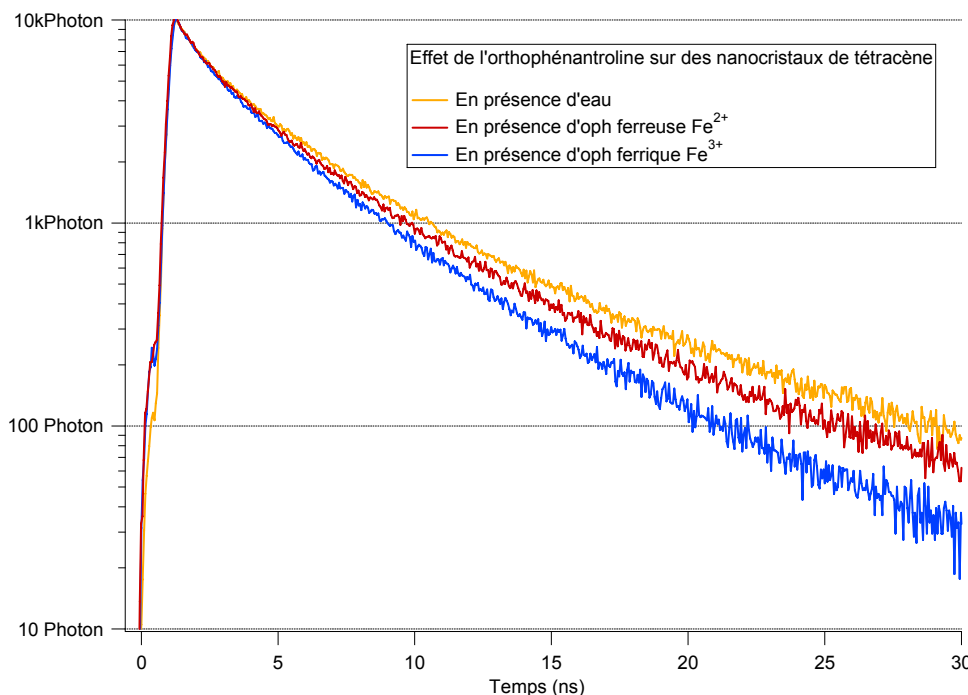


Figure IV. 37 : Déclins de fluorescence de nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel en présence d'eau (courbe orange), d'oph ferreuse (courbe rouge) et d'oph ferrique (courbe bleue)

En présence de l'oph ferrique (forme bleue), on observe une inhibition de fluorescence plus importante qu'en présence de l'oph ferrique (forme rouge). En effet, en présence de la forme rouge, il n'y a plus transfert d'énergie entre les molécules d'accepteur (oph rouge) et les molécules de donneur (tétracène) car les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence ne se recouvrent plus. On observe seulement un retour partiel, pour les mêmes raisons que celles développées au § 7.1.

7.2.2. Capteur de pH

Nous avons ensuite utilisé comme molécule sonde un indicateur de pH, le Bleu de Bromophénol (BBP) qui est bleu pour un pH > 3 et jaune pour un pH très acide (pH < 3). Le changement de couleur est dû à la fermeture d'un cycle comme le montre la réaction présentée figure IV.38.

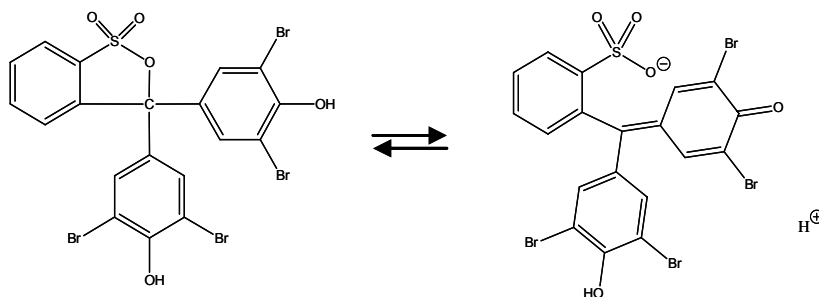


Figure IV. 38 : Passage de la forme jaune protonée (pH < 3) à la forme bleue déprotonée (pH > 3) du BBP

Le spectre d'absorption de la forme bleue est présenté sur la figure IV.39.

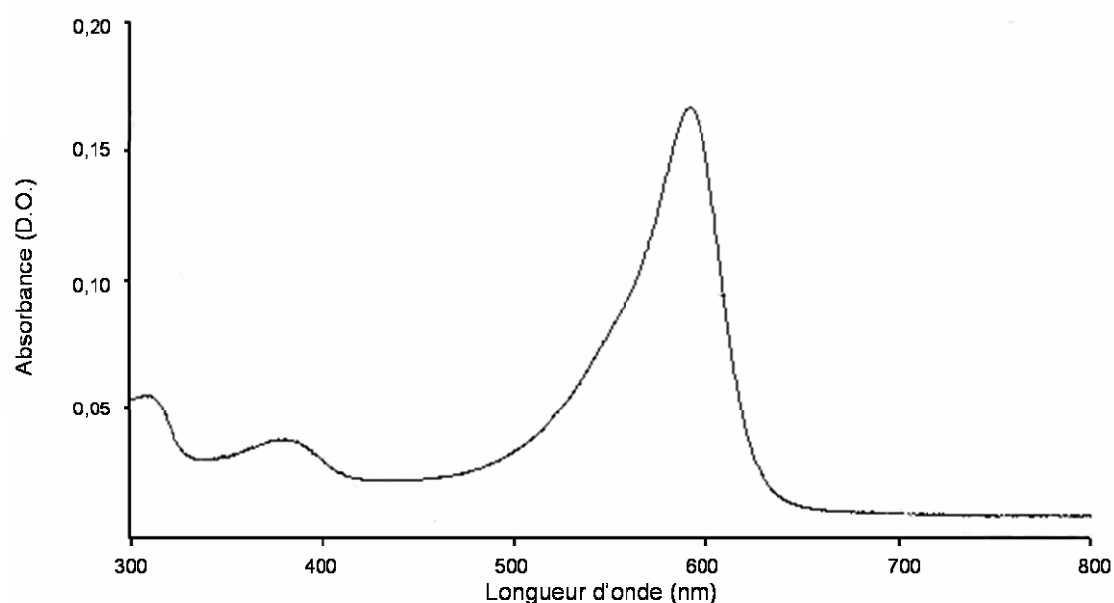


Figure IV. 39 : Spectre d'absorption de la forme bleue déprotonée ($\text{pH} > 3$) du BBP

Ce spectre d'absorption se situe donc dans la bonne gamme de longueur d'onde pour qu'il y ait recouvrement spectral avec le spectre d'émission de fluorescence des nanocristaux de tétracène (émission maximale à $\lambda = 550 \text{ nm}$). Par spectroscopie de fluorescence résolue en temps, nous avons obtenu les déclins de fluorescence suivants pour des nanocristaux de tétracène en présence des différents environnements chimiques (figure IV.40).

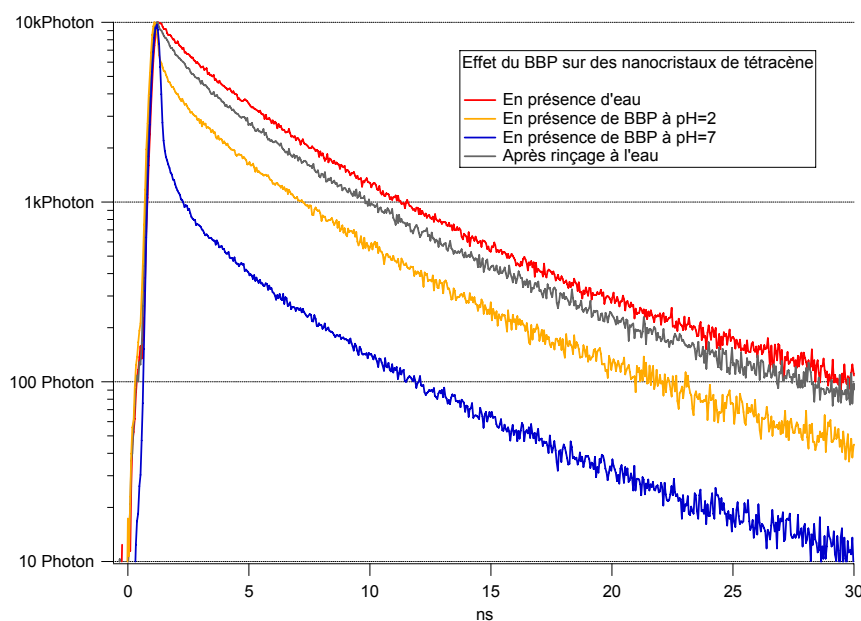


Figure IV. 40 : Déclins de fluorescence de nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel en présence d'eau (courbe rouge), de BBP à $\text{pH}=7$ (courbe bleue), de BBP à $\text{pH}=2$ (courbe jaune) et après rinçage (courbe grise)

On constate donc qu'en présence de BBP à $\text{pH} = 7$, il y a un changement significatif de la durée de vie de fluorescence des nanocristaux. En présence de BBP à $\text{pH} = 2$ (forme jaune), on retrouve en grande partie le déclin de fluorescence obtenu en présence d'eau. En effet, il n'y a plus transfert d'énergie entre les molécules d'accepteur (BBP jaune) et les molécules de donneur (tétracène) car les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence ne se recouvrent plus. De même que pour le BM et l'oph, on n'observe qu'un retour partiel. De plus, on constate que même après rinçage (courbe grise), on ne parvient pas à retrouver le déclin de fluorescence initial (en présence d'eau). Ceci révèle donc bien un accrochage partiel de la molécule sonde aux nanocristaux.

CONCLUSION

Dans ce chapitre, nous avons montré que les nanocristaux en matrice sol-gel permettent la mise en œuvre d'un système de capteur dans lequel la fonction de signalisation est séparée de la fonction de détection. Nous avons optimisé les propriétés de capteur de nos matériaux en favorisant l'inhibition de la fluorescence des nanocristaux par des molécules sondes.

Nous avons tout d'abord sélectionné les fluorophores organiques en utilisant des cristaux non supportés. Pour cela, nous avons testé différents critères que nous jugeons importants pour utiliser ces fluorophores comme fonction de signalisation d'un capteur luminescent : fluorescence élevée dans l'état cristallin, durée de vie longue, signature de fluorescence simple (déclin mono-exponentiel ou bi-exponentiel), bon recouvrement spectral entre son émission de fluorescence et l'absorption de la molécule sonde, bonne photostabilité. Le rubrène a été choisi car il répond à la majorité de ces critères, même s'il se photodégrade assez rapidement. Le tétracène a été sélectionné pour sa photostabilité, malgré la signature de fluorescence complexe des cristaux « non supportés ». Enfin, le pérylène A s'est avéré un candidat intéressant en terme de durée de vie de fluorescence et de transfert d'énergie avec la molécule sonde. Cependant, cette molécule présente diverses formes fluorescentes, ce qui rend les mesures optiques de ces matériaux plus délicates du point de vue de leur analyse et de leur interprétation.

Nous nous sommes ensuite intéressés au rôle de filtre joué par la matrice sol-gel, cette étude ayant pour but de moduler la porosité pour sélectionner les molécules à détecter. Nos mesures indirectes de porosité par spectroscopie de luminescence nous ont permis de supposer qu'en utilisant une matrice TMOS + MTMOS ou TMSE, on obtient une matrice faiblement poreuse car on n'observe qu'une faible inhibition de la fluorescence des nanocristaux par le BC. Par contre, en utilisant une matrice sol-gel TMSE + n TMOS (pour $2 \leq n \leq 4$), on observe une inhibition assez marquée de la fluorescence en présence de BC, que l'on utilise une catalyse acide ou acido-basique. Nous avons donc supposé que dans ce cas, la couche sol-gel obtenue présente une porosité plus importante. Ces hypothèses ont été

confirmées par des mesures d'ellipsométrie couplées à l'adsorption-désorption de gaz. On montre ainsi que la matrice TMOS + MTMOS est composée en grande partie de micropores, alors que la matrice TMSE + 2 TMOS présente une quantité non négligeable de mésopores, c'est pourquoi elle autorise la diffusion du BC vers les nanocristaux.

Ensuite, nous avons expliqué pourquoi le transfert d'énergie entre le donneur et l'accepteur était favorisé dans le cas de nanocristaux de petite taille. Nous avons aussi montré l'intérêt de nanoparticules cristallines pour augmenter la distance de transfert d'excitation entre fluorophores. La distance de délocalisation de l'excitation a été déduite des déclins de fluorescence : cette distance est un ordre de grandeur supérieure au rayon de Förster (~ 5 nm), qui est la distance maximale pour qu'il y ait transfert d'énergie entre un fluorophore et une molécule sonde.

Finalement, nous avons montré qu'il est possible de réaliser une grande variété de capteurs chimiques en utilisant les nanocristaux en matrice sol-gel comme fonction de signalisation. Nous avons validé, pour deux fluorophores, rubrène et tétracène, leur fonctionnement en tant que capteur rédox et de pH. D'autres utilisations en capteur chimique sont envisageables : capteurs d'ions complexants, capteurs de solvatochromes, ... Pour utiliser nos matériaux en tant que capteurs biologiques, il nous faut modifier notre procédé de nanocristallisation en matrice sol-gel afin de rendre les nanocristaux directement accessibles à leur environnement extérieur, comme nous le verrons au chapitre suivant.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

- [1] Valeur, B., *Molecular Fluorescence. Principles and applications*. 2002: Wiley-CH.
- [2] Förster, T., *Light and Organic Crystals: delocalized excitation and excitation transfer*. 1965: Academic Press: New York.
- [3] Birks, J. B., *Photophysics of aromatic molecules*. 1970: Wiley Interscience London.
- [4] Löhmansröben, H. G., "Photophysical Properties and Laser Performance of Rubrene", *Appl. Phys. B*, **47**, 195-199, 1988
- [5] Türrö, N. J., *Chapter 9 - Energy Transfer, Modern Molecular Photochemistry*, M.P. University Press, CA, Editor. 1978.
- [6] Botzung-Appert, E. *Nanocristaux organiques inclus dans des couches minces sol-gel*, Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2003.
- [7] Blumen, A.; Klafter, J.; Zumofen, G., "Influence of restricted geometries on the direct energy transfer", *J. Chem. Phys.*, **84**, 1397-1401, 1986
- [8] Yekta, A.; Winnik, M. A.; Farinha, J. P. S.; Martinho, J. M. G., "Dipole-Dipole Electronic Energy Transfer. Fluorescence Decay Functions for Arbitrary Distributions of Donors and Acceptors. Systems with Spherical Symmetry", *J. Phys. Chem. A*, **101**, 1787-1792, 1997
- [9] Millar, D. P.; Robbins, R. J.; Zewail, A. H., "Picosecond dynamics of electronic energy transfer in condensed phases", *J. Chem. Phys.*, **75**, 3649-3659, 1981
- [10] Birks, J. B., "The influence of reabsorption and defects on tetracene crystal fluorescence", *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **28**, 117-129, 1974
- [11] Rouquerol, F.; Luciani, L.; Llewellyn, P.; Denoyel, R.; Rouquerol, J., *Texture des matériaux pulvérulents ou poreux, Techniques de l'Ingénieur*. 2003. p. P1050,1-24.
- [12] Harris, T. M.; Knobbe, E. T., "Assessment of porosity in sol-gel silica thin films by dye adsorption", *J. Mat. Sci. Lett.*, **15**, 153-155, 1996
- [13] Plevaya, Y.; Samuel, J.; Ottolenghi, M.; Avnir, D., "Apparent low surface-areas in microporous SiO₂-xerogels", *J. Sol-Gel Science and Technology*, **5**, 65-70, 1995
- [14] Sanz, N. *Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des Propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel*, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2000.
- [15] Boury, B.; Corriu, R. J. P., "Auto-organisation of hybrid organic-inorganic materials prepared by sol-gel process", *Chem. Commun.*, , 795-802, 2002
- [16] Mikhail, R. S.; Brunauer, S.; Bodor, E. E., "Investigations of a complete pore structure analysis: I. Analysis of micropores", *J. Colloid and Interface Science*, **26**, 45-53, 1968

- [17] Lowell, S.; Shields, J. E., *Pore analysis by adsorption, Powder surface area and porosity*, n.e.C.a. Hall, Editor. 1991, Powder Technologies Series. p. 55-86.
- [18] Monnier, V.; Sanz, N.; Bacia, M.; Pansu, R.; Ibanez, A., "Molecular nanocrystals grown in sol-gel thin films for ultrabright chemical sensor applications", Proc. SPIE, **61921I**, , 2006
- [19] Botzung-Appert, E.; Monnier, V.; Ha Duong, T.; Pansu, R.; Ibanez, A., "Polyaromatic luminescent nanocrystals for chemical and biological sensors", Chem. Mater., **16**, 1609-1611, 2004

Chapitre V

VERS LA CONCEPTION DE CAPTEURS BIOLOGIQUES

PLAN DU CHAPITRE V

INTRODUCTION	179
1. PERFORMANCES ET LIMITATION DES BIOPUCES FLUORESCENTES A ADN	
179	
1.1. Principe de fonctionnement d'une biopuce à ADN	179
1.2. Limitation des biopuces actuelles	180
2. LES NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN COUCHES MINCES SOL-GEL COMME FONCTION DE SIGNALISATION D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE.....	181
2.1. Avantages et inconvénients de ces matériaux nanocomposites pour ce type d'application .	181
2.2. Présentation du dispositif	183
3. MISE EN OEUVRE D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE	185
3.1. Nanocristallisation dans des substrats macroporeux	185
3.1.1. <i>Membranes d'alumine poreuses.....</i>	<i>185</i>
3.1.2. <i>Elimination de billes de Latex insérées dans une couche sol-gel</i>	<i>186</i>
3.1.3. <i>Essais de nanocristallisation dans les substrats macroporeux</i>	<i>187</i>
3.2. Dissolution contrôlée de la matrice sol-gel	190
3.2.1. <i>Nature et concentration du solvant</i>	<i>190</i>
3.2.2. <i>Epaisseur de la couche à décaper.....</i>	<i>191</i>
4. CARACTERISATION DES COUCHES DECAPEES.....	193
4.1. Principe de la microscopie à force atomique en mode contact intermittent	193
4.2. Effet de la taille des nanocristaux	196
4.3. Choix de la matrice sol-gel à dissoudre	198
4.4. Effet du temps d'attaque chimique	199
CONCLUSION.....	202
BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V	204

INTRODUCTION

Nous avons montré au chapitre IV que les nanocristaux en matrice sol-gel étaient bien adaptés comme fonction de signalisation d'un capteur chimique basé sur la fluorescence. Dans ce chapitre, nous envisageons l'utilisation de nos matériaux comme capteurs biologiques pour des applications de biopuces fluorescentes. Nous nous intéresserons dans un premier temps aux performances et aux limitations des systèmes actuellement disponibles. Puis, nous présenterons le principe du dispositif que nous souhaitons réaliser avec l'aide des nanocristaux fluorescents. Nous verrons que ce dispositif implique d'avoir des nanocristaux accessibles à l'environnement biologique. Dans une troisième partie, nous développerons les méthodes d'élaboration envisagées pour obtenir des nanocristaux émergents, directement au contact d'une solution aqueuse biologique à analyser. Enfin, nous caractériserons par microscopie à force atomique ce nouveau type de capteur.

1. PERFORMANCES ET LIMITATION DES BIOPUCES FLUORESCENTES A ADN

1.1. Principe de fonctionnement d'une biopuce à ADN

Les biopuces sont des microsystèmes dédiés à l'analyse biologique. Elles peuvent permettre, sur une surface de quelques centimètres carrés, de réaliser en quelques heures les expériences qui nécessitaient auparavant plusieurs mois de travail. En effet, la biopuce est une véritable plate-forme technologique à usage multiple. Son champ d'applications est très vaste : diagnostic de pathologies, suivi thérapeutique, recherche de nouvelles molécules pharmaceutiques, contrôle qualité dans l'industrie agroalimentaire, ...etc. En particulier, l'étude de l'expression génique sur biopuce est devenue une technique-clé dans le développement de nouveaux médicaments : en effet, elle intervient aussi bien dans le criblage de nouvelles cibles thérapeutiques que dans le développement de la thérapie elle-même [1]. De plus, les biopuces permettent de mettre en évidence des profils d'expression spécifiques de certaines pathologies [2-4] qui permettent d'attribuer des signatures moléculaires aux maladies étudiées et d'affiner ainsi le diagnostic, les pronostics et le suivi thérapeutique. Par rapport aux techniques de biologie moléculaire déjà existantes, les biopuces apportent de nombreux avantages, et permettent notamment de diminuer les quantités de réactifs utilisées, de réaliser un nombre important d'expériences dans des conditions identiques et en parallèle et de réduire considérablement le temps de manipulation. Le fonctionnement d'une puce à ADN repose sur le principe d'hybridation, qui se caractérise par l'appariement spécifique des bases entre elles : adénine (A) avec thymine (T), cytosine (C) avec guanine (G). Tous les types de biopuces utilisent le même concept présenté sur la figure V.1 [5].

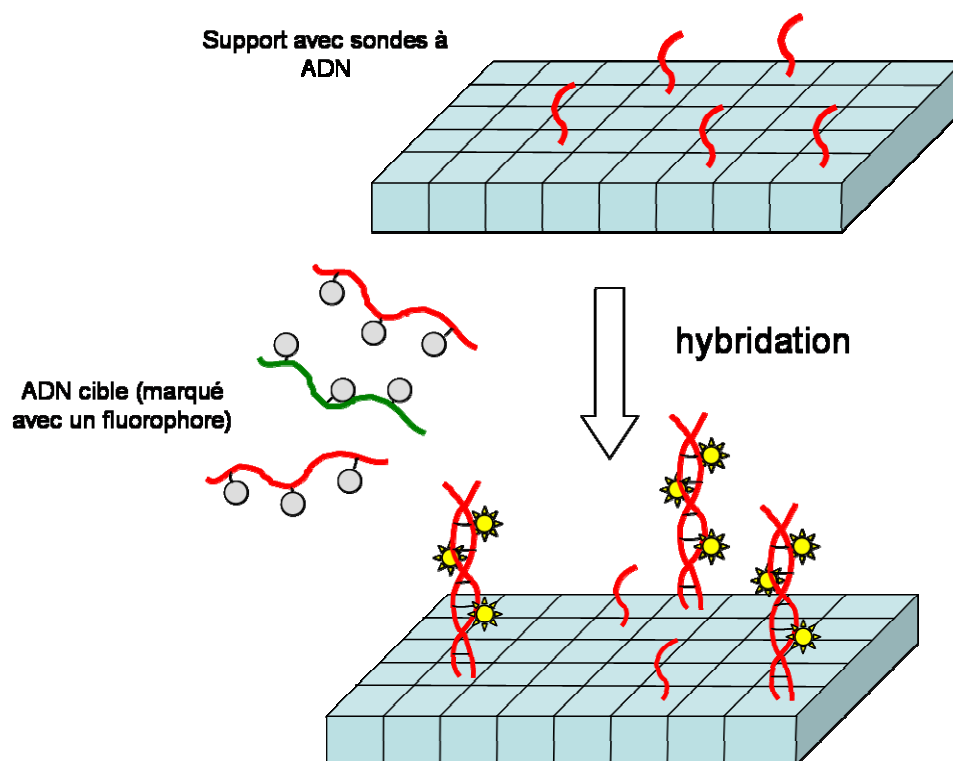


Figure V. 1 : Schéma de fonctionnement d'une biopuce à ADN

Une grille ordonnée de sondes, qui sont des fragments d'ADN de séquences connues fixés sur le support, est mise en présence de fragments d'ADN de séquence inconnue (dit ADN « cible »). Grâce à la spécificité de la réaction d'hybridation, les sondes retiennent uniquement leur séquence complémentaire éventuellement présentes dans l'échantillon. L'hybridation de la puce avec un échantillon biologique, marqué par un radioélément ou par une molécule fluorescente, permet de détecter et de quantifier l'ensemble des cibles qu'il contient en une seule expérience.

1.2. Limitation des biopuces actuelles

La technologie des membranes de nylon à marquage radioactif est l'outil d'analyse le plus sensible qui existe aujourd'hui. Néanmoins, cette technique présente plusieurs inconvénients comme le danger d'irradiation, sa difficulté de mise en oeuvre et une instabilité des marqueurs radioactifs [6]. Les biopuces à fluorescence représentent une solution très prometteuse grâce à leur spécificité et à leur grande densité (nombre de gènes analysables par puce). Néanmoins, elles ne possèdent pas une sensibilité suffisante pour l'analyse d'échantillons précieux et rares (les biopsies par exemple). D'autre part, elles ne permettent pas la détection des gènes faiblement exprimés. En effet, ce type de gène ne possède que 1 à 50 copies d'ARN messenger par cellule par rapport à plusieurs milliers de copies pour un gène fortement exprimé. Afin de compenser ce manque de sensibilité, des étapes d'amplification par polymérisation de l'échantillon, appelées PCR pour « Polymerase Chain Reaction », sont mises en

œuvre pour obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique (environ un million de copies en quelques heures). Cependant, ces étapes sont lourdes, coûteuses et ralentissent l'analyse. Ce manque de sensibilité est encore plus accentué sur biopuces à protéines car il n'existe aujourd'hui aucun moyen de les amplifier. Par ailleurs, les biopuces à protéines présentent des contraintes importantes vis-à-vis du maintien de l'activité des agents étudiés ce qui a un impact direct sur la fiabilité des résultats. La sensibilité des biopuces à fluorescence est donc aujourd'hui insuffisante, en raison des limitations bien identifiées :

- une perte du signal de fluorescence dans le substrat. En effet, excités par un laser, les fluorophores attachés sur un substrat de verre émettent un signal de fluorescence essentiellement dans le verre ($\sim 80\%$), et de plus, seule une faible fraction des 20 % restant est collectée car les lentilles de collection ont une ouverture limitée. Cette perte est par ailleurs aggravée par le photoblanchiment des fluorophores standards (Cyanine, Alexa) pour des temps de lecture importants.
- un bruit optique élevé dû au résidu du laser d'excitation et à l'auto-fluorescence du substrat et des matériaux utilisés.
- un bruit biologique important dû d'une part à l'adsorption des matériaux fluorescents (cibles marquées et autres) sur la surface et d'autre part à l'hybridation non spécifique sur les spots.

Les problèmes rencontrés viennent donc principalement d'une fonction de signalisation dont l'intensité de fluorescence n'est pas suffisamment élevée pour une détection ultrasensible. C'est pourquoi, nous proposons comme alternative les nanocristaux fluorescents que nous avons élaborés au cours de ce travail de thèse.

2. LES NANOCRISTAUX ORGANIQUES EN COUCHES MINCES SOL-GEL COMME FONCTION DE SIGNALISATION D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE

2.1. Avantages et inconvénients de ces matériaux nanocomposites pour ce type d'application

Comme nous venons de voir, la détection de molécules en très faibles concentrations dans de grands volumes de solution est très délicate car le bruit enregistré au niveau du signal de luminescence est proportionnel au volume observé. Or les échantillons où il faut détecter des molécules à l'état de trace sont très variés : chambre de micro réacteur, pixel de bio puce, jet d'un trieur de cellules par exemple. Nous envisageons donc l'approche suivante pour concevoir un nouveau type de biopuce à fluorescence. Nous utiliserons des nanocristaux organiques dans lesquels la fluorescence se répartit sur un ensemble de fluorophores (de l'ordre de 10^4 à 10^{10} molécules par nanocristal) qui sont éteints simultanément. Nous avons vu que ceux-ci présentent des luminosités et des photostabilités nettement supérieures à

celles de fluorophores dispersés en solution ou dans des matrices polymères. En effet, dans ces nanocristaux, les molécules organiques sont faiblement couplées ce qui limite le piégeage de l'excitation dans les défauts tandis que l'ordre cristallin permet d'étendre la délocalisation de l'excitation. De plus, le transfert d'excitation entre les molécules du nanocristal équivaut à l'excitation d'un seul fluorophore et à un comportement d'émetteur unique. On dispose ainsi de la photostabilité et de la luminosité des nanocristaux organiques tout en conservant la sensibilité de la molécule unique. Enfin, la richesse de la chimie organique permet de développer toute une ingénierie moléculaire conduisant à l'optimisation des propriétés de luminescence à l'état nanocristallin qui sont plus particulièrement recherchées dans cette étude: rendement et longueur d'onde de fluorescence, étendue de l'effet d'antenne, photostabilité. Ceci permet d'envisager une détection ultrasensible. Par ailleurs, la matrice sol-gel stabilise mécaniquement les nanocristaux organiques et permet de les intégrer facilement dans un dispositif.

Cependant, comme il a été montré au chapitre IV, une matrice sol-gel préparée à partir des précurseurs que nous avons présentés précédemment a une taille moyenne de pores qui ne peut pas dépasser 10 nm. Or les molécules biologiques ont des tailles bien supérieures. Ainsi, une molécule d'ADN double-brin a une longueur comprise entre 60 et 90 nm. Elle est de plus souvent recouverte d'une enveloppe et peut donc atteindre une longueur allant jusqu'à 200 nm. Le problème est que notre procédé actuel de nanocristallisation conduit à des nanocristaux « enterrés » sous la surface de la couche comme le montre la coupe verticale d'une image obtenue en microscopie confocale (figure V.2).



Figure V. 2 : Coupe en z obtenue par microscopie confocale d'une couche sol-gel contenant des nanocristaux de rubrène de 200 nm environ

Au tout premier stade de l'élaboration des couches minces par spin-coating, lorsqu'on vient de déposer la solution sur le substrat, le début d'évaporation du solvant s'accompagne de la formation d'une « peau » à l'interface liquide-air. Ce phénomène classique est dû au fait que l'évaporation est plus rapide à la surface du film qu'en profondeur. Ce mécanisme conduit à la formation d'une couche silicatée plus dense en surface qu'en profondeur tout au long de la formation du dépôt sol-gel. Par la suite, lorsque la sursaturation de la phase organique augmente, la probabilité de nucléation est plus élevée à l'intérieur du film qu'à sa surface. En effet, cette probabilité de nucléation dp_N est directement proportionnelle au volume des pores : $dp_N = J V dt$, où J est le taux de nucléation, V le volume dans lequel il y a nucléation

et de l'intervalle de temps. La nucléation des agrégats se produit donc préférentiellement au centre de la couche où la taille des pores de la matrice sol-gel silicatée et la probabilité de nucléation sont plus élevées. Ainsi, en surface, les couches minces sol-gel contenant des nanocristaux présentent des rugosités très faibles comme dans le cas de couches minces sol-gel sans nanocristaux. La figure V.3 présente une image obtenue par microscopie à force atomique (AFM) de la surface d'une couche mince sol-gel contenant des nanocristaux organiques de diamètre 200-300 nm.

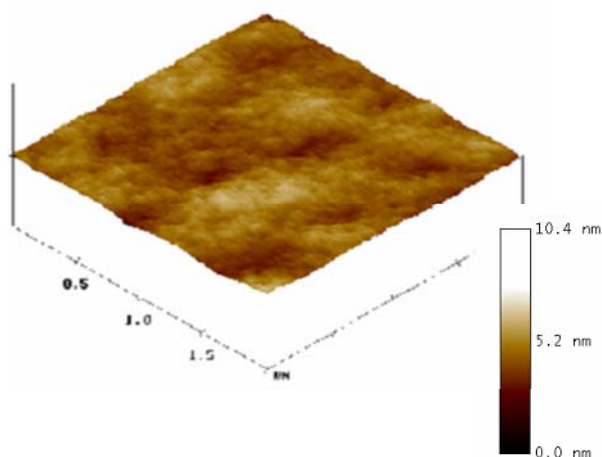


Figure V. 3 : Image réalisée par AFM d'une couche mince sol-gel contenant des nanocristaux organiques en profondeur

La rugosité moyenne de la surface de l'échantillon est très faible, de l'ordre de 0,5 nm RMS, pour une couche de 500 nm d'épaisseur dans cet exemple. Cette nucléation préférentielle au milieu de la couche rend donc les nanocristaux inaccessibles à toute interaction avec un environnement biologique car la taille des pores de la matrice sol-gel ne peut excéder quelques nm.

2.2. Présentation du dispositif

En vue d'une application de capteur biologique, la matrice sol-gel micro ou mésoporeuse présente en surface doit donc être éliminée d'une part pour permettre l'interaction des nanocristaux avec des molécules biologiques et d'autre part, leur fonctionnalisation par greffage chimiosélectif des molécules sondes sur le support (protéines, brins d'ADN). Les différentes voies que nous avons envisagées pour rendre accessibles à l'environnement les nanocristaux seront présentées au paragraphe suivant. Une fois que cette étape sera franchie, nous pourrons élaborer un nouveau type de biopuce à fluorescence fonctionnant selon le principe suivant (figure V.4).

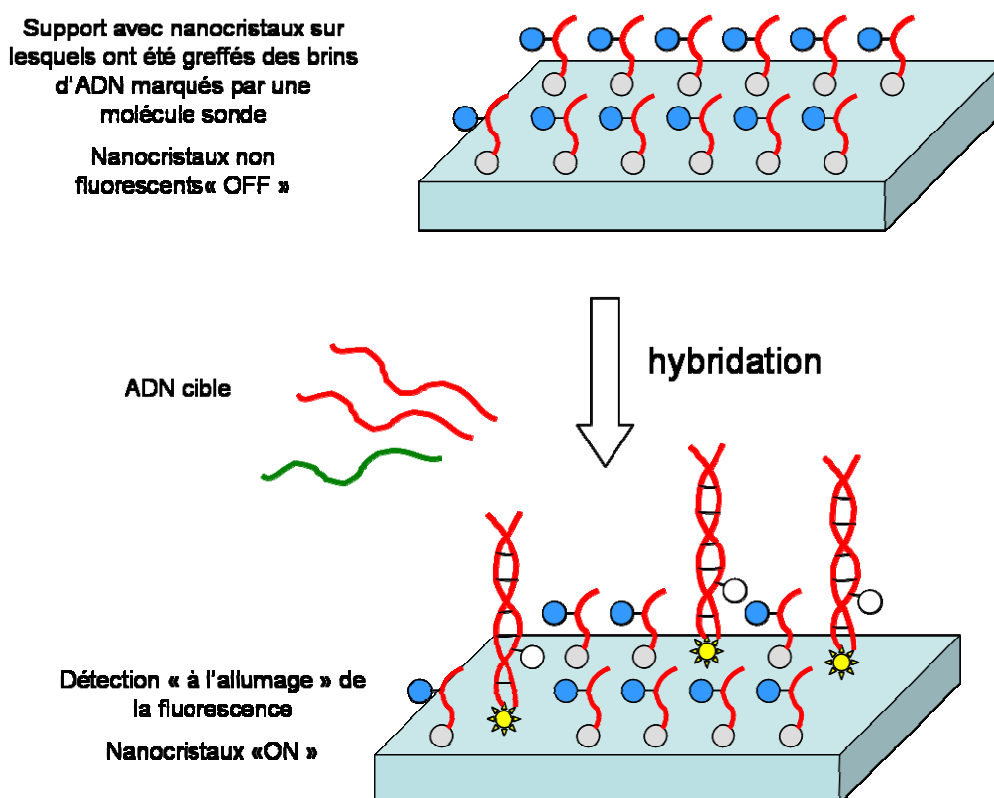


Figure V. 4 : Principe de la biopuce à fluorescence que nous souhaitons élaborer

Dans un premier temps, les nanocristaux disposés sur un substrat seront rendus accessibles à l'environnement. On viendra alors greffer sur les nanocristaux des brins d'ADN marqués par une molécule sonde, du type indicateur coloré. Par transfert de Förster entre le nanocristal et la sonde, la fluorescence des nanocristaux sera inhibée : les nanocristaux seront « éteints » (OFF). Dans un deuxième temps, ce dispositif sera mis en présence d'une solution d'ADN cible. Les brins d'ADN complémentaires de ceux greffés sur les nanocristaux viendront alors s'hybrider sur ceux-ci pour former la double-hélice caractéristique. L'état de la molécule sonde sera ainsi modifié et il n'y aura plus de transfert d'énergie entre celle-ci et le nanocristal. Par conséquent, les nanocristaux sur lesquels il y aura eu hybridation émettront de la fluorescence. L'intérêt de ce dispositif réside dans la détection « à l'allumage » : si un seul brin d'ADN cible vient interagir avec un brin d'ADN marqué par une molécule sonde, on pourra observer la signature de fluorescence des nanocristaux avec la technologie des fluorimètres actuels. Ceci permet donc d'envisager la détection de molécules cibles en très faibles quantités.

3. MISE EN OEUVRE D'UN CAPTEUR BIOLOGIQUE

3.1. Nanocristallisation dans des substrats macroporeux

La première voie envisagée pour rendre les nanocristaux accessibles à l'environnement est de faire nanocristalliser les molécules organiques dans des substrats macroporeux, c'est-à-dire présentant des pores de diamètre supérieur à 50 nm (voir chapitre IV, § 6.4.1). Deux types de substrats ont été testés : des substrats constitués à partir de membranes d'alumine poreuse et des substrats formés à partir de l'élimination par traitement thermique de billes de latex insérées préalablement dans une couche mince sol-gel.

3.1.1. Membranes d'alumine poreuses

Les substrats d'alumine poreuse sont élaborés au Laboratoire de Cristallographie par L. Cagnon. Ces membranes sont fabriquées par électrochimie de substrat d'aluminium dans des solutions acides. Sur le substrat d'aluminium, il existe toujours une couche native d'oxyde Al_2O_3 . En appliquant une différence de potentiel sur ce substrat dans un électrolyte acide (acide sulfurique H_2SO_4 , acide oxalique $(\text{COOH})_2$ ou acide phosphorique H_3PO_4), il apparaît des points de nucléation d'oxyde sur la couche. Au bout de quelques heures, la couche s'est oxydée au niveau des points de nucléation de l'oxyde d'aluminium et par conséquent, il y a des puits de forme cylindrique entre ces points [7]. On obtient donc une couche d'alumine avec un réseau de trous. Le diamètre des pores obtenu dépend de la tension qu'on applique et de la nature de l'électrolyte. La figure V.5 présente l'image MEB d'une membrane d'alumine poreuse obtenue après 15 min d'application d'une tension de 160 V dans une solution d'acide phosphorique à 10%.

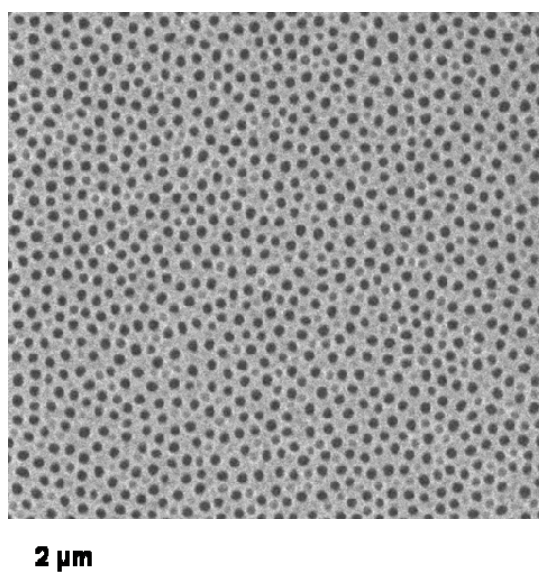


Figure V. 5 : Image MEB d'une membrane d'alumine poreuse obtenue par électrochimie

On obtient dans ce cas un réseau de pores de 150 nm de diamètre en moyenne. Cette méthode permet donc d'obtenir un substrat pour la nanocristallisation de molécules organiques à l'intérieur de ces pores.

3.1.2. *Élimination de billes de Latex insérées dans une couche sol-gel*

J'ai élaboré des couches minces sol-gel contenant des billes de Latex de 50 nm de diamètre dans le cadre d'une collaboration avec A. Ayral, à l'Institut Européen des Membranes, de l'Université de Montpellier. Ces couches ont été préparées à partir d'un mélange TEOS + EtOH ($s = 5$) + HCl 0,01M ($h = 1$). Après une heure d'hydrolyse à température ambiante, les billes de Latex sont ajoutées dans la solution sous agitation pour éviter leur aggrégation. Les couches sont ensuite déposées par « dip-coating » avec un tirage de 2 cm/min. Un séchage à l'étuve pendant 24 heures à 60°C permet d'éliminer totalement le solvant résiduel. Nous avons utilisé différentes proportions de billes de Latex par rapport à la matrice sol-gel silicatée SiO₂. La figure V.6 présente une image obtenue par MEB pour la couche synthétisée à partir de 70% de solution de billes de Latex pour 30% de SiO₂ en volume.

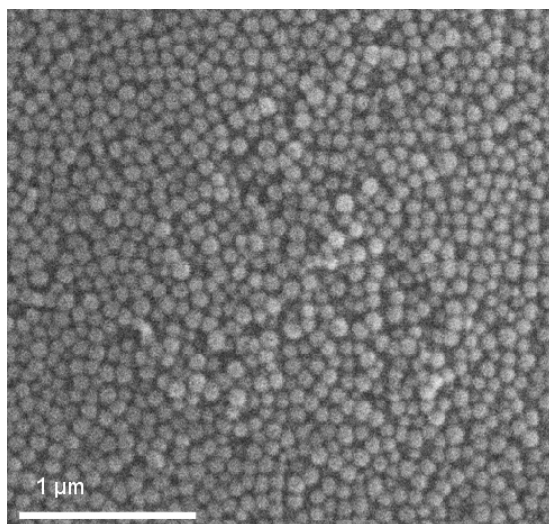


Figure V. 6 : Image MEB de la couche sol-gel obtenue par dip-coating contenant des billes de Latex

Nous obtenons donc des billes de 50 nm bien dispersées dans la matrice sol-gel. Avec une proportion Latex/SiO₂ de 70%/30%, on obtient donc une densité suffisante de billes de Latex sans qu'il y ait aggrégation. Le but de cette synthèse étant d'obtenir un substrat macroporeux pour la nanocristallisation de molécules organiques dans ces pores, les billes de latex sont finalement éliminées de la couche sol-gel par un traitement thermique à 500°C pendant 1 heure (montée au palier de 1°C/min). L'image MEB présentée sur la figure V.7 montre l'aspect de la couche après traitement thermique.

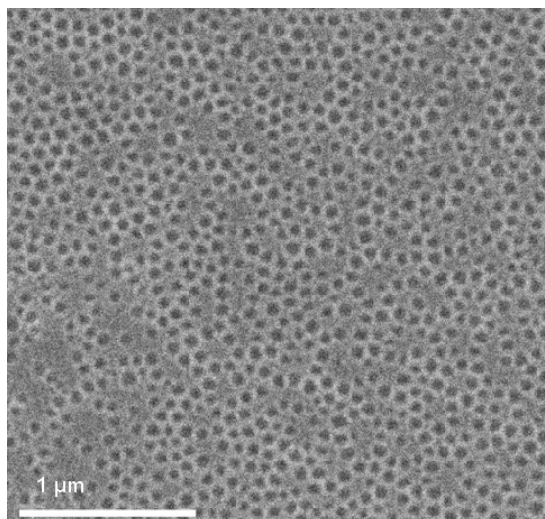
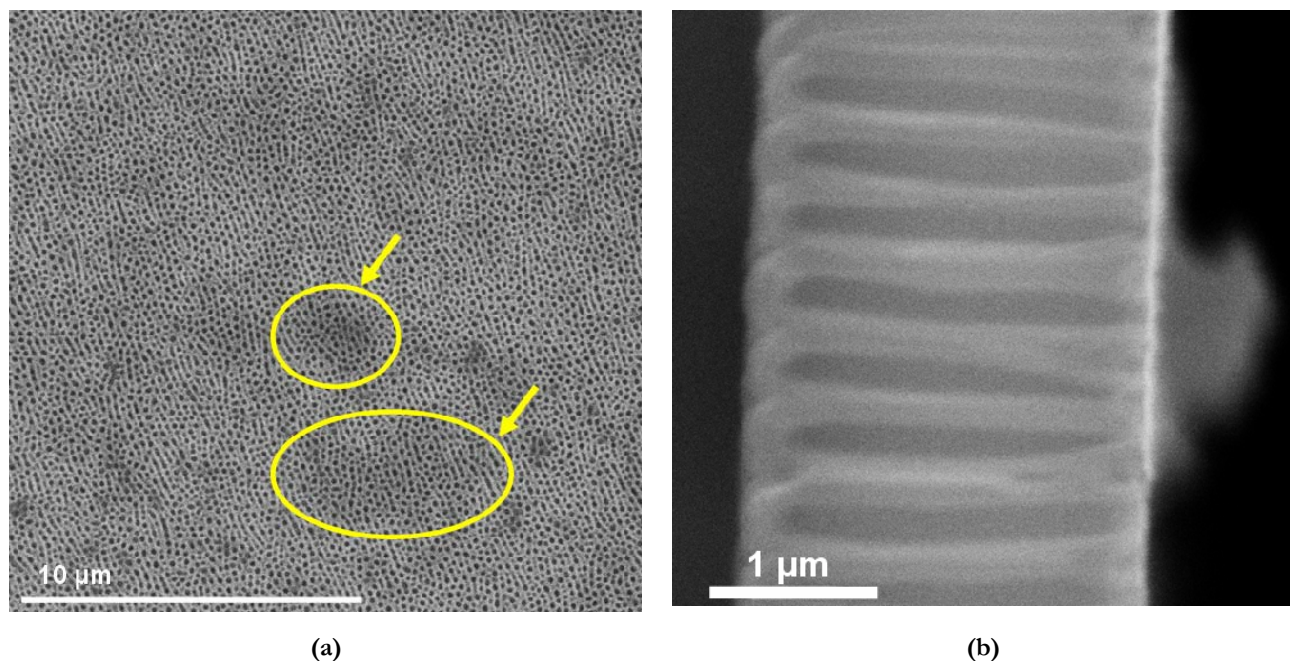


Figure V. 7 : Image MEB de la couche sol-gel après élimination des billes de Latex par traitement thermique

Sur la figure V.7, nous observons en noir des macropores de 50 nm de diamètre qui ont été formés par l'élimination des billes. Nous obtenons donc un substrat macroporeux pour la nanocristallisation de molécules organiques.

3.1.3. Essais de nanocristallisation dans les substrats macroporeux

Une étude bibliographique nous a permis de mettre en évidence plusieurs méthodes de remplissage des pores de membranes d'alumine par des molécules organiques. Deux techniques ont été retenues : la solution contenant les molécules organiques est introduite dans les pores soit par imprégnation du substrat par cette solution [8, 9], soit par spin-coating de cette solution sur le substrat [10]. Nous avons donc testé ces deux techniques sur nos échantillons. Préalablement, les membranes d'alumine ont été vidées de toute trace d'eau au fond des pores par chauffage sous vide à 150°C. Ensuite, nous avons préparé des solutions de rubrène dissout dans THF à 10 g/L pour obtenir une solution en limite de solubilité. Par imprégnation, on laisse la membrane d'alumine tremper pendant une semaine dans un flacon étanche puis lorsqu'on la sort du flacon, on absorbe rapidement le solvant présent en surface avec du papier optique. Par spin-coating, un petit volume de solution est déposé sur la membrane qui est ensuite entraînée en rotation. L'évaporation du solvant se fait à la fin de la rotation selon la méthode déjà présentée (voir chapitre I, § 5.3). Pour les deux méthodes, nous avons fini par un recuit de 24 h à 80°C pour éliminer toute trace de solvant résiduel. Les images MEB obtenues après application des deux méthodes sont présentées figure V.8.



**Figure V. 8 : Images MEB d'essais de nanocrystallisation de rubrène dans une membrane d'alumine poreuse :
essai par imprégnation (a) et essai par spin-coating observé sur la tranche (b)**

La méthode par imprégnation (figure V.8a) conduit à des zones plus sombres sur la surface de l'échantillon, sur lesquelles il y a probablement des molécules organiques qui se sont déposés sous forme de laque. Mais rien ne permet de prouver que l'on a bien inséré les molécules au fond des pores. Par spin-coating, on observe des agrégats noirs de molécules organiques sur l'ensemble du substrat. L'observation de la couche sur la tranche (figure V.8b) montre qu'on n'observe aucun nanocristal au fond des pores. La méthode par spin-coating a donc plutôt tendance à éliminer le solvant hors des pores même lorsqu'on abaisse la vitesse de centrifugation et qu'on augmente la durée de centrifugation. Au vu de ces résultats, nous avons donc opté pour la méthode par imprégnation pour introduire des nanocristaux de rubrène dans les substrats macroporeux obtenus par élimination de billes de latex. Une image MEB du substrat obtenu après imprégnation est présentée sur la figure V.9.

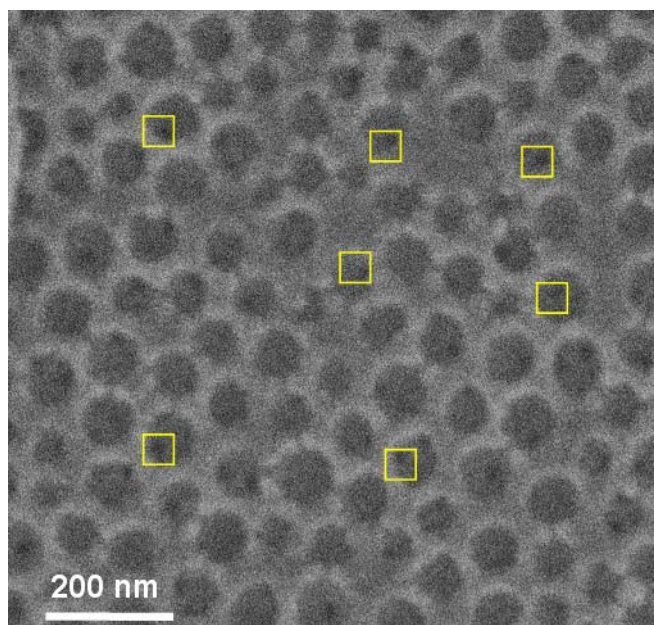


Figure V. 9 : Image MEB du substrat macroporeux de latex après imprégnation dans la solution de rubrène

Sur l'image obtenue, on voit des taches noires à l'intérieur des pores. Ce sont probablement des molécules organiques agrégées sur les parois ou bien de petits cristaux. La nanocristallisation dans ce type de membrane paraît donc plus prometteuse que les essais réalisés dans les membranes d'alumine. Ceci est probablement dû à l'affinité plus grande de la solution de rubrène dans THF avec une matrice silicatée qu'avec une matrice d'alumine. Pour obtenir des nanocristaux parfaitement insérés dans les pores de ce substrat macroporeux, il faudra donc ajuster les conditions de sursaturation de la solution qu'on imprègne.

La nanocristallisation induite dans des substrats macroporeux peut donc être optimisée. Cependant, cette méthode d'élaboration présente plusieurs inconvénients. D'une part, les nanocristaux obtenus ne seront pas suffisamment ancrés dans le substrat. D'autre part, ce sont des procédés d'élaboration multi-étapes. En effet, la préparation de l'alumine poreuse nécessite un polissage mécanique et électrique préalable, puis une anodisation longue en solution acide et enfin, une attaque chimique pour révéler les pores. Les membranes de latex sont formées à partir d'un sol qu'on dépose par dip-coating ; ensuite, un recuit est nécessaire et enfin, il faut appliquer un traitement thermique à haute température pour éliminer les billes de latex. Après la préparation des substrats, il faut que la solution imprègne le substrat pendant plusieurs jours, avant d'effectuer la nanocristallisation. Ces difficultés nous ont conduit à chercher un procédé plus direct afin d'obtenir des nanocristaux émergents mais parfaitement stabilisés mécaniquement.

3.2. Dissolution contrôlée de la matrice sol-gel

L'autre approche envisagée pour obtenir des nanocristaux accessibles à l'environnement est de dissoudre partiellement les couches minces sol-gel silicatées jusqu'à voir émerger les nanocristaux. Pour cela, nous réalisons toujours les dépôts des couches minces sur des lames de verre. Puis les couches sont plongées dans une solution contenant l'agent de dissolution sous agitation afin d'avoir des solutions homogènes conduisant à une dissolution homogène en épaisseur sur l'ensemble de la surface des couches sol-gel. Pour rendre ce décapage de la surface des couches silicatées parfaitement contrôlable et reproductible, nous avons dû ajuster les paramètres suivants : nature et concentration de l'agent de dissolution, épaisseur de la couche à dissoudre.

3.2.1. Nature et concentration du solvant

Nous avons tout d'abord envisagé une attaque chimique à l'acide fluorhydrique HF pour créer des liaisons Si-F (SiF_4) qui deviennent très solubles en solution aqueuse. Cependant, cette voie s'est avérée infructueuse car la couche mince sol-gel avait tendance à partir localement par plaques ce qui est la signature d'un décapage inhomogène de l'épaisseur des couches. La figure V.10 montre l'image obtenue par microscopie confocale d'une couche contenant des nanocristaux de rubrène que nous avons attaquée pendant 15 min dans une solution de HF à 10^{-1} mol/L.

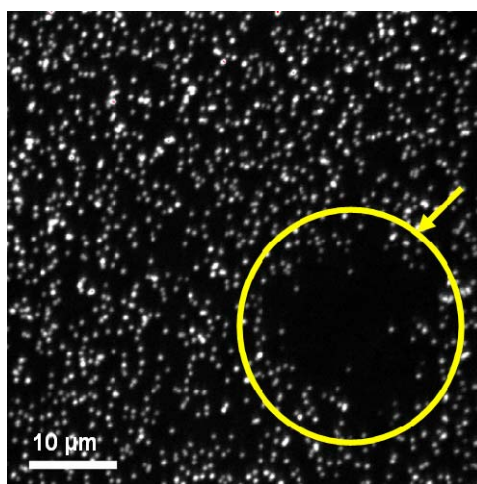


Figure V. 10 : Image par microscopie confocale d'une couche sol-gel contenant des nanocristaux de rubrène attaquée par HF 0,1M pendant 15 min

Nous avons constaté que quelle que soit la concentration en HF, l'attaque chimique des couches sol-gel ne se faisait pas de manière homogène : nous voyons des zones noires où il n'y a plus de nanocristaux fluorescents (figure V.10). L'attaque chimique se fait préférentiellement au niveau de défauts tels que des trous provoqués par des défauts de mouillabilité, comme nous le verrons au § 4.3. Nous avons donc

opté pour un décapage plus doux correspondant davantage à une dissolution contrôlée de la couche mince silicatée. En effet, il a été montré que des solutions basiques (NaOH, KOH, LiOH) très concentrées permettent d'aboutir à un amincissement homogène de lames de quartz pour la réalisation de dispositifs piézoélectriques [11]. Nous avons donc testé des solutions aqueuses de soude NaOH afin d'obtenir un décapage homogène de la surface de nos couches sol-gel nanocomposites. De plus, l'utilisation de NaOH ne détériore en aucun cas les nanocristaux organiques. En effet, nous avons observé au microscope optique des cristaux millimétriques de rubrène avant et après immersion dans des solutions de NaOH concentrées. On n'observe aucune dégradation de la surface et de la forme des cristaux. Les concentrations de solution basique ont été ajustées pour éviter une dissolution trop rapide et inhomogène, en suivant par microscopie confocale la diminution de la densité des nanocristaux dans la couche sol-gel en fonction de la durée de décapage. Si on utilise une concentration en NaOH supérieure ou égale à 10^{-1} mol/L, on obtient le même résultat qu'en présence de HF, soit un décapage inhomogène en épaisseur entraînant un décollement par plaques de nos couches. L'utilisation de solutions NaOH à 10^{-2} mol/L permet de décaper de manière assez homogène la surface des couches sol-gel mais les temps de dissolution dans ce cas doivent rester courts, de l'ordre de quelques minutes, sinon les nanocristaux sont « expulsés » de la matrice sol-gel. Finalement, nous avons opté pour une solution NaOH à 10^{-3} mol/L qui nous a permis d'obtenir des décapages plus homogènes et plus lents (quelques heures), comme nous le verrons plus loin, ce qui conduit ainsi à un meilleur contrôle de ce type de décapage.

3.2.2. *Épaisseur de la couche à décaper*

L'épaisseur de la couche sol-gel dépend essentiellement du taux de solvant s . En effet, une solution préparée avec des rapports s élevés sera moins visqueuse qu'une solution à s faible. Lors du dépôt, on obtiendra donc une couche moins épaisse, comme le prévoit l'équation 11 du chapitre I donnant l'épaisseur en fonction de la viscosité du sol. Nous avons mesuré l'épaisseur de couches « blanches », c'est-à-dire sans nanocristaux, pour évaluer la gamme d'épaisseurs dans laquelle nous souhaitons travailler. Ces mesures ont été faites sur des couches préparées avec un mélange de précurseurs sol-gel 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS et TMSE + 2 TMOS. Les mesures d'épaisseurs en fonction du taux de solvant s sont données sur la figure V.11.

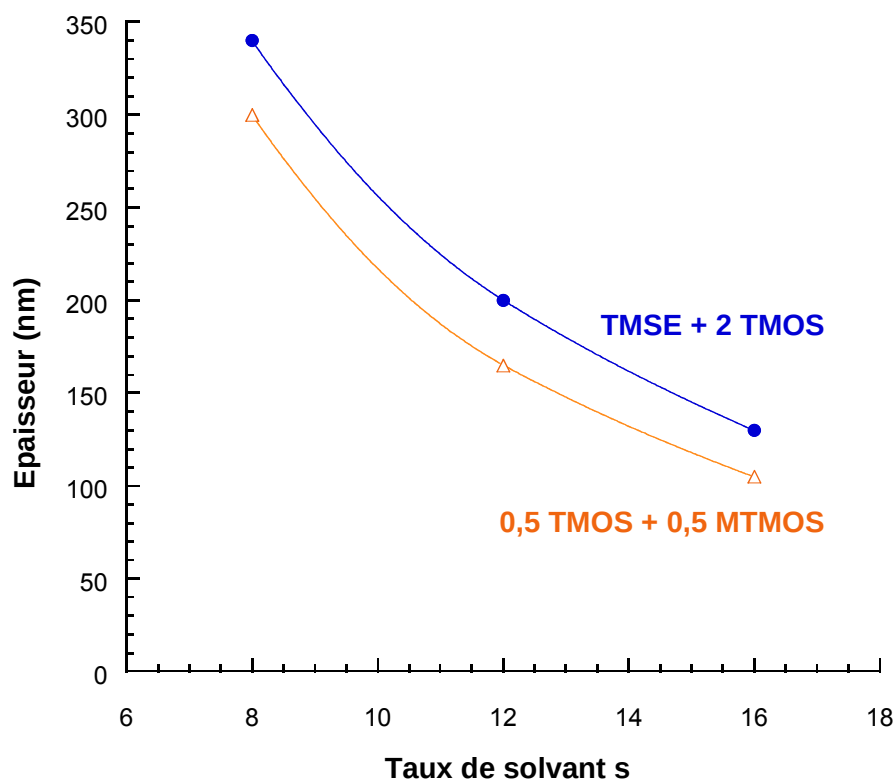


Figure V. 11 : Epaisseur des couches sol-gel 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS et TMSE + 2 TMOS en fonction du taux de solvant s

Nous constatons que le taux de solvant a une influence importante sur l'épaisseur de la couche sol-gel. Les couches les plus minces (environ 100 nm d'épaisseur) sont obtenues pour un taux de solvant s élevé. Le tableau suivant résume nos essais de dissolution contrôlée de couches sol-gel par la soude NaOH à 10^{-3} mol/L. Toutes les couches sol-gel contiennent des nanocristaux de rubrène et ont été élaborées avec un taux d'hydrolyse h égal à 1. Le diamètre moyen des nanocristaux a été mesuré par microscopie confocale et l'épaisseur des couches par profilométrie.

Matrice sol-gel	s	d	Diamètre moyen des nanocristaux	Epaisseur des couches
0,5 TMOS + 0,5 MTMOS	16	1.10^{-2}	800 nm	130 nm
0,5 TMOS + 0,5 MTMOS	16	1.10^{-3}	200 nm	105 nm
0,5 TMOS + 0,5 MTMOS	12	1.10^{-3}	450 nm	165 nm
TMSE + 2 TMOS	16	1.10^{-3}	300 nm	130 nm
TMSE + 2 TMOS	12	1.10^{-3}	500 nm	200 nm

Nous avons utilisé des taux de solvants s suffisamment grands ($s=12$ et $s=16$) pour obtenir des couches très minces. Les nanocristaux vont donc créer une certaine rugosité de surface puisque, dans ces

conditions, on constate que leur diamètre est supérieur à l'épaisseur de la couche sol-gel. Par conséquent, ils repoussent la couche sol-gel de surface comme nous le verrons par microscopie à force atomique au paragraphe suivant, et se développent préférentiellement dans l'épaisseur de la couche. Dans l'état actuel de nos mesures préliminaires, nous proposons le type de croissance schématisé sur la figure V.12.

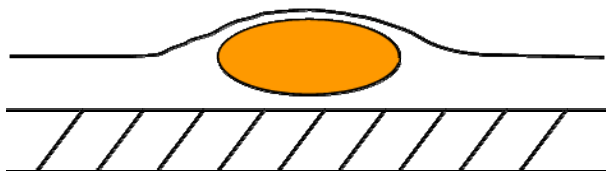


Figure V. 12 : Schéma d'un nanocristal repoussant la couche sol-gel de surface

Le décapage peut donc éventuellement se faire de manière préférentielle au niveau des nanocristaux, que l'on aura d'autant plus de facilité à faire émerger que la couche sol-gel est très mince. C'est pourquoi nous avons volontairement préparé des couches très minces en augmentant le taux de solvant s à 16 pour se placer dans des conditions aisées pour faire émerger des cristallites organiques en surface des couches sol-gel.

4. CARACTERISATION DES COUCHES DECAPEES

La technique que nous avons choisi pour caractériser la dissolution contrôlée des couches sol-gel est la microscopie à force atomique (AFM). En effet, cette microscopie en champ proche nous permet d'avoir une résolution suffisante pour caractériser précisément la rugosité de surface avant et après attaque chimique. La résolution latérale est de l'ordre de 1 à 5 nm tandis que la résolution verticale est inférieure à 0,1 nm [12]. De plus, nous allons voir que l'AFM utilisée en mode contact intermittent est très bien adaptée à l'étude de nos matériaux hybrides organique-inorganique, dont la surface est très hétérogène chimiquement et mécaniquement.

4.1. Principe de la microscopie à force atomique en mode contact intermittent

La microscopie AFM fait partie de la famille des microscopies en champ proche utilisées pour étudier la surface d'un matériau à l'échelle atomique. Elle a été inventée par Binnig en 1986 [13]. Cette technique consiste à balayer une surface avec un microlevier muni d'une pointe à son extrémité libre ; en général, cette pointe mesure quelques microns de longueur et a un diamètre inférieur à 10 nm. La position du levier est ensuite détectée de manière optique : un faisceau Laser est réfléchi à l'extrémité du levier jusqu'à une photodiode. Lorsque le levier se courbe, la position du faisceau laser change sur la photodiode (figure V.13).

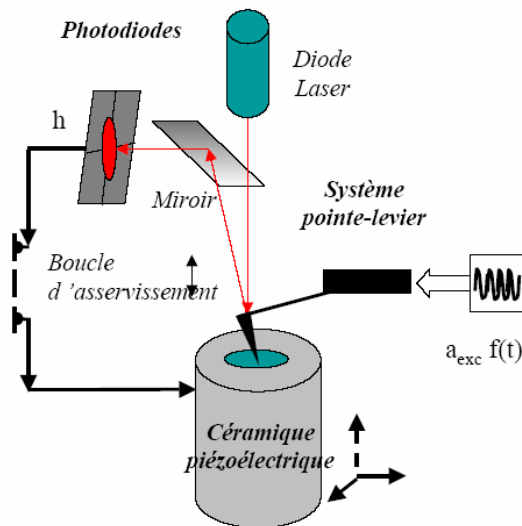


Figure V. 13 : Schéma général d'un microscope à force atomique

Les forces intervenant entre la pointe et la surface de l'échantillon entraînent la courbure ou la déflexion du levier. Ces forces sont majoritairement du type Van der Waals et dépendent de la distance pointe-échantillon comme le montre la figure V.14.

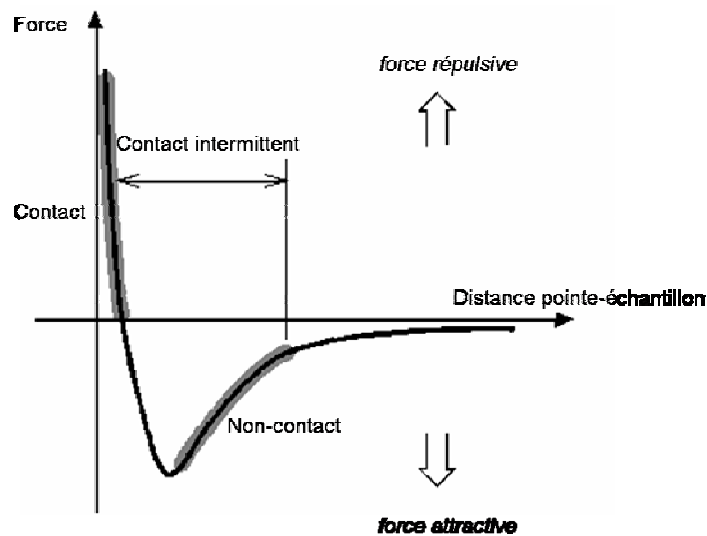


Figure V. 14 : Force de Van der Waals en fonction de la distance pointe-échantillon

Lorsque la force de Van der Waals est répulsive, les atomes de la pointe et de l'échantillon sont en contact, donc la déflexion du levier mesure la topographie de l'échantillon. Ce mode de fonctionnement de l'AFM est appelé mode **contact** (mode statique). Dans ce mode, on est directement sensible à la topographie de l'échantillon. Une fois que l'AFM a détecté la déflexion du levier, les données topographiques peuvent être obtenues de deux manières :

- soit on maintient la hauteur constante et on mesure un profil de force

- soit on maintient la force constante et on obtient un profil de hauteur.

Ce mode est couramment utilisé pour des surfaces indéformables. En revanche, comme la pointe est en contact physique avec l'échantillon, il peut y avoir détérioration de la surface de l'échantillon dans le cas de surfaces de faible module d'Young. C'est pourquoi, d'autres modes d'utilisation (modes dynamiques) sont utilisés [14].

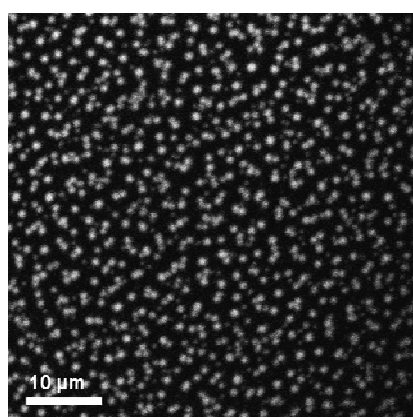
En mode **non-contact** (ou mode **FM-AFM** pour modulation de fréquence), la distance pointe-échantillon est comprise entre 5 et 10 nm. A cette distance, une faible attraction existe entre les atomes de la pointe et ceux de l'échantillon car il y a interaction de leurs orbitales électroniques. La phase de l'oscillateur est maintenue constante à $-\pi/2$ ainsi que l'amplitude de l'oscillation. Les signaux mesurés sont les variations de la fréquence de résonance et l'amplitude d'excitation qu'il est nécessaire d'appliquer pour maintenir constante l'amplitude d'oscillation.

Enfin, il existe un troisième mode de fonctionnement en **contact intermittent** (« tapping mode » ou mode **AM-AFM** pour modulation d'amplitude). On fixe alors la fréquence et l'amplitude d'excitation : le levier oscille à la fréquence de résonance avec une amplitude de l'ordre de 100 nm. La pointe touche l'échantillon à chaque oscillation. L'oscillation de la hauteur de la pointe AFM est donnée par la relation : $z(t) = A \cos(\omega t + \phi)$. Les signaux mesurés sont les variations d'amplitude d'oscillation A et de phase de l'oscillateur ϕ . Les deux signaux mélangent les interactions conservatives et les pertes d'énergie. Ainsi, la variation d'amplitude résulte des interactions instantanées entre l'oscillateur et l'échantillon mais également de l'amortissement supplémentaire lié à l'interaction puisque la mesure est réalisée à une valeur d'excitation fixée A_{exc} . La phase contient également à la fois les variations d'amplitude et les variations de coefficient d'amortissement.

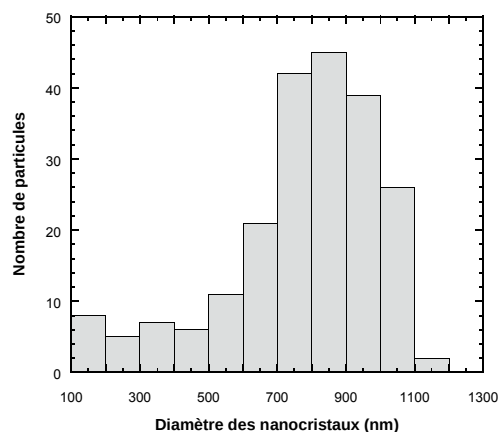
Les modes de détection contact et non-contact ne sont pas adaptés à l'étude directe des nanocristaux. D'une part, en mode contact, les nanocristaux, objets « mous », sont facilement arrachés par la pointe de l'AFM, contrairement à la matrice sol-gel qui est relativement dure. D'autre part, en mode non-contact, la distance trop grande entre la pointe et l'échantillon ne permet pas d'obtenir une résolution latérale suffisamment bonne. Nous avons donc utilisé le mode contact intermittent car il permet d'obtenir des images sur des matériaux mous sans pour autant créer de dommage irréversible et de mesurer la phase de l'oscillation pour obtenir des informations sur la dureté des matériaux analysés. La raison principale au regard du mode statique de contact est la réduction des forces de cisaillement entre la pointe et l'échantillon. L'ensemble des images AFM que nous présentons dans ce chapitre a été réalisé par N. Sanz, sur un microscope Veeco D3100, au CEA Grenoble.

4.2. Effet de la taille des nanocristaux

Nous avons préparé une couche mince contenant des nanocristaux de rubrène à partir de la solution suivante : TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-2}$). Par microscopie confocale, nous avons observé des nanocristaux d'environ 800 nm de diamètre (figure V.15) pour une couche de 130 nm d'épaisseur (cf tableau § 3.2.2).



(a)



(b)

Figure V. 15 : Image par microscopie confocale (a) et histogramme correspondant (b) des nanocristaux de rubrène contenus dans la couche : TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-2}$)

Ces couches ont été attaquées dans une solution de soude NaOH à 10^{-3} mol/L, pour des temps d'attaque de 1 à 16 h. Les images obtenues par AFM en mode contact-intermittent, pour les couches non décapées sont présentées figure V.16.

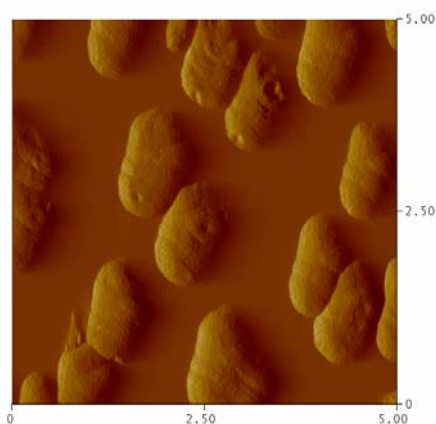


Image en amplitude (a)

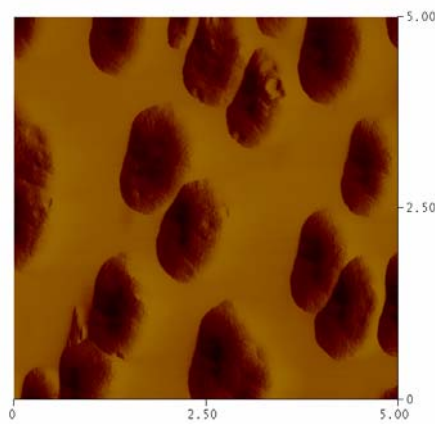


Image en phase (b)

Figure V. 16 : Image AFM en amplitude (a) et en phase (b) d'une couche sol-gel TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-2}$) non décapée

L'image AFM obtenue en amplitude (figure V.14a) nous permet de constater que même sur la couche non attaquée, il y a une rugosité de surface importante. Cette rugosité provient du fait que sur les couches brutes non découpées, les nanocristaux enterrés repoussent légèrement la couche sol-gel de surface. Il est donc normal d'observer une certaine rugosité en surface, d'environ 40 nm en moyenne. Néanmoins, cette rugosité reste relativement faible comparé à la taille des cristaux car ceux-ci ne sont plus sphériques. En effet, leur croissance se fait préférentiellement dans l'épaisseur de la couche (voir figure V.12) vu les contraintes imposées par la couche sol-gel très mince. De plus, étant donné le taux de dopage organique élevé ($d=1.10^{-2}$), on obtient des cristaux sous forme de bâtonnets dont la taille est proche du μm . L'image obtenue en phase (figure V.16b) montre des nanocristaux plus sombres que la matrice sol-gel. Ce contraste est dû à la différence de dureté entre les nanocristaux organiques, module « mou » insérés dans une matrice sol-gel inorganique, plus dure. Nous présentons sur la figure V.17 l'image AFM de cette même couche après un décapage de 16 h dans $\text{NaOH } 10^{-3} \text{ mol/L}$.

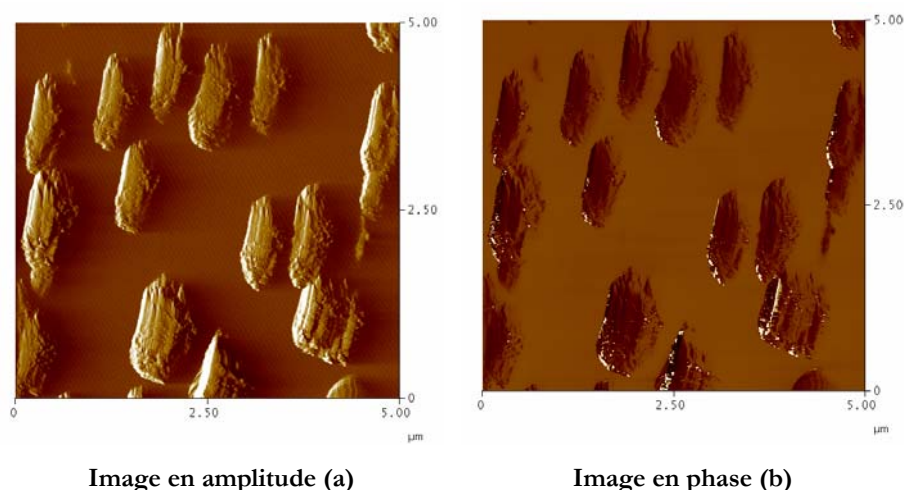


Figure V. 17 : Image AFM en amplitude (a) et en phase (b) d'une couche sol-gel TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-2}$) décapée par dissolution contrôlée dans une solution $\text{NaOH } 10^{-3} \text{ mol/L}$ pendant 16 h

Nous constatons que l'attaque chimique dans NaOH change l'apparence des cristaux sur l'image AFM : l'élimination de la couche sol-gel de surface révèle les marches cristallines sur les cristaux de rubrène. Ici la hauteur moyenne des nanocristaux en surface est de 37 nm, ce qui signifie que la dissolution contrôlée a permis de dissoudre au minimum les 3 nm environ de couche sol-gel présente au-dessus des nanocristaux. Ceci démontre donc la faisabilité de notre procédé de décapage par dissolution contrôlée destiné à rendre les nanocristaux accessibles à l'environnement.

Par ailleurs, nous avons vu au chapitre IV, § 5 que, pour des applications de capteurs, le transfert d'énergie entre la molécule sonde et les molécules fluorescentes est favorisé pour des nanocristaux de petite taille. Nous verrons aux paragraphes suivants qu'en diminuant le taux de dopage organique d à la

valeur 1.10^{-3} , nous obtenons des nanocristaux plus petits et de forme sphérique, car nous sommes revenus à des conditions plus habituelles qui ont été mises au point tout au long de ce travail de thèse.

4.3. Choix de la matrice sol-gel à dissoudre

Nous avons d'abord réalisé la dissolution de couches sol-gel élaborées à partir du mélange de précurseurs 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS. Ces couches minces, contenant des nanocristaux de rubrène, ont été élaborées à partir d'une solution contenant : 0,5 TMOS + 0,5 MTMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$). Les images obtenues en AFM de cette couche brute et décapée 16 h dans NaOH 10^{-3} mol/L sont présentées sur la figure V.18.

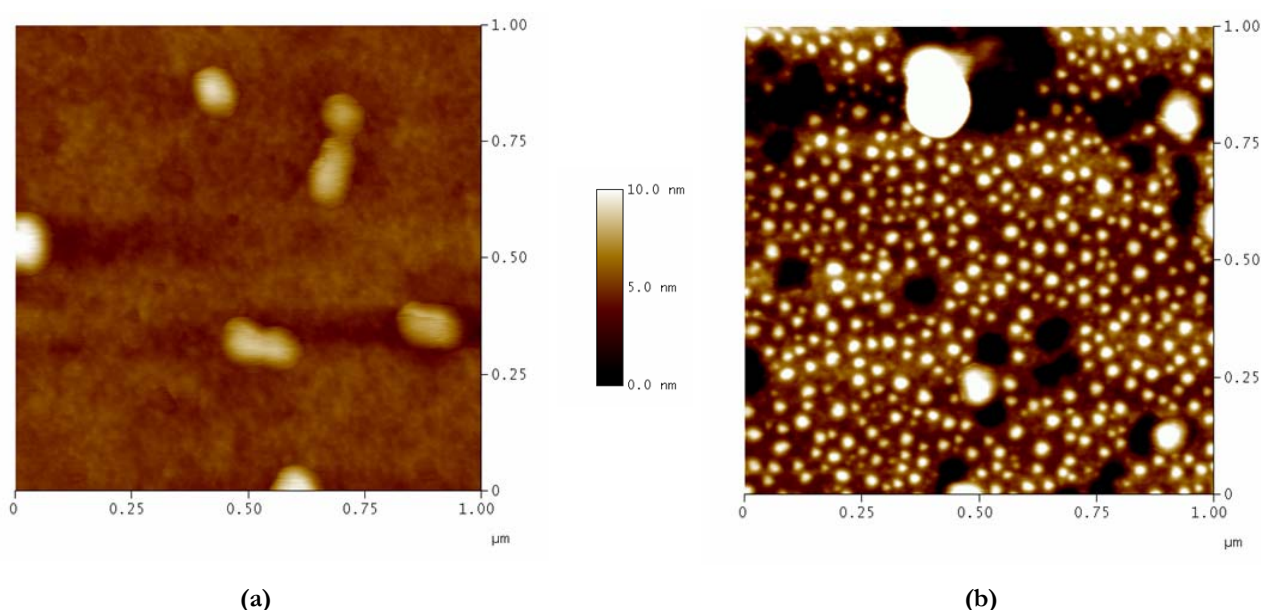


Figure V. 18 : Images AFM en topographie d'une couche mince sol-gel 0,5 TMOS+ 0,5 MTMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$) non attaquée chimiquement (a) et attaquée chimiquement par NaOH à 10^{-3} mol/L pendant 16 heures(b)

En surface de la couche brute, on constate que la rugosité n'est pas nulle : on observe de gros nanocristaux (d'environ 150 nm de diamètre) qui ont nucléé préférentiellement au niveau des défauts de surfaces (trous occasionnés par des défauts de mouillabilité). Ces problèmes de mouillabilité ont déjà été rencontrés et résolus lors de travaux précédents en ajustant la balance hydrophile-hydrophobe entre le sol déposé et le substrat [15]. On parvient ainsi à avoir une mouillabilité totale de la solution sur le substrat en appliquant préalablement sur le substrat un traitement chimique en solution acide, basique ou dégraissante. Un traitement plasma standard ou sous gaz réactif peut également être envisagé. Dans le cadre de notre étude, la balance hydrophile-hydrophobe est modifiée par le taux de solvant élevé ($s=16$). De plus, l'épaisseur des couches diminue, ce qui rend les conditions de mouillabilité plus critiques. Par ailleurs, on constate sur la figure V.18 que le décapage de 16 h dans NaOH 10^{-3} mol/L

révèle deux populations de nanocristaux. Les nanocristaux les plus gros, que l'on pouvait voir sur la couche sol-gel non attaquée, émergent maintenant à une hauteur moyenne de 50 nm. Il apparaît en plus des nanocristaux plus petits, de diamètre moyen 50 nm, qui émergent quant à eux d'une hauteur de 5 nm environ au-dessus de la couche sol-gel. Ce type de matrice sol-gel entraîne donc la nucléation et la croissance de deux populations de nanocristaux. En effet, pour un taux de solvant $s=16$, nous nous plaçons dans de nouvelles conditions de nanocristallisation par rapport aux résultats antérieurs. Il reste donc encore à optimiser l'élaboration des nanocristaux en ajustant les conditions de dépôt pour obtenir une population monodisperse. Les deux populations que l'on observe ici sont révélées de manière totalement différente par NaOH, d'autant plus que les gros nanocristaux sont situés principalement au niveau des défauts de surface, là où le décapage se fait de manière prioritaire. A cause de ces problèmes d'homogénéité, nous n'avons donc pas retenu ce type de matrice pour les essais suivants. Nous verrons au paragraphe suivant que l'utilisation d'une matrice sol-gel TMSE + 2 TMOS conduit à l'obtention d'une seule population de nanocristaux et par conséquent à une dissolution de la couche sol-gel plus homogène.

4.4. Effet du temps d'attaque chimique

Nous avons préparé une couche mince contenant des nanocristaux de rubrène à partir de la solution suivante : TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$). Par microscopie confocale, nous avons observé des nanocristaux d'environ 200 nm de diamètre (figure V.19) pour une couche de 130 nm d'épaisseur.

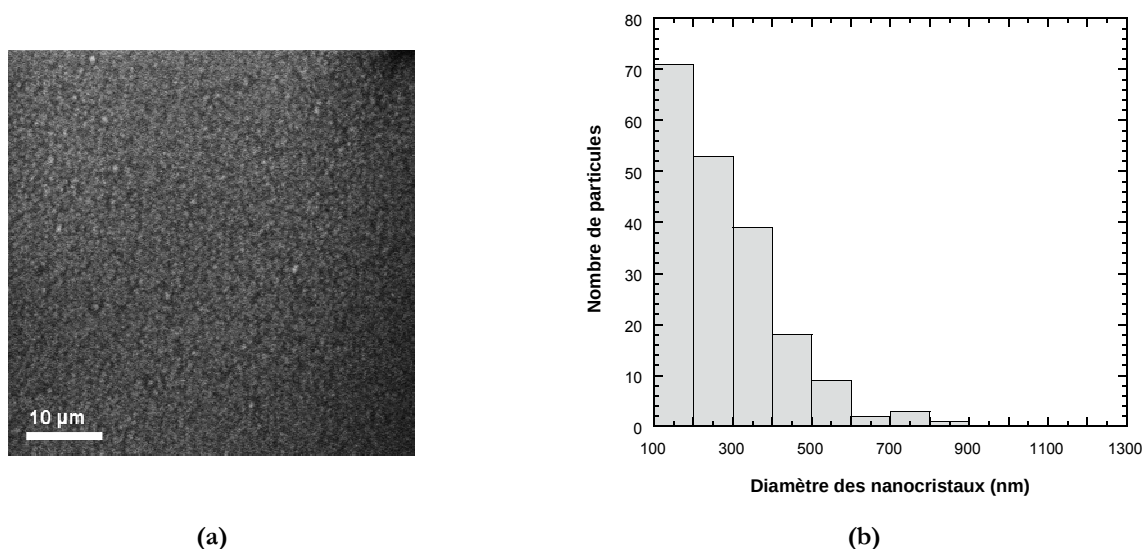
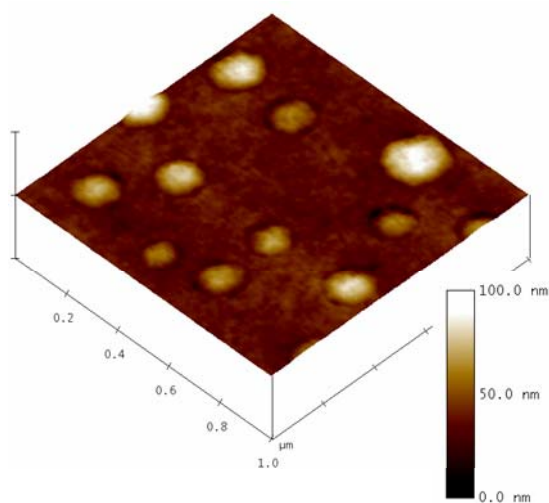
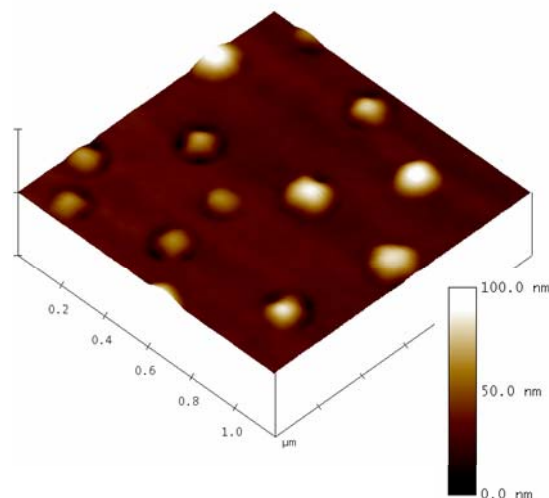


Figure V. 19 : Image par microscopie confocale (a) et histogramme correspondant (b) des nanocristaux de rubrène contenus dans la couche : TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$)

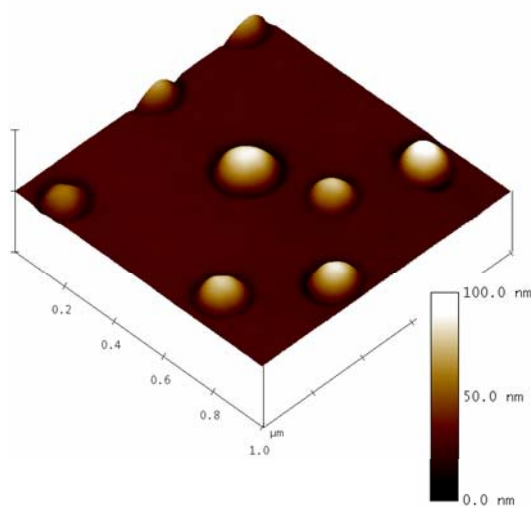
Ces couches ont été partiellement dissoutes dans une solution de soude NaOH à 10^{-3} mol/L, pour des temps d'attaque de 1 à 16 h. Les images obtenues par AFM en mode contact-intermittent, en topographie sont présentées figure V.20.



(a) Couche brute non décapée



(b) Couche après 1 h de dissolution de surface



(c) Couche après 16 h de dissolution de surface

Figure V. 20 : Images AFM en topographie d'une couche mince sol-gel TMSE + 2 TMOS + THF ($s=16$) + HCl 0,1M ($h=1$) + rubrène ($d=1.10^{-3}$) brute (a) après 1 h de dissolution de surface par NaOH à 10^{-3} mol/L (b) et après 16 h de dissolution de surface par NaOH à 10^{-3} mol/L (c)

La hauteur moyenne des nanocristaux mesurée sur la couche brute n'est pas nulle, pour les mêmes raisons que celles présentées au § 3.2.2. On mesure une rugosité de 5 nm en moyenne car les nanocristaux repoussent la couche sol-gel de surface. La dissolution contrôlée dans NaOH 10^{-3} mol/L

augmente la hauteur moyenne des nanocristaux en surface, ce qui signifie que l'on a dissout progressivement la couche sol-gel silicatée en surface. Les figures V.20b et V.20c illustrent bien cette dissolution progressive. Le tableau suivant donne la hauteur moyenne des nanocristaux en surface que nous avons mesuré pour différents temps de dissolution de cette couche sol-gel.

Temps de dissolution dans NaOH 10^{-3} mol/L	Hauteur des nanocristaux en surface de la couche sol-gel	
	Non décapée	5 nm
1 h		10 nm
4 h		15 nm
16 h		35 nm

La vitesse moyenne de décapage varie donc entre 5 nm/h pour des temps courts de dissolution et 2 nm/h environ pour des temps longs. Par ailleurs, on peut remarquer sur les images AFM la conservation d'un très bon état de surface de la couche silicatée après amincissement. En effet, entre les nanocristaux, la rugosité de surface reste identique à celle d'une couche sol-gel classique, soit de l'ordre de 0,5 nm, ce qui montre bien que notre amincissement par dissolution contrôlée est parfaitement maîtrisé. De plus, on n'observe pas la moindre détérioration de la surface des nanocristaux organiques avant et après dissolution de la couche sol-gel. En effet, ces nanocristaux moléculaires sont parfaitement insolubles en solution aqueuse basique et ne sont pas détériorés par la soude, comme nous avons pu l'observer au microscope optique. Enfin, il n'y a aucune modification de leurs propriétés de luminescence avant et après attaque chimique (figure V.22).

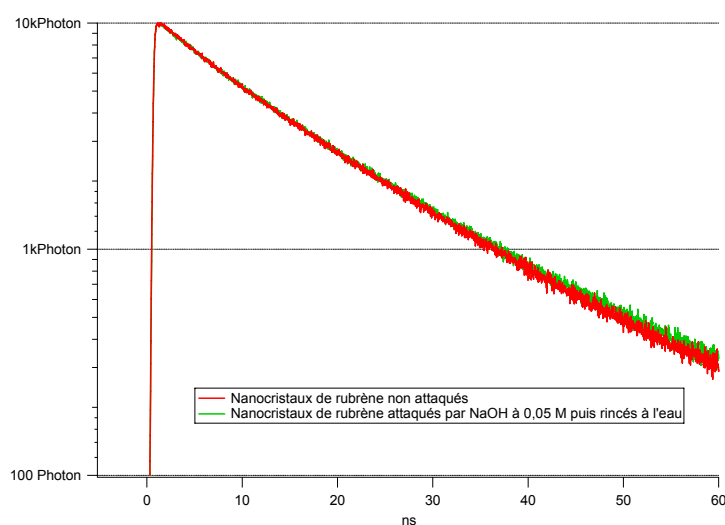


Figure V. 21 : Déclins de luminescence de nanocristaux de rubrène non attaqués (courbe rouge) et attaqués par NaOH à 0,05 M (courbe verte)

Ceci est extrêmement important pour la réalisation de capteurs biologiques. Nous démontrons ainsi la validité de notre procédé par dissolution chimique de la couche sol-gel contenant les nanocristaux fluorescents. Ainsi, nous obtenons des nanocristaux organiques directement en contact avec leur environnement (solution biologique à la surface) tout en étant parfaitement stabilisés mécaniquement car ils restent ancrés dans le dépôt sol-gel (figure V.22). Ils sont donc directement intégrables dans un dispositif de capteurs biologiques.

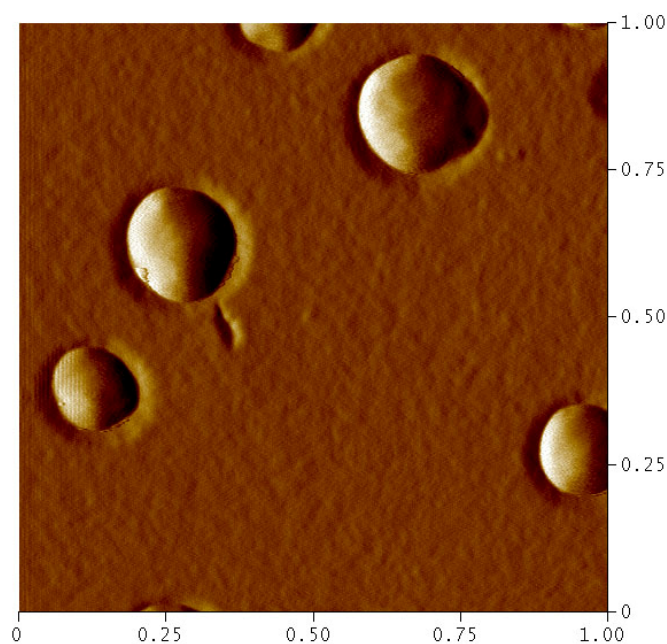


Figure V. 22 : Image AFM d'une couche sol-gel contenant des nanocristaux de rubrène après décapage : les nanocristaux restent parfaitement ancrés dans la couche sol-gel

CONCLUSION

Afin de réaliser des capteurs biologiques, nous avons tenté de rendre les nanocristaux fluorescents directement accessibles à un environnement biologique (solutions aqueuses). Les essais de nanocristallisation dans des substrats macroporeux (membrane d'alumine et couche sol-gel obtenue par élimination thermique de billes de latex) se sont avérés délicats à mettre en œuvre. On peut cependant envisager une nanocristallisation dans les pores des substrats obtenus par élimination de billes de latex en ajustant les conditions d'élaboration. Toutefois, nous avons envisagé une autre voie : la dissolution contrôlée de la surface de nos couches sol-gel pour rendre émergents les nanocristaux. Nous avons commencé à optimiser les paramètres d'élaboration (nature et concentration de l'agent décapant,

épaisseur de la couche, type de matrice sol-gel) afin d'obtenir une dissolution la plus homogène possible de la couche sol-gel.

Les premiers résultats de décapage caractérisés par AFM sont très encourageants. Ils font d'ailleurs l'objet d'un brevet en cours de dépôt. En effet, nous obtenons des nanocristaux émergents tout en restant bien stabilisés mécaniquement dans la couche sol-gel. Cette couche sol-gel présente toujours une très faible rugosité ce qui démontre un parfait contrôle du décapage homogène en épaisseur de la couche. Il reste maintenant à optimiser les conditions de nanocristallisation pour obtenir des couches d'environ 100 nm d'épaisseur dans lesquelles sont insérés des nanocristaux de diamètre inférieur à 100 nm pour augmenter leur sensibilité.

Il faudra ensuite tester son fonctionnement en tant que biopuce à fluorescence en réalisant le dispositif que nous avons introduit au § 2.2. L'étape suivante sera donc la fonctionnalisation des nanocristaux par greffage de brins d'ADN marqués par des molécules sondes. Ainsi, on pourra envisager de tester ce dispositif en présence d'ADN cibles pour une détection « à l'allumage » par hybridation des brins d'ADN.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V

- [1] Gerhold, D. L., "Better Therapeutics through microarrays", Nat. Genetics, **32**, 547-552, 2002
- [2] Bhattachatjee, A., "Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 13790-13795, 2005
- [3] Chang, H. Y., "Robustness, scalability, and integration of a wound response gene expression signature in predicting breast cancer survival", Proc. Natl. Acad. Sci. USA A, **102**, 3738-3743, 2005
- [4] Shipp, M. A., "Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning", Nature Med., **8**, 68-74, 2002
- [5] "La révolution des biopuces" - Communiqué de presse du CEA, oct. 2002
- [6] Quijada, L.; Soto, M.; Requena, J. M., "Genomic DNA macroarrays as a tool of gene expression in Leishmania", Exp. Parasitol., **111**, 64-70, 2005
- [7] Martin, C. R., "Nanomaterials: A Membrane-Based Synthetic Approach", Science, **266**, 1961-1966, 1994
- [8] Qi, D.; Kwong, K.; Rademacher, K.; Wolf, M. O.; Young, J. F., "Optical Emission of Conjugated Polymers Adsorbed to Nanoporous Alumina", Nano Letters, **3**, 1265-1268, 2003
- [9] Truong, T. T. *Capteurs chimiques à transduction optique de polluants atmosphériques à base de Matériaux Nanoporeux: Application au Benzène et au Toluène*, Thèse de Doctorat de l'Université d'Orsay Paris XI, 2004.
- [10] Zhao, Y.; Yang, D.; Zhou, C.; Yang, Q.; Que, D., "Photoluminescence properties of the composite of porous alumina and poly(2,5-dibutoxy-1,4 phenylenevinylene)", J. Lumin., **105**, 57-60, 2003
- [11] Deleuze, M.; Goiffon, A.; Ibanez, A.; Philippot, E., "Solvent Influence on Kinetics and Dissolution Mechanism of Quartz in Concentrated Basic Media (NaOH, KOH, LiOH)", J. Solid State Chem., **118**, 254-260, 1995
- [12] Digital Instruments - Scanning Probe Microscopy Training Book
- [13] Binning, G.; Quate, C. F.; Gerber, C., "Atomic force microscope", Phys. Rev. Lett., **56**, 930, 1986
- [14] Aimé, J. P.; Boisgard, R.; Couturier, G. Microscopie de Force Dynamique. *Cours de Nanophysique par sonde locale de Force*. 2005. CPMOH Université Bordeaux I
- [15] Botzung-Appert, E. *Nanocristaux organiques inclus dans des couches minces sol-gel*, Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I, 2003.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail de thèse a consisté à optimiser les paramètres physico-chimiques d'élaboration de nanocristaux organiques en couches minces sol-gel afin de concevoir un nouveau type de capteur chimique et biologique. Les nanomatériaux que nous avons synthétisés sont des hybrides organo-minéraux nanocomposites qui permettent de combiner les propriétés des cristaux fluorescents organiques (fluorescence, photostabilité) et les avantages d'une matrice sol-gel minérale (stabilité, mise en forme aisée). Nous avons utilisé plusieurs familles de fluorophores organiques (polyaromatiques, pérylènes, trimésitylbodipy) et plusieurs matrices sol-gel (TMOS, MTMOS, TMSP, TMSE) selon les propriétés de détection souhaitées pour ces couches minces nanocomposites.

L'utilisation de différentes techniques de caractérisation (microscopie optique confocale, microscopie électronique en transmission, profilométrie) nous a permis d'observer la taille et la distribution de taille des cristallites dans nos échantillons. Nous avons montré la particularité de notre méthode de nanocristallisation en matrice sol-gel par rapport à la microcristallisation de molécules organiques dans des solutions libres classiques (cristaux non supportés). En solution libre, on obtient des microcristaux très polydisperses, d'autant plus qu'on augmente la concentration de molécules organiques dissoutes dans le solvant. En revanche, en matrice sol-gel, on parvient à obtenir une distribution étroite de nanocristaux grâce à l'application d'une sursaturation très élevée. Le confinement spatial et temporel du procédé de nucléation-croissance qui en résulte nous permet d'élaborer des nanocristaux monodisperses et d'éviter leur coalescence, grâce à la matrice sol-gel. Nous avons vu que nous pouvons ajuster la taille et la distribution de taille en augmentant ce confinement spatial par une catalyse d'hydrolyse-condensation en deux étapes (acide puis basique). L'imagerie des nanocristaux par microscopie confocale nous a également permis de mettre en évidence le rôle joué par les différents paramètres d'élaboration sur la distribution des nanocristaux dans la matrice sol-gel : solubilité du fluorophore dans le solvant, taux d'hydrolyse, type de précurseur sol-gel. Ainsi, nous avons montré que les conditions adéquates pour obtenir des couches et une nanocristallisation homogènes étaient d'avoir un fluorophore très soluble dans le solvant utilisé, de choisir un taux d'hydrolyse h inférieur ou égal à 1 en milieu acide et enfin d'utiliser une matrice sol-gel du type TMOS-MTMOS ou TMSE-TMOS pour limiter les interactions fluorophore-matrice. Par microscopie électronique en transmission, nous avons pu observer des nanocristaux sphériques bien définis et ce jusqu'à des tailles de l'ordre de 50 nm, avec une distribution de taille d'environ 10 à 20 %. Enfin, nous avons mesuré l'influence du temps d'hydrolyse à 80°C sur l'épaisseur des couches sol-gel préparées à partir du mélange TMSE + 2 TMOS. Nous avons montré que des temps d'hydrolyse courts étaient préférables avec ce type de matrice si on veut éviter une gélification trop rapide du sol.

Nous avons ensuite étudié la cristallinité des nanoparticules en matrice sol-gel que nous avons synthétisé. La microscopie électronique en transmission s'est avérée être la technique la mieux adaptée

pour faire diffracter des nano-objets. Cette étude a été initiée sur le microscope électronique du CERMAV possédant une procédure « low-dose » intégrée. Nous avons ensuite adapté cette procédure au microscope électronique du Laboratoire de Cristallographie, en travaillant à basse température (-171°C). Notre stratégie a consisté à comparer les figures de diffraction obtenues pour les nanocristaux en matrice sol-gel avec celles obtenues pour des microcristaux préparés en solution libre. Deux fluorophores ont été étudiés : le rubrène et le tétracène. La structure des microcristaux de rubrène (orthorhombique Bbam) et de tétracène (triclinique $P\bar{1}$) a pu être identifiée par diffraction électronique. Grâce au logiciel de simulation JEMS, nous avons également pu connaître l'orientation des cristaux sous le faisceau d'électrons. Nous avons montré que les nanocristaux de tétracène cristallisaient dans le même système triclinique $P\bar{1}$ que les microcristaux. Quant aux nanocristaux de rubrène, leur structure n'a pas pu être identifiée : ils cristallisent probablement dans un mélange de deux phases cristallines ou dans une autre forme polymorphe. Mais la diffraction électronique nous a permis de montrer que les nanocristaux présentent une très bonne cristallinité et sont probablement monocristallins. Cette monocristallinité des nanocristaux a été confirmée par microscopie de fluorescence à deux photons résolue en polarisation.

Les mesures de spectroscopie de fluorescence résolue en temps ont montré que les nanocristaux en matrice sol-gel permettent la mise en œuvre d'un système de capteur chimique dans lequel la fonction de signalisation (nanocristaux) est séparée de la fonction de détection (molécule sonde). Nous avons cherché à optimiser les propriétés de capteur de nos matériaux en favorisant l'inhibition de la fluorescence des nanocristaux par des molécules sondes. Pour cela, nous avons d'abord sélectionné les fluorophores organiques sur différents critères jugés importants pour la réalisation de capteurs chimiques : fluorescence élevée dans l'état cristallin, durée de vie longue, signature de fluorescence simple (déclin mono-exponentiel ou bi-exponentiel), bon recouvrement spectral entre son émission de fluorescence et l'absorption de la molécule sonde, bonne photostabilité sous faisceau. Ces tests ont été réalisés sur des cristaux non supportés car leur mise en forme est plus aisée que celle des nanocristaux en matrice sol-gel. Le rubrène et le tétracène ont été retenus. Par contre, le pérylène A a été éliminé car il comporte plusieurs espèces luminescentes, ce qui rend son déclin de fluorescence peu reproductible. Par ailleurs, nous nous sommes intéressés à la porosité de la matrice sol-gel, cette étude ayant pour but de moduler la porosité pour sélectionner les molécules à détecter. En effet, la matrice sol-gel peut soit jouer le rôle de filtre contre les interactions non spécifiques, soit constituer une structure permettant de favoriser la diffusion des molécules à détecter vers les nanocristaux. Nos mesures indirectes de porosité par spectroscopie de fluorescence ont été confirmées par des mesures d'ellipsométrie couplées à l'adsorption-désorption de gaz. Par les deux mesures, on montre que la matrice TMOS + MTMOS est composée en grande partie de micropores, alors que la matrice TMSE + 2 TMOS présente une quantité

non négligeable de mésopores, c'est pourquoi elle autorise la diffusion du Bleu de Cibacron vers les nanocristaux. Ensuite, nous avons prouvé que le transfert d'énergie entre le donneur et l'accepteur était favorisé dans le cas de nanoparticules de petite taille et bien cristallisées ; nous avons alors montré que, dans ce cas, la distance de délocalisation de l'excitation est un ordre de grandeur supérieure au rayon de Förster (~ 5 nm). Enfin, nous avons montré que les nanocristaux en matrice sol-gel permettent de réaliser une grande variété de capteurs chimiques. Nous avons validé, pour deux fluorophores, rubrène et tétracène, leur fonctionnement en tant que capteur rédox et de pH.

Afin de réaliser des capteurs biologiques, nous avons cherché des moyens pour rendre les nanocristaux fluorescents accessibles à un environnement biologique. Les essais de nanocristallisation dans des substrats macroporeux (membrane d'alumine et couche sol-gel obtenue par élimination thermique de billes de latex) se sont avérés délicats à mettre en oeuvre. C'est pourquoi nous avons envisagé une autre voie : la dissolution contrôlée de la couche sol-gel de surface pour rendre émergents les nanocristaux. Nous avons optimisé les paramètres d'élaboration (nature et concentration de l'agent décapant, épaisseur de la couche, type de matrice sol-gel) afin d'obtenir une dissolution la plus homogène possible de la couche sol-gel. Nous avons réussi à obtenir un substrat sur lequel sont insérés de manière stable, grâce à la couche sol-gel, des fonctions de signalisation fluorescentes (nanocristaux). Ces nanocristaux organiques, qui sont en partie émergents à la surface des couches sol-gel, sont ainsi directement accessibles.

Il ressort donc de ce travail de thèse que l'amélioration de la sensibilité des nanocapteurs passe par la synthèse de nanoparticules bien cristallisées et de petite taille (inférieure à 100 nm de diamètre). Nous favoriserons donc des conditions de préparation de la matrice sol-gel qui permettent d'aboutir à un bon confinement spatial des nanocristaux et nous utiliserons des fluorophores organiques possédant un bon rendement quantique de fluorescence dans l'état cristallin.

Les matrices sol-gel mésoporeuses, du type TMSE + 2 TMOS, semblent être de bons candidats pour des capteurs chimiques car leur taille de pores autorise la diffusion des polluants et substances toxiques que nous souhaitons détecter (hydrocarbures, dioxines, pesticides, produits pétroliers, métaux, produits radioactifs,...). Il sera donc nécessaire d'optimiser la polymérisation de ce type de matrice afin de réaliser une détection plus sélective.

Grâce à notre procédé permettant de rendre les nanocristaux émergents, il est maintenant tout à fait envisageable d'utiliser les nanocristaux dans des systèmes pouvant faire concurrence aux biopuces à fluorescence existantes. L'étape suivante sera donc la fonctionnalisation des nanocristaux par greffage de brins d'ADN marqués par des molécules sondes. Ainsi, on pourra envisager de tester ce dispositif en présence d'ADN cibles pour une détection « à l'allumage » par hybridation des brins d'ADN.

Enfin, il est possible d'utiliser les nanocristaux en tant que traceurs biologiques. Par une méthode similaire à celle que nous avons décrit dans ce travail, on peut faire croître les nanocristaux non plus dans les pores de matrice sol-gel mais par exemple dans les gouttelettes d'une émulsion. On obtiendrait ainsi une solution injectable dans l'organisme vivant qui permettrait de suivre la circulation sanguine ou le trajet d'un médicament.

ANNEXE A :

STRUCTURE CRISTALLOGRAPHIQUE DU RUBRENE ET DU TETRACENE

1. STRUCTURE DU RUBRENE ORTHORHOMBIQUE $Bbam$ [1]

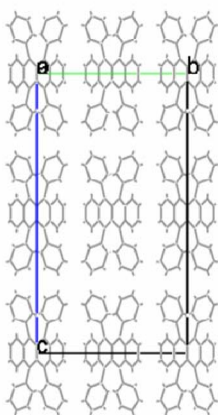
- Paramètres de maille :

$$a=7,184 \text{ \AA} ; b=14,433 \text{ \AA} ; c=26,897 \text{ \AA}$$

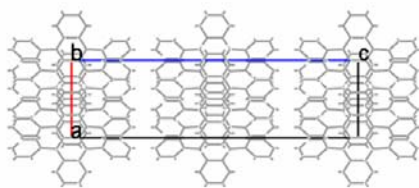
- Volume de la maille élémentaire : $V_{\text{maille}} = 2788,86 \text{ \AA}^3$

- Nombre de molécules par maille élémentaire : $n = 4$

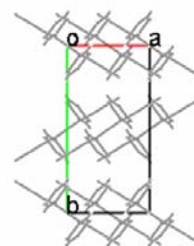
- Projection de la structure selon les 3 axes du réseau cristallin :



perpendiculaire à $\vec{a}$



perpendiculaire à $\vec{b}$



perpendiculaire à $\vec{c}$

2. STRUCTURE DU TETRACENE TRICLINIQUE $P\bar{1}$ [2]

- Paramètres de maille :

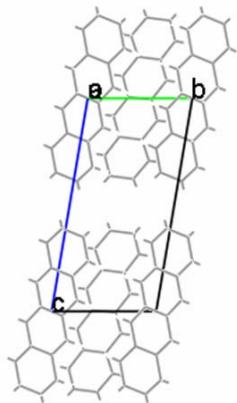
$$a=7,98 \text{ \AA} ; b=6,14 \text{ \AA} ; c=13,57 \text{ \AA}$$

$$\alpha=101,3^\circ ; \beta=113,2^\circ ; \gamma=87,5^\circ$$

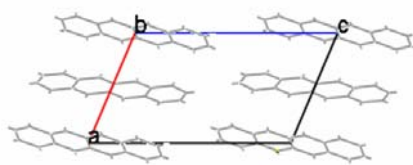
- Volume de la maille élémentaire : $V_{\text{maille}} = 599,2 \text{ \AA}^3$

- Nombre de molécules par maille élémentaire : $n = 2$

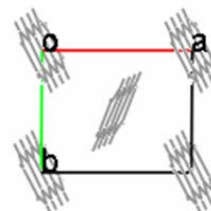
- Projection de la structure selon les 3 axes du réseau cristallin :



perpendiculaire à $\vec{a}$



perpendiculaire à $\vec{b}$



perpendiculaire à $\vec{c}$

BIBLIOGRAPHIE DE L'ANNEXE A

- [1] Bulgarovskaya, I.; Vozzhennikov, V.; Aleksandrov, S.; Belsky, V., "Growth Structure and Optical Properties of Single Crystals of Rubrene", Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis, 4, 53-59, 1983
- [2] Monteath Robertson, J.; Sinclair, V. C.; Trotter, J., "The Crystal and Molecular Structure of Tetracene", Acta Cryst., 14, 697-704, 1961

ANNEXE B :

DETERMINATION DE LA POROSITE PAR ELLIPSOMETRIE COUPLEE A L'ADSORPTION-DESORPTION DE GAZ

3. PRINCIPE DE L'ELLIPSOMETRIE COUPLEE A L'ADSORPTION-DESORPTION DE GAZ

La physisorption isotherme d'un gaz est une technique bien adaptée pour l'étude de la porosité de matériaux micro et mésoporeux. En général, on utilise comme méthode directe la mesure volumétrique de la quantité de gaz adsorbé. Cette méthode est très bien adaptée dans le cas de matériaux massifs et de poudres. Cependant, dans le cas de couches minces, la quantité de matériau déposé est souvent très faible par rapport au substrat, ce qui rend cette mesure directe difficilement applicable à cause des très faibles variations de masse et de volume. De plus, la mesure est faite en utilisant l'azote comme gaz adsorbé. L'analyse est donc faite à très basse température (77,4 K). Pour des matériaux hybrides tels que ceux que nous avons synthétisé, cet abaissement de température peut modifier la structure. L'analyse de la porosité des couches minces doit donc être réalisée en mesurant un autre paramètre que la variation de volume, c'est-à-dire en mesurant localement la variation d'une grandeur physique pouvant être reliée à la porosité. L'ellipsométrie consiste à envoyer un faisceau laser sur un point d'une couche mince et à mesurer la variation de polarisation du faisceau réfléchi, plus précisément on mesure le rapport des réflectances complexes suivant les directions parallèle et perpendiculaire. Ce rapport dépend à la fois de l'indice optique et de l'épaisseur de la couche. En faisant pénétrer un gaz pendant la mesure, l'ellipsométrie permet de suivre à la fois la variation d'indice et la variation d'épaisseur au cours de l'adsorption et de la désorption isotherme de l'adsorbat. Le montage que j'ai utilisé à l'Institut Européen des Membranes (Montpellier), avec l'aide de V. Rouessac, est présenté sur la figure B.1.

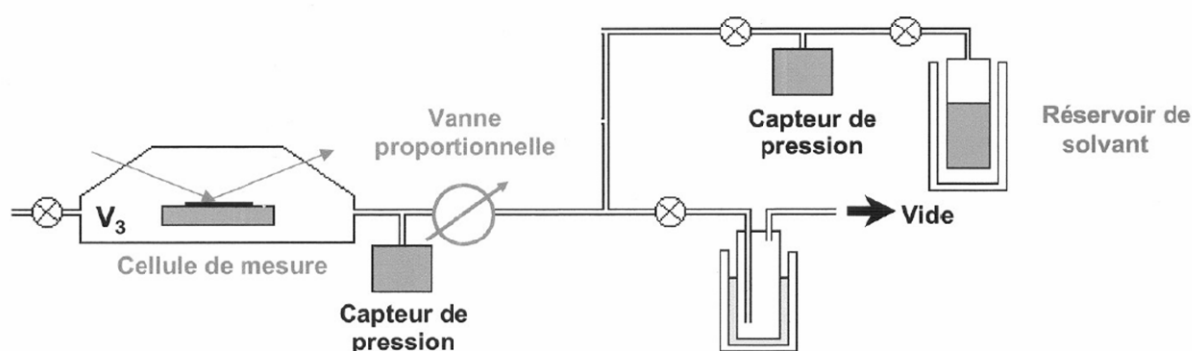


Figure B. 1 : Schéma des cellules et des dispositifs externes pour la mesure de porosité par ellipsométrie couplée à l'adsorption de gaz

L'échantillon est placé dans une cellule de mesure étanche munie de fenêtres transparentes, à travers lesquelles le faisceau laser He-Ne ($\lambda = 633 \text{ nm}$) peut pénétrer et ressortir de la cellule pour la mesure de l'indice optique. La mesure nécessite une couche transparente et un substrat d'indice optique suffisamment différent de celui de la couche, ainsi que suffisamment réfléchissant. Si ce n'est pas le cas, la diffusion du faisceau incident devient trop importante devant la réflexion spéculaire vers le détecteur, ce qui ne permet pas une analyse dans des conditions idéales. C'est pourquoi nous avons déposé les couches sol-gel sur des substrats de silicium utilisés en microélectronique. Deux circuits de gaz peuvent être raccordés sur la cellule de mesure par l'intermédiaire d'une vanne proportionnelle micrométrique :

- un circuit est relié au réservoir de solvant à injecter dans les pores. L'éthanol a été choisi comme adsorbat car c'est un solvant volatil à température ambiante avec une pression de vapeur saturante suffisante (plusieurs dizaines de mbars). De plus, il est peu polaire, ce qui permet de limiter les interactions chimiques avec le squelette pouvant fausser la mesure de l'indice et donc le calcul de porosité

- l'autre circuit conduit à un système de pompage composé d'une pompe à membrane et d'une pompe turbomoléculaire : il permet de faire le vide préalable dans les pores du matériau et d'enregistrer l'isotherme de désorption une fois que les pores ont été remplis totalement par l'éthanol. Avant toute mesure, les échantillons sont également placés à l'étuve à 150°C pendant 1 heure pour éliminer toute trace d'eau dans les pores et de sous-produits des réactions d'hydrolyse-condensation.

4. EQUATION DE LORENTZ-LORENZ

Pour tout matériau poreux, deux types de porosité peuvent être définies : la porosité ouverte, accessible depuis la surface externe de l'échantillon et la porosité fermée, incluse dans la matrice et non accessible par l'adsorbat. Seule la porosité ouverte peut être analysée par adsorption-désorption. L'introduction d'un adsorbat tel que l'éthanol dans la porosité ouverte est reliée à l'indice du matériau par l'équation de Lorentz-Lorenz suivante :

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{V_s}{V_0} \frac{n_s^2 - 1}{n_s^2 + 2} + \frac{V_{eth}}{V_0} \frac{n_{eth}^2 - 1}{n_{eth}^2 + 2} + \frac{V_{vide}}{V_0} \frac{n_{vide}^2 - 1}{n_{vide}^2 + 2} \quad (\text{eq.1})$$

n est l'indice mesuré de la couche

n_{eth} est l'indice de l'éthanol, l'adsorbat que nous avons choisi ($n_{eth} = 1,361$)

n_s est l'indice du squelette

n_{vide} est l'indice du vide, présent dans la porosité fermée

V_{eth} est le volume d'éthanol introduit dans la porosité ouverte

V_s est le volume du squelette

V_{vide} est le volume de porosité fermée

V_0 est le volume total de la couche : $V_0 = V_s + V_{eth} + V_{vide}$

Cependant, les précurseurs sol-gel que nous utilisons contiennent des groupements organiques. La couche sol-gel obtenue est donc relativement souple et peut être sujette à un gonflement non négligeable lors de l'augmentation de la pression partielle de l'adsorbat. On suppose que la variation de volume est exactement représentée par un volume supplémentaire de solvant à l'état liquide (puisque'il n'y a pas dissolution du squelette par le solvant). Il faut aussi tenir compte du fait que l'épaisseur apparente de la couche peut augmenter au cours de l'introduction de l'adsorbat (figure B.2).

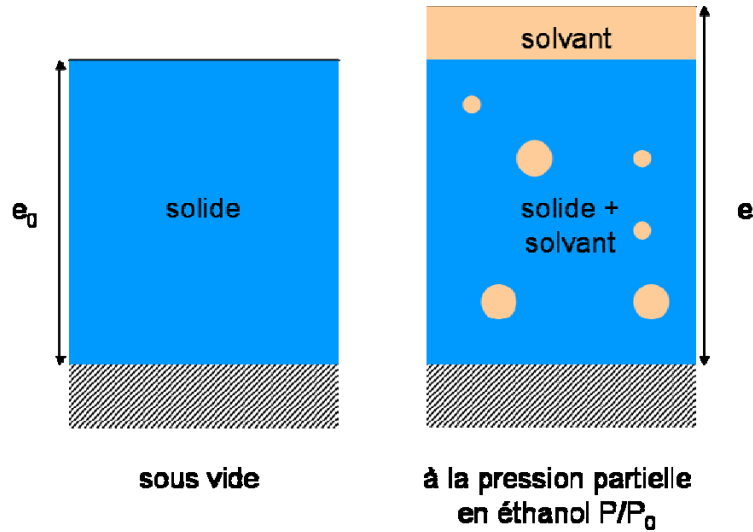


Figure B. 2 : Schéma d'une couche microporeuse à structure souple avec changement de volume lors de la pénétration du solvant

La relation de Lorentz-Lorenz s'écrit donc dans ce cas :

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{V_s}{V_0} \frac{n_s^2 - 1}{n_s^2 + 2} + \frac{V_{eth}}{V_0} \frac{n_{eth}^2 - 1}{n_{eth}^2 + 2} + \frac{e - e_0}{e} \frac{n_{eth}^2 - 1}{n_{eth}^2 + 2} \quad (\text{eq.2})$$

Le problème vient de la détermination de n_s , qui est a priori inconnu. Pour éliminer le terme lié au squelette, on utilise la mesure de l'indice $n_{\min}$ de la couche sous vide. On obtient donc :

$$\frac{n_{\min}^2 - 1}{n_{\min}^2 + 2} = \frac{V_s}{V_0} \frac{n_s^2 - 1}{n_s^2 + 2} \quad (\text{eq.3})$$

L'équation 2 s'écrit alors :

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{n_{\min}^2 - 1}{n_{\min}^2 + 2} + \frac{V_{\text{eth}}}{V_0} \frac{n_{\text{eth}}^2 - 1}{n_{\text{eth}}^2 + 2} + \frac{e - e_0}{e} \frac{n_{\text{eth}}^2 - 1}{n_{\text{eth}}^2 + 2} \quad (\text{eq.4})$$

Cette équation permet d'obtenir la fraction volumique de porosité ouverte, qu'on note V_p . En effet, à saturation en éthanol, le volume de porosité ouverte est égal au volume d'éthanol qui a été adsorbé. Connaissant l'indice optique à saturation $n_{\max}$ et l'épaisseur de la couche à saturation $e_{\max}$, on en déduit la fraction volumique de porosité ouverte :

$$V_p = \frac{V_{\text{eth}}}{V_0} = \frac{n_{\text{eth}}^2 + 2}{n_{\text{eth}}^2 - 1} \left(\frac{n_{\max}^2 - 1}{n_{\max}^2 + 2} - \frac{n_{\min}^2 - 1}{n_{\min}^2 + 2} - \frac{e_{\max} - e_0}{e_{\max}} \frac{n_{\text{eth}}^2 - 1}{n_{\text{eth}}^2 + 2} \right) \quad (\text{eq.5})$$

D'autre part, l'équation de Lorentz-Lorenz, nous permet d'accéder à la distribution de taille de pores par la méthode que nous allons présenter au paragraphe suivant.

5. METHODE MP (« MICROPORE ANALYSIS ») POUR LA DISTRIBUTION DE PORES DE MATERIAUX MICROPOREUX

Mikhail, Brunauer et Bodor [1, 2] ont proposé une méthode d'analyse des micropores qui présente de nombreux avantages : en effet, à partir de l'analyse de l'isotherme d'adsorption expérimentale, il est possible d'obtenir la distribution de taille des pores. Dans le cas de matériaux microporeux, la valeur de la surface spécifique des pores S est reliée au volume d'éthanol absorbé par la relation suivante :

$$V_{\text{eth}} = S * t_s \quad (\text{eq.6})$$

L'épaisseur statistique, notée t_s , est l'épaisseur de la couche multimoléculaire présente à la surface des micropores, elle augmente avec la pression partielle de l'adsorbat. L'évolution de t_s en fonction de la

pression partielle P/P_0 est donnée par des courbes expérimentales [3]. Ainsi, nous pouvons obtenir les valeurs de t_s correspondant aux valeurs de P/P_0 que nous avons mesurées. Le volume d'éthanol adsorbé V_{eth} peut être obtenu par l'isotherme d'adsorption en utilisant l'équation 5.

Si nous représentons V_{eth} en fonction de t_s , on obtient une courbe dont les tangentes successives sont liées à différentes surfaces spécifiques donc à différentes familles de pores (figure B.3).

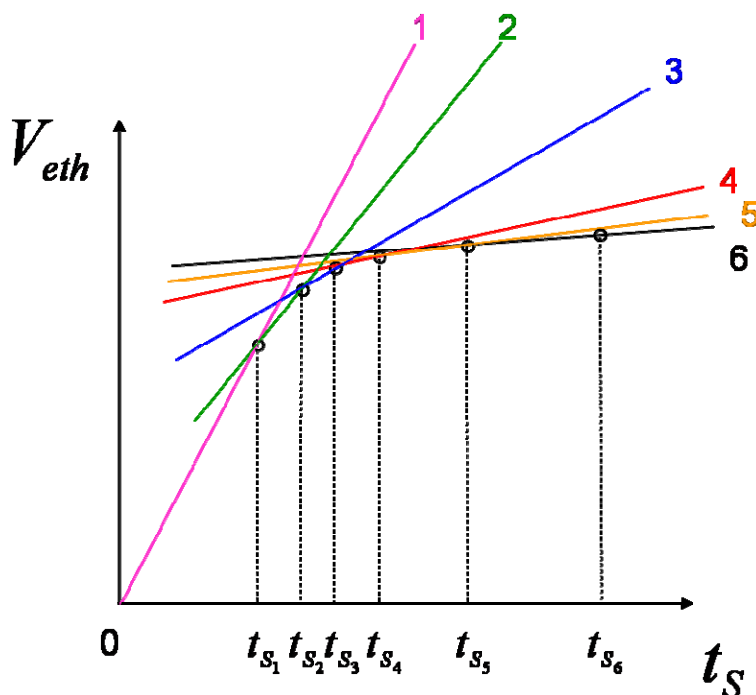


Figure B. 3 : Allure de V_{eth} en fonction de t_s

Nous mesurons donc la pente de chaque tangente, qui est proportionnelle au nombre de pores de la famille correspondante. Pour chaque tangente, on prend également les valeurs extrêmes correspondantes de t_s , ce qui nous donne le rayon hydraulique de cette famille de pores, le rayon hydraulique étant le rapport du volume sur la surface du pore.

Famille de pores	Pente de la tangente	Rayon hydraulique
1	S_1	$\frac{t_{s_1}}{2}$
2	S_2	$\frac{t_{s_1} + t_{s_2}}{2}$
3	S_3	$\frac{t_{s_2} + t_{s_3}}{2}$
4	S_4	$\frac{t_{s_3} + t_{s_4}}{2}$
5	S_5	$\frac{t_{s_4} + t_{s_5}}{2}$
6	S_6	$\frac{t_{s_5} + t_{s_6}}{2}$

Le tracé des pentes en fonction du rayon hydraulique r_h donne accès à la distribution de taille de pores.

On obtient ensuite le diamètre des pores d , selon leur forme.

Forme du pore	d/r_h
Parallélépipède	2
Cylindre	4
Sphère	6

En général, la forme exacte des pores est inconnue et on suppose qu'on a des pores de forme cylindrique. Ici nous avons supposé que nos échantillons peuvent contenir un mélange de pores cylindriques, en forme de « canaux », et de pores sphériques, en forme de « bouteilles », comme schématisé sur la figure B.4.



Figure B. 4 : Schématisation de pores cylindriques et sphériques

BIBLIOGRAPHIE DE L'ANNEXE B

- [1] Mikhail, R. S.; Brunauer, S.; Bodor, E. E., "Investigations of a complete pore structure analysis: I. Analysis of micropores", J. Colloid Interface Sci., **26**, 45-53, 1968
- [2] Lowell, S.; Shields, J. E., *Pore analysis by adsorption, Powder surface area and porosity*, n.e.C.a. Hall, Editor. 1991, Powder Technol. Series. p. 55-86.
- [3] Mikhail, R. S.; Selim, S. A.; Shebl, F., "Investigations on the t-Curves of Organic Molecules as Applied to Porous Solids", Egypt. J. Chem., **19**, 405-415, 1976