



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *l'Université Toulouse III - Paul Sabatier*
Discipline ou spécialité : *Science et Génie des Matériaux*

Présentée et soutenue par
Séverine LECHEVALLIER

Le 29 novembre 2010

SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DE NANOPARTICULES LUMINESCENTES À BASE DE LANTHANIDES : VERS DE NOUVEAUX BIO-MARQUEURS

JURY

Mme. M.J. MENU	Université de Toulouse III	(Présidente)
M. M. WERTS	ENS Cachan	(Rapporteur)
M. S. CORDIER	Université de Rennes I	(Rapporteur)
M. J.P. BOILOT	Ecole Polytechnique, Palaiseau	(Examineur)
M. R. MAHIOU	Université de Clermont-Ferrand II	(Examineur)
Mme J. DEXPERT-GHYS	Chargée de Recherches (CEMES)	(Directrice de thèse)
M. R. MAURICOT	Université de Toulouse III	(Directeur de thèse)
M. M. VERELST	Université de Toulouse III	(Invité)

Ecole doctorale : Science des matériaux
Unité de recherche : CEMES-CNRS, UPR 801
Directeur(s) de Thèse : Dr. Jeannette DEXPERT-GHYS et Dr. Robert MAURICOT

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé pour la plus grande part au Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales (CEMES), au sein du groupe nano-Matériaux. Je remercie M. Jean-Pierre Launay, directeur du CEMES de m'y avoir accueilli.

J'adresse un remerciement tout particulier à Mme Jeannette Dexpert-Ghys et à M. Robert Mauricot, qui m'ont encadrée, formée et soutenue tout au long de ces trois années. Merci de votre confiance, de votre sympathie et de votre disponibilité. Jeannette, merci de m'avoir initiée à la chimie et à la spectroscopie des terres rares. Merci aussi de m'avoir orientée vers l'étude de nanoparticules pour des applications nouvelles et de m'avoir mise en contact avec des équipes de spécialistes dans les différents aspects de ce travail pluri-disciplinaire.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Ms. Martinus Werts, du laboratoire SATIE (ENS Cachan), Rachid Mahiou, directeur du LMI à l'Université Blaise Pascal et Stéphane Cordier, du laboratoire de Chimie du Solide et Matériaux de l'Université de Rennes I, pour avoir accepté la lourde tâche de rapporteur, ainsi que M. Jean-Pierre Boilot, Professeur à l'Ecole Polytechnique de Palaiseau pour m'avoir fait l'honneur de participer au jury.

J'adresse également mes remerciements à M. Marc Verelst (CEMES) pour avoir accepté de participer à ce jury et Mme Marie-Joëlle Menu (CIRIMAT) pour l'avoir présidé. Merci à vous deux pour les nombreux échanges, scientifiques ou non, que nous avons pu avoir, ce fut toujours un réel plaisir. Marijo, je garde de très bons souvenirs de nos voyages communs...

J'ai donc été amenée à collaborer avec des personnes de divers laboratoires, que je tiens à remercier ici. Ms. Denis Hudrisier et Serge Mazères (IPBS), qui m'ont guidée et aidée pour les mesures en cytométrie de flux ("en flux" ? la question reste ouverte) et pour les observations en

microscopie confocale, et dans l'analyse critique des résultats. M. Pierre Lecante (CEMES) m'a permis de réaliser les analyses WAXS, et appris les notions élémentaires de leur interprétation. De même je remercie M. Yannick Coppel du LCC, pour les analyses en RMN du solide, ainsi que Mmes Marie Gressier (CIRIMAT) Catherine Tardin (IPBS) et M. Hervé Dexpert (CEMES), pour les échanges, toujours constructifs que nous avons pu avoir.

Je remercie également M. Sidney Ribeiro, Professeur à l'Université de São Paulo, Responsable du Laboratoire des Matériaux Photoniques à Araraquara (UNESP), pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire durant dix semaines, et M. Peter Hammer pour les analyses XPS et leur interprétation. Merci également à M. Mauricio Caiut pour son organisation, son aide, son soutien et ses traductions, lors de ce voyage, ainsi que pour les discussions scientifiques, toujours productives que nous avons eues. Merci aussi de m'avoir fait découvrir le Brésil. Les magnifiques souvenirs que je garde du Brésil sont aussi dûs aux personnes rencontrées là-bas : Day, Pri, Armenia et Valeria (mes colloc'), Danilo, E.T., Yannick, Lucas, Janaïna, Tamara, Anne, Silvana et les autres..., obrigada a todos

Mes remerciements s'adressent aussi à Ms. Peter Tanner et Michael Lam, Professeurs à la City University de Hong-Kong qui m'ont permis d'effectuer un séjour d'un mois et de profiter des infrastructures du département Chemistry and Biology. Merci tout particulièrement à M. Ka-Leung Wong (Gary) de la Baptist University, sans qui le séjour à Hong-Kong aurait été beaucoup plus compliqué et moins productif. Merci également à Ho-Man Yu, thésard à la City-U, qui a réalisé l'internalisation dans les cellules et les observations en microscopie confocale.

Je ne saurais oublier les membres du CEMES, pour leur sympathie, leur aide et pour l'attention qu'ils m'ont portée, je pense notamment à David Neumeyer, pour les analyses BET et ATG et pour son aide dans mes problèmes de "bricolage". Merci également aux membres des divers services que j'ai mis à contribution : le service de microscopie électronique, de spectroscopie et de rayons X, le service méca et le service info.

Merci également aux membres de Pylote, avec qui j'ai partagé le labo durant deux ans, et qui ont contribué à rendre l'ambiance de travail très agréable : David, Sandra, Christophe, Sylvain, Médhi et Loïc.

Enfin, je garde les meilleurs pour la fin et je ne pourrai terminer sans remercier les docs, post-docs et assimilés, avec qui j'ai partagé un verre (ou plusieurs...), une soirée (ou plusieurs...), une partie de cartes (ou plusieurs...) ou un week-end (ou plusieurs...) pour leur sympathie, leur gentillesse, ou tout simplement leur amitié, et sans qui ces trois années n'auraient pas été si agréables. Merci aux anciens : PEC, Flo, Nico, Dodo (et Marion), Rwanito (et Jess), Rémi (et ses étoiles...), Tata Gawëlle, Olivier (Ministro), Yoanna, HP, Lucas et Janaina (Obrigada) et aux nouveaux : Robiño (un jour on te convertira...), Jeanga (qui a toujours l'astuce...), Marion, Gauthier (malgré tout je t'aime bien) et Guru. Une mention spéciale pour Houria, avec qui j'ai partagé beaucoup de kilomètres et sans qui les débuts à Toulouse auraient été beaucoup plus difficiles, et So, pour son soutien constant dans les bons comme les mauvais moments.

Merci aussi aux judokas avec qui j'ai partagé quelques combats (et quelques verres), aux amis (Cédric, Sandrine, Anne, Vincent R., Vincent S., Audrey, Lo, Sandra), à ma famille et à tous ceux que j'oublie et qui m'ont soutenue et épaulée pendant ces trois années.

Table des matières

Introduction	1
I Les bio-marqueurs luminescents : état de l'art	5
I.1 <u>Les différents types de marqueurs luminescents</u>	7
I.1.1 Les quantum dots	7
I.1.2 Les nanoparticules à base de colorants organiques	9
I.1.3 Nanoparticules à base de lanthanides	12
I.2 <u>La bio-fonctionnalisation</u>	19
I.2.1 Principe	20
I.2.2 Les approches non covalentes	20
I.2.3 Les approches covalentes	22
I.2.4 D'autres paramètres	23
I.3 <u>Les voies retenues dans ce travail</u>	24
I.3.1 Nanoparticules inorganiques de lanthanides	24
I.3.2 Modification de surface par des alcoxysilanes	25
I.3.3 Techniques de mesure de la photoluminescence	26
II Aspects fondamentaux de la luminescence des lanthanides	29
II.1 <u>Les terres rares</u>	30
II.2 <u>Propriétés optiques des lanthanides</u>	31
II.2.1 Introduction	31
II.2.2 Niveaux électroniques dans $4f^n$	32
II.2.3 Transitions entre niveaux : règles de sélection	35
II.2.4 Transitions entre niveaux : probabilités de transition	35
II.3 <u>L'euporium</u>	37

II.3.1	Niveaux électroniques dans $4f^6$	37
II.3.2	Nature et force des transitions dans $\text{Eu}^{3+} (4f^6)$	40
II.3.3	Comment exciter la luminescence de Eu^{3+}	45
II.3.4	Désexcitations non radiatives	46
II.3.5	Efficacités	47
III Synthèse et caractérisation des particules		49
III.1	<u>Introduction</u>	51
III.2	<u>Préparation des nanoparticules de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd)</u>	53
III.2.1	Synthèse par précipitation contrôlée	53
III.2.2	Cinétique de réaction	54
III.3	<u>Synthèse et caractérisation des nanoparticules de</u>	
	<u>$\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd)</u>	70
III.3.1	Structure cristalline des sesquioxydes de terres rares	70
III.3.2	Synthèse à partir des hydroxycarbonates	71
III.3.3	Caractérisations	72
III.4	<u>Synthèse et caractérisation des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd)</u>	77
III.4.1	Structure cristalline des oxysulfures de lanthanides	78
III.4.2	La sulfuration	78
III.4.3	Caractérisations des NPs obtenues	81
III.5	<u>Synthèse et caractérisation des NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$</u>	85
III.5.1	Synthèse par spray pyrolyse	86
III.5.2	Caractérisation des NPs obtenues	88
III.6	<u>Efficacités de luminescence</u>	91
III.7	<u>Bilan</u>	95
IV Modification chimique des NPs avec l'APTES		97
IV.1	<u>Bio-conjugaison des NPs avec l'APTES</u>	99
IV.1.1	Aspects bibliographiques	99
IV.1.2	Aspects expérimentaux	100
IV.2	<u>Modification des NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$</u>	103
IV.2.1	Détermination des taux de greffages	103
IV.2.2	Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane	108

IV.2.3	Spectroscopie IR	111
IV.2.4	Spectroscopie RMN	113
IV.2.5	Spectroscopie XPS	116
IV.2.6	Potentiel zéta	120
IV.2.7	Luminescence	121
IV.3	<u>Modification des NPs de Gd₂O₃ :Eu³⁺ et Gd₂O₂S :Eu³⁺</u>	123
IV.3.1	Détermination des taux de greffage	123
IV.3.2	Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane	126
IV.3.3	Spectroscopie IR	128
IV.3.4	Potentiel zéta	131
IV.3.5	Luminescence	131
IV.4	<u>Modification des NPs encapsulées dans une couche de silice</u>	134
IV.4.1	Encapsulation des NPs de Gd ₂ O ₃	134
IV.4.2	Modification des NPs avec l'APTES	136
IV.5	<u>Efficacités de luminescence</u>	143
IV.6	<u>Détermination du taux d'amines accessibles</u>	145
IV.6.1	Principe	146
IV.6.2	Réaction de couplage du FITC	148
IV.6.3	Caractérisations	149
IV.6.4	Résultats	149
IV.7	<u>Bilan</u>	152
V	Vers de nouveaux bio-marqueurs	155
V.1	<u>Mise en suspension des particules</u>	156
V.2	<u>Observation des NPs par microscopie de fluorescence et microscopie confocale</u>	157
V.2.1	Microscopie de fluorescence	158
V.2.2	Microscopie confocale	159
V.3	<u>Internalisation des NPs dans les cellules</u>	160
V.3.1	Protocole expérimental	161
V.3.2	Observation des particules au microscope confocal	161
V.4	<u>Cytométrie en flux</u>	162
V.5	<u>Bilan</u>	165

Conclusion	169
A Caractéristiques des particules	173
B Techniques de caractérisation	175
B.1 <u>Microscopie électronique en transmission</u>	175
B.2 <u>Diffraction des rayons X</u>	176
B.3 <u>WAXS</u>	177
B.3.1 Principe de la technique	177
B.4 <u>XPS</u>	179
B.5 <u>Détermination de la surface spécifique d'un solide : mesure BET</u>	180
B.6 <u>Potentiel zéta et diffusion de la lumière</u>	181
B.7 <u>Analyse thermogravimétrique et élémentaire</u>	183
B.8 <u>Spectroscopie infrarouge</u>	184
B.9 <u>Résonance magnétique nucléaire du solide</u>	184
B.10 <u>Luminescence</u>	186
B.10.1 Appareil micro-raman	186
B.10.2 Spectrophotomètre	186
B.11 <u>Microscopie de fluorescence</u>	187
B.11.1 Microscopie de fluorescence en champ large	187
B.11.2 Microscopie confocale des particules	188
B.11.3 Microscopie confocale des cellules	189
B.12 Cytométrie en flux	189
C Protocoles expérimentaux	193
C.1 Synthèse des NPs de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{Eu}^{3+}$	193
C.1.1 <i>Principe</i>	193
C.1.2 <i>Mode opératoire</i>	193
C.2 Synthèse des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$	194
C.3 Synthèse des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$	194
C.4 Synthèse des NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ par spray pyrolyse	194
C.5 Modification des NPs avec l'APTES	195
C.6 Dosage du taux d'amines accessibles	195
C.7 Internalisation des NPs dans les cellules	196

Introduction

Selon l'agence européenne pour l'évaluation des médicaments, "un bio-marqueur est une caractéristique biologique mesurable, liée à un processus normal ou non. En écologie, un bio-marqueur permettra alors de détecter la présence de polluants dans l'environnement et l'impact de certaines pratiques. Dans le domaine médical, un bio-marqueur pourra être utilisé pour le dépistage, le diagnostic, le traitement médical ou encore l'étude de la toxicité d'une molécule. De nombreux composés inorganiques sont utilisés en chimie bio-médicale comme agents de diagnostic, mais aussi comme agents thérapeutiques. On connaît par exemple les isotopes radioactifs qui permettent des explorations fonctionnelles in-vivo (scintigraphie), ainsi que des diagnostics in-vitro (dosages radioimmunologiques).

De nouveaux systèmes de détection non isotopiques ont également été développés pour une utilisation en biologie, comme les fluorophores organiques (fluorescéine, rhodamine, GFP). Ces composés sont maintenant utilisés en routine et sont vendus commercialement sous forme de kits. La détection de ces molécules est généralement réalisée par des techniques de microscopie telles que la microscopie confocale. Si la sensibilité de ces techniques est suffisante pour de nombreuses utilisations en imagerie biologique, l'autofluorescence des milieux biologiques crée un bruit de fond qui peut perturber la mesure du signal. Une voie permettant de parer à cette limitation, et s'affranchir de l'auto-fluorescence du milieu biologique, consiste à réaliser des mesures de luminescence en temps résolu, c'est à dire avec un décalage temporel par rapport à l'excitation. Cette technique nécessite d'utiliser des matériaux dont la durée de vie est

suffisamment longue pour permettre de mesurer l'émission lumineuse après extinction de la luminescence du milieu biologique. Les matériaux à base de lanthanide paraissent alors être des candidats de choix pour ce type de mesures. Toutefois, afin que ces matériaux remplissent leur fonction de bio-marqueurs destinés à des applications médicales une modification de leur surface est nécessaire. De plus, pour faciliter l'interaction de ces matériaux avec les entités biologiques, il faudra également adapter leur taille, afin qu'elle soit sub-micrométrique, voir nanométrique.

Cependant, quand la taille diminue, la matière adopte de nouveaux comportements physico-chimiques qui sortent des modèles classiques du monde macroscopique, et confèrent au matériaux des propriétés exceptionnelles. Un abaissement du point de fusion, une dureté exceptionnelle, ou encore des propriétés magnétiques, catalytiques et optiques originales sont couramment observées. Deux raisons peuvent expliquer ces phénomènes : la diminution de la taille des entités en deçà de la grandeur caractéristique des phénomènes physiques impliqués et l'augmentation de la contribution des atomes de surface aux propriétés du matériau. Dans les cas que nous étudierons, c'est la deuxième raison qu'il faudra considérer.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse, dont le but final était la mise au point de NPs luminescentes utilisables comme bio-marqueurs. Ce travail se situant à l'interface de plusieurs domaines scientifiques, j'ai été amenée à collaborer avec des équipes variées. Parmi ces collaborations j'ai notamment pu participer au programme franco-brésilien CAPES/COFECUB qui m'a permis de séjourner deux mois au sein du Laboratoire des Matériaux Photoniques d'Araraquara (UNESP, Saõ Paulo), spécialisé dans le domaine de la luminescence, mais également dans celui des matériaux colloïdaux. Lors de ce séjour, j'ai ainsi pu bénéficier de leur connaissance dans le domaine de la chimie de surface et d'outils de caractérisation tels que le XPS. Ce travail étant également très orienté sur les applications biologiques des nanoparticules, j'ai aussi été amenée à collaborer avec les équipes du Laboratoire de Chimie de Coordination et de l'Institut de Physique et Biologie Structurale de Toulouse. J'ai également pu réaliser des expériences d'internalisation des nanoparticules dans des cellules et leur observation en microscopie confocale lors d'un séjour d'un mois dans le Département de Biology and Chemistry à Hong-Kong. Ce séjour a été organisé grâce au PHC-PROCORE et a été soutenu par la Baptist University de Hong-Kong et par l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Le chapitre I de ce manuscrit sera consacré à la présentation des différents types de bio-marqueurs existants, les avantages et les inconvénients de chacun seront exposés et les raisons nous ayant conduit à nous fixer sur les NPs tout inorganiques à base de lanthanides seront détaillées. Dans la deuxième partie de ce chapitre, les différentes méthodes de modification rencontrées dans la littérature seront présentées, et une large part sera faite aux modifications par les alcoxy-silanes, voie que nous avons retenue.

Dans le chapitre II, les aspects fondamentaux de la luminescence des terres rares seront rappelés, et le cas particulier de l'euporium sera étudié plus en détail.

Le chapitre III de ce manuscrit présentera les différents matériaux luminescents utilisés : la synthèse de chacun sera expliquée et les différentes NPs seront caractérisées d'un point de vue chimique, morphologique et structural. Leurs propriétés optiques seront également détaillées.

Le chapitre IV de ce manuscrit sera consacré à la modification chimique des différentes nanoparticules, les protocoles expérimentaux, ainsi que les caractérisations seront étudiées.

Enfin, dans un dernier chapitre, les résultats des tests d'utilisation de ces nanoparticules en tant que bio-marqueurs seront présentés.

Pour finir, le bilan de ce travail sera fait, afin de définir les nouvelles orientations à donner pour développer les résultats de cette étude.

CHAPITRE I

LES BIO-MARQUEURS LUMINESCENTS : ÉTAT DE L'ART

Contents

I.1	<u>Les différents types de marqueurs luminescents</u>	7
I.1.1	Les quantum dots	7
I.1.2	Les nanoparticules à base de colorants organiques	9
I.1.3	Nanoparticules à base de lanthanides	12
I.1.3.1	<i>NPs à base de complexe de lanthanide</i>	13
I.1.3.2	NPs tout inorganiques	16
I.2	<u>La bio-fonctionnalisation</u>	19
I.2.1	Principe	20
I.2.2	Les approches non covalentes	20
I.2.3	Les approches covalentes	22
I.2.4	D'autres paramètres	23
I.3	<u>Les voies retenues dans ce travail</u>	24
I.3.1	Nanoparticules inorganiques de lanthanides	24
I.3.2	Modification de surface par des alcoxysilanes	25
I.3.3	Techniques de mesure de la photoluminescence	26
I.3.3.1	<i>Principe des expériences de spectroscopie de photoluminescence</i>	26
I.3.3.2	<i>Les différents moyens de mesurer la luminescence</i>	27

La luminescence ou émission spontanée de photons dont la longueur d'onde (λ) se situe dans le domaine $\lambda = 200$ à 1200 nm, est associée à une transition électronique entre deux états dont la différence d'énergie correspond au domaine considéré : UV, visible, proche IR.

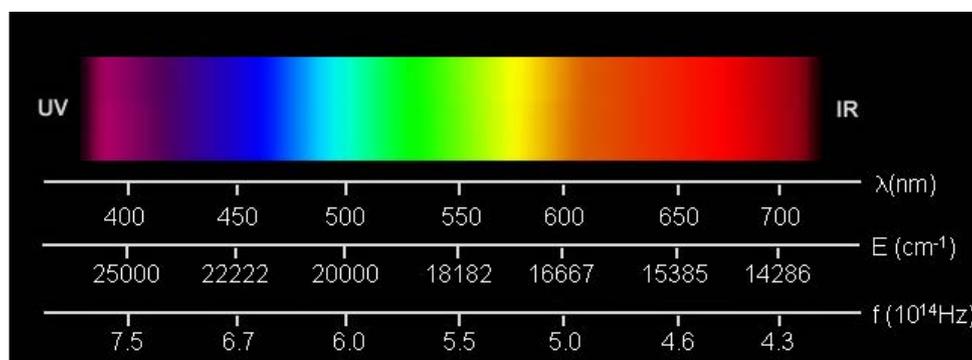


FIGURE I.1 – Spectre de la lumière visible

Les modèles qui permettent de représenter la structure électronique des centres luminescents sont spécifiques des matériaux considérés. Nous nous intéresserons ici à la photoluminescence (PL), c'est à dire à l'émission de lumière après excitation par des photons optiques. Le plus souvent les photons excitateurs sont plus énergétiques que les photons émis : on parle alors de "down-conversion". Si au contraire, les photons émis sont plus énergétiques, il s'agit "d'up-conversion". Le bilan énergétique global sera alors équilibré soit par l'absorption de plusieurs photons simultanément par le même centre luminescent, soit par le transfert d'énergie non radiatif depuis un ou plusieurs centres excités vers le centre émetteur.

Concernant les applications en recherche biologique, on tente de développer des sondes luminescentes pour l'imagerie médicale, pour des dosages biologiques (bio-assays) ou pour des capteurs biologiques (bio-sensors). Parmi la très abondante littérature concernant ce domaine, nous présentons successivement dans ce chapitre les principaux types de nanoparticules lumi-

nescentes utilisées comme marqueurs en biologie, comment elles peuvent être fonctionnalisées pour cette application et les voies que nous avons choisies d'approfondir dans notre étude.

I.1 Les différents types de marqueurs luminescents

Les marqueurs luminescents utilisés dans le domaine bio-médical peuvent être divisés en plusieurs catégories : les nanoparticules métalliques, les quantum dots (QDs), les colorants organiques et les marqueurs à base de lanthanides. Pour chacune de ces catégories les processus responsables des phénomènes de luminescence sont différents. Ainsi dans les nanoparticules métalliques, c'est l'interaction du champ électromagnétique avec les plasmons de surface (oscillations collectives d'électrons de surface liés) qui est responsable de la réponse optique. Ces processus physiques sont toutefois très éloignés de ceux que nous considérerons par la suite, et nous ne les décrirons donc pas plus en détail. Nous noterons cependant que les nanoparticules métalliques (Au en particulier) ont trouvé de nombreuses applications dans le marquage d'espèces biologiques, y compris par leur luminescence. Pour les QDs les phénomènes de luminescence sont dûs à des transitions entre la bande de valence et la bande de conduction, alors que dans les colorants organiques ce sont des transitions entre états moléculaires (singulets et/ou triplets) qui vont provoquer l'émission de lumière. Enfin dans les lanthanides (Ln), ce sont des transitions entre niveaux électroniques localisés de l'ion Ln^{3+} qui sont responsables de la luminescence.

I.1.1 Les quantum dots

Les quantum dots sont des nanocristaux métalliques ou semi-conducteurs constitués par l'association d'éléments des colonnes 12-16, 14-15, 14-16. En raison de leur petite taille, typiquement entre 1 et 10 nm, les QDs présentent des propriétés particulières et suscitent un grand intérêt depuis une quarantaine d'années. En effet, sous excitation lumineuse dans l'UV, ces nanocristaux ré-émettent des photons dans le spectre visible, avec une longueur d'onde qui va du rouge au bleu quand leur taille diminue. Dans les semi-conducteurs la structure électronique est représentée par des bandes énergétiques. Considérant une échelle en énergie, la bande complètement remplie la plus haute est appelée bande de valence, alors que la bande d'énergie permise immédiatement supérieure est appelée bande de conduction. Ces deux bandes

sont séparées par une bande interdite ou gap (Figure I.2). La PL dans les semi-conducteurs provient du passage des électrons de la bande de valence vers la bande de conduction avec le franchissement du gap sous l'impulsion d'une excitation, et de leur retour à l'état fondamental avec ré-émission de photons lumineux dont l'énergie, donc la longueur d'onde, dépend de la largeur du gap. Suivant ce schéma simplifié, l'absorption d'un électron provoque la création d'un trou dans la bande de valence (BV), et un électron libre se retrouve dans la bande de conduction (BC). Cependant, l'émission due à la recombinaison électron libre-trou est exceptionnelle et les émissions observées sont dues à des recombinaisons près des défauts cristallins. Dans le cas des QDs, la taille des nanocristaux est si petite que la description en bandes n'est plus valide, et il faut alors considérer des niveaux discrets : c'est le confinement quantique (Figure I.2).

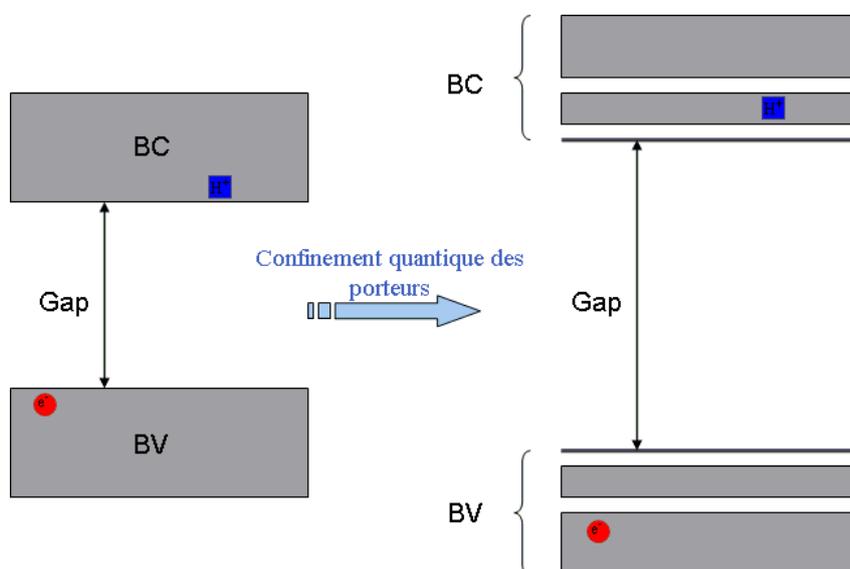


FIGURE I.2 – Schéma représentant les bandes énergétiques dans les QDs et le phénomène de confinement quantique

La longueur d'onde des photons émis dépend de la taille du cristal : plus il est petit, plus le gap est grand et plus la longueur d'onde est courte. Les QDs présentent un bon rendement de luminescence et une bande d'absorption large, ce qui rend leur excitation facile. Les plus utilisés sont à base de cadmium (CdSe, CdS, CdTe), ou de zinc (ZnSe, ZnS) car leur plage d'émission spectrale englobe tout le domaine visible du spectre optique. Plus récemment, un grand intérêt a été porté à des QDs possédant des propriétés d'émission dans le proche infrarouge, tels que CdTe/CdSe, InAs ou PbS, qui ont été utilisés pour de l'imagerie animale.

Les premiers travaux reportant le marquage biologique par des QDs ont été réalisés par Brüchez Jr. et al. [1] qui ont utilisé des nanocristaux rouges coeur/coquille de CdSe/CdS de 4 nm pour marquer spécifiquement des fibres F-actine, démontrant ainsi que les QDs peuvent être utilisés pour le marquage de protéines, tout en conservant une activité enzymatique. De telles propriétés ont également été mises en évidence par Sukhanova et al. [2] qui reportent la synthèse de nanocristaux coeur/coquille de CdSe/ZnS, leur solubilisation et stabilisation en milieu aqueux, leur utilisation en tant que marqueur immunologique de la p-glycoprotéine exprimée à la surface de cellules cancéreuses mammaires, et leur détection par fluorescence et microscopie confocale 3D. En outre, Jamiesen et al. [3] ont répertorié un grand nombre d'applications possibles pour les QDs, parmi lesquelles leur utilisation en tant que donneurs pour les analyses FRET (Fröster Resonance Energy Transfer). Cette technique d'analyse est généralement utilisée pour mesurer des distances, permettant ainsi de visualiser des changements conformationnels de protéines, leur interaction, ainsi que de déterminer l'activité enzymatique. Ces auteurs reportent également l'utilisation de QDs conjugués à des séquences de nucléotides (liés via des groupes acide carboxylique) afin de cibler les brins d'ADN ou d'ARN-m. D'autres exemples d'applications parmi lesquelles la détection d'agents pathogènes [4], et de toxines [5], l'imagerie animale in-vivo et l'investigation de tumeurs sont également reportées [6].

I.1.2 Les nanoparticules à base de colorants organiques

Ce deuxième type de marqueurs luminescents est constitué de molécules organiques, telles que la fluorescéine isothiocyanate (FITC), la rhodamine ou encore la cyanine, qui sont employées couramment en biologie. Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie, les électrons sont excités vers des niveaux énergétiques supérieurs décrits comme des niveaux électroniques associés à des sous-niveaux vibrationnels et rotationnels. On distingue deux types d'émission : la fluorescence entre niveaux singulets $S_1 \rightarrow S_0$, et la phosphorescence qui a lieu à partir d'un état triplet $T_1 \rightarrow S_0$ (Figure I.3). Elles se distinguent par des probabilités de transition (W en s^{-1}) très différentes. Entre états singulets ($S_1 \rightarrow S_0$) la transition est permise suivant la règle de sélection imposée par la mécanique quantique ($\Delta S = 0$). La probabilité $W_{T_1 \rightarrow S_0}$ est très élevée et le déclin de l'émission observé après avoir arrêté l'excitation aura lieu sur quelques ns (10^{-9} s). Au contraire, la transition $T_1 \rightarrow S_0$ est interdite par la règle en ΔS , sa probabilité $W_{S_1 \rightarrow S_0}$ est faible, et on observera le déclin de l'émission sur une plage de temps variant de la

ms à la sec. La transition permise $S_1 \rightarrow S_0$ est de ce fait beaucoup plus intense. Les marqueurs organiques sont très largement utilisés. Leurs principales limitations proviennent de leur faible photostabilité et du fait que leur luminescence propre est très voisine de l'autofluorescence du milieu biologique : mêmes émissions en bandes larges dans le visible, mêmes probabilités de déclin de quelques nano-secondes.

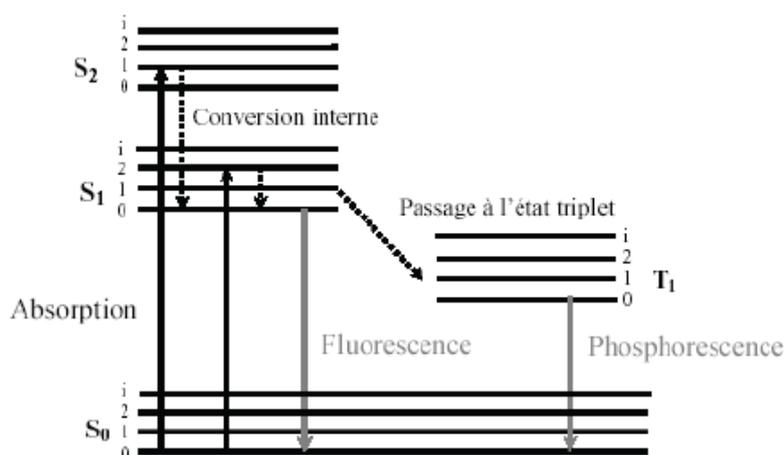


FIGURE I.3 – Schéma représentant les niveaux énergétiques des états singulets et triplets

D'autre part, seul un nombre restreint de molécules de fluorophores peut être attaché à la bio-molécule, sans interférer avec celle-ci. Pour augmenter le nombre de centres luminescents attachés sur ces molécules on cherche à les concentrer en les associant à des particules de polymères ou de silice. Les colorants sont alors greffés à la surface de la nanoparticule [7] ou bien incorporés à l'intérieur de cette dernière [8].

Le caractère hydrophobe des NPs de polymère et des colorants est une limitation à leur utilisation en tant que bio-marqueurs, puisque cette application nécessite un environnement aqueux. Il faudra alors passer par une étape de modification de ces particules comme on le verra dans la suite de ce chapitre. D'une manière générale les NPs de polymères incorporant un colorant organique seront notées : colorant@polymère.

Les NPs de silice, quant-à-elles sont hydrophiles, ce qui va faciliter leur utilisation en milieu biologique. Ce type de particules présente également d'autres avantages pour des applications en imagerie, tels que l'inertie chimique et la transparence optique. Il existe deux méthodes principales pour synthétiser des NPs de silice contenant un colorant organique (colorant@silice) :

- La première utilise la méthode Stöber, très souvent employée pour produire des NPs de silice. Cette méthode est basée sur l'hydrolyse et la condensation d'un précurseur de silice (souvent le tétraéthoxysilane ou TEOS) dans l'éthanol en présence d'eau et d'ammoniaque qui joue le rôle de catalyseur (Figure I.4). Dans ce protocole, le colorant est incorporé aux précurseurs de silice et peut être soit réparti uniformément au sein de la particule, soit concentré de façon à obtenir une structure core/shell, comprenant un coeur riche en fluorophore, protégé par une croûte de silice.

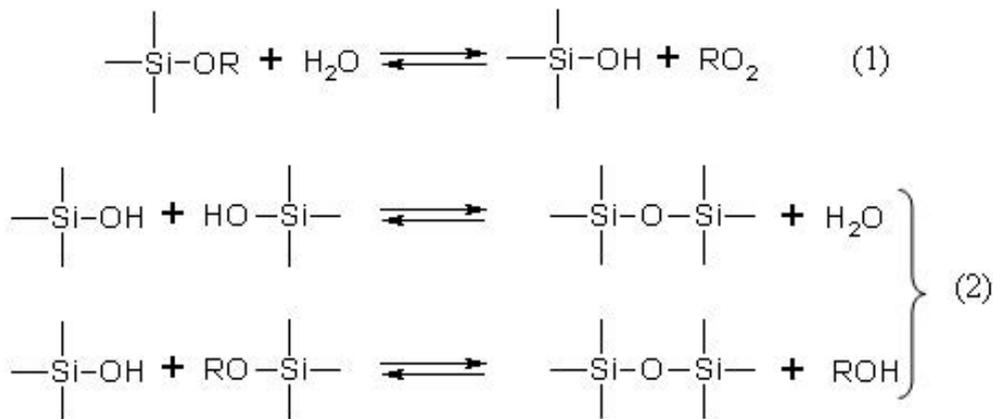


FIGURE I.4 – Equation-bilan des réactions d'hydrolyse (1) et de condensation (2) d'un alkoxy-silane

- La deuxième est basée sur une méthode de microémulsion inverse. Dans ce système, des gouttelettes d'un liquide contenant les précurseurs sont dispersées dans un second liquide, les deux liquides, en général une phase aqueuse et une phase organique (appelée huile) étant très peu miscibles, voire pas du tout. Dans chaque gouttelette, servant alors de micro-réacteur, il y aura hydrolyse et condensation des précurseurs et formation de particules de silice incorporant le colorant. La Figure I.5 représente les différentes étapes qui interviennent dans la formation des NPs de silice incorporant un colorant par la méthode des micelles inverses.

Les particules de silice ainsi produites possèdent donc de nombreux avantages comparées aux colorants organiques libres : une intensité de fluorescence élevée, une bonne photostabilité due à l'exclusion de l'oxygène lors de l'encapsulation, et des propriétés de surface rendant l'interaction avec de nombreuses bio-molécules relativement aisée.

Zhao et al. [9] décrivent l'encapsulation de fluorophores organiques dans une matrice de

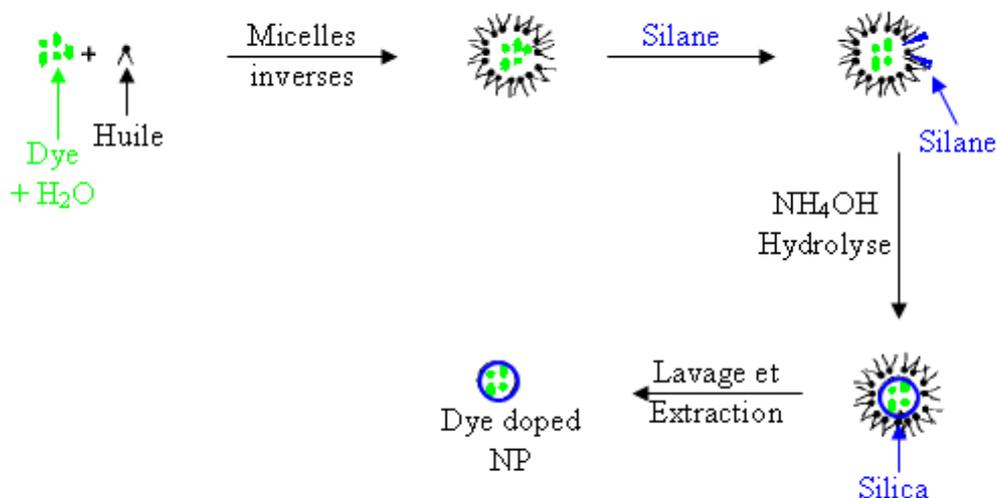


FIGURE I.5 – Représentation schématique de la méthode de synthèse de “Dye doped NPs” par la méthode des micelles inverses

silice, et l'utilisation des NPS ainsi produites pour la détection et le dosage de très faibles concentrations d'ADN. Un deuxième exemple est donné par Bele et al. [7] qui ont utilisé des NPs de silice fluorescentes, préparées par enrobage de NPs de silice par une seconde couche de silice contenant de la rhodamine 6G ou de l'acridine orange pour des analyses par cytométrie de flux. De manière similaire, Santra et al.[8] reportent la synthèse de NPs de silice incorporant un complexe métallique, (Rubipy¹) comme luminophore, et leur utilisation en tant que marqueurs immunologiques permettant de cibler des protéines de cellules leucémiques ou de bactéries.

I.1.3 Nanoparticules à base de lanthanides

Cette troisième catégorie de biomarqueurs est basée sur l'utilisation de lanthanides (Ln) comme centre luminescent. Les ions lanthanide occupent une place prépondérante parmi les luminophores employés en chimie du solide et dans les très nombreuses applications qui en découlent. Il est donc normal de chercher à les utiliser également pour le marquage biologique. Nous pouvons les séparer en deux catégories : les biomarqueurs à base de complexes de lanthanide et marqueurs tout inorganiques .

1. Rubipy = chlorure de (2,2'-bipyridylruthenium(II))

I.1.3.1 NPs à base de complexe de lanthanide

Si les lanthanides présentent des propriétés intrinsèques d'émission très intéressantes pour une utilisation comme bio-marqueurs, les propriétés d'absorption de ces éléments ne sont pas aussi favorables puisque les bandes d'absorption des lanthanides dans le visible sont de faible efficacité. Dans certains complexes organiques de lanthanides, au contraire, une intense émission de l'ion Ln^{3+} peut être obtenue via l'effet d'antenne. Ces complexes allient alors les avantages des molécules organiques (larges bandes d'absorption) et ceux des lanthanides (raies d'émission fines dans le visible, avec une durée de vie d'émission qui peut aller jusqu'à plusieurs dizaines de ms). Ces chromophores ont la propriété de collecter l'énergie excitatrice située dans le domaine des longueurs d'onde du visible et la transférer sur le cation lanthanide. En compétition avec la désexcitation radiative $T_1 \rightarrow S_0$, il y a, dans certaines conditions, transfert d'énergie non radiatif depuis T_1 vers des niveaux électroniques de l'ion Ln^{3+} , comme c'est souvent le cas dans Eu^{3+} ou Tb^{3+} , suivi par la désexcitation radiative de cet ion qui est responsable de l'émission (Figure I.6).

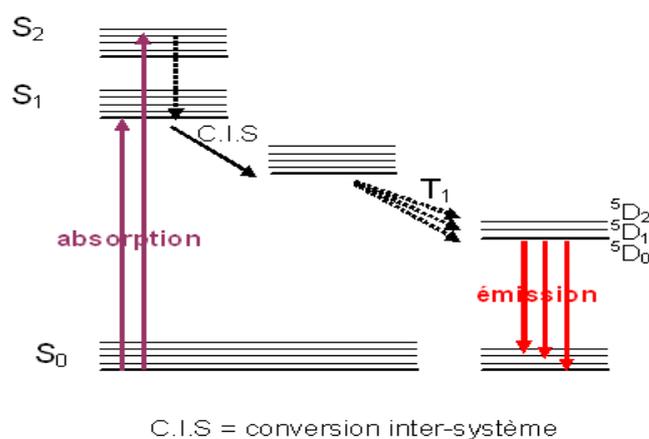


FIGURE I.6 – Schéma représentant l'effet d'antenne (CIS = conversion inter-système)

Dans un article de revue récent [10], J.C. Bunzli répertorie de nombreuses applications dans le domaine bio-médical des sondes luminescentes à base de lanthanides. La grande majorité des exemples repose sur des complexes très fortement luminescents obtenus par le choix approprié de couples ligands- Ln^{3+} . Il faut en effet que les niveaux électroniques du ligand et de l'ion émetteur soient situés à des énergies qui rendent le transfert d'énergie antenne $\rightarrow \text{Ln}^{3+}$ le plus efficace possible par comparaison avec les processus concurrents : émissions radiatives par le ligand, transfert en retour ion \rightarrow ligand, désexcitations non radiatives.

Comme il est bien mentionné dans la Ref. [10], de plus en plus de bio-analyses nécessitent le ciblage spécifique de l'espèce à analyser, donc la sonde [complexe de Ln^{3+}] doit être modifiée afin de la coupler à la cible biologique. Le capteur luminescent, c'est à dire le complexe de Ln^{3+} convenablement fonctionnalisé, va ensuite être utilisé dans des tests immunologiques suivant des procédures de bio-chimie complexes, dont certaines sont suffisamment bien contrôlées pour être effectivement utilisées en routine dans les laboratoires d'analyse. On peut citer en particulier le procédé *DELFLIA* [11] appliqué en routine pour la détection d'antigènes, de stéroïdes ou d'hormones. Expérimentalement, en ce qui concerne la photo-physique, les mesures sont réalisées sur des solutions, en cuves ou en micro-puits. Typiquement, pour ces mesures, la longueur d'onde d'excitation est située entre 300 et 400 dans le chromophore, la longueur d'onde d'émission étant fixée à 620 nm (Eu^{3+}) ou 540 nm (Tb^{3+}), pour les cas les plus courants, et la mesure est effectuée en temps retardé. L'excitation est pulsée à la fréquence de $10\text{-}100\text{ s}^{-1}$ et le signal émis est mesuré sur quelques 10^{-5} s après arrêt de l'excitation. On regroupe ces tests sous le sigle TR-FIA pour Time Resolved FluoroImmunoAssay I.7.

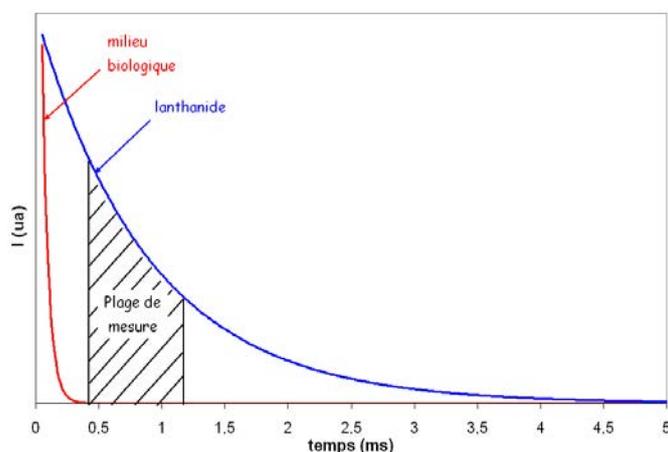


FIGURE I.7 – Principe des mesures en temps retardé

D'autres types de tests immunologiques (HTRF pour "Homogenous Time-Resolved Fluorescence") sont aussi décrits dans la même publication, ils sont développés commercialement par plusieurs sociétés (*TRACE* par Cisbio International, *LANCE* par Perkin-Elmer ou *Lanthascreen* par Invitrogen). Tous ces tests reposent sur des observations en temps résolu et sur des mesures FRET (Förster Resonant Energy Transfer) dont le principe en est donné Figure I.8. Dans ce cas, c'est l'ion Ln^{3+} (déjà associé à son antenne) qui agit comme donneur, alors qu'un chro-

mophore organique joue le rôle d'accepteur, ce dernier émettant à sa longueur d'onde propre, mais avec le comportement $I = f(t)$ du donneur, donc une constante de temps d'émission de quelques 10^{-5} s. Des limites de détection de 10 fmol peuvent ainsi être atteintes. A partir des multiples utilisations possibles, des sondes luminescentes à base de lanthanide ont été employées pour les tests analytiques, et leur utilisation en imagerie a également été tentée. La plupart des complexes de Ln^{3+} peuvent être internalisés puis observés par microscopie de fluorescence en temps résolu. Ici encore, si la sonde est fonctionnalisée de manière à atteindre une cible donnée à l'intérieur de la cellule, celle-ci pourra être imagée, donc localisée.

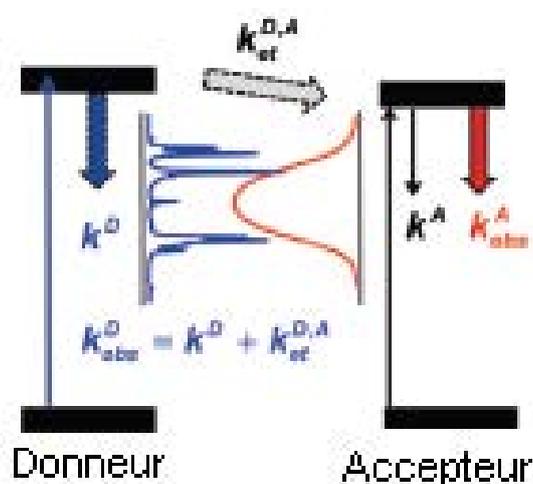


FIGURE I.8 – Principe du FRET [10]

Certains complexes de Ln^{3+} se prêtent aussi à l'imagerie multiphotonique. C'est un phénomène d'up-conversion, typiquement l'excitation a lieu à 800 nm et la détection à 540 ou 620 nm. Ces observations nécessitent de très fortes puissances crêtes du laser d'excitation, puisque les phénomènes mis en jeu ont des probabilités extrêmement faibles. Il faut en effet l'absorption simultanée de plusieurs photons par le ligand et le transfert simultané vers l'ion Eu^{3+} ou Tb^{3+} . Plusieurs exemples sont publiés par O. Maury et al. [12] ou G.L. Law et al. [13].

Comme il a été fait avec les marqueurs organiques, la possibilité d'insérer les complexes de lanthanides dans des nanoparticules, polymère ou silice (Eu-chélate@polymère ou Eu-chélate@ SiO_2) a été étudiée. Les marqueurs utilisés dans la Ref. [14] par exemple, sont des nanoparticules de polystyrène de 107 nm de diamètre comportant 3000 Eu^{3+} chélatés par la naphtrytrifluoroacétone et portent le nom commercial *Fluoromax*, (Seradyn). Il existe l'équivalent, commer-

cialisé par Invitrogen sous le nom de *FluoSphere*. Dans la Ref. [15], c'est la synthèse de Tb^{3+} - BPTA@SiO₂² par microémulsion eau dans huile (W/O) qui est décrite. Ces nanoparticules de 42 nm de diamètre sont utilisées dans un test TR-FIA. Les mêmes auteurs décrivent la synthèse de Eu^{3+} -BHHT@SiO₂³ et leur utilisation comme agent de marquage ultrasensible pour des tests de dépistage d'antigènes humains de l'hépatite B, par fluorométrie en temps résolu. Dans cette étude, l'adressage des NPs est réalisé grâce à l'interaction spécifique entre la biotine et la streptavidine. Dans une étude similaire, des particules Eu^{3+} -DBM-Phen@SiO₂⁴ sont observées sur substrats plans par microscopie de fluorescence en temps retardé. De nombreuses stratégies pour obtenir des objets plus complexes peuvent être trouvées dans la littérature, comme dans la Ref. [16] où l'ion Eu^{3+} est chélaté par un polyaminocarboxylate, associé à un colorant (courmarin 120) qui agit comme antenne, puis enrobé de silice dans des NPs de 55 nm de diamètre. Ces sondes sont utilisées dans des tests TR-FIA. Les particules ainsi produites possèdent, ici encore, plusieurs avantages par rapport aux Ln^{3+} -chélates libres : une plus grande intensité de luminescence car une NP concentre plusieurs milliers de centres luminescents, et une meilleure photostabilité.

I.1.3.2 NPs tout inorganiques

Nous considérerons dans cette catégorie les luminophores pour lesquels l'ion lanthanide luminescent est incorporé sur un site cationique de la matrice hôte. En raison de leurs tailles atomiques voisines et de leurs propriétés chimiques semblables, les ions actifs seront substitués partiellement à un autre élément du groupe des terres rares et on utilisera la notation "matrice hôte : Ln^{3+} ". Plusieurs groupes de recherche travaillent sur :

- la synthèse de nanoparticules d'oxydes ou de fluorures dopés par un (ou plusieurs) ions luminescent(s) Ln^{3+}
- la modification de ces particules pour les rendre bio-fonctionnelles
- les expériences pour lesquelles on montre que ces particules sont des bio-marqueurs

Un des avantages des luminophores inorganiques dopés est que chacun des Ln^{3+} optiquement actif peut être introduit, sans changement important des conditions opératoires. Des couples de Ln^{3+} peuvent aussi être introduits en substitution partielle pour mettre à profit les transferts d'énergie $Ln_I^{3+} \rightarrow Ln_{II}^{3+}$. Dans la Ref. [17], Van Veggel et al. décrivent la synthèse de

2. BPTA = N,N,N1, N1-[2,6-bis(3-aminomethyl-1-pyrazolyl)-phenylpyridine]tetrakis(acetate)

3. BHHT = 4,4'-bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4''6''hexanedion-6''yl)-o-terphenyl

4. DBM-Phen = tris(1,3-diphenyl-1,3-propanedionato)mono(1,10-phenanthroline)

NPs de fluorures de lanthane $\text{LaF}_3 : \text{Tb}^{3+}, \text{Eu}^{3+}, \text{Nd}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+} + \text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+} + \text{Tm}^{3+}$. Les particules obtenues par précipitation en solution aqueuse, permettent de couvrir, par le choix du dopant, une large gamme d'émission entre 450 et 1600 nm. La photoluminescence de Ln^{3+} a été observée dans des cuves de spectrofluorométrie. Ces particules ont ensuite été modifiées en surface par un aminosiloxane et conjuguées à la biotine via des fonctions hydroxysuccinimidyl ester. Des molécules d'avidine ont ainsi pu être ciblées et la détection a été réalisée par spectrofluorométrie grâce à un deuxième fluorophore greffé sur les molécules d'avidine. L'emploi d'un couple $\text{Yb}^{3+} + \text{Er}^{3+}$ ou $\text{Yb}^{3+} + \text{Tm}^{3+}$ permet l'observation d'une émission par up-conversion suivant de principe du schéma Figure I.9. Une longueur d'onde d'excitation dans le proche IR est particulièrement intéressante pour les observations in-vivo, puisqu'elle est moins agressive et pénètre les tissus plus en profondeur. Des particules $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ ou $\text{NaYF}_4 : \text{Yb}^{3+}, \text{Tm}^{3+}$, synthétisées avec du PEI (polyéthylèneimine) comme surfactant ont été visualisées dans des petits animaux [18].

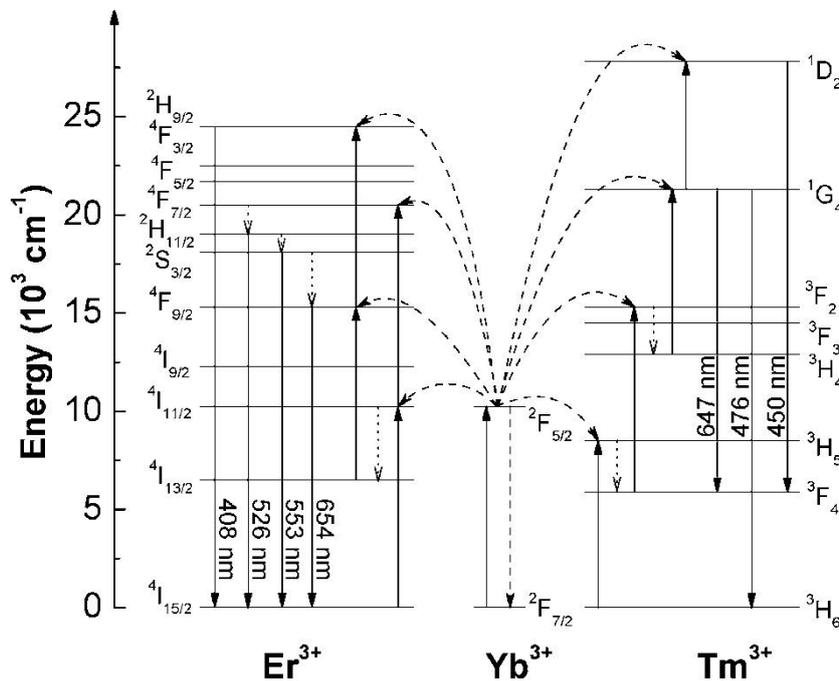


FIGURE I.9 – Diagramme schématique des niveaux d'énergie montrant les mécanismes d'up-conversion entre les ions Yb^{3+} et Tm^{3+} et $\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$

Pour revenir à l'observation de la luminescence par down-conversion on peut citer par exemple l'observation de $\text{CeF}_3 : \text{Tb}^{3+}$ [19]. Ces NPs ont été modifiées par dépôt d'une couche mixte TEOS/APTES, puis biotynilées par addition de biotine dans le milieu réactionnel, et leur

luminescence observée au spectrophotomètre. Dans la Ref. [20], les auteurs suivent une voie de couplage similaire appliquée à des particules YAG :Ce³⁺. Cette fois, l'émission de Ce³⁺ est observée par microscopie après couplage à de l'avidine déposée sur micro-sphères de latex.

Certains auteurs ont également envisagé l'utilisation de phosphates dopés par des ions lanthanides comme bio-marqueurs potentiels [21]. Des apatites phosphate tricalcium ont été synthétisées à basse température (37°C) par co-précipitation en milieu alcoolique, et ont été introduites dans des cellules cancéreuses pancréatiques. Les observations réalisées par différentes techniques de microscopie, en particulier par microscopie confocale et TEM ont confirmé l'internalisation de ces particules par des cellules cancéreuses.

Beaurepaire et al. reportent l'utilisation comme bio-marqueurs de NPs luminescentes de vanadates d'yttrium YVO₄ :Eu³⁺, préparées par précipitation en solution aqueuse [22]. Ces NPs, enrobées par une couche mixte de silice, incorporant un aminosilane et fonctionnalisées par des groupements guanidine agissent comme des toxines artificielles, ciblant les tunnels de sodium, et ont pu être détectées de façon spécifique par microscopie de fluorescence en temps retardé dans la membrane de cellules cardiaques.

Dosev et al. [23] ont montré la possibilité d'utiliser des NPs d'oxyde de gadolinium dopé europium Gd₂O₃ :Eu³⁺ directement fonctionnalisées avec l'avidine pour la visualisation de protéines. Les NPs ont été synthétisées par pyrolyse d'aérosol à haute température (2100°C) et les protéines conjuguées à la biotine, déposées sur un substrat de silicium par la technique dite de "micro-contact printing". Les expériences de visualisation, réalisées par microscopie de fluorescence et microscopie à force atomique (AFM), ont démontré la possibilité d'utiliser des NPs d'oxyde de lanthanide pour la visualisation de protéines. Ces auteurs reportent également l'utilisation de NPs de Gd₂O₃ :Eu³⁺ encapsulées dans une couche de polylysine et conjuguées avec des anticorps pour la détection par AFM et microscopie de fluorescence d'antigènes déposés sur un substrat de verre [24, 25].

Plus récemment, des NPs coeur/coquille de Fe₂O₃ :Co,Nd/Gd₂O₃ :Eu³⁺, ayant à la fois des propriétés magnétiques et luminescentes ont été employées en tant que marqueurs pour des dosages immunologiques multimodaux[26, 27]. Les particules sont préparées par un double

procédé spray pyrolyse à haute température (2000°C), et fonctionnalisées avec plusieurs types d'anticorps simultanément. Après incubation avec des antigènes marqués par différents colorants organiques, et séparation magnétique, les particules sont analysées par spectrofluorométrie. Le dosage de chaque anticorps est alors réalisé par comparaison des intensités d'émission des colorants avec l'émission de l'euporium, qui peut ainsi être considéré comme un standard interne.

Toujours avec des oxydes de gadolinium, Tillement et al. [28] ont développé un système basé sur des NPs de $Gd_2O_3 : Tb^{3+}$ multifonctionnelles, permettant le ciblage spécifique de molécules telles que des oligonucléotides. Les NPs ont, dans un premier temps, été obtenues par précipitation dans le diéthylène glycol selon une méthode polyol, puis ont été encapsulées dans une couche mixte de silice, incorporant, à la fois un aminosiloxane afin de les rendre fonctionnelles, et un deuxième fluorophore, la fluorescéine isothiocyanate (FITC), permettant une détection plus aisée des particules par les techniques couramment employées en biologie. Des fonctions biologiques telles que des oligonucléotides ou la streptavidine ont alors été greffées sur ces NPs via des fonctions succinimidyl ester.

Enfin, des NPs luminescentes et magnétiques de $Y_2O_3 : Eu^{3+}, Gd^{3+}$, préparées par précipitation des hydroxycarbonates correspondants en solution aqueuse, et traités thermiquement, ont été utilisées pour visualiser des cellules cancéreuses après leur fonctionnalisation par l'acide folique [29]. La conjugaison de l'acide folique est réalisée par greffage d'un polymère cationique présentant des fonctions amines, le polyéthylèneimine (PEI), qui permet le couplage aux fonctions carboxyliques de l'acide folique via des groupements succinimidyl ester. Le ciblage des cellules cancéreuses par les particules ainsi modifiées a été suivi par cytométrie de flux et microscopie de fluorescence.

I.2 La bio-fonctionnalisation

Bien que l'utilisation de nanoparticules présente de nombreux avantages, leur utilisation directe en tant que bio-marqueurs est très difficile. Il est donc nécessaire de les modifier pour adapter leurs propriétés de surface aux conditions biologiques : milieu aqueux, pH humain (\approx

7), température ordinaire. C'est la *bio-compatibilisation*. D'autre part, si la fonction recherchée est le marquage sélectif de cellules, il faut diriger les bio-marqueurs fluorescents vers les cellules cibles. Cette étape fondamentale est appelée *bio-conjugaison*, et l'ensemble des deux étapes, bio-compatibilisation et bio-conjugaison constitue la *bio-fonctionnalisation*.

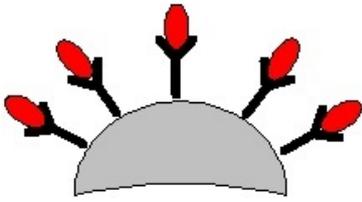
I.2.1 Principe

La bio-conjugaison peut être définie comme l'ensemble des étapes qui permettent de lier une particule à une bio-molécule. Comme il a été mentionné à plusieurs reprises dans ce chapitre, il est fréquent que les marqueurs fluorescents ne soient que très peu réactifs vis-à-vis des molécules biologiques, et que leurs propriétés de surface ne permettent pas un greffage direct de ces derniers. Il faut alors passer par une modification chimique du marqueur avant le greffage de la bio-molécule. Cette étape de bio-conjugaison doit, en outre, répondre à un certain nombre de critères afin de favoriser la suite du procédé. Le plus important réside dans le fait que le procédé de conjugaison ne doit pas altérer l'activité de la bio-molécule, notamment en raison de l'encombrement stérique généré par la présence de la NP, qui serait susceptible d'interférer avec les interactions se produisant dans le milieu de mesure entre la molécule d'intérêt et la cible biologique. D'autre part, il faut autant que possible limiter les effets de la bio-conjugaison sur le signal de la NP, afin de garder une luminescence suffisante. Une autre exigence, particulièrement si l'on veut réaliser des dosages quantitatifs, réside dans le fait de pouvoir contrôler le nombre de sites de greffage où la bio-molécule peut se lier à la NP. Enfin, le dernier point concerne l'épaisseur de la couche ainsi déposée, qui doit rester la plus faible possible comparativement à la taille de la particule.

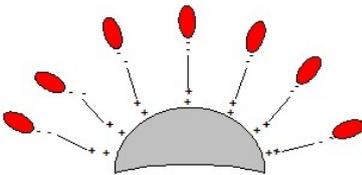
La littérature fournit un grand nombre de stratégies pour réaliser cette bio-conjugaison, qui peuvent être classées en deux catégories, selon le mécanisme mis en jeu : les approches non covalentes et les approches covalentes. La finalité n'étant pas l'exhaustivité, seuls quelques exemples seront évoqués dans les propos qui vont suivre, afin d'illustrer la bio-conjugaison.

I.2.2 Les approches non covalentes

Ces stratégies sont basées sur des simples adsorptions à la surface de la NP, via des forces non covalentes telles que des liaisons hydrogène ou des interactions électrostatiques.



Une voie envisagée par Illum et al. [30, 31] ou par Couvreur et al. [32] est l'adsorption d'anticorps à la surface de NPs de polymères, permettant ainsi de cibler spécifiquement des cellules cancéreuses [30, 31], des enzymes ou des toxines [32]. D'autre part, la plupart des protéines et enzymes présentent généralement des segments hydrophobes à leur surface, générant des interactions hydrophobes avec les nanomatériaux, comme les QDs ou un grand nombre de polymères.



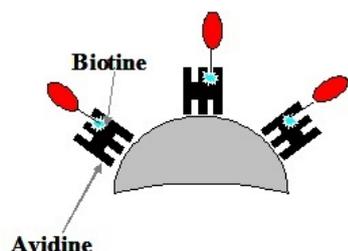
Un exemple illustrant ce type de modification peut être donné par Tan et al. [33] qui ont utilisé un copolymère PEO-PPO contenant une partie hydrophile (PEO⁵) et une partie hydrophobe (PPO⁶) pour modifier des NPs de latex. En milieu aqueux le copolymère sera alors adsorbé à la surface de la NP via la partie hydrophobe, laissant les chaînes hydrophiles libres de réagir avec les protéines du milieu. La couche hydrophile peut également être constituée de PEG⁷, qui permet de plus, de rendre la particule furtive vis à vis de l'organisme. En effet, l'adsorption des protéines à la surface des particules est fortement diminuée si ces dernières ont une surface neutre et hydrophile. L'utilisation du PEG, électriquement neutre, hautement hydrophile, et possédant des chaînes très mobiles en milieu aqueux va alors permettre de minimiser, à la fois les interactions électrostatiques et hydrophobes, et va également limiter la formation de liaisons hydrogènes fortes entre les protéines et les particules. Ainsi, Xu et al. [34] ont enrobé des NPs sphériques de silice dans une couche de PEG, et ont montré une diminution de l'adsorption non spécifique des protéines à la surface de NPs.

Si la modification par adsorption est généralement la voie la plus simple à réaliser d'un point de vue expérimental, elle est cependant la plus difficile à contrôler. En effet, il est très difficile de contrôler la proportion de bio-molécules adsorbées à la surface de la particule car ce mode de couplage n'est pas sélectif, et un grand nombre de bio-molécules peut venir s'adsorber.

5. PEO = oxyde de polyéthylène

6. PPO = poly(oxyde de phénylène)

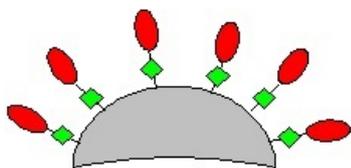
7. PEG = polyéthylène glycol



Pour limiter les effets négatifs de l'adsorption non sélective, un deuxième concept a été développé, basé sur l'interaction spécifique ligand-récepteur, tel que le système biotine-avidine. Ce design, bien qu'il soit toujours basé sur l'adsorption, peut permettre une meilleure sélectivité pour le greffage de la bio-molécule d'intérêt et peut aider cette dernière à s'agripper dans une orientation définie. Ainsi, Dosev et al. [23] reportent l'utilisation de NPs luminescentes de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ sur lesquelles ont été adsorbées des molécules d'avidine pour la visualisation de protéines, préalablement déposées sur un substrat de silicium et fonctionnalisées par la biotine. Bien que le contrôle de la bio-conjugaison reste un point délicat, du fait de l'adsorption non sélective de l'avidine sur la NP, cette configuration donne des résultats satisfaisants.

I.2.3 Les approches covalentes

Ces stratégies reposent sur la création de liaisons chimiques "fortes" entre la particule luminescente et la bio-molécule.



Afin de contrôler le greffage des bio-molécules sur les NPs, de nombreux auteurs ont utilisé une méthode basée sur le couplage chimique entre les groupes réactifs présents à la surface des bio-molécules (thiols ou groupements amino) et un agent de couplage, également lié à la particule par liaisons covalentes. Cela favorise ainsi un greffage plus sélectif et plus contrôlé. Parmi les agents de couplage référencés dans la littérature, les alcoxysilanes sont les plus fréquemment employés. En effet, la chimie des silanes étant très développée, des alcoxysilanes exprimant une grande diversité de fonctions telles que des fonctions amines (APTES⁸) [35, 36], thiols (MPTMS⁹) [37], méthacrylates (MPS¹⁰) [38], époxy (GPTS ou Glymo¹¹) [39] ou encore vinyls (VTMO¹²) [40] ont été développés. Ces fonctions sont alors des sites de choix pour le couplage des bio-molécules à la surface des NPs.

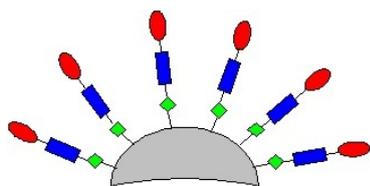
8. APTES = 3-aminopropyltriéthoxysilane

9. MPTMS = 3-mercaptopropyltriméthoxysilane

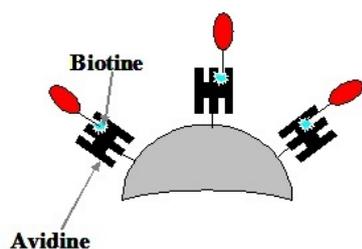
10. MPS = 3-méthacryloxypropyltriméthoxysilane

11. GPTS = 3-glycidoxypropyltriméthoxysilane

12. VTMC = vinyltriméthoxysilane



En outre, l'utilisation d'un deuxième agent de couplage peut être nécessaire pour coupler la bio-molécule à la NPs. C'est par exemple le cas lorsque des NPs modifiées avec APTES (exprimant des fonctions amines) doivent être couplées à la bio-molécule via une deuxième fonction amine. Dans ce cas, la bio-conjugaison sera assurée par un agent de couplage homobifonctionnel tel que le glutaraldéhyde, comme le décrivent Koh et al. [41].



Enfin, une approche analogue à celle décrite dans les approches non covalentes, peut être envisagée pour réaliser la bio-conjugaison en utilisant le couple biotine-avidine comme agent de liaison. Dans ce schéma, les bio-molécules sont liées à l'avidine tandis qu'une couche de biotine est greffée autour des NPs.

Pour ce faire, Bergmann et al. [42] ont dans un premier temps greffé du polyéthylèneimine (PEI) à la surface de NPs de silice, afin d'introduire des groupement NH_2 , puis ont comparé le greffage de streptavidine sur ces fonctions amines, soit directement, soit via des groupements homobifonctionnels tels que le glutaraldéhyde ou l'acide succinimidique.

Quelle que soit la voie de modification envisagée, il peut être intéressant d'encapsuler la particule dans une couche de silice, réputée stable en suspension et plus réactive, ce qui va faciliter la bio-conjugaison des molécules d'intérêt biologique. Ainsi, des NPs d'oxydes (de lanthanides ou d'autres métaux) sont souvent modifiées par co-condensation d'organosiloxane, avec du TEOS selon la méthode Stöber [28, 22, 20].

I.2.4 D'autres paramètres

Cependant, même si la réussite de la bio-conjugaison constitue une part très importante du travail de bio-fonctionnalisation, ce n'est pas une condition suffisante pour l'utilisation de NPs luminescentes comme bio-marqueurs, et d'autres paramètres doivent être pris en considération, et une fois bio-fonctionnalisées, les NPs doivent répondre à un certain nombre de critères.

Tout d'abord, les suspensions préparées à partir de ces particules en milieu aqueux, à pH

humain (≈ 7) doivent être stables, afin de prévenir l'agrégation des NPs lors de leur introduction dans le milieu biologique. Une faible toxicité des marqueurs vis-à-vis des cellules est également requise, que ce soit pour des expériences in-vivo ou in-vitro. La cytotoxicité peut avoir deux origines :

- intrinsèque : elle est liée à la nature des NPs en elles mêmes, particulièrement si elles contiennent des métaux lourds tels que le cadmium (Cd).
- extrinsèque : elle peut intervenir lors de l'internalisation des NPs par les cellules et est liée à des effets de forme ou de masse.

Enfin, dans le cas d'expériences in vivo, l'inertie biologique des NPs luminescentes est requise, afin de ne pas déclencher de réponse immunitaire, ce qui entraînerait la destruction et l'élimination des NPs. Pour cela, la surface des NPs doit être modifiée, afin d'empêcher des adsorptions non spécifiques de molécules présentes dans le milieu biologique. La voie communément employée consiste à enrober les bio-marqueurs par une couche de PEG, comme il a été décrit au paragraphe précédent, ce qui permettra de rendre les particules furtives pour l'organisme.

I.3 Les voies retenues dans ce travail

I.3.1 Nanoparticules inorganiques de lanthanides

Dans la suite de notre étude nous avons choisi de nous intéresser plus particulièrement aux NPs inorganiques à base de lanthanide. En effet, bien que leur rendement quantique et leur brillance soient réputés plus faibles que pour les QDs ou les colorants inorganiques [43], ce type de matériaux présente des propriétés qui en font des marqueurs potentiels intéressants.

Le principal avantage des lanthanides sur les deux autres types de luminophores est la durée de vie de luminescence beaucoup plus longue, de quelques ms pour les lanthanides contre quelques ns pour les QDs ou les colorants organiques (Figure I.7). Les marqueurs ainsi composés pourront être utilisés pour des mesures décalées dans le temps. Cela permettra donc de s'affranchir de la luminescence de courte durée de vie provoquée par le milieu biologique et de "compenser" les faibles rendements quantiques et la faible brillance.

Outre leur longue durée de vie, les lanthanides possèdent également une très bonne résistance

au photoblanchiment, contrairement aux colorants organiques ou même au QDs. Cette propriété présente un grand intérêt puisque les marqueurs ne se dégraderont pas au cours des expériences et ne nécessiteront pas de conditions de stockage particulières, notamment à l'abri de la lumière.

Enfin, et contrairement à tous les autres types de luminophores, les lanthanides ont un décalage de Stokes (Stokes shift) important. Cet écart entre la longueur d'onde d'émission et la longueur d'onde d'excitation va permettre d'obtenir un signal "épuré", qui ne prendra en compte que la luminescence des lanthanides et qui ne sera pas perturbé par la diffusion du milieu provoquée par le rayonnement incident. Cette propriété va alors permettre de gagner en sensibilité et de détecter des émissions de plus faible intensité.

I.3.2 Modification de surface par des alcoxysilanes

Comme on l'a vu précédemment, pour être utilisées comme bio-marqueurs, les NPs inorganiques à base de lanthanides doivent être modifiées. Parmi le grand nombre de voies de modification citées précédemment, nous avons porté notre attention sur la modification des NPs par greffage d'alcoxysilanes à leur surface. En effet, cette voie, largement décrite pour la modification de particules de silice, permet de donner un caractère organique à des matériaux inorganiques. Parmi les différents alcoxysilanes, les amino-siloxanes permettent de greffer des fonctions amines à la surface des particules, offrant ainsi de nombreuses possibilités d'attache pour les bio-molécules, notamment par réaction avec les groupements carboxyliques.

La modification par l'APTES de silices mésoporeuses [44, 45, 46], de substrats plans Si/SiO₂ [47, 48] ou encore de NPs de silice [49, 40] a été étudiée par plusieurs groupes de recherche. De plus, la surface des oxydes portant des fonctions hydroxyles peut également être fonctionnalisée par des organo-siloxanes. Toutefois le greffage direct de l'APTES ou d'autres organosiloxanes à la surface d'oxydes est peu décrite dans la littérature. La silanisation directe de maghémite Fe₂O₃ par l'APTES a été décrite par Xu et al. [50]. De même, la modification de surface par l'aminopropyltriméthoxysilane (APTMS) de NPs luminescentes de YAG :Ce³⁺, suivie de leur biotinitation est reportée par Asakura et al.[19]. Dans d'autres études, la fonctionnalisation par l'APTES a été favorisée par déposition préalable d'une couche de silice, créant ainsi une double couche à la surface des NPs. Des NPs magnétiques Fe₂O₃[36, 51], ou luminescentes

($\text{YVO}_4 : \text{Eu}^{3+}$ [35], $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Tm}^{3+} / \text{Yb}^{3+}$ [52]) ont ainsi été modifiées selon cette procédure. Une troisième route, consistant en la co-condensation d'un mélange triéthoxysilane (TEOS) et APTES, formant une couche de silice contenant des fonctions amines a également été employée pour la modification de particules luminescentes telles que des oxydes [53] ($\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$) ou des fluorures [20] CeF_3 .

Nous avons choisi de modifier des particules inorganiques à base de lanthanide avec ce type de composés, et plus particulièrement avec l'aminopropyltriéthoxysilane (APTES), en raison de son caractère bi-bonctionnel. L'APTES est un trialcoxysilane possédant, d'une part, trois groupements éthoxy ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), très réactifs vis-à-vis des fonctions hydroxyles présentes à la surface des NPs, et d'autre part, une fonction amine, très réactive, notamment avec les molécules biologiques (Figure I.10). Schématiquement, les groupements éthoxys de l'APTES vont réagir avec les groupements hydroxyles, laissant des fonctions amines libres en dehors de la surface [54].

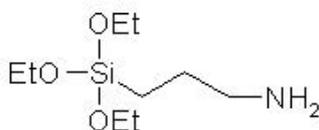


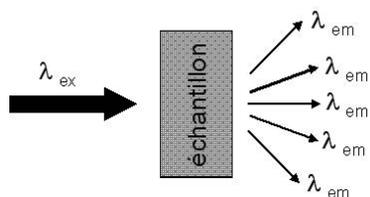
FIGURE I.10 – Formule semi-développée de l'APTES

I.3.3 Techniques de mesure de la photoluminescence

I.3.3.1 Principe des expériences de spectroscopie de photoluminescence

En spectroscopie on distingue trois types de mesures expérimentales :

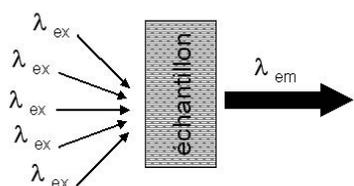
- Les spectres d'émission,



Ils consistent à regarder la réponse spectrale du matériau provoquée par une excitation donnée. Si $\lambda_{em} > \lambda_{ex}$ l'émission sera appelée « Stokes », si $\lambda_{em} < \lambda_{ex}$ l'émission sera dite « anti-Stokes » et si $\lambda_{em} = \lambda_{ex}$ ce sera une émission de

résonance.

- Les spectres d'excitation



Ils consistent à rechercher toutes les énergies absorbées permettant au matériau d'émettre à une longueur d'onde donnée.

- Les déclin de luminescence ou durée de vie, pour lesquels on mesure l'évolution d'une population excitée en fonction du temps.

Les détails concernant les dispositifs que nous avons employés sont donnés dans l'annexe B.

I.3.3.2 Les différents moyens de mesurer la luminescence

Parmi tous les exemples que nous avons décrits, différentes techniques de détection ont été employées. La mesure la plus simple est réalisée en cuve ou sur poudre sèche à l'aide d'un spectrofluorimètre. Les mesures en cuve nécessitent de travailler avec des suspensions stables au cours du temps, afin de conserver des mesures reproductibles. Cette technique fournit des spectres, qui permettent d'analyser les propriétés de luminescence des particules, sur une gamme de longueurs d'ondes étendue. On peut ainsi relever les spectres d'émission et d'excitation de la photoluminescence. Si la source est pulsée et la détection synchronisée on relève les propriétés transitoires (déclin) et les spectres en temps résolu. Avec un spectrofluorimètre on peut également relever les spectres de réflexion diffuse de poudre ou de solutions très absorbantes. Les mesures d'absorbance sont, quant à elles réalisées avec un spectrophotomètre.

La luminescence peut également être visualisée par microscopie optique de fluorescence. Cette technique est depuis de nombreuses années un outil incontournable pour les analyses morphologiques des cellules, que celles-ci soient vivantes ou fixées. Les limitations majeures de la microscopie de fluorescence sont la fluorescence naturelle des cellules et tissus, et la tendance des sondes organiques au photoblanchiment. Avec les sondes Ln^{3+} , le déplacement de Stokes important et la résistance au photoblanchiment pallient ces effets. Enfin, si un système de mesure en temps décalé est adapté sur les dispositifs, le signal propre aux Ln^{3+} est exalté par rapport à tous les autres signaux résiduels. Les équipements qui ont servi aux expérimentations reportées dans la littérature diffèrent par :

- la source d'excitation : lampe Xénon, laser Argon, diodes laser...
- les performances du système de détection : photomultiplicateur, caméra CCD

- la résolution du microscope : champ large ou confocal

Pour notre part nous avons réalisé deux types d'observations :

- Des observations en champ large, sous excitation à la lampe filtrée à 365 ± 5 nm, enregistrées par caméra CCD à l'IBPS de Toulouse.
- Des observations au microscope confocal, sous excitation laser (à 488 et 514 nm) équipé d'un monochromateur à l'IPBS de Toulouse ainsi qu'à la City U de Hong Kong.

Ce type d'analyse permet, dans le cas de particules seules, de visualiser la dispersion et l'homogénéité de ces dernières. Dans le cas de cellules marquées, ce type d'analyse permet de localiser des particules, ainsi que de démontrer, ou non, une sélectivité du greffage ou du marquage.

Enfin, des mesures en cytométrie de flux peuvent être réalisées sur les particules ou les cellules en suspension. La cytométrie de flux est une technologie d'usage très répandue non seulement dans les laboratoires de recherche mais également dans les laboratoires cliniques et d'analyse. Son intérêt est de permettre l'analyse de solutions cellulaires hétérogènes sur le plan phénotypique et/ou fonctionnel en mesurant, en parallèle, des paramètres optiques multiples. L'acquisition de ces paramètres est obtenue par le passage d'une suspension unicellulaire face à un laser. Il y a ensuite mesure des lumières diffractées (structure cellulaire) et des fluorescences réémises, grâce à des filtres optiques et des photo-multiplieurs, et ce pour chacune des cellules qui passent individuellement devant le ou les lasers à un rythme de plusieurs centaines par seconde.

CHAPITRE II

ASPECTS FONDAMENTAUX DE LA LUMINESCENCE DES LANTHANIDES

Contents

II.1	<u>Les terres rares</u>	30
II.2	<u>Propriétés optiques des lanthanides</u>	31
II.2.1	Introduction	31
II.2.2	Niveaux électroniques dans $4f^n$	32
II.2.3	Transitions entre niveaux : règles de sélection	35
II.2.4	Transitions entre niveaux : probabilités de transition	35
II.3	<u>L'euporium</u>	37
II.3.1	Niveaux électroniques dans $4f^6$	37
II.3.2	Nature et force des transitions dans Eu^{3+} ($4f^6$)	40
II.3.3	Comment exciter la luminescence de Eu^{3+}	45
II.3.4	Déexcitations non radiatives	46
II.3.5	Efficacités	47

II.1 Les terres rares

Les terres rares englobent le groupe des lanthanides (notés de façon générique Ln), constitué des quinze éléments situés sur une même ligne et allant du lanthane ($Z=57$) au lutécium ($Z=71$) (Figure II.1), auxquels il faut ajouter l'yttrium ($Z=39$) et le scandium ($Z=21$). Ces deux éléments se trouvent immédiatement au dessus du lanthane dans le tableau périodique. Les terres rares forment une série présentant une remarquable homogénéité de propriétés chimiques. Le seul paramètre significatif variant de façon monotone le long de la série est la taille de l'ion (quantifiée à l'aide des rayons ioniques). Du début à la fin de la série des lanthanides, le rayon ionique décroît régulièrement. Ce phénomène est appelé *contraction lanthanidique* et provient de l'augmentation de la charge nucléaire.

La configuration électronique des lanthanides est reportée Table A.1. L'état de valence commun à tous ces lanthanides est Ln^{3+} , que l'on peut noter $[\text{Kr}] 4d^{10} 4f^n 5s^2 5p^6$ où n varie de 0 pour le lanthane à 14 pour le lutécium.

Pour tous les lanthanides, ainsi que pour le scandium et l'yttrium, on trouve l'oxyde sous la forme M_2O_3 . Toutefois, la cérine CeO_2 est la forme courante de l'oxyde de cérium, alors que pour le terbium on trouve $\text{Tb}_4\text{O}_7=2\text{TbO}_2+\text{Tb}_2\text{O}_3$, la couche 4f vide (Ce^{4+}) ou semi-remplie (Tb^{4+}) stabilisant la configuration. Pour l'euporium à l'inverse, c'est la valence Eu^{2+} qui est stabilisée par la couche 4f semi-remplie. Dans les ions Ln^{3+} , la couche 4f n'est pas la plus externe et les électrons $4f^n$ interviennent peu dans la liaison chimique. Cet effet d'écran (par $5s^2 5p^6$) explique que les modifications énergétiques des électrons $4f^n$ soient très faibles lorsque l'ion est introduit dans un champ de ligands.

**TABLEAU DE CLASSIFICATION PERIODIQUE
DES ELEMENTS CHIMIQUES**

The figure shows the periodic table of elements. The lanthanide series (elements 57-71) is highlighted in red and labeled 'lanthanides' in red text. An arrow points from this label to a separate block of lanthanide elements shown below the main table. The main table includes elements from Hydrogen (H) to Francium (Fr), with atomic numbers and names in French. The separate block shows elements from Lanthanum (La) to Lutetium (Lu) in the first row, and Actinium (Ac) to Lawrencium (Lw) in the second row.

FIGURE II.1 – Les lanthanides dans la classification de Mendeleiev

II.2 Propriétés optiques des lanthanides

II.2.1 Introduction

Les propriétés optiques des ions lanthanides trivalents ont été étudiées du point de vue expérimental et du point de vue théorique dès 1940-1950, avec les travaux de G. Racah [55, 56, 57, 58], R.J. Elliot et K.W.H. Stevens [59, 60, 61], puis B.R. Judd [62]. Plusieurs ouvrages ou séries de cours ont permis d'expliciter de façon détaillée les configurations électroniques des ions Ln^{3+} et comment les traiter théoriquement dans un champ cristallin [62, 63, 64].

La théorie et les modes de calcul des intensités des transitions intra-configurationnelles (intra- $4f^n$) ont été développés simultanément par B.R. Judd et G.S. Ofelt [65, 66] donnant lieu à la théorie de Judd-Ofelt.

Dans ce qui suit nous explicitons certaines de ces notions, qui sont importantes dans le cadre de ce travail, que nous avons extraites de plusieurs cours [67] ou de thèses plus ou moins récentes [68, 69]. Enfin, nous avons employé les descriptions fondamentales telles qu'elles sont décrites dans plusieurs articles de revue [70, 10].

Ln	Ln ⁰	Ln ²⁺	Ln ³⁺	Ln ⁴⁺
La	[Xe]5d ¹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁰ 5s ² 5p ⁶	
Ce	[Xe]4f ¹ 5d ¹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹ 5s ² 5p ⁶	[Kr]4d ¹⁰ 5s ² 5p ⁶
Pr	[Xe]4f ³ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ² 5s ² 5p ⁶	
Nd	[Xe]4f ⁴ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ³ 5s ² 5p ⁶	
Pm	[Xe]4f ⁵ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁴ 5s ² 5p ⁶	
Sm	[Xe]4f ⁶ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁵ 5s ² 5p ⁶	
Eu	[Xe]4f ⁷ 6s ²	[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁷ 5s ² 5p ⁶	[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁶ 5s ² 5p ⁶	
Gd	[Xe]4f ⁷ 5d ¹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁷ 5s ² 5p ⁶	
Tb	[Xe]4f ⁹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁸ 5s ² 5p ⁶	[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁷ 5s ² 5p ⁶
Dy	[Xe]4f ¹⁰ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ⁹ 5s ² 5p ⁶	
Ho	[Xe]4f ¹¹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹⁰ 5s ² 5p ⁶	
Er	[Xe]4f ¹² 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹¹ 5s ² 5p ⁶	
Tm	[Xe]4f ¹³ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹² 5s ² 5p ⁶	
Yb	[Xe]4f ¹⁴ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹³ 5s ² 5p ⁶	
Lu	[Xe]4f ¹⁴ 5d ¹ 6s ²		[Kr]4d ¹⁰ 4f ¹⁴ 5s ² 5p ⁶	

TABLE II.1 – Récapitulation des états de configuration des lanthanides selon leurs états d'oxydation

II.2.2 Niveaux électroniques dans 4fⁿ

L'interprétation des spectres électroniques de terres rares est basée sur l'établissement d'un hamiltonien permettant de satisfaire au mieux l'équation de Schödinger $H\Psi = E\Psi$. Cet hamiltonien peut s'écrire sous la forme d'une somme de trois termes :

$$H_{ionlibre} = H_{conf} + H_{el} + H_{SO} \quad (\text{II.1})$$

- L'hamiltonien de configuration H_{conf} correspond à la somme des énergies cinétiques et potentielles des n électrons. Il a pour effet de séparer la **configuration** de base ($4f^6$ pour l'euprium Eu^{3+}) de la première configuration excitée ($4f^5 5d^1$).
- L'hamiltonien d'interaction électrostatique H_{el} est associé à la répulsion coulombienne entre les électrons $4f$. Il décompose la configuration $4f$ en différents **termes** notés ^{2S+1}L qui sont $(2S+1)(2L+1)$ fois dégénérés. Dans cette notation L , est un nombre entier égal à 0, 1, 2, 3... auquel on fait correspondre les lettres S, P, D, F..., et S est un nombre

entier ou demi-entier qui traduit la multiplicité du terme ^{2S+1}L . S et L sont des nombres quantiques associés aux vecteurs $\vec{S} = \sum_{i=1}^n \vec{s}_i$ et $\vec{L} = \sum_{i=1}^n \vec{l}_i$

- Enfin l'hamiltonien H_{SO} décrit les interactions entre le spin et le moment orbital de chaque électron. L'interaction spin-orbite est représentée par le moment angulaire total $\vec{J} = \vec{L} + \vec{S}$ et vérifie $|L - S| \leq J \leq |L + S|$. Ce couplage spin-orbite, aussi appelé couplage L-S ou Russel-Sanders décompose chaque terme spectral ^{2S+1}L en $2S+1$ ou $2L+1$ (selon que $S < L$ ou $S > L$) **niveaux** notés $^{2S+1}L_J$.

Toutefois, ces trois termes caractérisant l'ion libre ne suffisent pas à décrire totalement les spectres de luminescence de l'ion introduit dans une matrice cristalline, et un quatrième terme doit être introduit : l'hamiltonien de champs cristallin, noté H_{cc} . Celui-ci prend en compte l'interaction de l'ion libre avec le champ cristallin de la matrice hôte. Il décrit alors l'influence du champ électrique créé par les charges qui entourent la terre rare. L'expression de cet hamiltonien est la suivante :

$$H_{cc} = \sum_{kqi} (B_q^k)(C_q^k)_i \quad (\text{II.2})$$

Dans cette expression, C_q^k sont les opérateurs tensoriels qui se transforment comme les harmoniques Y_q^k lesquels sont les parties angulaires des fonctions d'onde calculées dans le cas simple d'ions monoélectroniques ; B_q^k sont les paramètres de champ cristallin.

Sous l'effet du champ cristallin, les niveaux $^{2S+1}L_J$ vont être décomposés en sous-niveaux énergétiques : c'est l'effet Stark. Cette décomposition dépend de la symétrie du champ cristallin. En effet, lorsque l'ion Ln^{3+} est introduit dans la matrice cristalline, la symétrie de son environnement est réduite de la symétrie sphérique à la symétrie du site cristallographique occupé par l'ion. Il y aura alors levée de dégénérescence partielle ou totale, selon la symétrie du site cristallographique, et les niveaux $^{2S+1}L_J$ vont être décomposés au maximum en $2J+1$ niveaux Stark (si J est entier) ou en $1/2(2J+1)$ niveaux Stark si J est demi-entier.

A partir de la théorie des groupes, Prather [63] a dénombré les niveaux Stark pour les divers groupes de symétrie.

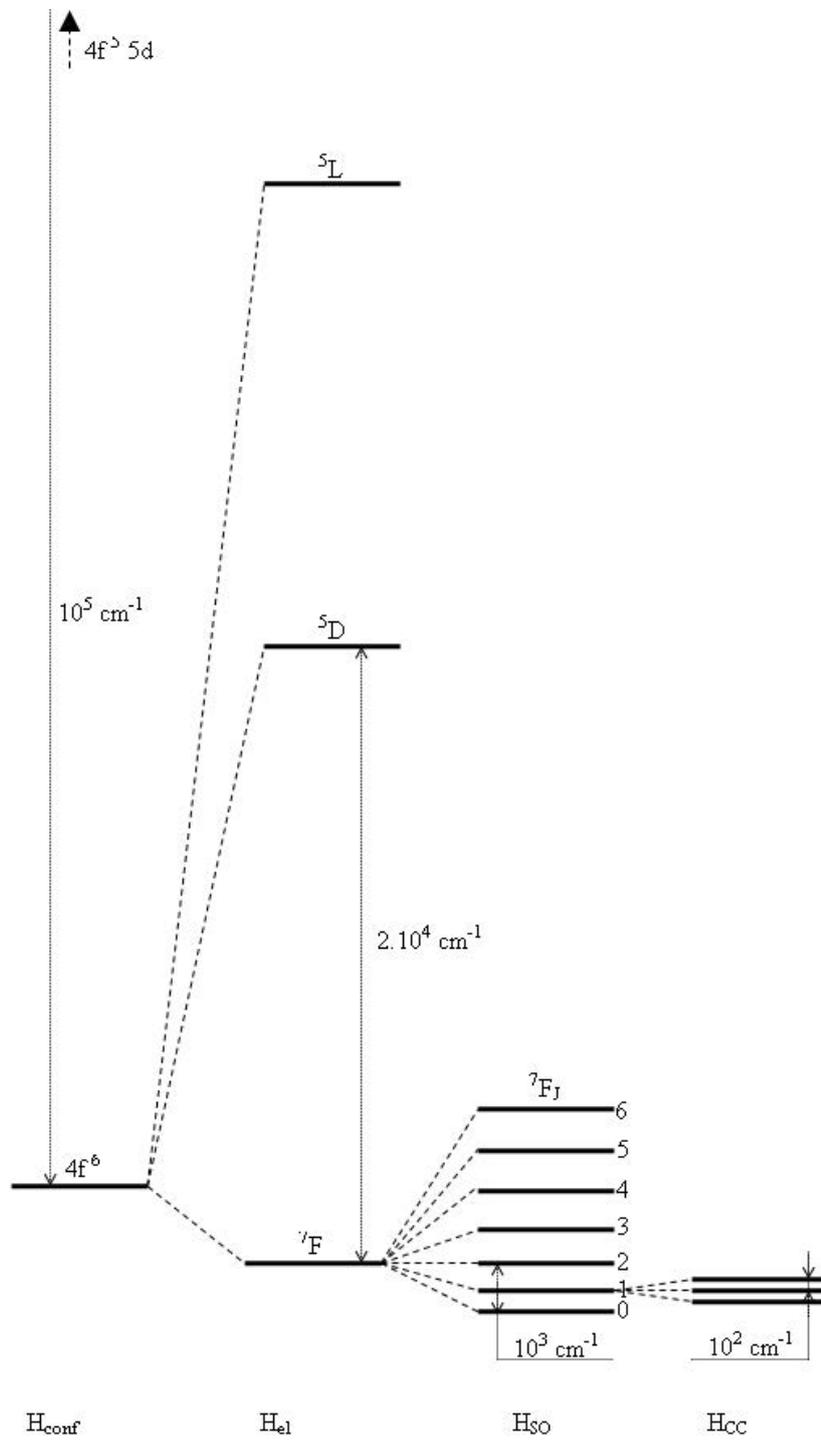


FIGURE II.2 – Ordre de grandeur des principaux hamiltoniens responsables de l'éclatement de la configuration $4f^n$ de l'ion Ln^{3+}

II.2.3 Transitions entre niveaux : règles de sélection

L'interaction des ions ainsi décrits avec le rayonnement électromagnétique peut alors donner naissance à des transitions radiatives entre les niveaux énergétiques. L'opérateur associé au champ électromagnétique peut être décomposé en 2 termes : un opérateur dipolaire électrique (DE) qui se transforme comme un vecteur de coordonnées x,y,z et un opérateur dipolaire magnétique (DM) qui se transforme comme la rotation (R_x,R_y,R_z). Les transitions entre les niveaux d'énergie vont être régies par un certain nombre de règles, déterminées en écrivant les éléments de matrice DE et DM. Quelle que soit la nature de l'opérateur, il n'agit qu'entre états de même S ($\Delta S = 0$)

Dans le cas de l'ion libre, les transitions sont régies par la règle de Laporte. Ces règles impliquent que les transitions dipolaires électriques entre niveaux de même parité (définie par $\sum_{i=0}^n l_i$) sont interdites. Ceci interdit théoriquement toute transition intra-configurationnelle (par exemple intra $4f$) ; par contre, les transitions dipolaires magnétiques sont permises. Entre configurations de parités opposées ($4f^n 5d^0 \rightarrow 4f^{n-1} 5d^1$), les transitions dipolaires électriques sont permises, alors que les transitions dipolaires magnétiques ne le sont pas.

Cependant, certaines transitions DE intra- $4f^n$ sont permises grâce à l'effet du champ cristallin, qui mélange les configurations $4f^6$ et $4f^5 5d$, de parités opposées. On parle de transitions forcées, qui obéissent à la théorie de Judd Ofelt.

II.2.4 Transitions entre niveaux : probabilités de transition

L'intensité d'une raie d'absorption $J \rightarrow J'$ est exprimée par la force de l'oscillateur P , qui peut être déterminée expérimentalement à partir du spectre d'absorption en utilisant la formule :

$$P = 4,32 \cdot 10^{-9} \frac{1}{\lambda_0^2 N L} \int \log \frac{I_0}{I(\lambda)} d\lambda \quad (\text{II.3})$$

La force d'oscillateur P donne la valeur de la probabilité radiative de la transition (le coefficient A d'Einstein) par la relation :

$$A_{J'-J}^{rad} = \frac{8\pi^2 e^2}{mc \lambda_{J'-J}^2} P \quad (\text{II.4})$$

Considérant l'émission, on peut exprimer l'intensité d'une transition par :

$$I_{J'-J} = \frac{hc}{\lambda_{J'-J}^2} \cdot A_{J'-J} \cdot N_{J'} \quad (\text{II.5})$$

avec $N_{J'}$, le nombre d'ions excités dans l'état J'

La probabilité de transition radiative $A_{J-J'}$ peut aussi être exprimée en considérant l'action d'un opérateur (DE ou DM) entre les fonctions d'onde associées aux états J et J' :

$$A_{J-J'} = \frac{64\pi^4\nu_{J-J'}^3}{3hc^3(2J+1)}\chi(\langle J | V | J' \rangle)^2 \quad (\text{II.6})$$

où :

- h correspond à la constante de Planck et c à la célérité de la lumière dans le vide
- $\nu_{J-J'}$ est la fréquence moyenne de la transition J - J'
- χ est un facteur correctif du champ local induit par la matrice hôte caractérisée par son indice de réfraction
- $(\langle J | V | J' \rangle)^2$ correspond à la force de la raie spectrale, où V est l'opérateur moment dipolaire qui aura des expressions différentes pour les transitions DE et DM

Nous expliciterons dans la suite comment ces équations peuvent s'appliquer à Eu^{3+} .

La valeur calculée et/ou mesurée de la probabilité de désexcitation radiative d'un niveau émetteur J , permet de calculer la durée de vie purement radiative de celui-ci, et de la comparer avec la durée de vie observée :

$$\frac{1}{\tau_{J'}^{rad}} = \sum_J A_{J-J'}^{rad} = W^{rad} \quad (\text{II.7})$$

Après absorption, le retour depuis l'état excité jusqu'au niveau fondamental peut se faire :

- soit en émettant un photon d'énergie $h\nu$: la transition est dite radiative
- soit en transférant son énergie au sein du système : la transition est dite non-radiative

En régime transitoire, lorsque chaque ion se comporte indépendamment les uns des autres, l'intensité varie avec t suivant :

$$I(t) = I_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (\text{II.8})$$

Insistons sur le fait que cette expression est juste pour un système de N ions émetteurs se comportant tous de façon identique, indépendamment les uns des autres. Tous les transferts non radiatifs entre ions donneurs-accepteurs identiques (Eu-Eu) ou non (Yb-Er) sont très dépendants de leur distance. Ces interactions seront plus fortes entre ions plus proches et feront intervenir des termes non exponentiels dans $I(t)$. De même, les ions émetteurs situés en surface du matériau ou ceux qui sont situés près de tout autre défaut cristallin ne sont pas soumis au même

environnement que ceux du “bulk” et vont introduire des perturbations sur le déclin global, qui sera alors multi-exponentiel.

Dans le cas où le déclin est exponentiel, on peut donc mesurer une valeur τ

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau^{rad}} + \frac{1}{\tau^{nrad}} \quad (\text{II.9})$$

Toutes les probabilités de désexcitation non radiatives sont considérées dans $\frac{1}{\tau^{nrad}} = W^{nrad}$.

Les désexcitations non radiatives des ions isolés (sans transfert d'énergie) sont dues aux interactions avec le réseau cristallin (ou l'environnement de façon plus générale) : l'énergie est transférée à la matrice avec création de phonons. La probabilité de désexcitation non radiative s'écrit :

$$W^{nrad}(T) = w_0^{nrad}(\epsilon(T) + 1)^p \quad (\text{II.10})$$

où w_0^{nrad} est la valeur à 0 K, elle dépend de ΔE (l'écart entre les niveaux J et J') et de constantes semi-empiriques caractéristiques de la matrice, p est le nombre de phonons d'énergie $\hbar\omega$ nécessaire pour que $p\hbar\omega \succ \Delta E$ et ϵ est le nombre de Bose-Einstein : $\epsilon = \frac{1}{\exp(\hbar\omega/kT)-1}$

De l'expression il ressort que w^{nrad} augmente avec la température. A température ordinaire, la probabilité de désexcitation non radiative est d'autant plus grande que l'écart ΔE est faible, et/ou que l'énergie caractéristique des phonons $\hbar\omega$ est élevée. On utilisera par exemple des matrices fluorures ($\hbar\omega \approx 360 \text{ cm}^{-1}$) plutôt que des oxydes ($\hbar\omega \approx 600 \text{ cm}^{-1}$) pour observer des luminescences intenses dans le rouge et dans l'IR.

II.3 L'euporium

Lors de notre travail nous avons choisi de nous intéresser plus particulièrement à l'euporium comme centre luminescent. En effet, la sensibilité extrême de la luminescence de Eu^{3+} à son environnement permet d'utiliser cet activateur comme sonde optique ponctuelle.

II.3.1 Niveaux électroniques dans $4f^6$

La configuration électronique de Eu^{3+} ($Z = 63$) est $[\text{Kr}] 4d^{10} 4f^6 5s^2 5p^6$ et les énergies des niveaux de la configuration $4f^6$ sont présentées sur le diagramme de la Figure II.3 avec la notation $^{2S+1}L_J$ conformément à la description du paragraphe II.2

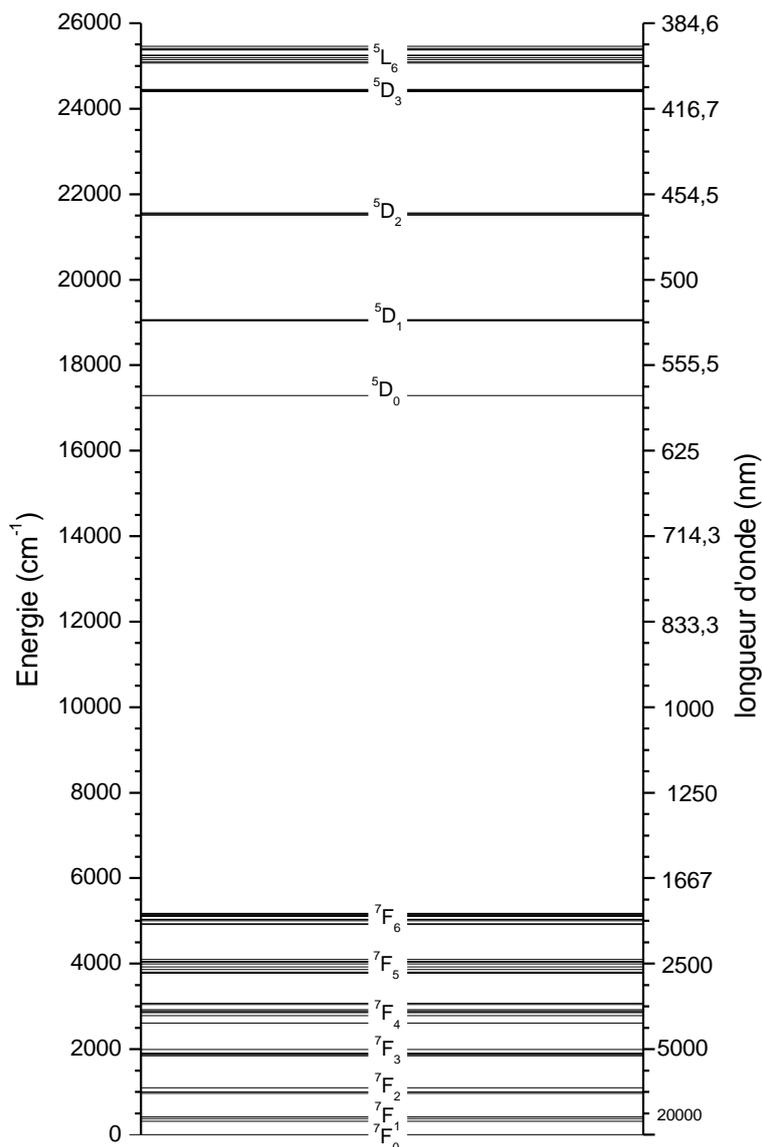


FIGURE II.3 – Niveaux d'énergie de la configuration $4f^n$ de l'ion Eu^{3+}

Le spectre d'émission de cet ion est relativement simple et se situe dans le domaine du visible. Il existe quatre niveaux émetteurs $5D_0$, $5D_1$, $5D_2$ et $5D_3$ (notés globalement $5D_j$), situés respectivement à 17300, 19000, 21500 et 24500 cm^{-1} environ du niveau fondamental $7F_0$, mais c'est l'émission provenant de l'état $5D_0$ qui prédomine. L'éclatement des différents niveaux d'énergie est grand aussi bien à l'intérieur d'un même niveau (c'est le cas pour les niveaux de base $7F_J$ et les niveaux excités $5D_J$) qu'entre les niveaux de base $7F_J$ et les niveaux excités $5D_J$. Cet écart énergétique important permet d'isoler les niveaux de départ et d'arrivée les uns des autres. Les niveaux inférieurs $7F_J$ correspondant à des valeurs de J faibles donc à une dégénérescence des niveaux peu élevée permettent d'attribuer les différentes transitions

observées sans ambiguïté.

L'ion europium présente généralement une intense luminescence dans le rouge correspondant à la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ située vers 620 nm, la bande d'absorption prédominante est située vers 390 nm et correspond à la transition ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$.

L'interprétation purement qualitative des spectres d'émission ${}^5D_{0-2} \rightarrow {}^7F_{0-6}$ est intéressante car les niveaux 5D_0 et 7F_0 ne sont pas décomposés par le champ cristallin. Il y a donc au maximum une ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ par site. Le nombre de raies observées donne ainsi le nombre minimum de sites cristallographiques ou de types d'environnements pour Eu^{3+} .

La décomposition due au champ cristallin peut s'exprimer en appliquant H_{cc} (équation II.2) comme une perturbation par rapport à l'ion libre. On parvient ainsi à évaluer numériquement la décomposition des niveaux en sous niveaux $|J, M_J\rangle$. Des méthodes de calcul, basées sur l'algèbre de Racah, ont été développées puis appliquées par plusieurs groupes de chercheurs dans les années 1970. A titre d'illustration, l'hamiltonien empirique utilisé pour traiter Eu^{3+} en symétrie C_1 s'écrit :

$$H = E_{avg} + \sum_{k=2,4,6} F^k f_k + \zeta_{4f} \sum_{i=1}^6 s_i l_i \quad (\text{II.11})$$

$$+ \sum_{k=2-4,6-8} T^k t_k(f) + \alpha L^2(f) + \beta G(G_2(f)) + \gamma G(G_7(f)) \quad (\text{II.12})$$

$$+ \sum_{k=0,2,4,6} M^k m_k(f) + \sum_{k=2,4,6} P^k p_k(f) \quad (\text{II.13})$$

$$+ B_c^4 \left[C_0^{(4)} + \sqrt{\frac{5}{14}}(C_4^{(4)} + C_{-4}^{(4)}) \right] + B_c^6 \left[C_0^{(6)} + \sqrt{\frac{7}{2}}(C_4^{(6)} + C_{-4}^{(6)}) \right] \quad (\text{II.14})$$

$$+ B_0^2 C_0^{(2)} + B_2^2 (C_2^{(2)} + C_{-2}^{(2)}) \quad (\text{II.15})$$

$$+ B_{D4}^4 \left[C_0^{(4)} - \sqrt{\frac{7}{10}}(C_4^{(4)} + C_{-4}^{(4)}) \right] + B_2^4 C_{-2}^{(4)} \quad (\text{II.16})$$

$$+ B_{D4}^6 \left[C_0^{(6)} - \sqrt{\frac{1}{14}}(C_4^{(6)} + C_{-4}^{(6)}) \right] + B_2^6 (C_2^{(6)} + C_{-2}^{(6)}) + B_6^6 (C_6^{(6)} + C_{-6}^{(6)}) \quad (\text{II.17})$$

$$+ H_{cf}(C_1) \quad (\text{II.18})$$

Dans cette expression complexe, les équations II.11 à II.13 représentent l'hamiltonien de l'ion quasi libre (équivalent à $H_{ionlibre}$ dans II.1). Les termes (II.14 à II.17) correspondent à la formule II.2. Le terme II.14 représente l'interaction de champ cristallin pour une symétrie cubique. Les termes II.15 à II.17 sont nécessaires pour traiter C_{2v} et II.18 contient tous les paramètres additionnels pour abaisser la symétrie C_{2v} à C_1 . Les B_q^k sont traités comme des paramètres ajustables ; il faut donc disposer d'un nombre suffisant de valeurs expérimentales pour les calculer. Ils ont été définis pour certains composés que nous étudierons dans la suite ($C-Ln_2O_3$, Ln_2O_2S). Il existe quelques simplifications qu'on peut utiliser pour traiter les informations de façon semi-quantitative. La plus utilisée est qu'en première approximation les décompositions de 5D_1 et 7F_1 se décrivent avec II.15, en utilisant seulement B_0^2 et B_2^2 . L'éclatement des trois composantes de 7F_1 ne dépend, avec une très bonne approximation, que des paramètres B_q^2 . Il est commode, pour comparer des échantillons dopés Eu^{3+} , de considérer la force de champ cristallin d'ordre 2 donnée par :

$$B^2 = \sqrt{[(B_0^2)^2 + 2(B_2^2)^2]} \quad (II.19)$$

On mesure les énergies E des sous niveaux par rapport au barycentre de 7F_1 , et on peut calculer B_0^2 et B_2^2 selon [71] :

$$B_0^2 = 5.E_I B_2^2 = \frac{E_{II} - E_{III}}{0,45} \quad (II.20)$$

II.3.2 Nature et force des transitions dans Eu^{3+} ($4f^6$)

L'analyse des transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ peut se faire suivant les règles décrites brièvement au début de ce chapitre, et que nous allons détailler pour la configuration $4f^6$. Les règles de sélection décrites plus haut (II.2.3) sont regroupées dans le tableau II.2.

Les transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$, qui sont les transitions d'intérêt dans Eu^{3+} sont des transitions interdites, par la règle $\Delta S = 0$. Il faut alors faire intervenir l'hamiltonien de couplage spin-orbite (couplage L-S) qui mélange les termes de même J mais de L et S différents. Ainsi, les états 5D_0 et 7F_J pourront s'écrire :

$$\begin{aligned} |{}^5D_0\rangle &= A |{}^5D_0\rangle + \alpha |{}^7F_0\rangle \\ |{}^7F_J\rangle &= B |{}^7F_J\rangle + \beta |{}^5D_J\rangle \quad J=0-4 \end{aligned}$$

L'interaction entre les termes de même L et S et de J différents est possible (entre 5D_0 et 5D_J et entre 7F_0 et 7F_J). Les transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ seront partiellement permises grâce aux

Transitions DE	Transitions DM
Changement de parité	Pas de changement de parité
$\Delta S = 0$ permises	$\Delta S = 0$ permises
$\Delta J = \pm 2 ; \pm 4 ; \pm 6$ permises	$\Delta J = 0 ; \pm 1$ permises
Transition 0-0 interdite sauf pour les groupes de symétrie Cs, Cn et Cnv	Transition 0-0 interdite

TABLE II.2 – Règles de sélection

fractions $\alpha | ^7F_0 \rangle$ et $\beta | ^5D_J \rangle$.

Cependant les transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ demeurent interdites (transition 0-0 et $\Delta J = 3$ interdites). Toutefois, ces transitions sont très souvent observées, et pour les expliquer il faut alors considérer l'action de l'hamiltonien de champ cristallin qui introduit un mélange en J. Ainsi, le terme $| ^5D_0 \rangle$ qui contient déjà un composante $\alpha | ^7F_0 \rangle$ liée au couplage L-S, va aussi contenir une composante $\alpha' | ^5D_2 \rangle$. De même $| ^7F_0 \rangle$, qui contient une fraction $\beta | ^5D_0 \rangle$ pourra aussi contenir une composante $\beta' | ^7F_2 \rangle$. Ainsi les états $| ^5D_0 \rangle$ et $| ^7F_0 \rangle$ pourront s'écrire :

$$\begin{aligned}
 | ^5D_0 \rangle &= A | ^5D_0 \rangle + \alpha | ^7F_0 \rangle + \alpha' | ^5D_2 \rangle \\
 | ^7F_0 \rangle &= B | ^7F_0 \rangle + \beta | ^5D_0 \rangle + \beta' | ^7F_2 \rangle
 \end{aligned}$$

La transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ sera alors possible grâce aux fractions $\alpha | ^7F_0 \rangle$, $\beta' | ^7F_2 \rangle$, $\alpha' | ^5D_2 \rangle$ et $\beta | ^5D_0 \rangle$ et sera donc de nature dipolaire électrique.

De même les états 5D_0 et 7F_3 pourront s'écrire :

$$\begin{aligned}
 | ^5D_0 \rangle &= A | ^5D_0 \rangle + \alpha | ^7F_0 \rangle + \alpha' | ^5D_2 \rangle \\
 | ^7F_3 \rangle &= C | ^7F_3 \rangle + \gamma | ^5D_3 \rangle + \gamma' | ^7F_1 \rangle + \gamma'' | ^7F_2 \rangle
 \end{aligned}$$

et la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ sera possible grâce aux fractions $\alpha | ^7F_0 \rangle$, $\gamma' | ^7F_1 \rangle$, $\gamma'' | ^7F_2 \rangle$, $\gamma | ^5D_3 \rangle$ et $\alpha' | ^5D_2 \rangle$. Cette transition sera à la fois dipolaire électrique pour les interactions $\alpha | ^7F_0 \rangle \rightarrow \gamma'' | ^7F_2 \rangle$ et dipolaire magnétique pour les interactions $\alpha | ^7F_0 \rangle \rightarrow \gamma' | ^7F_1 \rangle$.

Lorsque l'ion Eu^{3+} est introduit dans un cristal, il subit le champ cristallin qui a les propriétés de symétrie du site ponctuel. L'hamiltonien H_{cc} va décomposer les niveaux J en sous niveaux donc les fonctions propres sont notées $| SLJM_J \rangle$ (ou $| JM_J \rangle$ pour simplifier). Chaque

fonction propre qui a une partie radiale et une partie angulaire, présente un caractère par rapport à chaque opération de symétrie dans le groupe ponctuel. Le nombre et le type de représentations irréductibles (Reps) pour chaque valeur de J et pour tous les groupes de symétrie ont été tabulés par J.L. Prather [63]. Pour qu'une transition soit permise il faut que le produit direct $\text{Rep} | JM_J \rangle \cdot \text{Rep}(\text{Op}) \cdot \text{Rep} | J'M'_J \rangle$ contienne la représentation symétrique, c'est à dire que $\text{Rep} | JM_J \rangle \times \text{Rep} | J'M'_J \rangle$ se transforme comme $\text{Rep}(\text{Op.})$ suivant les opérations de symétrie du groupe.

Nous considérerons en particulier les sites cristallographiques que nous aurons à prendre en compte par la suite. Dans le tableau II.3 (symétrie C_{2v}), (x,y,z) est un repère orthonormé attaché à l'ion Eu^{3+} et z parallèle à l'axe de symétrie principal C_2 . La transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ se transforme sous les opérations du groupe comme z et est permise DE. ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ est DM, les trois composantes peuvent être observées et se transforment comme Rz, Ry ou Rx. ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ est DE, et, bien qu'il y ait cinq sous niveaux 7F_2 , on ne pourra observer que 4 transitions. Pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$, on pourra observer $A_1 \rightarrow A_1$ à l'ordre DE et $A_1 \rightarrow 2A_2, 2B_1, 2B_2$ à l'ordre DM et DE. Pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$ (DE), seules sont permises sept des neuf transitions possibles.

Le cas du site C_{3i} (S6) est intéressant parce qu'il possède un centre d'inversion. D'après le tableau II.3, on conclut que toutes les transitions DE sont interdites, on ne pourra donc observer que ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ et ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$ à l'ordre DM. Seules deux composantes apparaîtront pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, puisque pour J=1 en C_{3i} il vient deux Reps : A (singulet) et E (doublet). Théoriquement on attend également cinq composantes ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$.

Pour le cas Eu^{3+} en C_{3v} , la table des caractères est présentée Tableau II.3. Enfin pour le cas des sites très peu symétriques C_s et C_2 , la levée de dégénérescence est complète sur tous les niveaux J, et chacune des Reps A ou B se transforme comme (x,y,z) et (Rx,Ry,Rz). On donc pourra observer toutes les transitions, à savoir 1, 3, 5, 7, 9 pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_{0-4}$.

Symétrie du site	Transition	DE ou DM	Décomposition de 7F_J	Transitions permises	Transformation comme	Nombre de raies permises
C_{2v}	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	DE	A_1	$A_1 \rightarrow A_1$	z	1
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	DM	$A_2 + B_1 + B_2$	$A_1 \rightarrow A_2, B_1, B_2$	Rz, Ry, Rx	3
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	DE	$2A_1 + A_2 + B_1 + B_2$	$A_1 \rightarrow 2A_1, B_1, B_2$	$2z, x, y$	4
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	DE + DM	$A_1 + 2A_2 + 2B_1 + 2B_2$	$A_1 \rightarrow A_1, 2A_2, 2B_1, 2B_2$	$z, 2Rz, 2(x+y), 2(y+Rx)$	7
C_{3i}	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$	DE	$3A_1 + 2A_2 + 2B_1 + 2B_2$	$A_1 \rightarrow 3A_1, 2B_1, 2B_2$	$3z, 2x, 2y$	7
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	DE	A_g	-	-	0
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	DM	$A_g + E_g$	$A_g \rightarrow A_g, E_g$	$Rz, (Ry+Rx)$	2
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	DE	$A_g + 2E_g$	-	-	0
C_{3v}	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	DE + DM	$3A_g + 2E_g$	$A_g \rightarrow 3A_g, 2E_g$	$3Rz, 2(Rx+Ry)$	5
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$	DE	$3A_g + 2E_g$	-	-	0
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	DE	A_1	$A_1 \rightarrow A_1$	z	1
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	DM	$A_2 + E$	$A_1 \rightarrow A_2, E$	$Rz, (Ry+Rx), (x+y)$	2
C_s, C_2	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	DE	$A_1 + 2E$	$A_1 \rightarrow A_1, 2E$	$z, 2Ry, 2Rx, 2x, 2y$	3
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	DE + DM	$A_1 + 2A_2 + 2E$	$A_1 \rightarrow A_1, 2A_2, 2E$	$z, 2Rz, 2(x+y), 2(Ry+Rx)$	5
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$	DE	$2A_1 + A_2 + 3E$	$A_1 \rightarrow 2A_1, A_2, 3E$	$2z, Rz, 3(x+y), 3(Ry+Rx)$	5
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	DE	A	$A \rightarrow A$	z, Rz	1
C_{3v}	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	DM	$A + 2B$	$A \rightarrow A, 2B$	$z, Rz, 2x, 2y, 2Ry, 2Rx$	3
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	DE	$3A + 2B$	$A \rightarrow 3A, 2B$	$3z, 3Rz, 2x, 2y, 2Ry, 2Rx$	5
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	DE + DM	$3A + 4B$	$A \rightarrow 3A, 4B$	$3z, 3Rz, 4x, 4y, 4Ry, 4Rx$	7
	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$	DE	$5A + 4B$	$A \rightarrow 5A, 4B$	$5z, 5Rz, 4x, 4y, 4Ry, 4Rx$	9

 TABLE II.3 – Tables de caractère appliquées à l'ion Eu^{3+} dans différents sites cristallographiques

Comme mentionné équation II.6, on peut exprimer les probabilités de transitions radiatives connaissant les $(\langle J | V | J' \rangle)^2$ et le facteur de champ local χ . Ceux ci s'expriment comme écrit dans le Tableau II.4.

Transitions DE	Transitions DM
$(\langle J V J' \rangle)^2 = e^2 \sum_{t=2,4,6} \Omega_t (\langle J U^{(t)} J' \rangle)^2$	$(\langle J V J' \rangle)^2 = \left(\frac{e\hbar}{2mc}\right)^2 (\langle J \vec{L} + 2\vec{S} J' \rangle)^2$
$\chi_{DE} = \frac{n(n^2+2)^2}{9}$	$\chi_{DM} = n^3$

TABLE II.4 – Expression de la force des raies spectrales J-J' pour les ions lanthanides Ln^{3+} situés dans un site non centrosymétrique

- Les éléments de matrice réduits $(\langle J || U^{(t)} || J' \rangle)^2$ caractérisent de façon intrinsèque la transition dipolaire électrique J-J', indépendamment de toute action du champ des ligands et sont tabulés
- Les paramètres de Judd-Ofelt Ω_t traduisent l'interaction de l'ion Ln^{3+} avec son environnement et donc la force du champ cristallin

La théorie de Judd-Ofelt, qui exprime le mélange des configurations $4f^n$ et $4f^{n-1}5d^1$ par le champ cristallin, permet d'exprimer les A_{DE}^{rad} avec un nombre réduit de paramètres $\Omega_t=2,4,6$. Dans le cas particulier de Eu^{3+} , nous pouvons appliquer de façon simple cette paramétrisation.

Puisque la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$ est purement DM, sa force ne dépend pas du champ cristallin. La valeur, calculée et usuellement retenue de $(\langle 0 || \vec{L} + 2\vec{S} || 1 \rangle)^2$ est $9,6 \cdot 10^{-6}$ debye² et $A_{0-1} = 15n^3$ (en s^{-1}) [72]. Lors d'une transition d'émission J-J', l'intensité exprimée en II.5 est proportionnelle à l'aire $S_{JJ'}$ sous le pic. Ainsi, pour la transition d'émission ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, la probabilité d'émission peut s'écrire :

$$A_{0-1} \propto \frac{S_{0-1}}{h\nu_{0-1}} N_0 \quad (\text{II.21})$$

Ceci permet d'exprimer les probabilités d'émission $A_{0-J'}$ à partir des spectres d'émission :

$$A_{0-J} = \frac{\nu_{0-1}}{\nu_{0-J}} \cdot \frac{S_{0-J}}{S_{0-1}} \cdot A_{0-1} \quad (\text{II.22})$$

Il vient donc :

$$A_{J'=0}^{rad} = \sum_{J=0-6} A_{0-J}^{rad} \quad (\text{II.23})$$

Par ailleurs, dans l'expression DE du Tableau II.4, pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$: $U^2 = U^6 = 0$ et pour ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$: $U^2 = U^6 = 0$. Les valeurs des paramètres Ω_2 et Ω_4 sont alors accessibles en comparant les intensités relatives observées. M. Werts et al. [72] ont comparé, pour des solutions de

Eu^{3+} , les $A_{J'=0}^{rad}$ et Ω_t calculés à partir du spectre d'émission comme décrit ci-dessus et à partir du spectre d'absorption (Equation II.4) étudié par K. Binnemans [73]. L'accord entre les deux méthodes est bon, en dépit des incertitudes expérimentales.

II.3.3 Comment exciter la luminescence de Eu^{3+}

Nous ne considérons ici que l'excitation par des photons du visible et du proche UV. En se référant au schéma Figure II.3 on voit que les absorptions auront lieu essentiellement depuis le niveau de base 7F_0 vers les niveaux excités ${}^5D_{0,1,2,3}$, 5L_J . A température ambiante toutefois, les sous-niveaux de 7F_1 sont faiblement peuplés et participent aussi à l'absorption. Toute absorption directement dans un des niveaux excités est suivie par l'émission par celui-ci et/ou par les niveaux émetteurs 5D inférieurs. Lorsqu'on considère l'efficacité relative d'excitation, c'est toujours la raie ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$ vers 390 nm qui est la plus efficace de ces transitions intra- $4f^n$. Les ions Eu^{3+} peuvent aussi être excités en dehors des résonances exactes avec les 5D . C'est pourquoi l'excitation par laser argon à 488 nm (20492 cm^{-1}) est utilisée : à température ambiante il y a relaxation vers les sous-niveaux inférieurs 5D_1 , 5D_0 , puis émission depuis ces derniers. Outre les absorptions intra- $4f^6$, toujours de faible intensité, il est possible de provoquer l'excitation des Eu^{3+} , soit dans la bande de transfert de charge, soit dans la bande d'absorption de la matrice hôte.

Le transfert de charge impliqué ici est du type LMCT (Ligand to Metal Charge Transfer). Il correspond au transfert d'électron des ligands anioniques vers l'ion central : $L^- - \text{Ln}^{3+} \rightarrow L^0 - \text{Ln}^{2+}$. Les transitions vers et depuis l'état de transfert de charge (CTS) se décrivent à l'aide d'un schéma de coordonnées de configuration $E = f(R)$ où R représente la distance métal-ligand (Figure II.4). Puisque les transitions avec la CTS mettent en jeu deux valences, les positions d'équilibre (R) pour Ln^{3+} et Ln^{2+} sont décalées.

Dans le cas de l'euporium, les processus les plus probables sont (Figure II.4) : l'absorption (flèche 1) $\text{Eu}^{3+} 4f^6({}^7F) \rightarrow \text{Eu}^{2+} 4f^7({}^8S_{7/2})$, la relaxation $B \rightarrow C$, le croisement inter-système (flèche 2) $\text{Eu}^{2+} 4f^7({}^8S_{7/2}) \rightarrow \text{Eu}^{3+} 4f^6({}^5D)$ puis l'émission ${}^5D \rightarrow {}^7F$ intra $4f^6$ (flèche 4).

Comme il a déjà été évoqué l'état avec la couche 4f à demi remplie ($4f^7$) est relativement stable : la CTS est située pour l'euporium à une énergie assez basse. Les nombreuses

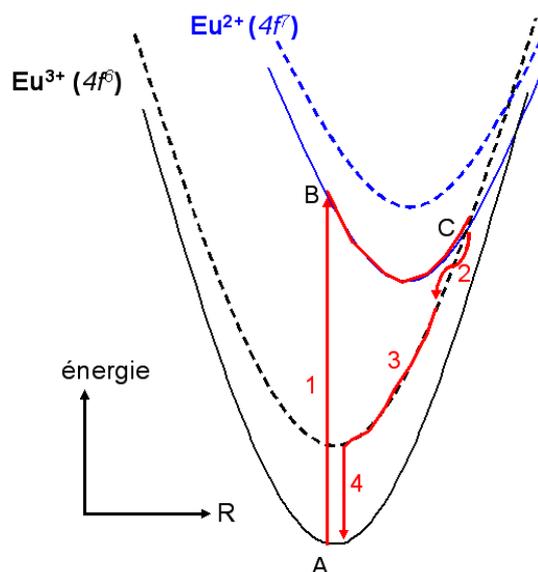


FIGURE II.4 – Processus d'excitation dans la bande de transfert de charge de l'europium (CTS)[74]

déterminations expérimentales ont été tabulées par P. Dorenbos [75]. On trouve par exemple l'énergie de la CTS O-Eu à 5,12 et 4,77 eV, soit 242 et 260 nm pour Y_2O_3 et Gd_2O_3 . Le soufre est plus facilement donneur d'électrons que l'oxygène : la CTS S-Eu est donc située à une énergie plus basse dans les oxysulfures (3,16 eV, soit 340 nm dans Y_2O_2S).

II.3.4 Désexcitations non radiatives

Si l'excitation est réalisée directement dans le niveau 5D_0 et que le déclin observé $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$ est exponentiel alors l'équation II.24 s'applique :

$$W_{obs} = W_{rad} + W_{nonrad} \quad (II.24)$$

La probabilité de déclin non radiatif $W_{nonrad} = \frac{1}{\tau_{nonrad}}$ englobe encore plusieurs processus, liés aux phonons de la matrice et à leur couplage avec les photons. Un des processus de désexcitation non radiatives du 5D_0 les plus étudiés provient du couplage avec les vibrations ν_{OH} . En effet, $\nu_{OH} \approx 3400 \text{ cm}^{-1}$, et il suffit de 4 ν_{OH} pour compenser l'énergie $\Delta E \text{ } ^5D_0 \rightarrow ^7F_6$ ($\approx 12000 \text{ cm}^{-1}$). De nombreux travaux, effectués essentiellement sur des complexes d' Eu^{3+} en solution, relient le $\tau(^5D_0)$ au nombre de vibrations OH interagissant avec Eu^{3+} [76].

II.3.5 Efficacités

Plusieurs valeurs peuvent être utilisées pour définir l'efficacité d'une sonde optique. Cependant, il est important de considérer quels effets photo-physiques elles recouvrent, surtout si on souhaite comparer des marqueurs qui appartiennent à des classes différentes telles qu'elles sont décrites dans le chapitre I (QDs, molécules, complexes, matrices dopées).

L'efficacité d'un marqueur est reliée en premier lieu à l'intensité de la photoluminescence, proportionnelle au nombre de photons émis $N_{Ph.emis}$, à la longueur d'onde d'émission λ_{em} sous excitation à λ_{ex} , et qu'on peut exprimer par :

$$I \propto h \frac{c}{\lambda_{em}} \cdot K \cdot N_{Ph.incident} \cdot \epsilon \cdot \Phi_{\lambda_{em}/\lambda_{ex}} \quad (\text{II.25})$$

Dans cette expression K regroupe tous les paramètres expérimentaux, $N_{Ph.incident}$ représente le nombre de photons de λ_{ex} arrivant sur l'échantillon, ϵ est le coefficient qui définit la partie absorbée du rayonnement incident et Φ est le rendement quantique de photoluminescence.

La réponse de l'échantillon est donc définie par le produit

$$\epsilon \cdot \Phi_{\lambda_{em}/\lambda_{ex}} = \epsilon \cdot \frac{Nb_{Ph.emis}}{Nb_{Ph.absorbes}} \quad (\text{II.26})$$

Cette valeur est la plus pertinente pour caractériser l'efficacité d'un marqueur puisqu'elle tient compte du phénomène d'absorption qui, dans le cas des marqueurs à base de lanthanides, peut être le phénomène limitant. Ramené au volume d'une nanoparticule, ce produit est la "brillance" du marqueur.

La détermination expérimentale n'est cependant pas aisée. Dans l'équation II.25 la mesure de $K \cdot N_{Ph.incident}$ et de I nécessite des équipements parfaitement étalonnés. C'est pourquoi la méthode généralement utilisée est de comparer l'intensité de luminescence du composé à celle d'un fluorophore de référence dont le rendement quantique est connu. Cette méthode s'applique bien pour des mesures en solution, avec ϵ égal à la densité optique (DO). Le standard doit posséder des bandes d'absorption et d'émission proches de celles du matériau à caractériser. Pour être valides, les intensités doivent être mesurées dans des conditions expérimentales d'excitation, de fentes et de détection identiques sur la référence et l'échantillon, et doivent être ramenées à un même nombre de photons incidents [77]. Dans ces conditions on peut écrire :

$$\frac{\Phi_{ech}}{\Phi_{ref}} = \frac{I_{ech}}{I_{ref}} \cdot \frac{DO_{ref}}{DO_{ech}} \quad (\text{II.27})$$

Toutefois, les effets de concentration et l'emploi de solvants différents rendent les mesurées délicates et parfois sujettes à de grandes variations. Les effets de solvants peuvent être limitées en introduisant les indices de réfraction n et n_R des solvants employés pour le matériau et la référence.

$$\frac{\Phi_{ech}}{\Phi_{ref}} = \frac{I_{ech}}{I_{ref}} \cdot \frac{DO_{ref}}{DO_{ech}} \cdot \frac{n^2}{n_{ref}^2} \quad (\text{II.28})$$

Dans le cas des poudres, la partie absorbée ϵ doit être déterminée à partir du spectre de réflexion diffuse, ce qui nécessite un protocole expérimental bien adapté. Dans le cas des suspensions, la détermination de la partie absorbée sur un fond de diffusion important reste un problème qui n'est pas résolu de façon systématique.

Pour les composés d'euprium, les rendements quantiques peuvent être mesurés si l'absorption est efficace et la photoluminescence induite intense, c'est à dire lorsque l'excitation a lieu par exemple dans l'antenne organique (cf I.1.3.1). Le rendement quantique Φ mesuré sous excitation dans l'antenne organique est le produit du peuplement antenne $\rightarrow {}^5D_0$ et de l'efficacité d'émission depuis 5D_0 .

A partir de la mesure des probabilités de désexcitation (II.3.4), il est assez facile de définir l'efficacité d'émission depuis 5D_0 avec l'équation II.29, dans laquelle on tient compte des processus radiatifs et non radiatifs.

$$q^{0-J} = \frac{W^{rad}}{W^{rad} + W^{nrad}} \quad (\text{II.29})$$

Dans la suite de ce travail, nous calculerons les valeurs des efficacités $q({}^5D_0) = \sum q_{0-6}$ avec $W^{rad} = \sum A_{0-6}^{rad}$ (eq. II.22 et II.23), et de la probabilité totale de désexcitation (W^{rad} et W^{nrad}).

CHAPITRE III

SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DES PARTICULES

Contents

III.1 <u>Introduction</u>	51
III.2 <u>Préparation des nanoparticules de Ln(OH)CO₃ :Eu³⁺ (Ln = Y ou Gd)</u> . .	53
III.2.1 Synthèse par précipitation contrôlée	53
III.2.1.1 <i>La précipitation contrôlée : principe de la réaction</i>	53
III.2.1.2 <i>Mode opératoire</i>	54
III.2.2 Cinétique de réaction	54
III.2.2.1 <i>Evolution générale</i>	55
III.2.2.2 <i>Caractérisation des poudres obtenues à t16 (420 min)</i>	56
III.2.2.3 <i>Caractérisation des solides obtenus à différents temps de réaction (de t4 (100 min) à t13 (270 min))</i>	64
III.3 <u>Synthèse et caractérisation des nanoparticules de Ln₂O₃ :Eu³⁺ (Ln = Y ou Gd)</u>	70
III.3.1 Structure cristalline des sesquioxydes de terres rares	70
III.3.2 Synthèse à partir des hydroxycarbonates	71
III.3.3 Caractérisations	72
III.3.3.1 <i>Caractérisation chimique et structurale</i>	72
III.3.3.2 <i>Caractérisation morphologique</i>	73
III.3.3.3 <i>Caractérisation optique des poudres</i>	75
III.4 <u>Synthèse et caractérisation des NPs de Ln₂O₂S :Eu³⁺ (Ln = Y ou Gd)</u> . .	77

III.4.1	Structure cristalline des oxysulfures de lanthanides	78
III.4.2	La sulfuration	78
III.4.2.1	<i>Le montage</i>	79
III.4.2.2	<i>Le protocole</i>	80
III.4.3	Caractérisations des NPs obtenues	81
III.4.3.1	<i>Caractérisations morphologiques et structurales</i>	81
III.4.3.2	<i>Caractérisations optiques</i>	83
III.5	Synthèse et caractérisation des NPs de SiO₂ :Eu³⁺	85
III.5.1	Synthèse par spray pyrolyse	86
III.5.1.1	<i>La technique du spray pyrolyse</i>	86
III.5.1.2	<i>Mode opératoire</i>	88
III.5.2	Caractérisation des NPs obtenues	88
III.5.2.1	<i>Caractérisations morphologiques</i>	88
III.5.2.2	<i>Caractérisation chimique et structurale</i>	89
III.5.2.3	<i>Caractérisation optique</i>	90
III.6	Efficacités de luminescence	91
III.7	Bilan	95

III.1 Introduction

Notre travail s'est orienté vers la synthèse de nanoparticules d'oxyde et d'oxysulfure de lanthanides dopées par l'euporium Eu^{3+} . En effet nous avons sélectionné les matériaux connus pour être de très bons luminophores en essayant de les adapter aux conditions du marquage luminescent en biologie

Il existe de nombreuses voies de synthèse conduisant à l'obtention de nanocristaux Ln_2O_3 , allant des réactions en voie solide à des synthèses, plus douces en voies liquide, en passant par des réactions en phase vapeur à haute température. En utilisant cette dernière méthode, des matériaux de tailles nanométriques, plus ou moins bien cristallisés, ont pu être obtenus. La phase monoclinique haute température B- Ln_2O_3 a ainsi pu être stabilisée à température ambiante pour $\text{Ln} = \text{Y}, \text{Eu}$ et Eu [78]. Pour $\text{Ln} = \text{Gd}$, la phase cubique a pu être obtenue après traitement à 700-800°C [79]. Dans des conditions d'ultra-vide, des clusters de quelques motifs élémentaires sont stabilisés. Pour certaines conditions expérimentales, la coexistence des formes B (monoclinique) et C (cubique) de $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ a été observée et clairement illustrée par la superposition des spectres de luminescence correspondant (Figure III.1 [80]). La coexistence des phases monocliniques et cubiques a également été observée lors de la synthèse de nanocristaux d' $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ par pyrolyse de flamme [81].

Mais l'élaboration de matériaux luminescents, d'autant plus si ces derniers ont une visée biologique, impose le contrôle de nombreuses propriétés : en particulier la composition chimique, la structure cristalline, la morphologie et la taille des particules. En ce sens, les procédés par chimie douce semblent particulièrement appropriés puisqu'ils permettent le contrôle d'un grand nombre de paramètres tels que l'homogénéité et la taille des particules obtenues, ou en-

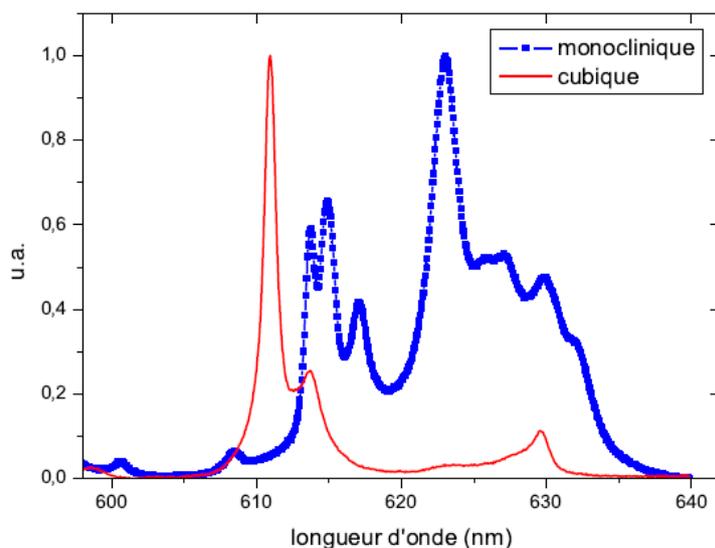


FIGURE III.1 – Spectres de luminescence du multiplet ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ de l'ion Eu^{3+} dans Gd_2O_3 massif en phases cubique et monoclinique enregistrés à température ambiante après excitation dans la bande de transfert de charge (d'après [82])

core la mise en forme des matériaux, contrairement aux synthèses par voie solide.

Diverses méthodes par chimie douce permettant la synthèse de NPs d'oxydes de lanthanides ont été reportées. Le point commun à toutes ces voies réside dans le fait qu'elles consistent à transformer des solutions d'ions Ln^{3+} dissouts en milieu aqueux ou organique, en matériaux solides, en passant par une série d'intermédiaires plus ou moins condensés. Parmi ces méthodes on peut citer les réactions sol-gel [83], les synthèses par combustion [84], les réactions chimiques en micro-émulsion [85] ou encore les synthèses par voie polyol [86]. La précipitation de particules sphériques et sub-microniques en taille, à partir d'une solution aqueuse de sels de Ln^{3+} à température modérée (600-700°C) par spray pyrolyse a été développée par plusieurs groupe de recherche, dont le notre [87, 88]. Après un traitement thermique à 1000°, des micro-particules sphériques d'oxyde cubique cristallisé ont été obtenues.

La précipitation à partir de sels de l'hydroxyde en solution aqueuse dans des conditions hydrothermales est également une méthode fréquemment employée. Les hydroxydes sont ensuite convertis en oxydes par un traitement thermique approprié. Il est clair que la forme et la taille des particules d'hydroxyde, et donc d'oxyde, dépendent fortement des conditions d'élaboration. Dans la Ref [89] des nanocristaux d' $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Er}^{3+}$ de forme cubique et de dimen-

sion 10-45 nm sont obtenus. Plus souvent, la précipitation par voie hydrothermale conduit à des bâtonnets [90] ou des nanotubes [91, 92]. La précipitation des carbonates de terre rares en milieu aqueux avec l'urée comme agent précipitant a aussi été décrite. E. Matijevic et al. ont reporté la préparation des colloïdes d'un grand nombre de précurseurs d'oxydes métalliques, y compris ceux des lanthanides [93, 94, 95]. Cette méthode a été appliquée à la précipitation de phosphors $\text{M}_2\text{O}_3 : \text{Ln}^{3+}$ avec $\text{M} = \text{Y}, \text{Gd}$ ou Lu et $\text{Ln} = \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Er-Yb}, \text{Sm}$ ou Ce [96, 97, 98, 99, 100, 101].

C'est vers cette dernière méthode que nous nous sommes orientés, car elle présente l'avantage de se dérouler en milieu aqueux et permet d'obtenir des NPs sphériques dont la taille présente une fine distribution et peut être aisément modifiée. Cette synthèse se déroule en deux étapes : la première consiste en la précipitation des NPs sphériques de carbonates de lanthanides, et la seconde en un traitement thermique, ayant pour but de transformer les carbonates en oxyde. Ces deux étapes, sont présentées dans les deux premières parties de ce chapitre. Des méthodes spécifiques pour la préparation des oxysulfures nanostructurés ont été reportées, par exemple la combustion assistée par la thiourée [102], ou la décomposition sous atmosphère sulfurante de nitrates [103] ou d'oxalates [85]. Pour notre part nous avons choisi la sulfuration des hydroxycarbonates, permettant ainsi d'utiliser les mêmes précurseurs que pour les oxydes.

Enfin, des NPs luminescentes de silice dopées europium ont également été étudiées. Leur synthèse par le procédé spray pyrolyse (SP) est décrite dans la dernière partie de ce chapitre.

Chacun des matériaux obtenus ont été caractérisés d'un point de vue morphologique, chimique et structural. Les propriétés optiques des NPs ont également été analysées.

III.2 Préparation des nanoparticules de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd)

III.2.1 Synthèse par précipitation contrôlée

III.2.1.1 *La précipitation contrôlée : principe de la réaction*

Les NPs luminescentes de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd) ont été synthétisées à partir de précurseurs nitrates en milieu aqueux. La méthode utilisée se base sur la décomposition de l'urée pour une température supérieure à 70°C, décrite par Matijevic et Hsu [93]. Le mécanisme

réactionnel proposé par les auteurs peut être décomposé en trois étapes. Dans un 1^e temps, l'hydrolyse de l'urée en milieu aqueux entraîne la formation de cyanates d'ammonium ou de la forme ionique (équation (III.1)). Puis en solution neutre, les ions cyanates sont convertis en carbonates d'ammonium (équation (III.2)). Parallèlement, les nitrates de lanthanide sont lentement hydrolysés en milieu aqueux. Il peut alors y avoir précipitation d'hydroxycarbonate de lanthanide (équation (III.3)).



Nous avons donc sélectionné les conditions de synthèse par coprécipitation les mieux appropriées pour obtenir des particules sphériques monodisperses en taille.

III.2.1.2 Mode opératoire

Les concentrations optimales, déterminées par Matijevic et Hsu [93] afin d'obtenir des particules sphériques uniformes, ont été employées ici, à savoir : $5,6 \cdot 10^{-3}$ M pour les précurseurs de lanthanides (yttrium ou gadolinium et europium, avec un rapport Ln/Eu = 0,95/0,05), et 0,5 M en urée. Les précurseurs nitrates, ainsi que l'urée sont alors dissous dans l'eau distillée et la solution est placée dans un ballon fermé hermétiquement, et agitée à 85°C pendant environ 2h. Il se forme ainsi un précipité blanc. La suspension est alors centrifugée afin d'isoler le précipité, qui est ensuite lavé plusieurs fois à l'eau distillée pour éliminer l'urée, les sels d'ammonium et les précurseurs qui n'auraient pas réagi. Il est ensuite séché à l'étuve à 80°C pendant une nuit.

III.2.2 Cinétique de réaction

Nous avons étudié en détail la cinétique de réaction pour le cas où Ln = Gd. A cette fin, des prélèvements de 25 mL ont été réalisés à différents temps de réaction. Le pH a également été mesuré après retour à la température ambiante. Ces prélèvements ont été centrifugés, lavés à l'eau distillée et séchés, et les poudres obtenues ont été analysées par MET, WAXS, FTIR et luminescence, afin de suivre l'évolution de la taille et de la composition des particules au cours de la réaction.

III.2.2.1 Evolution générale

Dans un premier temps, les poudres obtenues à différents temps de réaction, de t_0 à t_{16} (0 à 420 min), suivant la notation du tableau III.1 ont été observées par microscopie électronique à transmission. Quelques images caractéristiques des temps de réaction sont présentées Figure III.2.

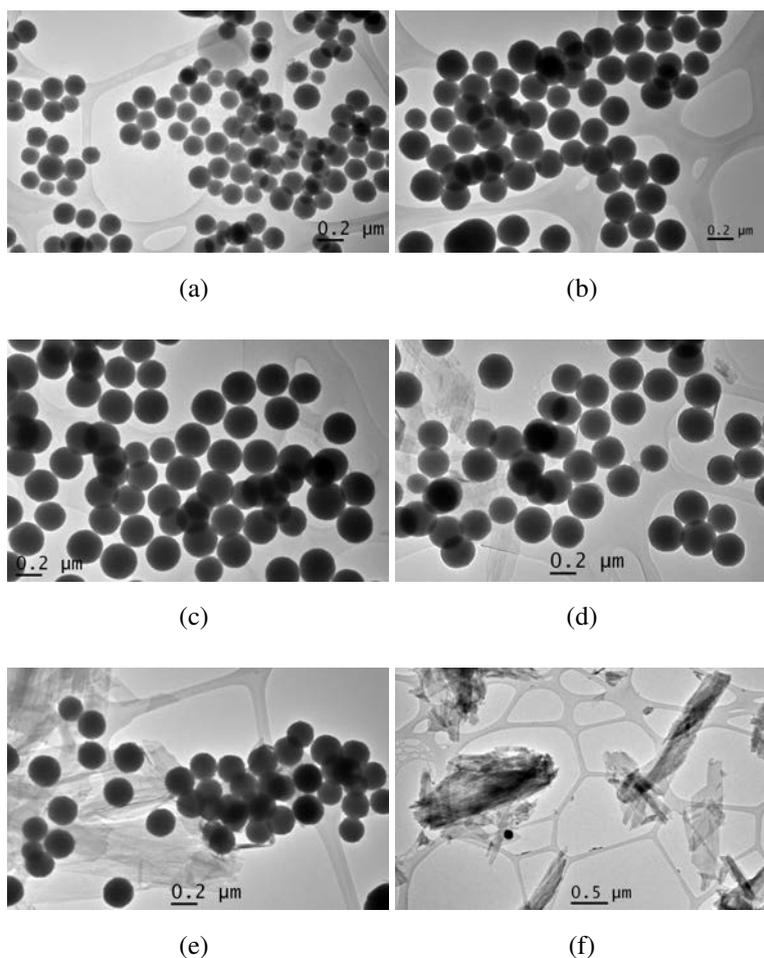


FIGURE III.2 – Clichés TEM des particules prélevées à différents temps de maturation (a) 120 min (t_6), (b) 180 min (t_{10}), (c) 240 min (t_{12}), (d) 270 min (t_{13}), (e) 300 min (t_{14}) et (f) 420 min (t_{16})

De t_6 à t_{12} (figures III.2(a) à (c)), les images montrent des particules sphériques et monodisperses en taille. Le diamètre moyen mesuré statistiquement sur ces particules est de 164 ± 22 nm pour t_6 et 260 ± 15 pour t_{12} . A partir de t_{13} , quelques particules se présentant sous forme de plaquettes plus ou moins allongées apparaissent. Ces plaquettes vont alors grossir au

cours de la réaction, tandis que le diamètre des particules sphériques va diminuer. Au cours de la réaction, entre t13 et t16, les particules sphériques vont disparaître peu à peu, et laisser place à des agrégats de plaquettes plus ou moins importants (Figures III.2(d) à (f)). Ces observations sont récapitulées Table III.1.

Le suivi du pH au cours de la réaction est présenté figure III.3. Sur cette courbe sont également reportées les observations visuelles faites sur la solution. La courbe peut alors être divisée en trois zones. Dans la première zone allant jusqu'à 75 min (t3), bien que le pH augmente et passe de 3,1 à 5,9, aucune modification de la solution n'est observable et cette dernière reste transparente. Puis entre t4 et t12 (90 et 240 min) le pH va se stabiliser autour de 6. La solution va alors se troubler, l'opalescence s'accroissant avec le temps de maturation, jusqu'à donner une suspension blanche. Cette étape correspond à la précipitation et la croissance de particules sphériques, monodisperses en taille, observées par MET. Enfin, le changement de morphologie observé par MET à partir de t13 s'accompagne d'une nouvelle augmentation du pH qui va se stabiliser autour de 7,5. Lors de cette étape la suspension va devenir instable et flocculer.

Nom	Temps de réaction	pH	Taille (nm)	Forme
t6	120 min	6,0	164±22	Sphère
t10	180 min	6,2	230±23	Sphère
t12	240 min	6,2	260±19	Sphère
t13	270 min	6,3	257±39	Sphère (+ plaquettes)
t14	300 min	6,6	221±19	Sphère + plaquettes
t16	420 min	7,7	-	Plaquettes

TABLE III.1 – Récapitulatif des échantillons et de leurs caractéristiques morphologiques pour différents prélèvements

III.2.2.2 Caractérisation des poudres obtenues à t16 (420 min)

L'échantillon t16, obtenu pour le plus long temps de réaction à 420 min a été analysé par WAXS, ATG, FTIR et photoluminescence.

Sur le diffractogramme X obtenu en utilisant les conditions WAXS nécessaires pour les petites quantités d'échantillon disponibles (figure III.4), il apparaît des pics fins correspon-

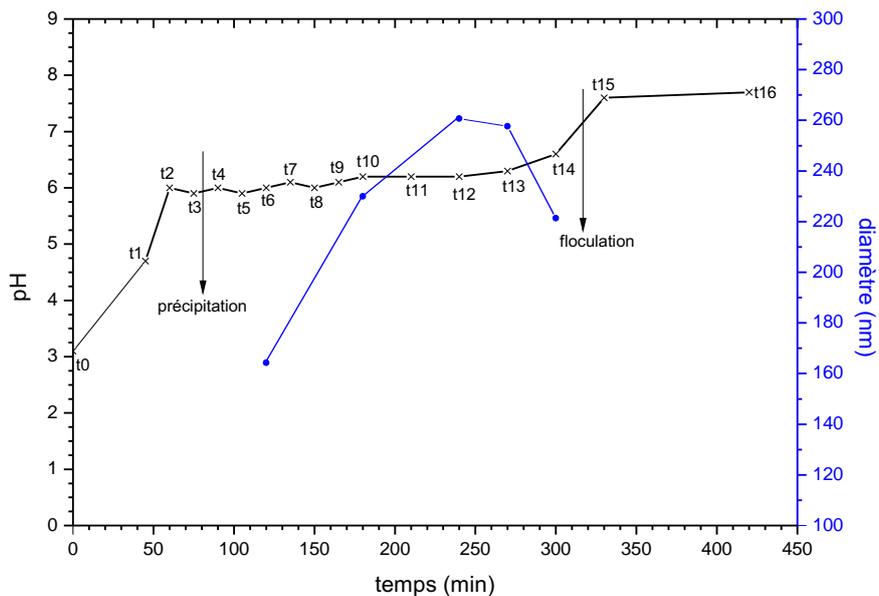


FIGURE III.3 – Evolution du pH du milieu et de la taille des particules en fonction du temps

La diffraction par des cristaux. Ces pics peuvent sans ambiguïté être attribués à la phase $\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2\text{-}3\text{H}_2\text{O}$ par comparaison avec la fiche cristallographique JCPDS 37-0559.

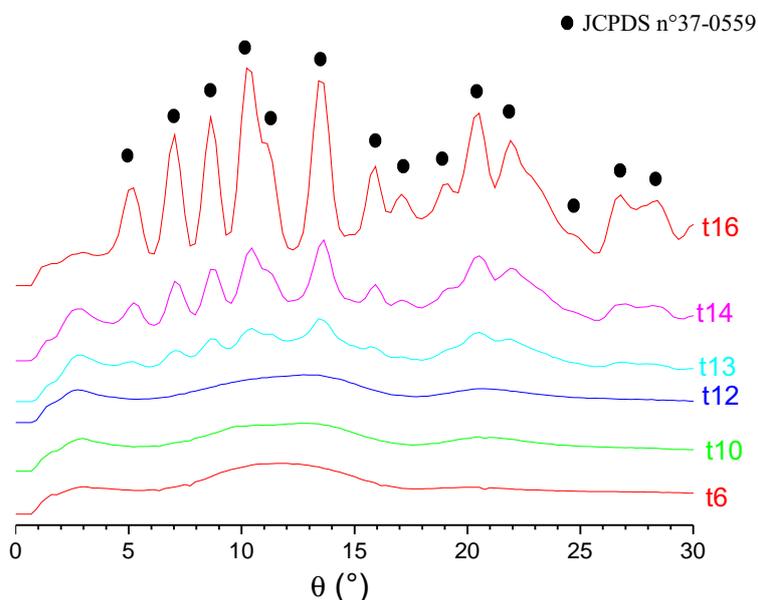
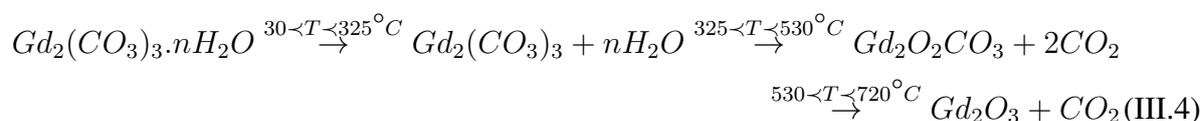


FIGURE III.4 – Analyses WAXS : diffractogrammes corrigés réalisés sur des particules prélevées à différents temps de maturation

La courbe d'analyse thermique, présentée figure III.5, est globalement concordante avec les

observations réalisées par Park et al. [104] qui reportent la synthèse du carbonate de gadolinium hydraté $Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2-3H_2O$ par précipitation à $90^\circ C$ de $5 \cdot 10^{-3}$ M de sels de gadolinium avec 0,5 M d'urée. Pour l'échantillon t16, la perte de masse mesurée entre 30 et $720^\circ C$ est de 37 %, valeur légèrement plus élevée que les 34 % calculés pour la formulation $Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$. La décomposition peut être divisée en quatre étapes, déterminées à partir de la courbe dérivée. Les deux premières étapes, jusqu'à $325^\circ C$, correspondent à la deshydratation du matériau, avec, aux plus basses températures, l'évaporation de l'eau adsorbée, suivie de l'élimination de l'eau de structure quand la température augmente. La décomposition des carbonates va se produire entre 325 et $720^\circ C$, et peut également être divisée en deux étapes. Dans un premier temps, entre 325 et $530^\circ C$, deux molécules de CO_2 vont être éliminées donnant un dioxymonocarbonate ($Gd_2O_2CO_3$), puis, au dessus de $530^\circ C$, une dernière molécule de CO_2 va être éliminée, conduisant à la formation de l'oxyde (Gd_2O_3). Cette dernière transformation est matérialisée par un changement brutal de la pente de la courbe d'analyse thermique à $560^\circ C$. Le mécanisme de décomposition des carbonates de gadolinium hydratés en oxyde peut être résumé par l'équation III.4.



Le spectre IR de l'échantillon t16 (figure III.6) présente des bandes très fines et très bien définies entre 650 et 1550 cm^{-1} , attribuées aux différents modes de vibration des carbonates CO_3^{2-} , la finesse des bandes étant caractéristique d'un matériau bien cristallisé. Les bandes correspondant aux vibrations ν_{H_2O} et δ_{H_2O} apparaissent également à 3420 et 1646 cm^{-1} . Le détail de l'attribution des bandes est présenté table III.2. Nos observations sont concordantes avec celles réalisées par Park et al. [104] sur des échantillons préparés par décomposition de l'urée et avec celles réalisées précédemment par Sungur et al. [105] sur des échantillons obtenus par hydrolyse et cristallisation lente du trichloroacétate de gadolinium.

Pour l'échantillon t16, cinq composantes ont pu être identifiées pour le mode $\nu_{3CO_3^{2-}}$, alors que le mode $\nu_{1CO_3^{2-}}$ n'apparaît presque pas. Les faibles différences entre le spectre de t16 et ceux présentés par Park et al. et Sungur et al. [104, 105] illustrent la dépendance du spectre IR aux conditions de préparation du matériau. De plus, l'observation de trois composantes $\nu_{2CO_3^{2-}}$ et cinq composantes $\nu_{3CO_3^{2-}}$ supporte l'existence de deux types de groupement carbonates, alors

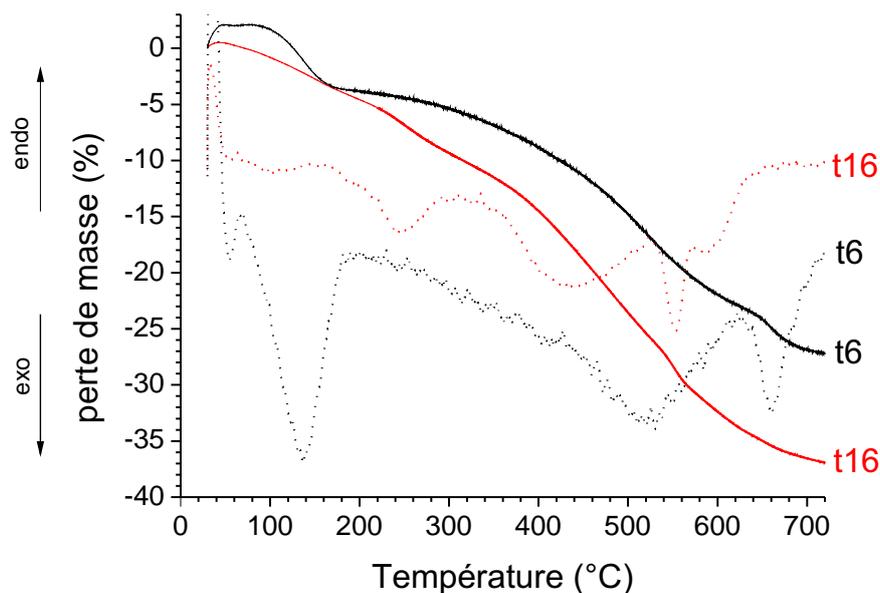


FIGURE III.5 – Courbes d'analyse thermique (traits) et courbes dérivées (pointillés) des échantillons t6 et t16

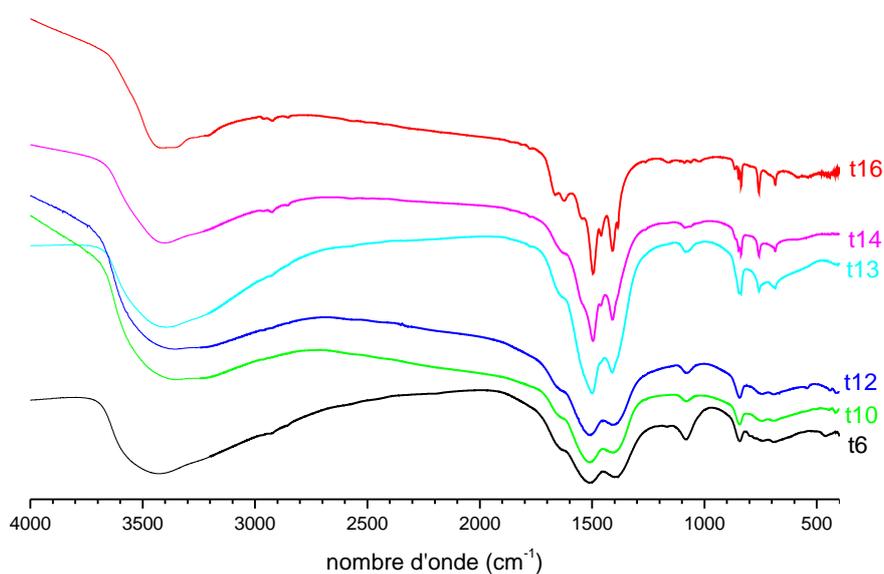


FIGURE III.6 – Spectres IR des particules prélevées à différents temps de maturation

que les deux $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ indiquent l'existence de deux types de molécules d'eau.

Si dans la littérature, la structure cristalline de $\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2\text{-}3\text{H}_2\text{O}$ n'est pas répertoriée, toutes les caractérisations ont montré que le carbonate de gadolinium cristallise dans une phase

	ν_3 (cm ⁻¹) élongation asymétrique	ν_1 (cm ⁻¹) élongation symétrique	ν_2 (cm ⁻¹) déformation dans le plan	ν_4 (cm ⁻¹) déformation hors du plan	$\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ (cm ⁻¹)
t6 (Gd(OH)CO ₃)	1400 1512	1081	848	650-800	1640
t10	1400 1512	1081	848	650-800	-
t12	1400 1512	1081	848	685 752	-
t13	1413 1501	1081	848	685 759	-
t14	1413 1462 1494 1551	1081	837 847	685 759	-
t16 (Gd ₂ (CO ₃) ₃ .2H ₂ O)	1384 1410 1462 1494 1551	-	837 857 865	685 759	1620 1646

TABLE III.2 – Fréquences d'absorptions et attributions des bandes IR observées pour différents prélèvements

orthorombique de structure tengérite, isomorphe du carbonate d'yttrium hydraté. La structure cristalline de la tengérite-(Y) a été redéfinie par Miyawaki et al. [106] et semble pertinente pour décrire la structure tengérite-(Gd). En effet, dans la cellule unitaire, deux types de carbonates apparaissent, ce qui est concordant avec les analyses FTIR. Il y a un seul type de molécule d'eau de cristallisation défini pour cette structure, mais des molécules H₂O supplémentaires adsorbées lors de la cristallisation sont toujours révélées par analyses thermiques, en accord avec le fait que deux $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ sont détectés, à 1620 et 1646 cm⁻¹.

La structure tengérite peut être décrite comme un empilement de feuillets ondulés, constitués

de polyèdres Y (resp. Gd), neuf fois coordonnés (figure III.7(a)). Un des deux types de groupe-ment carbonate est situé à l'intérieur des feuillets et participe au polyèdre de coordination du cation, tandis que l'autre type de carbonate lie deux feuillets entre eux pour former une structure tri-dimensionnelle. Les molécules d'eau de la structure participent au polyèdre de coordination du cation Y (resp. Gd). Dans cette structure, la terre rare est donc coordonnée par huit atomes d'oxygène provenant des groupements carbonates et un provenant d'une molécule d'eau (fi-gure III.7(b)). Le carbonate de gadolinium hydraté $\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a donc une structure en feuillets, ce qui concorde bien avec la morphologie de plaquettes observée pour les particules obtenues après un temps de maturation long.

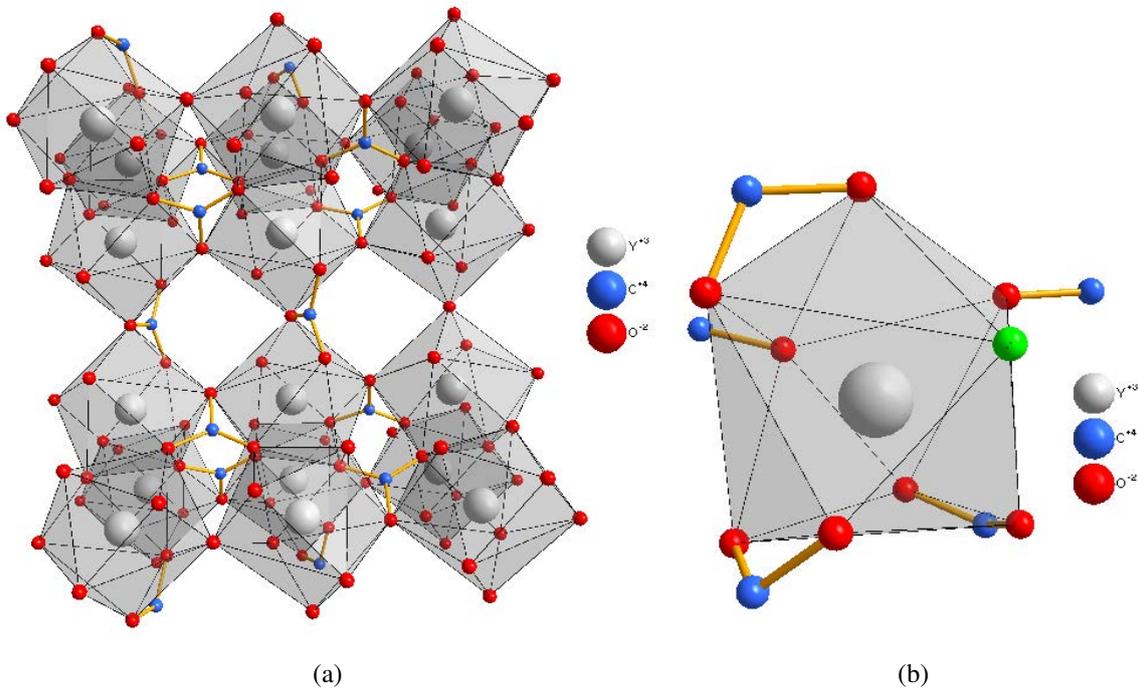


FIGURE III.7 – (a) Structure cristallographique et (b) polyèdre de coordination de la tengérite(-Y)

Le spectre d'émission de luminescence de l' Eu^{3+} , substitué au Gd^{3+} dans le carbonate de gadolinium hydraté est présenté figure III.8 et n'avait pas été décrit jusqu'alors.

Les transitions ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_J$ ($J=0-4$) sont clairement identifiables et sont répertoriées sur la figure. Une seule transition ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_0$ est observable, indiquant que l' Eu^{3+} occupe un seul site cristallographique. D'après la structure de la tengérite(-Y), la terre rare occupe un site C1, les $2J+1$ composantes de chaque transition ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_J$ peuvent donc être observées (tableau II.3).

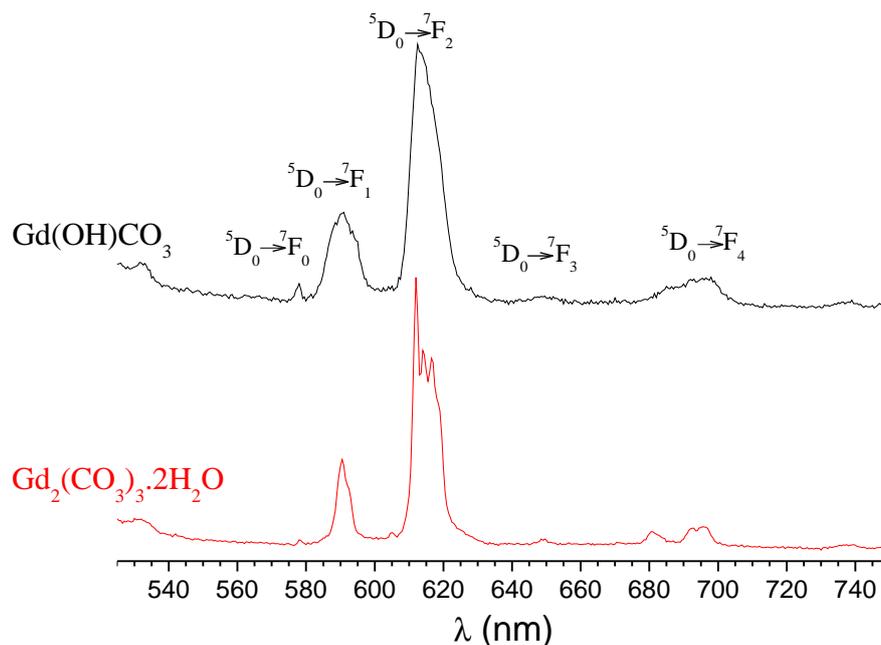


FIGURE III.8 – Spectres d'émission enregistrés après excitation à 254 nm pour les échantillons t6 ($Gd(OH)CO_3$) et t16 ($Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$)

Echantillon	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$
t16		590,5	605		680,5
(Tengérite-(Gd))	578	592,5	612	649,5	692,5
($Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$)			614		695,5
			616,5		

B^2 (d'après II.19)		≈ 203			

t6		588,5			
(Amorphous)	578	591,5	612,5	648,5	696
($Gd(OH)CO_3$)		593,5			

B^2 (d'après II.19)		≈ 422			

TABLE III.3 – Longueurs d'onde d'émission de l'ion Eu^{3+} caractéristiques dans les échantillons t6, t16 et t6-annealed

En réalité, les transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, 7F_2 , 7F_3 et 7F_4 sont décomposées en 2, 4, 1 et 3 composantes, les longueurs d'onde correspondantes sont présentées dans le tableau III.3. Le splitting de la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$, de 97 cm^{-1} est remarquablement faible, indiquant une faible valeur des paramètres de champ cristallin de rang $k = 2$ (données dans le tableau III.3).

Le déclin du niveau émetteur $^5\text{D}_0$ mesuré à 612 nm sous excitation à 254 nm est présenté Figure III.9. Pour toutes les mesures de durée de vie les courbes expérimentales ont été modélisées par des exponentielles $I(t) = I_0 \exp(-t/\tau)$. Les valeurs de τ sont calculées avec une incertitude de 15%. Pour t16 $\tau = 0,67 \pm 0,10$ ms.

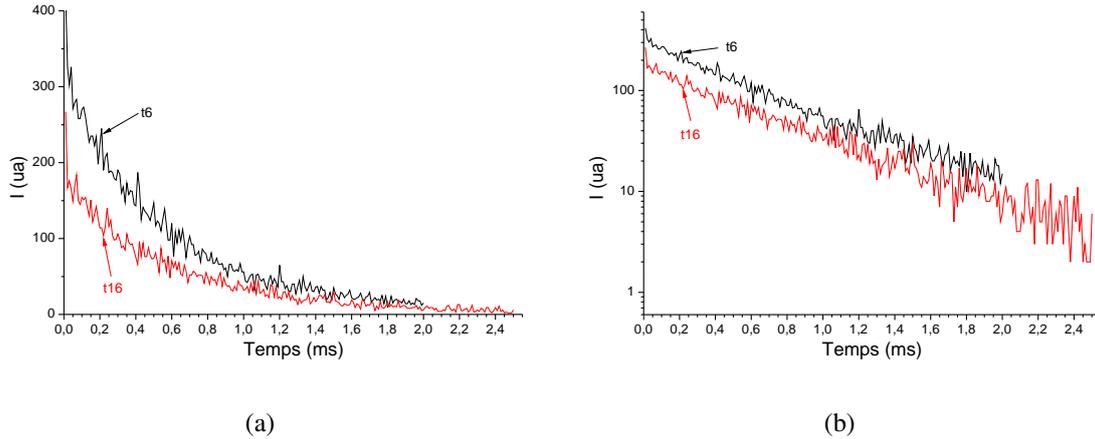


FIGURE III.9 – Déclin de luminescence du niveau émetteur $^5\text{D}_0$ mesuré à 612 nm sous excitation à 254 nm pour les échantillons t6 et t16 : (a) en échelle décimale et (b) en échelle semi-logarithmique

Sur le spectre d'excitation (Figure III.21b), on reconnaît les raies fines de $^7\text{F}_0 \rightarrow ^5\text{D}_{1,2,3}$, $^5\text{L}_6$ de Eu^{3+} . L'absorption dans la bande de transfert de charge est décalée vers les longueurs d'onde inférieures à 260 nm. A 270 nm apparaît la transition $^8\text{S}_{7/2} \rightarrow ^6\text{I}_J$ de Gd^{3+} . Sa présence dans le spectre d'excitation de la photoluminescence prouve que le transfert d'énergie $\text{Gd}^{3+} (^6\text{I}_J) \rightarrow \text{Eu}^{3+} (^5\text{D}_J)$ est efficace.

Bien que le spectre de luminescence de t16 n'ait pas été décrit dans la littérature, ce matériau a quand même été étudié par plusieurs auteurs qui ont analysé les différents composés obtenus en faisant varier les conditions de précipitation. Ainsi Park et al. [104] ont utilisé des solutions concentrées en lanthanides ($[\text{Gd}+\text{Eu}] = 0,05$ M) et en urée ($[\text{urée}] = 0,5$ à $2,5$ M) (contre 0,005 et 0,5 M respectivement pour nos expériences) et ont étudié les matériaux obtenus pour des températures de synthèse de 80 et 100 °C. Ils ont ainsi montré que pour une température de 80°C, les matériaux se présentent sous une forme de plaquettes de tengérite $\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

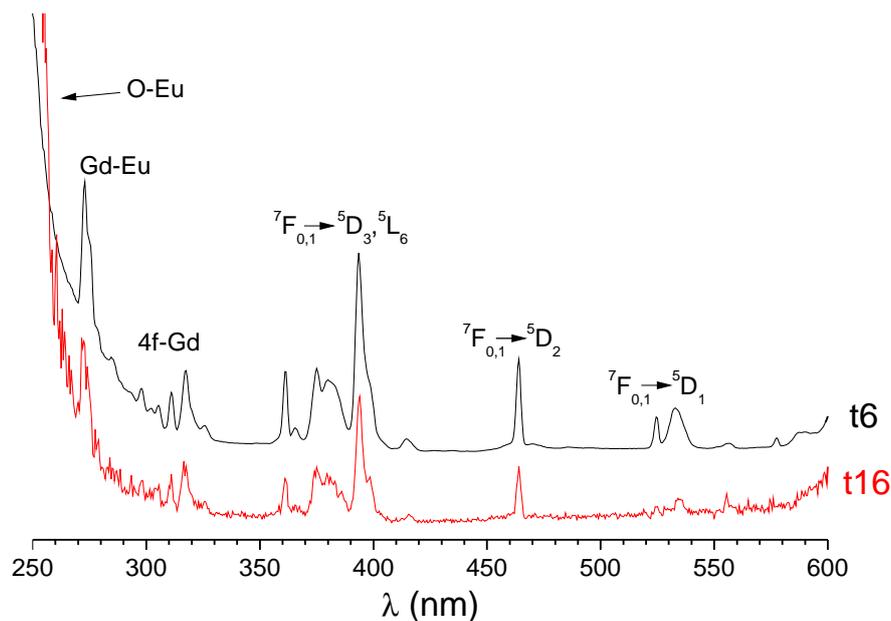


FIGURE III.10 – Spectres d’excitation observés à 612 nm pour les échantillons t6 ($Gd(OH)CO_3$) et t16 ($Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$)

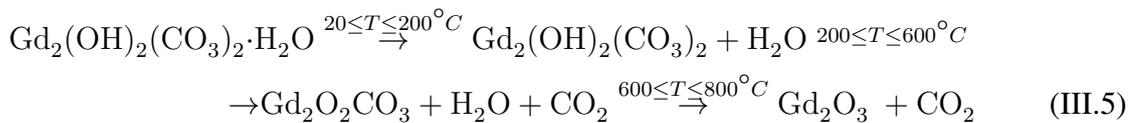
$3H_2O$, tandis que lorsque la température est fixée à $100^\circ C$, l’oxycarbonate $Gd_2OCO_3 \cdot H_2O$ est obtenu. Des NPs de tengérite(-Y) ont également été préparées par Zhang et al. [107], qui ont utilisé des solutions concentrées ($[Y] = 0,05 M$ et $[urée] = 0,05$ à $0,15 M$), chauffées à l’autoclave à $150^\circ C$ pendant 22h. Ils ont ainsi observé des particules sphériques de $Y_2(CO_3)_3 \cdot 2 H_2O$ pour un rapport $[Y]/[urée] = 1/3$, ces particules se transformant en plaquettes agglomérées sous forme d’haltères lorsque le rapport varie à $1/1$. Lors de nos observations de l’échantillon obtenu à t16, à partir de solutions diluées ($5,6 \cdot 10^{-3} M$ en Ln^{3+}) et à température modérée ($85^\circ C$) aucune trace d’hydroxycarbonate $GdOHCO_3$ ou d’oxycarbonate cristallisé n’ont pu être observées. Par comparaison avec les travaux antérieurs, il apparaît que le contrôle précis de ces paramètres de synthèse joue un rôle majeur sur la nature de la morphologie des solides précipités.

III.2.2.3 Caractérisation des solides obtenus à différents temps de réaction (de t4 (100 min) à t13 (270 min))

Les spectres IR de différents échantillons sont présentés figure III.6. Pour les courts temps de maturation, les spectres présentent les différents modes de vibration des groupements carbonates, qui sont regroupés dans le tableau III.2. Toutes les bandes apparaissant sur ces spectres sont plus larges que celles observées pour t16 et les modes de vibration $\nu_1 CO_3^{2-}$ apparaissent

clairement à 1081 cm^{-1} . Les modes de vibration de déformation de l'eau $\delta_{\text{H}_2\text{O}}$ sont également visibles à 1646 cm^{-1} , ainsi qu'une très large bande $\nu_{\text{H}_2\text{O}}$. Les spectres IR des échantillons t13 et t14 présentent les mêmes bandes, de mieux en mieux résolues lorsque le temps de maturation augmente.

Les conditions de précipitation choisies pour nos synthèses sont celles décrites par Matijevic et al. [93] qui concluent à la formule $\text{Gd}(\text{OH})\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, hydroxycarbonate ou carbonate "basique", après analyse chimique. Une formule très proche, avec 0,5 molécule d'eau a également été reportée par Moscardini et al. [108], qui ont étudié la décomposition thermique d'une série de carbonates de lanthanide. Toutefois, dans cette étude, les poudres préparées par réaction de $1,4 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ de Gd^{3+} et 1 M d'urée dans l'eau bouillante étaient cristallisées, ce qui n'est pas le cas de nos échantillons. La courbe d'analyse thermique de l'échantillon t6 (figure III.5) présente tout d'abord une légère prise de masse, suivie d'une perte soudaine en dessous de $200 \text{ }^\circ\text{C}$, la perte de masse de 4% étant due à la déshydratation du matériau et l'élimination d'une molécule d'eau pour deux atomes de gadolinium. La deuxième perte de masse, de 24% est en accord avec l'élimination d'une molécule d'eau et de deux molécules de CO_2 (pour 2 Gd). La perte totale, entre 20 et $800 \text{ }^\circ\text{C}$, est donc de 28%, ce qui est concordant avec les 26% calculés pour $\text{Gd}_2(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. En outre, une perte soudaine de masse à 660°C peut être observée et correspond à la décomposition du dioxy-monocarbonate en oxyde. Le mécanisme de décomposition de l'échantillon t6 concorde bien avec un hydroxycarbonate hydraté et peut être résumé par l'équation III.5.



Sur les diffractogrammes WAXS mesurés sur t14 et t13 on retrouve des pics de diffraction de la tengérite (figure III.4), qui apparaissent sur un fond de diffusion d'autant plus intense que le temps de réaction est court. Les fonctions de distribution radiales (RDFs) obtenues à partir des diffractogrammes sont reportées sur la figure III.11. Pour les échantillons t6-t10, on reconnaît sur la RDF (figure III.11) un pic correspondant à une large distribution de distances de liaisons Gd-O, centrée à $0,245 \text{ nm}$ et un autre qui traduit une distance Gd-Gd, mieux définie, à $0,40 \text{ nm}$.

Les coordonnées cristallographiques extraites de la tengérite(-Y) ne sont pas satisfaisantes

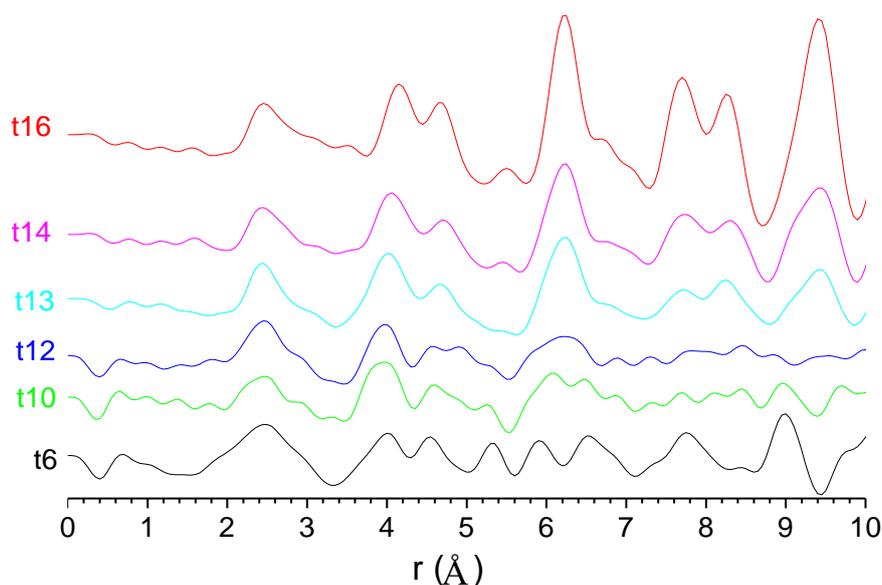


FIGURE III.11 – Analyses WAXS : fonctions de distribution radiales enregistrées sur les particules prélevées à différents temps de maturation

pour simuler les RDFs expérimentales. En revanche, nous avons utilisé un modèle plus approprié trouvé dans la Ref. [109]. Dans ce travail, par synthèse solvothermale à partir de $6,9 \cdot 10^{-3} \text{M}$ de nitrate de gadolinium et $6,9 \text{ M}$ d'urée, des monocristaux dénommés “SLUG 8” sont analysés par diffraction X. Comme il est spécifié dans cette référence, SLUG 8 est similaire à la tengérite en remplaçant partiellement des molécules d'eau avec des molécules d'ammoniaque.

Pour simuler la RDF des échantillons jusqu'à t12, un modèle de très petite taille s'impose, afin de ne pas introduire des distances plus longues que celles observées expérimentalement. Un très petit fragment d'un feuillet de la structure de SLUG8 (Figure III.12(a)) a été extrait, et les coordonnées atomiques correspondantes introduites dans le programme de simulation. Un accord qualitatif est obtenu pour les distances qui impliquent le gadolinium qui est de loin l'élément le plus lourd dans la maille (Figure III.12(b)). Cela indique que l'organisation aux premiers temps de maturation est proche de celle présente dans SLUG8.

Pour simuler les RDF au-delà de t12, un fragment de feuillet plus important (Figure III.13(a)) a été construit et importé dans le programme de simulation. Bien que plus étendu, ce modèle ne génère pas de distances au-delà de $1,5 \text{ nm}$ et un accord qualitatif n'est observé que sur $0,7-$

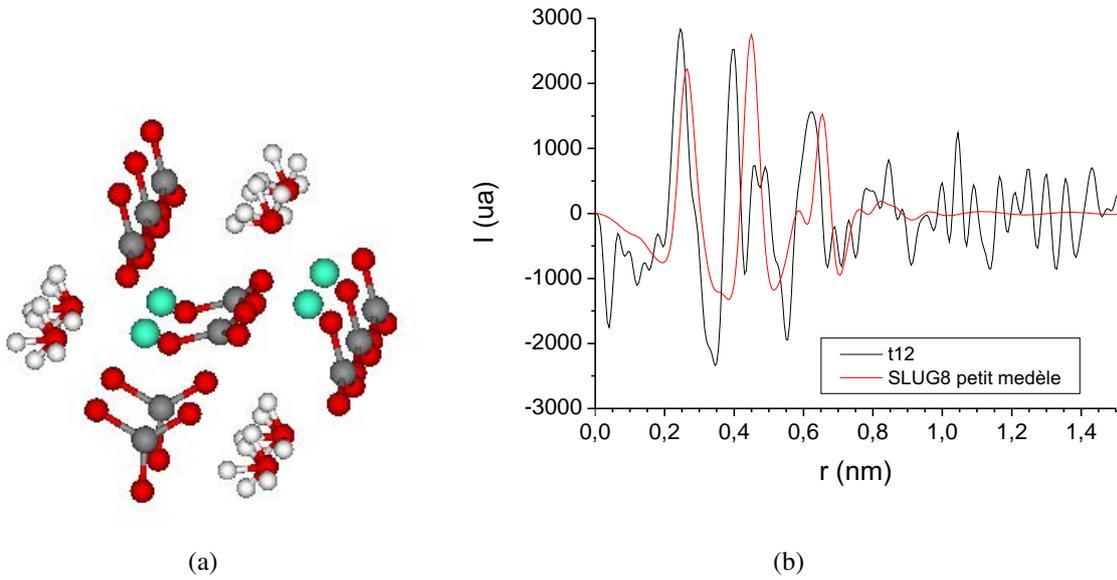


FIGURE III.12 – (a) Structure d'un petit fragment de SLUG8 et (b) comparaison des RDF expérimentales et calculées pour ce fragment

0,8nm (Figure III.13(b)). SLUG8 semble présenter un ordre local comparable à celui présent dans l'échantillon t14 mais à ce stade de l'étude, la mise en ordre à plus longue distance reste mal définie. Cela indique donc qu'avec l'accroissement de la cristallisation, une autre approche, plus cristallographique devient nécessaire.

D'autres informations structurales peuvent également être obtenues grâce à la sonde optique Eu^{3+} . Les spectres de photoluminescence des échantillons prélevés à différents temps de maturation ont été mesurés à l'aide d'un appareillage micro-raman qui ne nécessite qu'une très faible quantité d'échantillon. La longueur d'onde d'excitation utilisée (488 nm ou 20492 cm^{-1}) permet d'exciter tous les ions Eu^{3+} à une énergie très légèrement supérieure à celle du niveau $^5\text{D}_1$ (19100 cm^{-1}), qui sera alors atteint, ainsi que le niveau $^5\text{D}_0$ par désexcitations non-radiatives.

La figure III.14 présente les spectres d'émission des différents échantillons, centrés sur les transitions $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^7\text{F}_1$ et $^7\text{F}_2$. Une évolution de la forme des spectres apparaît entre t6 et t16. Comparés au spectre de t16, les spectres des échantillons t4 à t13 sont caractérisés par une transition $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ relativement peu intense, trois composantes pour la transition $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$ avec

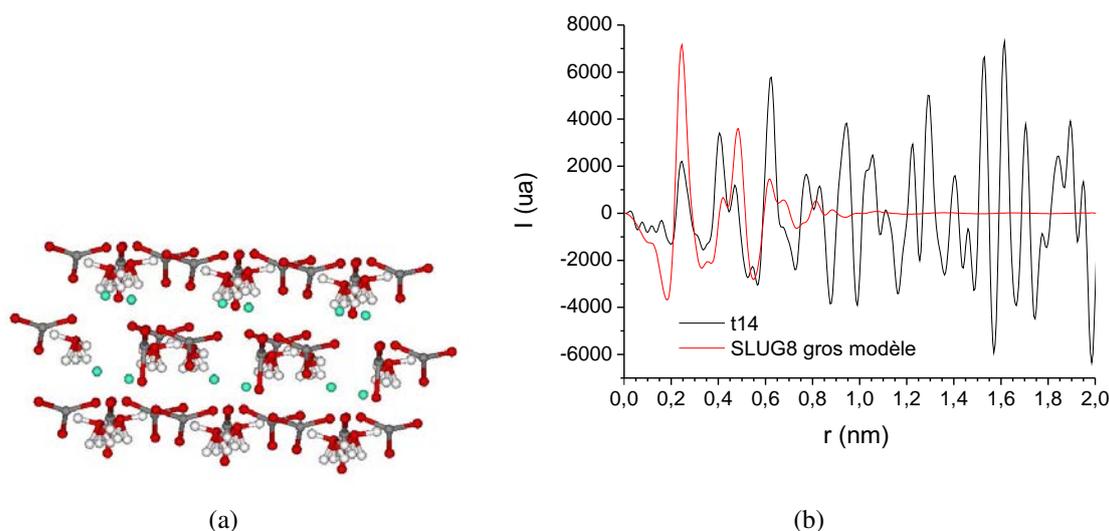


FIGURE III.13 – (a) Structure d'un gros fragment de SLUG8 et (b) comparaison des RDF expérimentales et calculées pour ce fragment

un splitting de 156 cm^{-1} et une bande ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_2$ très large. Pour ces échantillons, l'élargissement des raies est dû à l'inhomogénéité de champ cristallin local exercé sur chacun des ions Eu^{3+} , comme il a déjà été décrit dans de nombreuses études réalisées sur des phases amorphes ou des verres [71]. Des spectres similaires ont été observés pour les échantillons de t4 (110 min) à t13 (270 min). Pour les échantillons t13 et t14, le spectre de la tengérite, décrit pour t16, a été enregistré. Ces échantillons sont en fait constitués d'un mélange de particules amorphes (type t6) et cristallisées (type t16). Pour ces échantillons, les deux types de spectres peuvent alors être enregistrés selon les grains présents dans le champ d'observation. Les longueurs d'onde d'émission observées pour chaque transition de t6 sont présentées Table III.3. Sur cet échantillon, la durée de vie du niveau émissif ${}^5\text{D}_0$, mesurée à température ambiante sous excitation à 254 nm a également été évaluée à $0,64 \pm 0,10 \text{ ms}$, très proche de t16.

La durée de vie du niveau émetteur ${}^5\text{D}_0$ est un indicateur des modes de vibration des différents atomes entrant dans la sphère de coordination de l' Eu^{3+} . Dans le carbonate (t16), l'euporium, substitué au gadolinium est coordonné par neuf atomes d'oxygène, huit d'entre eux provenant de groupements carbonate (trois bidentates et deux monodentates) et le dernier provenant d'une molécule d'eau, c'est à dire créant deux vibrateurs OH [106]. La durée de vie est ainsi mesurée à $0,67 \pm 0,10 \text{ ms}$. Par ailleurs, les durées de vie de plusieurs complexes de

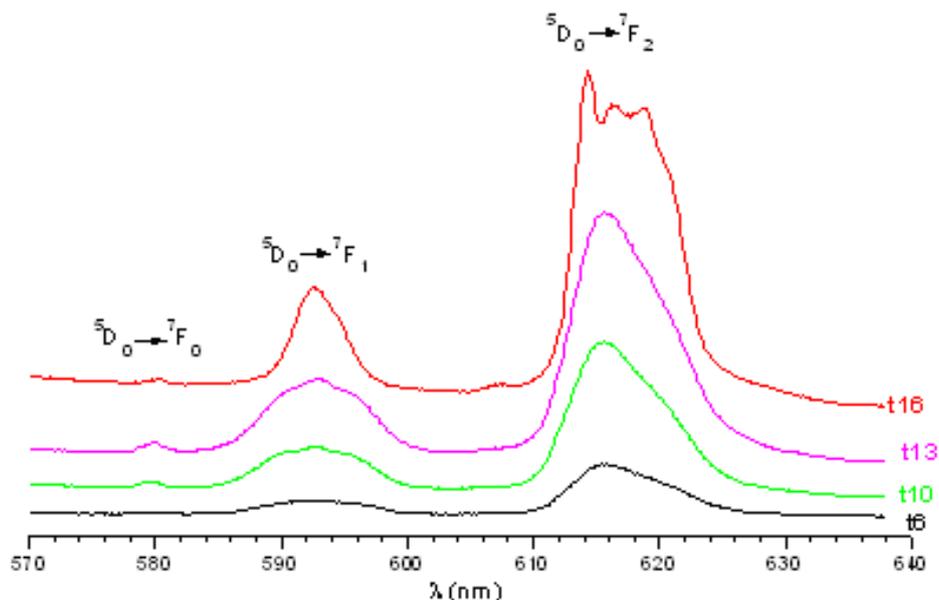
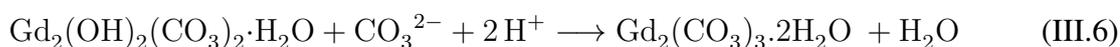


FIGURE III.14 – Spectres d'émission des particules prélevées à différents temps de maturation, $\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$. Les spectres sont présentés sans normalisation

carbonate en solution aqueuse ont été déterminés par Plancque et al. [110]. Ils ont, entre autres, mesuré la durée de vie du complexe triscarbonate $\text{Eu}(\text{CO}_3)_3^{3-} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à $0,44 \pm 0,04 \text{ ms}$. Dans ce complexe, la terre rare est coordonnée par six oxygènes de trois carbonates bidentates et par deux oxygènes de deux molécules d'eau (soit quatre vibrateurs OH). La durée de vie du niveau $^5\text{D}_0$, mesurée pour l'échantillon t6 est très proche de celle mesurée pour t16, et significativement plus longue que celle mesurée pour le triscarbonate. On peut donc conclure que dans t6, le nombre de vibrateurs OH liés est inférieur au cas de l'ion $\text{Eu}(\text{CO}_3)_3^{3-} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et proche du nombre connu dans t16, à savoir deux vibrateurs. Le polyèdre de coordination dans t6 est complété par des carbonates.

De cette étude étape par étape nous pouvons donc conclure qu'il y a réaction entre les hydroxycarbonates hydratés et les groupes carbonates supplémentaires, provenant de la décomposition de l'urée, afin de former le carbonate hydraté. Cette évolution peut être résumée par l'équation III.6.



Cette réaction a été suivie pas à pas par les différentes techniques de caractérisation. Quelques plaquettes ont pu être observées pour l'échantillon t13, leur taille et leur nombre augmentant

au fur et à mesure que les particules sphériques disparaissent. Parallèlement à ces observations, des pics de diffraction plus structurés apparaissent, dus à l'apparition des plaquettes de $Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$ et liés à la disparition des sphères entre t14 et t16. Nous concluons que la synthèse doit être arrêtée avant l'apparition des cristaux de $Gd_2(CO_3)_3 \cdot 2H_2O$ afin d'obtenir des NPs amorphes de $Gd(OH)CO_3$, monodisperses en taille.

III.3 Synthèse et caractérisation des nanoparticules de $Ln_2O_3 :Eu^{3+}$ (Ln = Y ou Gd)

III.3.1 Structure cristalline des sesquioxydes de terres rares

Les sesquioxydes de terres rares présentent plusieurs phases solides, comme le montre le diagramme de la figure III.15.

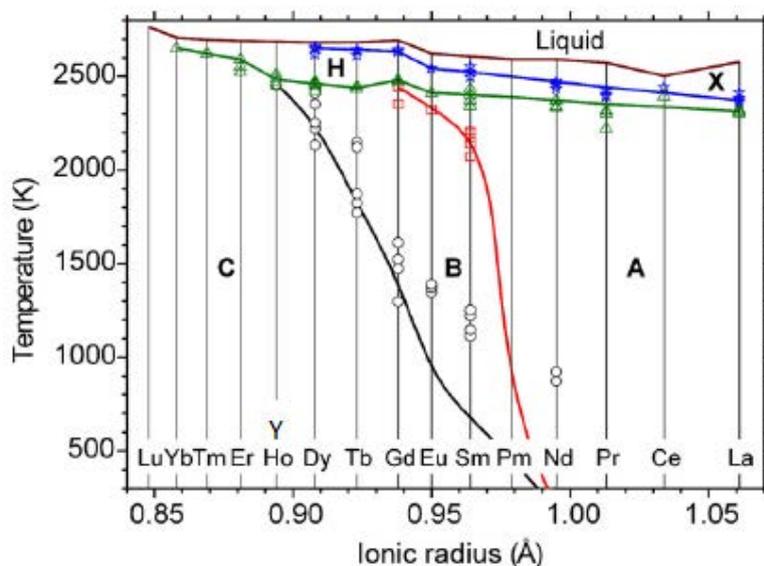


FIGURE III.15 – Polymorphisme des sesquioxydes de terres rares (d'après [111])

Ainsi Gd_2O_3 existe sous la forme cubique (C) à température ambiante, le changement de phase C (cubique) \rightarrow B(monoclinique) a été observé entre 1000 et 1300°C. Toutefois la forme monoclinique peut être aisément stabilisée à température ambiante après trempe [112]. Pour Eu_2O_3 , la transformation C \rightarrow B se produit à plus basse température [111] alors que pour Y_2O_3 la phase C est stable jusqu'à très haute température.

La structure cubique C- Ln_2O_3 , de groupe d'espace Ia3, dérive de la structure fluorine MO_2 ,

qui peut se décrire comme la juxtaposition de deux cubes MO_8 . La structure $\text{C-Ln}_2\text{O}_3$ peut être décrite avec deux types de cubes LnO_6 , ce qui fait apparaître deux sites cristallographiques différents pour les ions Ln^{3+} (figure III.16b). Les sites pour lesquels deux lacunes d'oxygène se situent sur une diagonale du cube sont de symétrie ponctuelle S_6 et les sites pour lesquels deux lacunes se situent sur la diagonale d'une des faces sont de symétrie C_2 . Cette structure composée de 1/4 de cubes S_6 et 3/4 de cubes C_2 compte 80 atomes par maille. Le paramètre de maille est de 10,81 Å pour Gd_2O_3 [113] et 10,61 Å pour Y_2O_3 [114]. La structure de la maille cristalline est schématisée Figure III.16(a). La structure monoclinique correspond quant-à-elle à une distorsion de la structure cubique et présente trois sites cristallographiques différents pour Ln^{3+} .

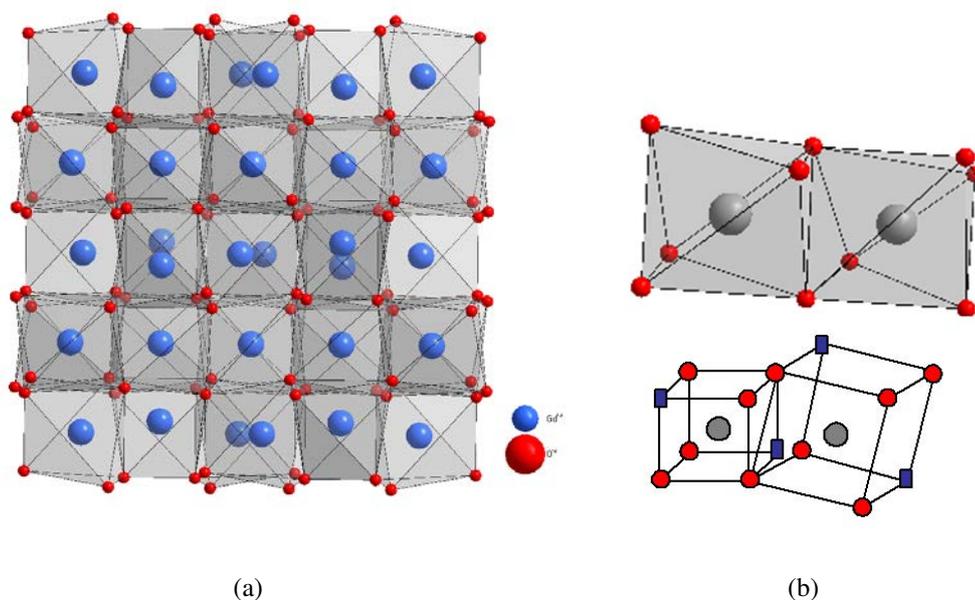
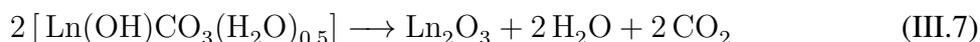


FIGURE III.16 – (a) Représentations de la structure $\text{C-Ln}_2\text{O}_3$ et (b) des polyèdres de coordination rencontrés dans cette structure

III.3.2 Synthèse à partir des hydroxycarbonates

Les NPs d'oxyde de lanthanide sphériques et monodisperses en taille ont été obtenues par traitement thermique des NPs d'hydroxycarbonate décrites précédemment. La température de calcination a été déterminée à partir des analyses thermiques réalisées sur les particules d'hydroxycarbonate qui montrent que les oxydes sont obtenus à partir de 700°C. Les NPs d'hy-

droxycarbonates obtenues par précipitation ont alors été traitées à une température légèrement supérieure de 850°C pendant 4 heures afin de les convertir en oxyde selon l'équation C.1.



De cette manière, des oxydes d'yttrium Y_2O_3 et de gadolinium Gd_2O_3 , tous les deux dopés à l'eupratrium ont été produits.

III.3.3 Caractérisations

III.3.3.1 Caractérisation chimique et structurale

Les caractérisations chimiques et structurales ont été réalisées par spectroscopie infrarouge et diffraction des rayons X. Si le DRX de la poudre non traitée thermiquement ne présentait pas (ou peu) de pics observables avec un diffractomètre de poudre classique, celui de la poudre après recuit figure III.17 présente de nombreux pics qui peuvent tous être indexés selon la fiche JCPDS N° 72-927 de l'oxyde d'yttrium en phase cubique C- Y_2O_3 .

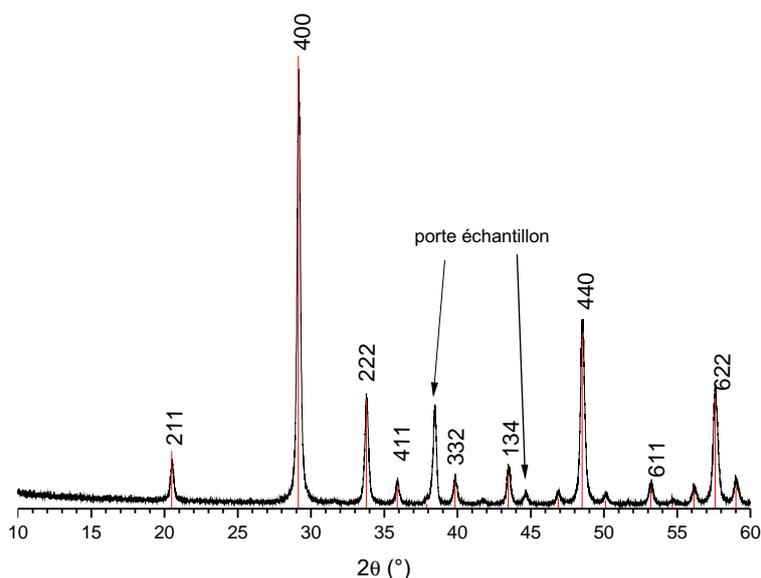


FIGURE III.17 – DRX d'une poudre d' Y_2O_3 obtenue après recuit à 850°C pendant 4h

Cependant les analyses réalisées par spectroscopie IR révèlent que lors des recuits à 850°C la décomposition des carbonates de lanthanide en oxyde correspondant n'est pas totale (figure III.18). Ainsi le spectre IR de la poudre séchée présente des bandes intenses à 1500, 1400,

1070 et 845 cm^{-1} , caractéristiques des vibration ν_3 , ν_1 et ν_2 des liaisons C-O des carbonates III.2. Ce spectre présente également une bande large et intense centrée à 3430 cm^{-1} , et un épaulement à 1630 cm^{-1} , tout deux dus aux vibrations des liaisons OH des hydroxyls et/ou des molécules d'eau adsorbées à la surface des particules. Lors de la calcination, l'intensité de ces bandes diminue, montrant ainsi la transformation progressive du carbonate en oxyde. Toutefois, à 850°C , les bandes correspondant aux carbonates demeurent encore clairement observables, ce qui signifie qu'à cette température, la conversion des carbonates en oxyde n'est pas complète.

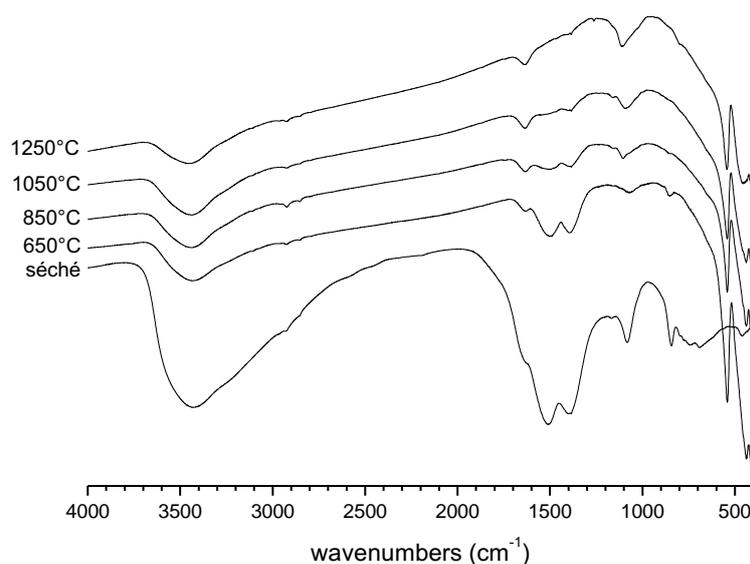


FIGURE III.18 – Spectres IR à différentes températures de traitement de $(YOHCO_3)_2 \cdot H_2O$

III.3.3.2 Caractérisation morphologique

Afin d'étudier les caractéristiques morphologiques des particules, ces dernières ont été observées par microscopie électronique à transmission (MET). Les particules obtenues après séchage sont sphériques, monodisperses en taille et nanométriques, avec un diamètre moyen de $169 \pm 7\text{ nm}$ (Figure III.19(a)). Cette figure montre également que les particules ne s'agglomèrent pas lors du traitement thermique (Figure III.19(b)), et qu'elles gardent leur forme sphérique ainsi que leur taille (Figure III.19 (c)). La diffraction électronique révèle également que chaque particule est polycristalline, constituée de nanocristaux de 20 nm environ (Figure III.19(d) et (e)). Le diamètre moyen apparent des particules déterminé par PCS (Photon Correlation Spectroscopy) est d'environ 250 nm , avec une faible dispersité (Figure III.20), ce qui confirme la monodispersité en taille observée par TEM. La différence entre les tailles mesurées

par PCS et TEM réside dans le fait que la technique de PCS donne une valeur prenant en compte la couche électrostatique entourant la particule.

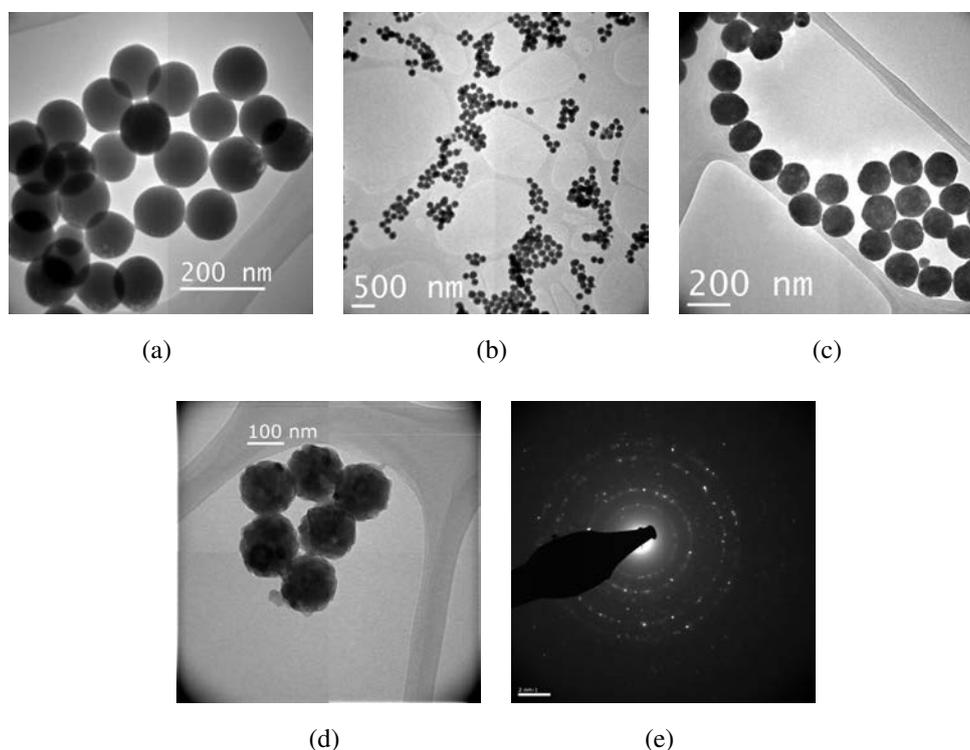


FIGURE III.19 – Clichés de microscopie électronique en transmission des particules (a) YOx , (b) et (c) Y_2O_3 , (d) des cristallites et (e) de la diffraction des cristallites

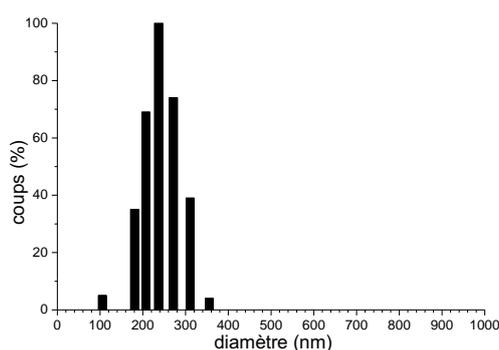


FIGURE III.20 – Distribution de taille des NPs d' $Y_2O_3 :Eu^{3+}$ mesurée pas PCS

L'analyse morphologique a été complétée par une mesure de surface spécifique par adsorption-désorption d'azote liquide. En prenant pour hypothèse que les particules sont sphériques, denses et de mêmes tailles, et connaissant la surface spécifique de ces dernières, il est alors possible de remonter à une valeur moyenne de la taille des particules. Ainsi, avec des surfaces spécifiques

(σ) de 6,55 m².g⁻¹ pour Y₂O₃ et 5,75 m².g⁻¹ pour Gd₂O₃, les diamètres calculés selon la formule III.8 sont de 179 nm et 137 nm respectivement, ce qui est très proche des valeurs déterminées par MET (169 et 122 nm respectivement). Cependant, il faut garder en mémoire que le diamètre des particules est très dépendant de la durée de maturation lors de la synthèse.

$$r = \frac{3000}{\sigma * d} \quad \text{(III.8)}$$

avec r = rayon de la particule (nm), $\sigma = \text{surfacespécifique en m}^2/\text{g}$ et d = densité en g/cm³

III.3.3.3 *Caractérisation optique des poudres*

Les oxydes d'yttrium et de gadolinium dopés europium cristallisent dans une même phase (cubique Ia $\bar{3}$). Excepté sur certains points de détail, les caractéristiques que nous décrivons sont les mêmes pour les deux matrices. Le spectre est dominé par un pic intense à 611 nm, qui confère la couleur rouge au matériau, et qui est caractéristique de la transition dipolaire électrique ⁵D₀→⁷F₂ des Eu³⁺ en symétrie C₂, soit les 3/4 des ions Eu³⁺. La luminescence de Eu³⁺ dans les trois matrices cubiques Y₂O₃, Gd₂O₃ et Lu₂O₃ sous forme de poudres microcristallines ou de monocristaux a été très souvent détaillée, par exemple dans les références [115, 116, 112, 117, 118, 119, 120]. Les positions spectrales des raies d'émission sont donc très bien connues, et nos observations, rassemblées dans le tableau III.4 sont en accord avec celles-ci. La plupart des raies d'émission sont attribuables au site C₂. La symétrie réelle (C₂) étant très proche de la symétrie C_{2v}, c'est avec cette symétrie approchée que les Repts ont été déterminées [?]. Il y a seulement deux composantes visibles en émission pour S₆ : les deux ⁵D₀→⁷F₁ à 589 et 594,5 nm.

Le spectre d'excitation, observé à 612 nm (⁵D₀→⁷F₂) est présenté (Figure III.21(b)) et peut être découpé en trois zones, correspondant chacune à un mode d'excitation différent. Dans la zone 340-550 nm, ce sont les transitions entre les niveaux 4f de l'ion Eu³⁺, correspondant à l'excitation directe de l'ion qui apparaissent. Les transitions ⁷F_{0,1}→⁵D_{J=0-3}, ⁵L₆ peuvent être observées. Les attributions détaillées des transitions sont notées dans la figure. Dans la zone de 220 à 280 nm, l'émission se fait via l'excitation dans la bande de transfert de charge (notée CT). Enfin, entre 280 et 340 nm, les fines raies qui apparaissent au pied de la bande de transfert de charge correspondent aux absorptions du gadolinium. Elles ne sont donc pas observées pour Y₂O₃.

Les déclin de luminescence du niveau ⁵D₀, observés à 612 nm sous excitation pulsée à

Transitions	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$	${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_4$
	579,9 (A ₁)	587,3	610,8 (A ₁)	650,1 (A ₂)	686,6 (A ₁)
λ (nm)		592,3 (A ₂)	613,5	652,1	692,2
et Rep.		598,5	623	656,5	705,5 (A ₁)
(d'après [121])			629,3 (A ₁)	660,5 (A ₂)	707,3
Site C _{2v}					709,9(A ₁)

B ² (d'après II.19)	≈ 950				
Représentations	A ₁	A ₂	2A ₁	A ₁	3A ₁
associées aux		B ₁	B ₁	2A ₂	2B ₁
transitions		B ₂	B ₂	2B ₁	2B ₂
permises				2B ₂	
λ (nm)	580,5				
	584,5				
Site C _{3i}					
Représentations associées	A _g				
aux transitions permises	E _g				

TABLE III.4 – Longueurs d'onde d'émission caractéristiques de l'ion Eu³⁺ dans C-Gd₂O₃

254 nm sont présentés figure III.22(a). Ces déclin, tracés avec une échelle semi-logarithmique (figure III.22(b)), sont, en première approximation, monoexponentiels, avec une durée de vie caractéristique τ de $1,43 \pm 0,2$ ms. Plusieurs auteurs ont observé, dans les oxydes nanostructurés, des phénomènes non visibles dans le massif, qu'ils relient à la taille des cristaux. S'il ne fait aucun doute que les Eu³⁺ en surface des cristaux soient soumis à un champ cristallin différent de ceux du volume, et donc puissent induire des émissions additionnelles [122], nous n'avons pour notre part, pas observé de tels effets sur nos spectres. En revanche, il est vrai que la valeur du $\tau^{{}^5D_0}$ que nous mesurons est plus élevée que celle donnée par exemple pour des phosphores commerciaux [118]. Elle pourrait être attribuée à la dimension des nanocristaux constituant la nanoparticule, en accord avec plusieurs observations reportées sur des nanoparticules ou des nanotubes [123, 124].

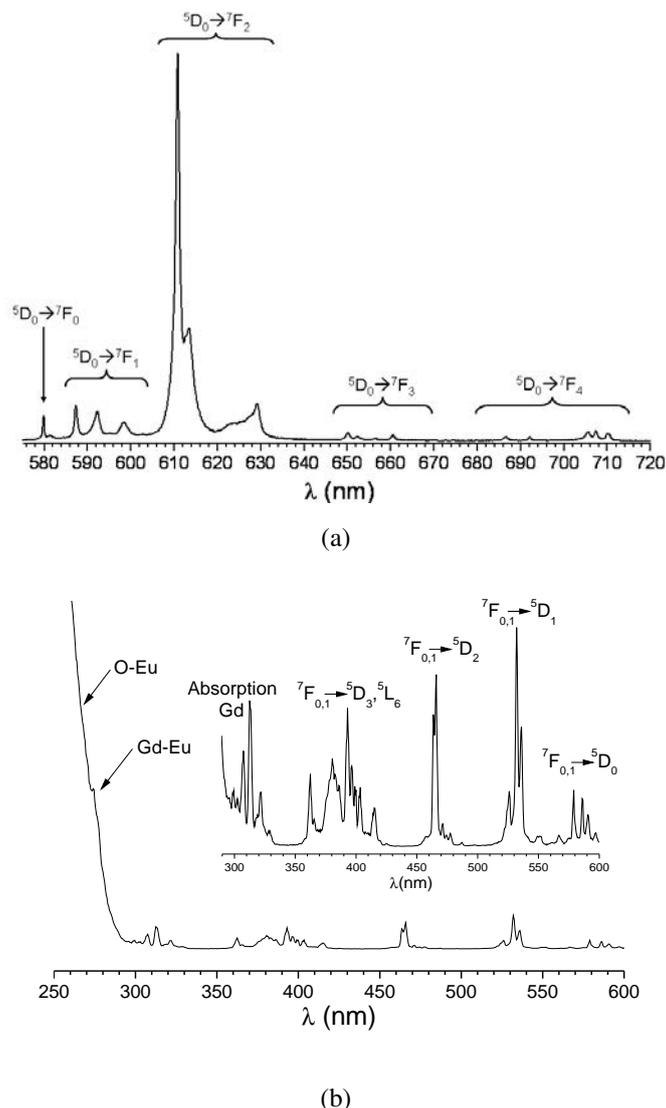


FIGURE III.21 – Spectres (a) d'émission enregistrés sous excitation à 254 nm et (b) d'excitation observés à 612 nm d'une poudre de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$

III.4 Synthèse et caractérisation des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd)

L'oxysulfure d'yttrium dopé Eu^{3+} est un des plus anciens luminophores rouges connus, il a été en particulier utilisé dans les écrans cathodiques. Le nombre de travaux relatifs à $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}$, $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}$: et $\text{Lu}_2\text{O}_2\text{S}$ dopés Tb^{3+} ou Eu^{3+} est très important, d'autant plus que les deux dernières matrices peuvent également être utilisées comme convertisseurs RX-photons visibles. Beaucoup des travaux les plus anciens portent sur les efficacités de ces luminophores sous excitation cathodique [125], sur l'évolution en température [126] ou les transferts d'énergie entre ions do-

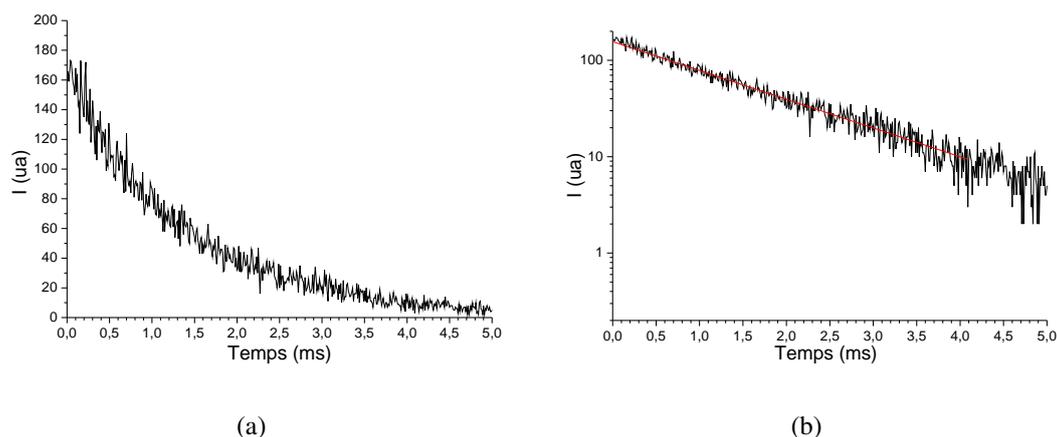


FIGURE III.22 – Déclin de luminescence du niveau émetteur 5D_0 de l' Eu^{3+} dans Gd_2O_3 mesuré à 612 nm sous excitation à 254 nm : (a) en échelle décimale et (b) en échelle semi-logarithmique

pants, en fonction de leur concentration [127]. Plus récemment, on trouve des articles portant sur les applications, par exemple en radiologie [128]. L'étude spectroscopique complète, avec la détermination des paramètres de champ cristallin, avait été réalisée par O.J. Sovers et al [129].

III.4.1 Structure cristalline des oxysulfures de lanthanides

Il existe trois types d'oxysulfures de terres rares : $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}$, $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}_2$ et Ln_2OS_2 . La structure $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}$, qui nous intéresse plus particulièrement, est une structure en couches, de type Sillen, et consiste en un empilement de feuillets constitués, d'une part, par la terre rare et l'oxygène, et d'autre part, par plusieurs couches d'atomes de soufre. Les oxysulfures sont formés par intercroissance de couches $[\text{Ln}_2\text{O}_2]^{2+}$ et de monocouches d'ions S^{2-} , comme le montre la figure III.23a. Les oxysulfures cristallisent dans le groupe d'espace $\text{P}\bar{3}\text{m}$ [130]. Les paramètres de la maille trigonale pour $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}$ et $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}$ sont regroupés dans le tableau III.5. Leur structure est isomorphe de l'oxyde hexagonal A- Ln_2O_3 , qui est la forme basse température pour $\text{Ln} = \text{La-Nd}$. Dans cette structure, la terre rare se situe dans un site de coordinence 7, formé par 3 S et 4 O. L'environnement peut se décrire comme un antiprisme triangulaire monocappé (Figure III.23(b)). La symétrie ponctuelle est C_{3v} , un atome d'oxygène se trouvant sur l'axe C_3 .

III.4.2 La sulfuration

Les nanoparticules de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}$ ont été préparées à partir des particules de carbonates de lanthanides, par sulfuration de ces dernières. La sulfuration a été réalisée à l'aide d'un montage

		Y_2O_2S	Gd_2O_2S
		ICSD 154582	ICSD 636114
groupe d'espace		$P\bar{3}m$	$P\bar{3}m$
paramètre de maille (Å)	a=b	3,75	3.85
	c	6.52	6.67
angle (°)	$\alpha=\beta$	90	90
	γ	120	120

TABLE III.5 – Récapitulatif des différents paramètres pour les oxysulfures Ln_2O_2S

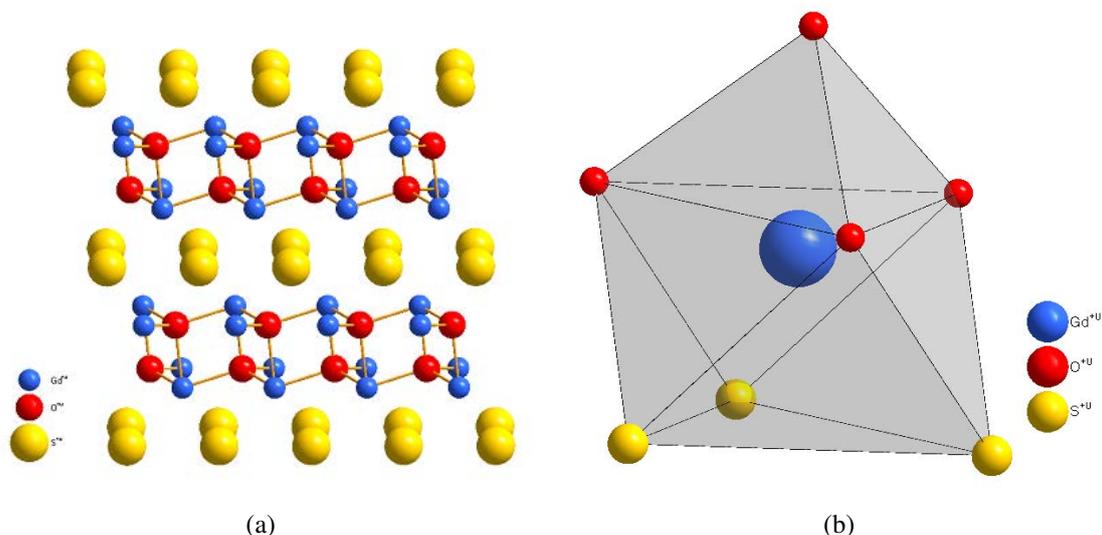


FIGURE III.23 –

Représentation de la structure Ln_2O_2S (a) et des polyèdres de coordination présents dans cette structure (b)

“fait maison”, inspiré de celui utilisé par A.M. Pires [131, 132] qui décrit la sulfuration de carbonates de gadolinium par un balayage de gaz inerte contenant des vapeurs soufrées produites à partir de soufre solide. Dans notre cas le disulfure de carbone (CS_2), liquide, a été préféré au soufre solide car la production de vapeur est plus facile à contrôler.

III.4.2.1 Le montage

Le montage (figure III.24) a été conçu pour un double emploi : sulfuration et recuit sous gaz inerte (argon).

Le principe de la sulfuration par CS_2 , qui nous intéresse plus particulièrement dans ces travaux, consiste à faire buller un gaz neutre (type argon) dans le CS_2 liquide afin de produire

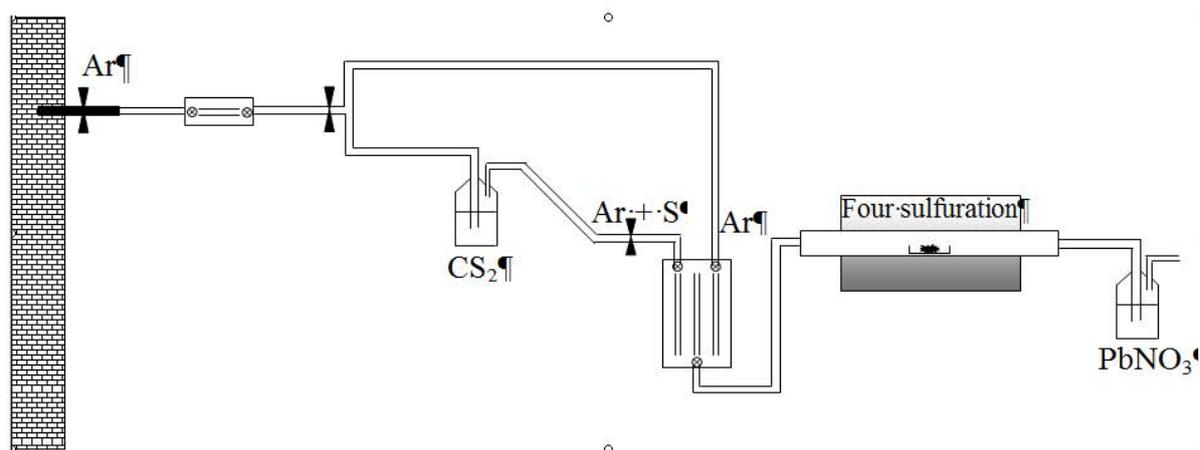


FIGURE III.24 – Schéma du montage employé pour la sulfuration

des vapeurs de CS_2 . Ces dernières sont ensuite entraînées par ce même flux de gaz jusqu'à la chambre de sulfuration dans laquelle est placée l'échantillon.

CS_2 étant un agent sulfurant très puissant, seul une très faible concentration de ce composé doit être utilisée, comparativement à la quantité de gaz circulant dans le four. C'est pourquoi un débitmètre mélangeur a été installé, une voie étant dédiée à l'argon seul et l'autre aux vapeurs de soufre provenant du bullage de l'argon dans le CS_2 . En alimentant et contrôlant simultanément le débit de ces deux voies, il est alors possible d'ajuster le débit d'agent sulfurant circulant dans le four.

De plus, le CS_2 étant un composé toxique, polluant et malodorant, il est important de ne pas l'évacuer dans l'atmosphère ambiante. Ainsi, le soufre qui n'a pas réagi est dirigé vers un piège constitué de $Pb(NO_3)_3$; après réaction avec le soufre il va se former du PbS solide qui peut facilement être récupéré.

III.4.2.2 Le protocole

La sulfuration des hydroxycarbonates est un phénomène délicat qui nécessite un contrôle, à la fois de la température de réaction et de la quantité de soufre apportée. En effet, une température ou un débit trop faible en soufre conduiront à l'obtention de sulfates, alors qu'un débit trop important favorisera la formation de sulfures. De plus, un recuit, même à faible température sous atmosphère oxydante (air) conduira à la formation de l'oxyde.

Ainsi, A.M. Pires et al. [131, 132] a montré que des oxysulfures de gadolinium bien cristallisés pouvaient être obtenus à partir des hydroxycarbonates correspondants en fixant la température du four à 750°C sous un balayage de soufre, suivi par un recuit à 1000°C sous atmosphère inerte. Cependant les auteurs n'utilisaient pas le CS₂ comme agent sulfurant, mais le soufre solide. Le débit a donc du être ajusté au cours des expériences.

Après optimisation, le protocole final retenu pour réaliser une sulfuration par CS₂ est donc le suivant :

- Un traitement de 1h30 à 750°C sous une atmosphère suffisante composée d'un mélange argon (50ml/min) et soufre (5ml/min) (vitesse de montée du four = 10°C/min). Cette 1^e étape a pour effet de produire l'oxysulfure. Toutefois à ce stade l'oxysulfure est mal cristallisé, comme le montre le diffractogramme X (figure III.25).
- Un recuit de 4h à 1000°C sous atmosphère inerte (argon), afin de cristalliser l'oxysulfure est alors nécessaire.

Remarque : Le CS₂ est maintenu dans un bain de glace à 4°C pendant toute la durée de l'expérience afin, d'une part d'obtenir une tension de vapeur saturante constante, et d'autre part d'éviter tout risque d'explosion.

III.4.3 Caractérisations des NPs obtenues

III.4.3.1 Caractérisations morphologiques et structurales

L'analyse des particules par diffraction des rayons X a permis de montrer que le protocole décrit au paragraphe précédent est bien adapté à l'obtention d'oxysulfures. La figure III.25 présente le DRX des poudres obtenues après l'étape de sulfuration à 750°C et après traitement thermique à 1000°C. Après recuit, les pics de diffraction sont relativement fins et intenses, ce qui montre que les particules sont bien cristallisées.

Le spectre IR de ces particules est également présenté Figure III.26. Ce spectre ne présente que les modes de basse fréquence $< 600 \text{ cm}^{-1}$, caractéristiques des vibrations Gd-S et Gd-O. Sur ce spectre sont également observables des traces de carbonates et d'eau.

L'observation en microscopie électronique à transmission des poudres obtenues montre des particules sphériques, très bien définies et très monodisperses en taille, d'un diamètre moyen

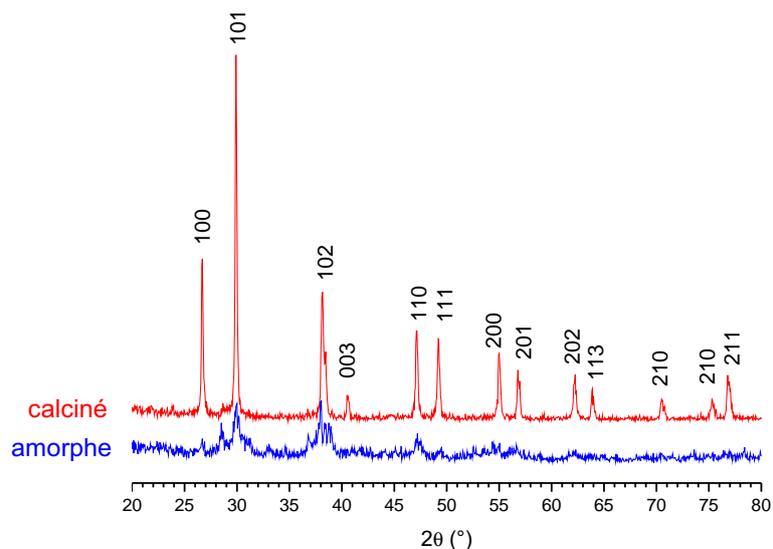


FIGURE III.25 – Diffractogrammes de rayons X de poudres de Gd_2O_2S amorphes et cristallisées

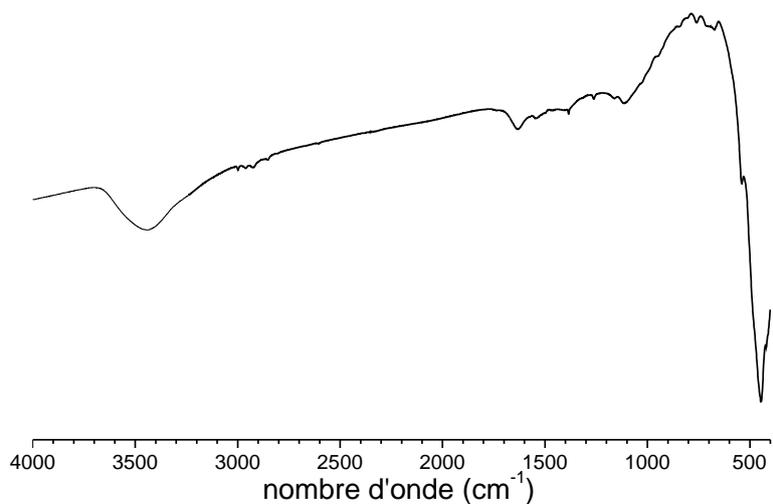


FIGURE III.26 – Spectre IR des NPs de $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

de 200 nm, indiquant que le procédé de traitement thermique n'entraîne pas d'agglomération (Figure III.27). Ceci est confirmé par les analyses par PCS qui donnent un diamètre moyen apparent de 400 nm, avec une dispersité en taille relativement faible (Figure III.28). Quelques agglomérats, dont la taille est comprise entre 1,6 et 2 μm sont également détectés.

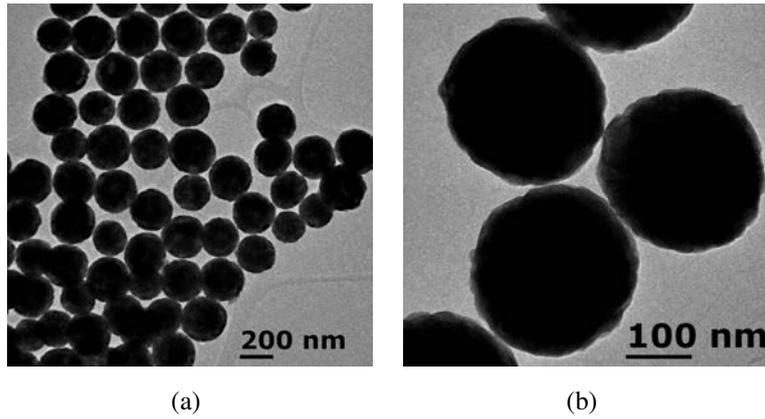


FIGURE III.27 – Clichés de microscopie électronique en transmission de NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$

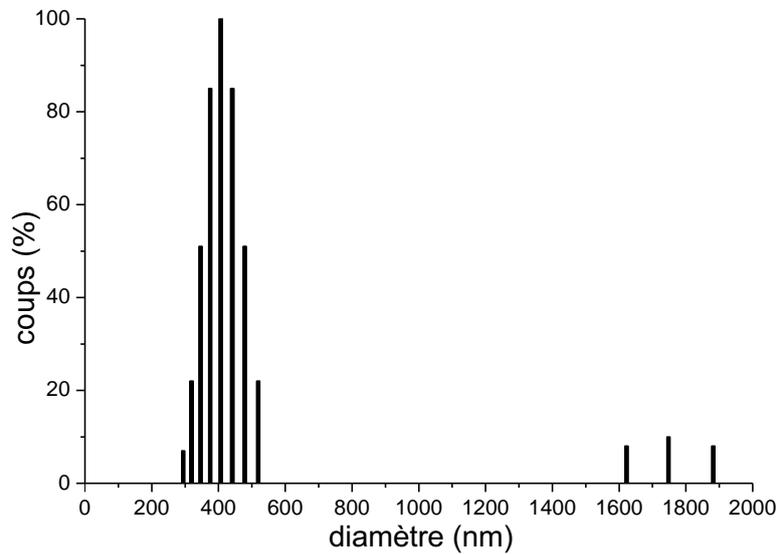


FIGURE III.28 – Distribution de taille des NPs d' $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ mesurée pas PCS

III.4.3.2 Caractérisations optiques

Le spectre d'émission des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ (5%), enregistré après excitation à 355 nm est présenté figure III.29. Les longueurs d'onde mesurées sont reportées dans le tableau III.6. Leur indexation est donnée en suivant les travaux de O.J. Sovers et al. [129], qui avaient calculé les paramètres de champ cristallin B_q^k . On retrouve sur notre spectre la plupart des raies observées par Sovers [129]. Si certaines raies faibles n'ont pas été détectées, par contre, aucune émission supplémentaire, due à une éventuelle phase parasite n'a été observée. Quelques raies d'émission $^5\text{D}_1 \rightarrow ^7\text{F}_J$ faibles apparaissent également. Il y a également des raies d'émission affaiblies dans la zone des $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, qui sont probablement d'origine vibroniques et sont de la même façon observées sur un échantillon de $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ obtenu par synthèse en voie solide.

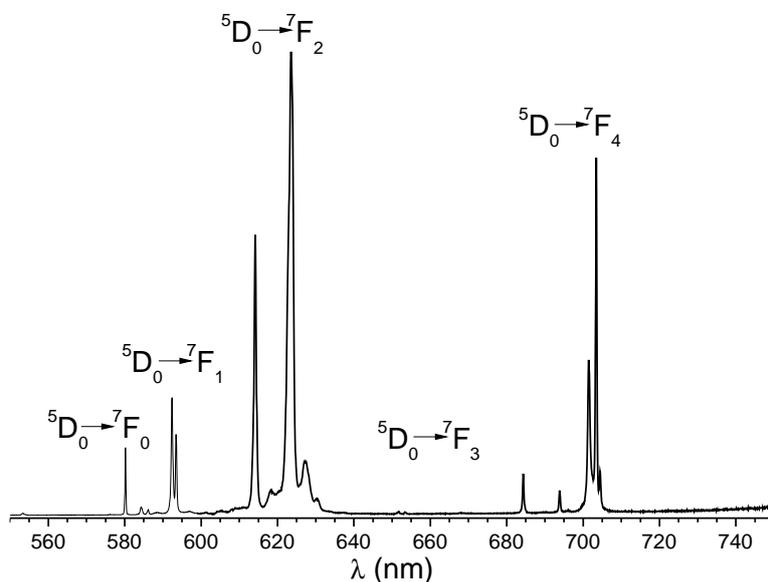


FIGURE III.29 – Spectres d’émission d’une poudre de $Gd_2O_2S:Eu^{3+}$ enregistré sous excitation à 355 nm à température ambiante

Le spectre d’excitation est présenté sur la Figure III.30. On identifie facilement les raies fines des transitions intra- $4f^6$. L’aspect le plus intéressant de ce matériau, lorsqu’on le compare aux hydroxycarbonates, carbonates ou oxydes décrits plus haut, est la présence d’une bande d’absorption large très efficace. Cette bande est attribuée au transfert de charge S-Eu. A $\lambda < 270$ nm, l’efficacité d’excitation augmente à nouveau, correspondant à l’absorption dans la bande de transfert de charge O-Eu. On peut également repérer, comme il a été fait pour $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ les raies fines de Gd^{3+} . Le transfert d’énergie $Gd^{3+} \rightarrow Eu^{3+}$ est donc bien efficace. En conclusion de cette caractérisation optique, nous pouvons dire que les observations faites sur nos nanoparticules sont analogues à celles reportées auparavant sur des matériaux massifs. S’il y a quelques effets dus à des sites de surface, ceux-ci sont très minoritaires.

En revanche, il faut signaler que la durée de vie du niveau 5D_0 (Figure III.31) est évaluée à $0,70 \pm 0,07$ ms. Cette valeur est plus grande que celle mesurée sous la même excitation sur des poudres monocristallines (0,50 ms [127]).

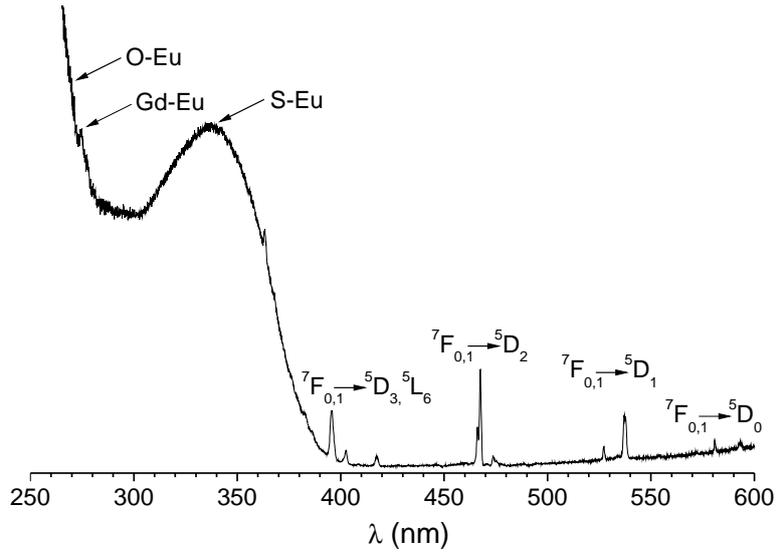


FIGURE III.30 – Spectres d'excitation d'une poudre de Gd₂O₂S :Eu³⁺ observé à 624 nm à température ambiante

Transitions	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄
	580,2(A ₁)	592,4 (E)	614,2 (A ₁ +E)	651,2 (E)	684,3 (A ₁)
		593,5 (A ₂)	618,3*	651,7 (A ₂)	693,8 (E)
λ (nm)	584,4**		620,3*	653,5 (A ₁ +E)	701,5 (E)
et Rep. (d'après [129])	586,1**		623,5 (E)		703,4 (E)
			627,3*		
			630,4*		

B ² (d'après II.19)	≈123				
Représentations	A ₁	A ₂	A ₁	2E	2A ₁
associées aux		E	2E	2A ₂	A ₂
transitions permises				A ₁	3E

* transitions vibroniques

** transitions à partir du ⁵D₁

TABLE III.6 – Comparaison des longueurs d'onde d'émission caractéristiques de l'ion Eu³⁺ dans Gd₂O₂S

III.5 Synthèse et caractérisation des NPs de SiO₂:Eu³⁺

Bien qu'il existe un grand nombre de techniques permettant de synthétiser des NPs de silice SiO₂, celles-ci ont été obtenues par Spray Pyrolyse (SP), technique développée au CEMES.

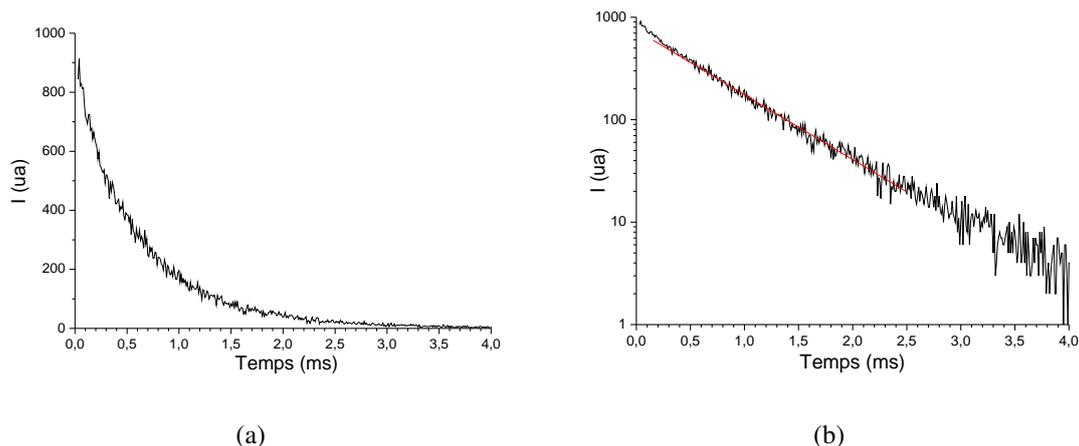


FIGURE III.31 – Déclin de luminescence du niveau émetteur 5D_0 de l' Eu^{3+} dans $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}$ mesuré à 614 nm sous excitation à 355 nm : (a) en échelle décimale et (b) en échelle semi-logarithmique

III.5.1 Synthèse par spray pyrolyse

III.5.1.1 La technique du spray pyrolyse

Le procédé de synthèse par pyrolyse d'aérosol est une voie de préparation de matériaux pulvérulents microniques de forme sphérique ou de dépôt de film. Dans le cas de la synthèse de poudres, un brouillard d'une solution de précurseurs est traité thermiquement pour obtenir une poudre sèche en sortie de procédé. La solution de départ étant homogène, chaque gouttelette de l'aérosol est un micro-réacteur homogène de même composition que la solution de précurseurs.

La première étape de la synthèse par pyrolyse d'aérosol est la génération de l'aérosol réalisée par ultrasons. Une pastille piezo-électrique (2,4 MHz) plongée dans un mélange eau/éthanol est placée sous la solution à nébuliser. Elle génère un champ d'ultrasons dans la solution de précurseurs qui engendre un phénomène de cavitation, ce qui a pour effet d'éjecter du liquide, des micro-gouttelettes de solution de précurseurs. Un flux d'air (5L/min) entraîne ces gouttes dans le circuit. On notera que la vitesse de nébulisation dépend entre autre de la viscosité de la solution. L'aérosol ainsi généré est entraîné vers les zones de traitement thermique. La première zone de température sert de zone de séchage. Elle est constituée par un tube de verre, entouré d'un fil chauffant à 100°C. Lors du séchage, le solvant de la solution de précurseurs est évaporé, ce qui va conduire à la précipitation des précurseurs (Figure III.33). Les nanoparticules ainsi formées sont ensuite entraînées par le flux d'air jusqu'à une deuxième zone de traitement, plus

haute en température, dite zone de décomposition. Dans cette zone, constituée d'un tube en quartz traversant un four tubulaire, la température (500°C) est suffisante pour que le produit recherché se forme, par agglomération des nanoparticules sous forme de micro-billes. Chaque goutte pouvant être considérée comme un micro-réacteur isolé qui garde sa forme sphérique tout au long du procédé, les micro-billes obtenues en fin de synthèse seront également sphériques. Les microparticules sont finalement collectées par un filtre électrostatique ($\text{ddp} = 10 \text{ kV}$). La poudre se dépose ainsi sur des anodes collectrices. l'ensemble du filtre est maintenu à 100°C par des résistances chauffantes enroulées autour de l'enceinte en verre de ce dernier afin d'éviter la condensation de l'eau (risque de court circuit), et les gaz seront évacués vers un ballon de condensation pour récupérer le solvant et les autres produits de réaction.

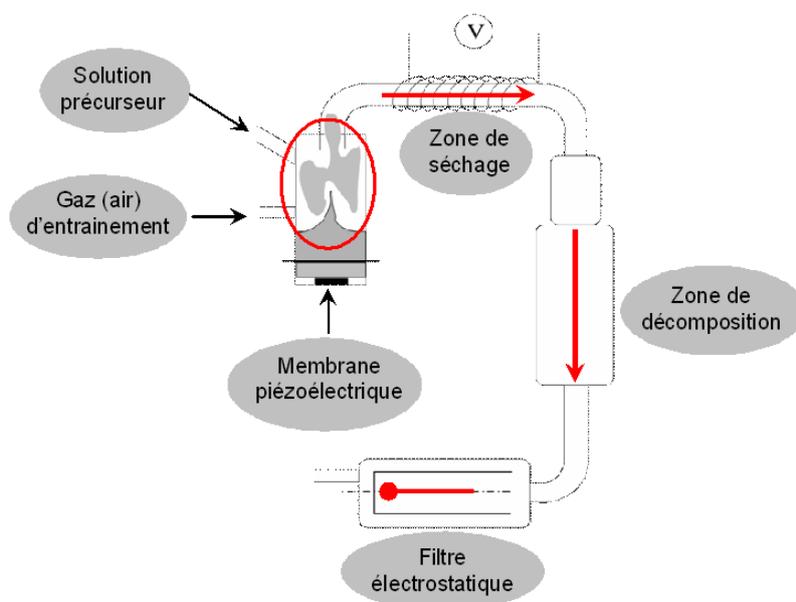


FIGURE III.32 – Schéma du montage employé lors des synthèses par spray pyrolyse

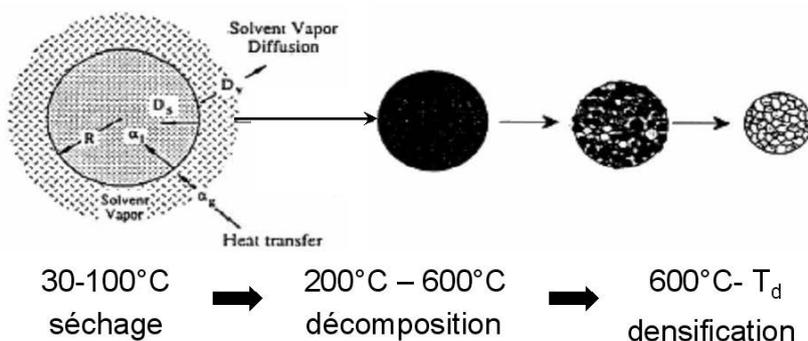


FIGURE III.33 – Principe de formation des NPs par spray pyrolyse

III.5.1.2 Mode opératoire

Les poudres de silice ont été préparées à partir d'un précurseur commercial : le Ludox AS 40 (Sigma Aldrich). Celui-ci est constitué d'une dispersion colloïdale de nanoparticules de silice de 20 nm dans une solution aqueuse d'ammonium contenant 40% en masse de SiO₂. La stabilité de la dispersion étant compromise en milieu basique, il est nécessaire de l'acidifier avec HNO₃ jusqu'à atteindre un pH d'environ 2. La concentration en SiO₂ dans la solution à nébuliser a été choisie à 0,3 M, une solution plus concentrée aurait une viscosité trop importante qui générerait la nébulisation. L'euporium a été apporté à la solution sous forme d'ions Eu³⁺, par ajout d'une solution de nitrate d'euporium (1,96 M) dans un rapport Eu/(Eu+Si) = 5%. Enfin, le solvant utilisé est constitué d'un mélange éthanol/eau = 1/10 (v/v).

III.5.2 Caractérisation des NPs obtenues

La composition, la forme et la taille, ainsi que les propriétés de luminescence de ces particules ont été analysées.

III.5.2.1 Caractérisations morphologiques

La microscopie électronique en transmission a montré que les poudres obtenues sont composées de sphères sub-micrométriques avec une dispersion en taille relativement large (III.34(a) et (b)), ce qui est confirmé par les analyses PCS qui donnent des diamètres apparents allant de 650 nm à 2 μm (Figure III.35). La microscopie électronique à balayage de la surface des particules (Figure III.34(c)) a également révélé que chacune des billes est constituée de sub-particules de taille nanométrique (quelques dizaines de nm), qui se sont agglomérées durant l'étape de densification lors de la synthèse par spray pyrolyse. Ces observations s'avèrent concordantes avec le mécanisme de formation des particules décrit dans le paragraphe précédent. La surface spécifique mesurée par adsorption-désorption d'azote a été évaluée à 81,5 m².g⁻¹, ce qui correspond à un diamètre moyen de particule de 43 nm, si on considère des sphères denses. Cette valeur n'est pas la taille des particules sub-microniques mesurée par TEM et MEB qui varie entre 100 nm et quelques μm. En revanche, elle correspond à celle des sub-particules évaluée à quelques dizaine de nanomètres par MEB. Cela signifie donc que la surface entière des nanoparticules de SiO₂:Eu³⁺, agrégées en sphères sub-micrométriques est accessible par l'azote liquide. Les particules sub-micrométriques ne sont donc pas denses.

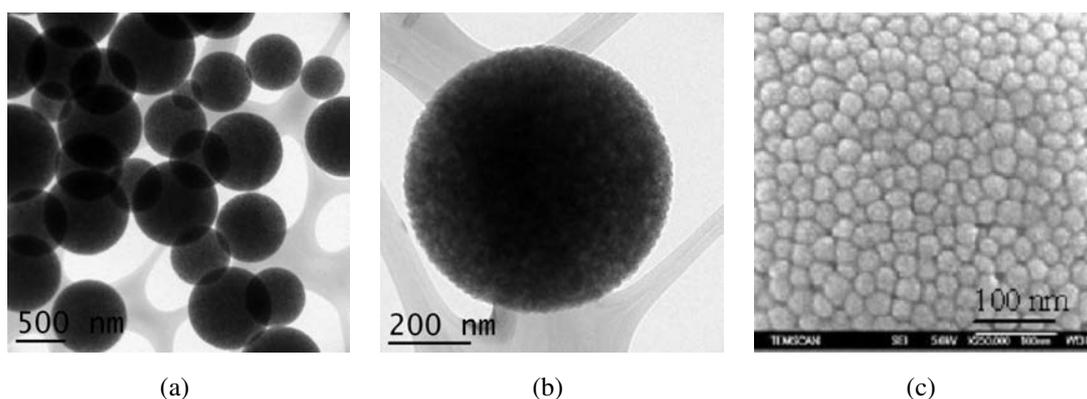


FIGURE III.34 – Cliché de microscopie électronique des particules de silice obtenues par SP (a) et (b) en transmission et (c) à balayage

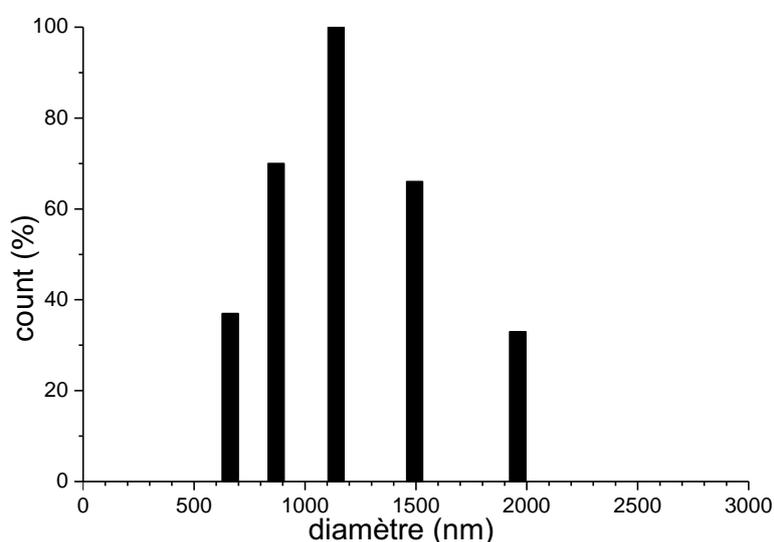


FIGURE III.35 – Distribution de taille des NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ mesurée par PCS

III.5.2.2 Caractérisation chimique et structurale

La composition chimique des particules a été analysée par diffraction des rayons X et spectroscopie infrarouge. Cependant, seule la spectroscopie IR a permis d'obtenir des informations pertinentes, puisque le diffractogramme X ne présente aucun pic de cristallisation, mais seulement un relief dans une zone centrée sur 22° , ce qui signifie que la phase SiO_2 n'est pas cristallisée. En revanche, les analyses IR pratiquées sur ces particules (III.36) présentent un certain nombre de bandes caractéristiques de la silice amorphe [133]. Les principaux modes de vibration Si-O-Si donnent lieu à la bande située à 470 cm^{-1} , ainsi qu'à la très large bande située à 1150 cm^{-1} environ, cette bande étant en réalité due au recouvrement de deux bandes larges

centrées à 1110 et 1215 cm^{-1} . La bande située à 3430 cm^{-1} peut, quant-à-elle, être attribuée aux vibrations des molécules d'eau. Les groupes hydroxyls OH, qu'ils soient liés aux hydroxyls de surface ou aux molécules d'eau absorbées, sont caractérisés par la bande à 1630 cm^{-1} . Enfin, il apparaît également un pic très fin et très intense à 1385 cm^{-1} correspondant à des nitrates NO_3^- , résidus de la synthèse par spray pyrolyse.

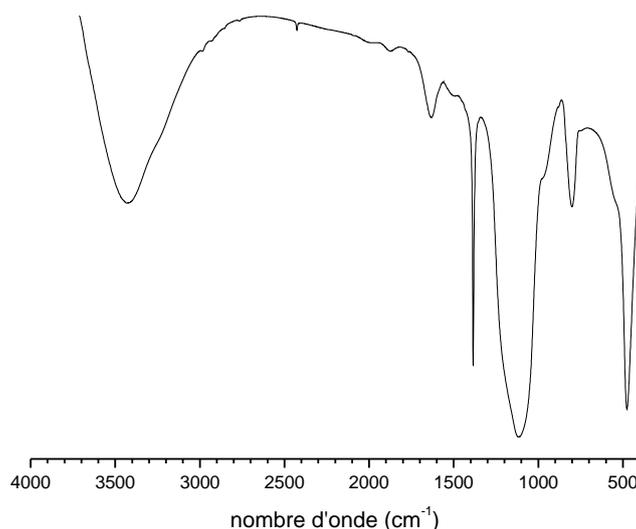


FIGURE III.36 – Spectre IR des NPs de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ obtenues par SP

III.5.2.3 Caractérisation optique

Les propriétés de luminescence des particules de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ ont été étudiées par analyse des spectres d'émission et d'excitation de ces dernières. Le spectre d'émission a été enregistré après excitation à 254 nm (Figure III.37). Comme pour les oxydes et les oxysulfures de lanthanide, ces particules présentent une intense luminescence rouge, due à la transitions $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ de l'euporium trivalent, située à 612 nm. Le spectre d'émission présente également quatre autres bandes larges et intenses, situées à 577 nm, 590 nm, 630 nm et 699 nm, correspondant aux transitions $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ et $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ de l' Eu^{3+} respectivement, l'élargissement des raies caractérisant la présence d'ions Eu^{3+} dans des environnements différents, comme on l'observe dans les verres ou autres amorphes. Caiut et al. [133] concluent que durant le procédé de SP, les NPs de silice s'agglomèrent en sphères sub-microniques et que les ions Eu^{3+} sont liés à la surface des nanoparticules élémentaires via des liaisons Si-O-Eu. Il est en effet impossible que des Eu^{3+} entrent dans la matrice en substitution des ions Si^{4+} . Outre l'intense émission rouge, le spectre présente également une luminescence bleue, caractérisée par une bande large

et peu intense centrée à 450 nm, associée à l'émission de la matrice de silice. Les mêmes observations (avec une émission relativement plus importante de SiO_2) ont été reportées et analysées par Petit et al. [134].

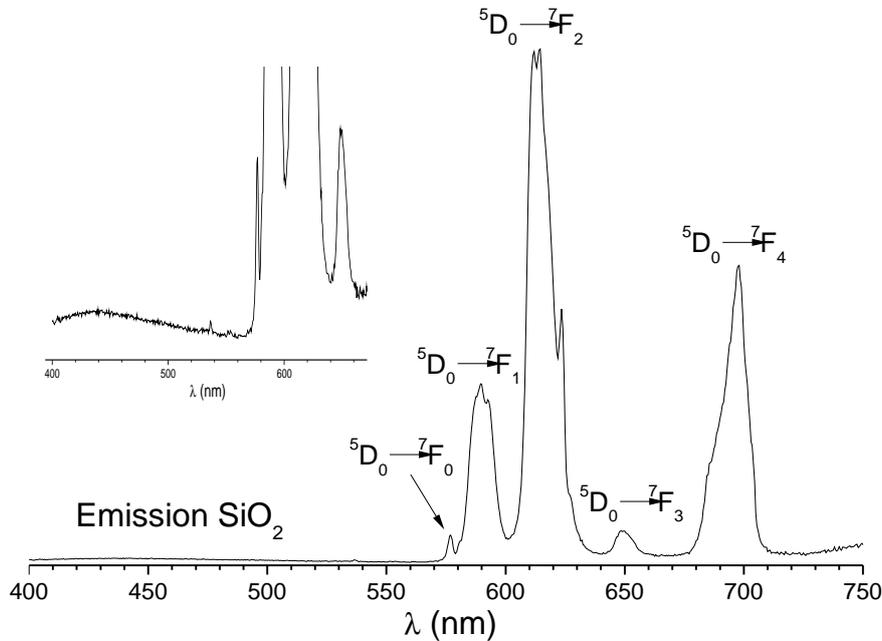


FIGURE III.37 – Spectre d'émission de particules de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ enregistré après excitation à 254 nm à température ambiante

Le spectre d'excitation de ces particules, observé à 612 nm (Figure III.38), présente d'une part, une bande large de transfert de charge O-Eu ($\lambda < 300$ nm) et les bandes d'excitation associées aux transitions 4f-4f de l'europium Eu^{3+} . Du fait de l'existence de multiples environnements pour Eu^{3+} , les bandes correspondant à chacune des transitions sont élargies comparativement aux particules de $\text{Ln}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ et $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$.

Le déclin de luminescence, assimilé à une exponentielle, conduit à $\tau = 0,25 \pm 0,03$ ms (Figure III.39).

III.6 Efficacités de luminescence

Nous nous basons sur les notions exposées au Chapitre II pour comparer les efficacités de luminescence des différentes particules que nous avons élaborées. L'efficacité q pour le niveau

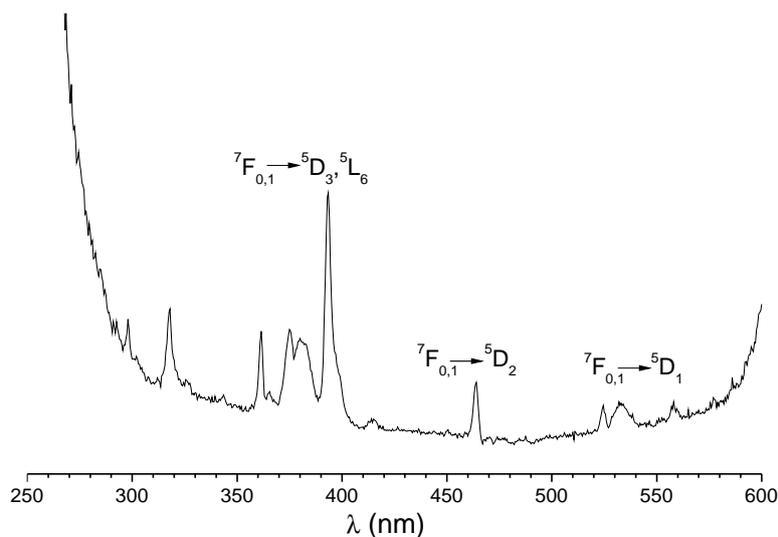


FIGURE III.38 – Spectre d'excitation de particules de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ observé à 612 nm à température ambiante

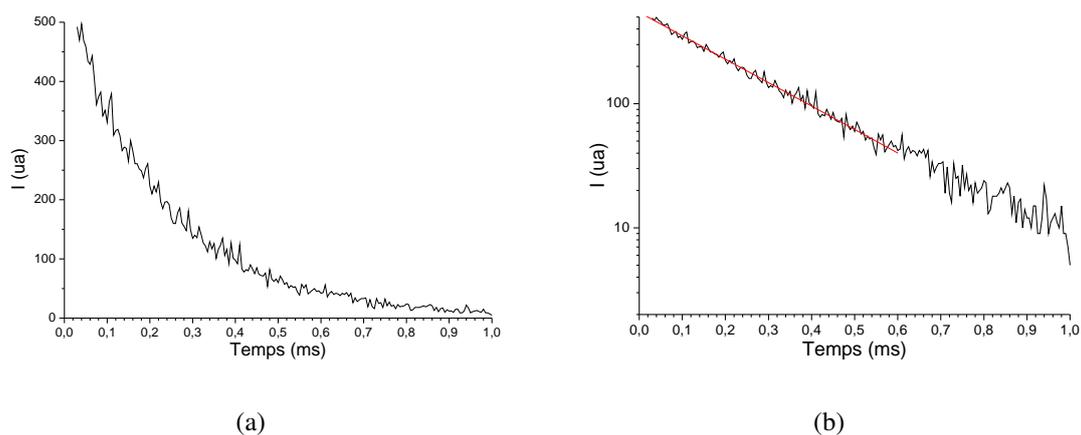


FIGURE III.39 – Déclin de luminescence du niveau émetteur ${}^5\text{D}_0$ de l' Eu^{3+} dans SiO_2 mesuré à 612 nm sous excitation à 393 nm : (a) en échelle décimale et (b) en échelle semi-logarithmique

${}^5\text{D}_0$ est déterminée expérimentalement à partir des spectres d'émission, des déclins de luminescence et des Equations II.21, II.22, II.23 et II.29. Sur la Figure III.40 sont tracés les spectres des cinq types de nanoparticules considérées, les zones spectrales utilisées pour mesurer les S_{0-J} sont matérialisées. Le barycentre de chaque zone est déterminé par le logiciel à partir des surfaces intégrées.

La probabilité de transition radiative totale du niveau ${}^5\text{D}_0$ de Eu^{3+} diminue suivant la progression $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} \succ \text{C-Gd}_2\text{O}_3$ (site C_2) $\succ \text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \succ \text{GdOHCO}_3 \succ \text{SiO}_2$. Sans surprise, on observe que les environnements pour lesquels les Eu^{3+} sont greffés en surface des NPs

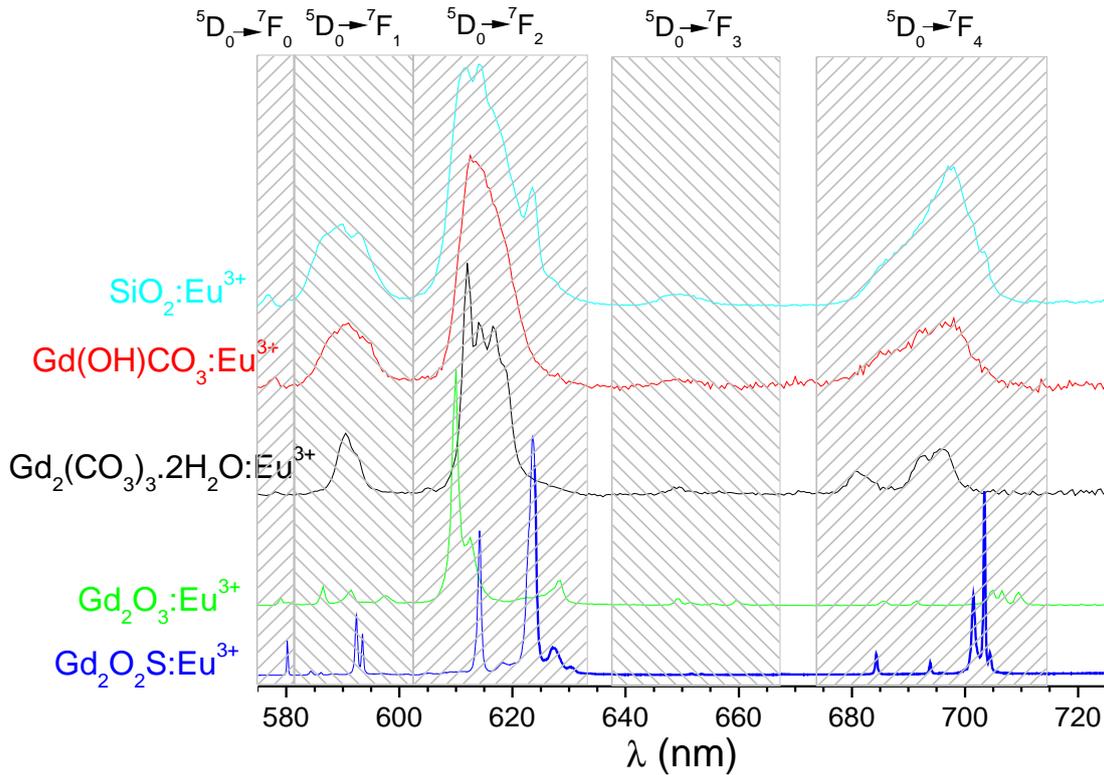


FIGURE III.40 – Spectres d'émission et zones spectrales utilisées pour calculer les Φ_{int} de chaque type de particules

($\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$), ou liés directement à des vibreurs OH (carbonate, hydroxycarbonate), conduisant à des q faibles. Pour l'oxyde, la valeur évaluée est assez élevée. Pour l'oxysulfure, en dépit d'une forte probabilité intrinsèque, l'efficacité est inférieure à l'oxyde.

En faisant ces comparaisons, les erreurs instrumentales et celles qui proviennent de la mise en forme de l'échantillon sont en principe annulées. En revanche, bien que leurs contributions soient sans doute assez minimes, il reste des sources d'erreur dans le traitement numérique des spectres : par exemple la prise en compte des fonds résiduels ou des raies parasites (site C_{3i} pour l'oxyde, émission ${}^5D_1 \rightarrow {}^7F_J$, pour l'oxysulfure, émission des transitions ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_5, {}^7F_6$ négligée). La mesure des déclinés avec l'appareillage dont nous disposons a toujours été réalisée sous excitation dans le CTS et non dans 5D_0 et avec une résolution temporelle médiocre. Il faut de plus assimiler les déclinés à des monoexponentielles, ce qui est une autre source d'erreur. Malgré ces limitations, la détermination des q est un moyen utile de comparer l'efficacité de matrices différentes.

	Transition	A_{0-J} (s ⁻¹)	$\sum A_{0-J}$ (s ⁻¹)	τ_{rad} (s)	τ_{exp} (s)	q (%)
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	9				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	50				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	355	503	1,99	1,43	73,0
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	26				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄	63				
Gd(OH)CO ₃ :Eu ³⁺	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	3				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	50				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	241	348	2,87	0,64	21,4
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	17				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄	103				
Gd ₂ (CO ₃) ₃ .2H ₂ O :Eu ³⁺	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	2				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	50				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	278	453	2,21	0,67	29,4
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	15				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄	108				
Gd ₂ O ₂ S :Eu ³⁺	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	8				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	50				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	465	728	1,37	0,70	50,3
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	14				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄	191				
SiO ₂ :Eu ³⁺	⁵ D ₀ → ⁷ F ₀	2				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₁	50				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₂	171	338	2,96	0,25	8,5
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₃	8				
	⁵ D ₀ → ⁷ F ₄	108				

TABLE III.7 – Calcul des A_{0-J} et des efficacités

III.7 Bilan

Différents types de NPs luminescentes ont été synthétisés et étudiés : des NPs d'hydroxycarbonate, d'oxyde de gadolinium et d'yttrium et d'oxysulfure de gadolinium, ainsi que des NPs de silice. Pour toute ces NPs, la luminescence rouge est provoquée par l'introduction dans la matrice des ions europium trivalents.

La synthèse des NPs d'hydroxycarbonate est réalisée par précipitation contrôlée en utilisant l'urée comme agent de précipitation. Cette synthèse conduit à la formation de NPs sphériques d'hydroxycarbonate, monodisperses en taille. L'étude de la cinétique de réaction a montré qu'un changement de morphologie intervient au cours de la synthèse, les NPs passant de la forme sphérique à des plaquettes. Nous avons également montré que ce changement de morphologie s'accompagne d'un changement de phase, au cours duquel les hydroxycarbonates sont convertis en carbonates hydratés.

Nous avons également montré que ces NPs d'hydroxycarbonate peuvent servir de précurseurs pour produire des oxydes ou des oxysulfures par traitement thermique sous air ou sous atmosphère sulfurante. La morphologie et la taille des NPs sont conservées lors de ces différents traitements.

Les particules de silice, obtenues par spray pyrolyse sont des sphères sub-microniques constituées de nanoparticules élémentaires de 20 nm de diamètre environ. Eu^{3+} ne peut pas être substitué à Si^{4+} , il est néanmoins intégré dans la matrice amorphe par des liaisons fortes. On observe l'émission de Eu^{3+} en bandes élargies qui reflètent l'inhomogénéité du champ cristallin autour de l'europium. Les particules sub-microniques élaborées ne sont pas denses, leur principal défaut pour notre étude étant leur relative dispersion en taille. La synthèse par spray pyrolyse est néanmoins très commode pour obtenir des particules de silice luminescentes, nécessitant moins de mise au point que les méthodes Stöber.

La voie "hydroxycarbonate" a été étudiée en détail : celle-ci permet d'obtenir des nanoparticules sphériques bien monodisperses, sans agent stabilisant. Les NPs de LnOHCO_3 obtenus sont toujours amorphes. Leur très gros avantage est qu'elles peuvent être considérées comme agents de marquage luminescent telles quelles, ou après leur transformation en oxyde Ln_2O_3 ou en oxysulfure $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}$, ce qui nous a permis d'étudier en parallèle plusieurs types de nano-

particules avec les mêmes caractéristiques morphologiques. A l'état d'oxydes ou d'oxysulfures chaque nanoparticule (typiquement de 150 nm de diamètre) est constituée de plusieurs nanocristaux (environ 25 nm) liés entre eux de façon très stable : chaque sphère peut donc être considérée comme un nano-objet. Le choix d'une matrice terre rare laisse ouverte la possibilité de sélectionner différents ions dopants Ln^{3+} pour obtenir des caractéristiques optiques différentes, sans changer notablement la chimie préparatoire. Dans le chapitre suivant, nous décrirons la modification de la surface des silices, oxydes et oxysulfures dopées Eu^{3+} , par des alcoxysilanes.

CHAPITRE IV

MODIFICATION CHIMIQUE DES NPs AVEC L'APTES

Contents

IV.1 Bio-conjugaison des NPs avec l'APTES	99
IV.1.1 Aspects bibliographiques	99
IV.1.2 Aspects expérimentaux	100
IV.1.2.1 Principe	100
IV.1.2.2 Protocole expérimental	101
IV.2 Modification des NPs de SiO_2 :Eu³⁺ et Y_2O_3 :Eu³⁺	103
IV.2.1 Détermination des taux de greffages	103
IV.2.2 Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane	108
IV.2.3 Spectroscopie IR	111
IV.2.4 Spectroscopie RMN	113
IV.2.5 Spectroscopie XPS	116
IV.2.6 Potentiel zéta	120
IV.2.7 Luminescence	121
IV.3 Modification des NPs de Gd_2O_3 :Eu³⁺ et $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}$:Eu³⁺	123
IV.3.1 Détermination des taux de greffage	123
IV.3.2 Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane	126
IV.3.3 Spectroscopie IR	128
IV.3.4 Potentiel zéta	131
IV.3.5 Luminescence	131

IV.4	<u>Modification des NPs encapsulées dans une couche de silice</u>	134
IV.4.1	Encapsulation des NPs de Gd ₂ O ₃	134
IV.4.1.1	<i>Protocole expérimental</i>	134
IV.4.1.2	<i>Caractérisation</i>	134
IV.4.2	Modification des NPs avec l'APTES	136
IV.4.2.1	<i>Détermination des taux de greffage</i>	137
IV.4.2.2	<i>Détermination l'épaisseur de la couche d'organosilane</i>	140
IV.4.2.3	<i>Spectroscopie IR</i>	142
IV.4.2.4	<i>Luminescence</i>	142
IV.5	<u>Efficacités de luminescence</u>	143
IV.6	<u>Détermination du taux d'amines accessibles</u>	145
IV.6.1	Principe	146
IV.6.2	Réaction de couplage du FITC	148
IV.6.3	Caractérisations	149
IV.6.4	Résultats	149
IV.7	<u>Bilan</u>	152

Comme nous l'avons vu au chapitre 1, les NPs produites ne sont que très peu réactives vis-à-vis des récepteurs biologiques à greffer, il faut donc augmenter cette réactivité. La voie choisie ici est de modifier chimiquement ces NPs et pour cela de greffer sur la surface une fonction intermédiaire qui servira de support réactif pour la fonctionnalisation. La fonction choisie comme intermédiaire est l'aminopropyltriéthoxysilane (APTES).

IV.1 Bio-conjugaison des NPs avec l'APTES

IV.1.1 Aspects bibliographiques

La modification de surface par des agents de couplage tels que les amino-silanes a été proposée pour un grand nombre d'applications avec pour but de donner un caractère organique à des matériaux inorganiques. Dans ce but, l'aminopropyltriéthoxysilane (APTES) est souvent employé en raison de son caractère bi-fonctionnel, offrant ainsi une des nombreuses possibilités d'attache pour les bio-molécules, notamment par réaction avec les groupements carboxyliques. Schématiquement, et dans un cas idéal, les trois fonctions ethoxy de l'APTES vont réagir avec les groupements hydroxyls, laissant des fonctions amino libres en dehors de la surface [?]. Ainsi, la modification par l'APTES de silices mésoporeuses [44, 45, 46], de substrats plans Si/SiO₂ [47, 48] ou encore de NPs de silice [49, 40] ont été étudiées par de nombreux groupes de recherche. De plus, la surface des oxydes portant des fonctions hydroxyls peut également être fonctionnalisée par des organo-silanes. Ainsi, la modification de surface par l'APTES ou par d'autres amino-siloxanes de nanoparticules d'oxydes magnétique ou luminescentes ont été étudiées récemment afin de bio-compatibiliser de telles NPs, utilisées comme sonde biologique in-vitro ou in-vivo.

Ainsi, la silanisation directe de maghémite Fe_2O_3 par l'APTES a été décrite par Xu et al. [50], tandis que Flesch et al. [135] ont utilisé le N-(2-aminoethyl)3aminopropyltriéthoxysilane. De même, la modification de surface par l'aminopropyltriméthoxysilane (APTMS) de NPs luminescentes de $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$, suivie de leur biotinylation est reportée par Asakura et al. [19].

Dans d'autres études, la fonctionnalisation par l'APTES a été favorisée par dépôt préalable d'une couche de silice, créant ainsi une double couche à la surface des NPs. Des NPs magnétiques Fe_2O_3 [36, 51], ou luminescentes ($\text{YVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ [35], $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Tm}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ [52]) ont ainsi été modifiées selon cette procédure. Une troisième route, consistant en la co-condensation d'un mélange triéthoxysilane (TEOS) et APTES, formant une couche de silice qui contient des fonctions amines a également été employée pour la modification de particules luminescentes telles que des oxydes ($\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$) [53] ou des fluorures CeF_3 [20].

IV.1.2 Aspects expérimentaux

IV.1.2.1 Principe

L'APTES est un trialkoxysilane possédant, d'une part, trois groupements éthoxy ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), très réactifs vis-à-vis des fonctions hydroxyles présentes à la surface des NPs, et d'autre part, une fonction amine. Dans un cas idéalisé, les trois fonctions éthoxy réagissent par hydrolyse-condensation avec les groupements hydroxyles présents à la surface des particules, laissant libre les groupements amino (Figure IV.2). En milieu non aqueux, l'hydrolyse est réalisée grâce aux traces d'eau physisorbées à la surface des NPs [135]. Il peut ensuite y avoir condensation par formation de liaisons hydrogènes ou covalentes entre les molécules hydrolysées et les groupements hydroxyles présents à la surface des oxydes. La couche d'organosilane pourra ensuite croître par condensation successive d'APTES sur la première couche. Selon ce schéma, différentes unités peuvent être obtenues, suivant le nombre de groupement éthoxy qui vont réagir. Comme l'APTES est un tri-alkoxysilane, il peut échanger jusqu'à trois liaisons covalentes avec la NP (Figure IV.3a). Si, au contraire, le greffage est réalisé par seulement un éthoxy, laissant ainsi les deux autres libres de se condenser avec les molécules adjacentes déjà greffées, ce qui va alors entraîner la formation d'une monocouche comme décrit à la Figure IV.3b. Cependant, au lieu de former une "monocouche idéale", les groupements éthoxy libres peuvent tout aussi bien se condenser avec d'autres molécules d'APTES du milieu réactionnel, ce qui va entraîner la formation d'une couche plus épaisse, comme le suggère la Figure IV.3c. Dans des cas extrêmes

il peut alors y avoir formation d'oligomères dans le milieu réactionnel.

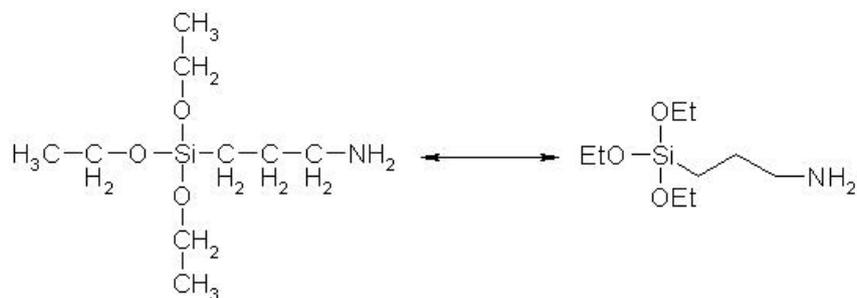


FIGURE IV.1 – formule semi-développée d'une molécule d'APTES

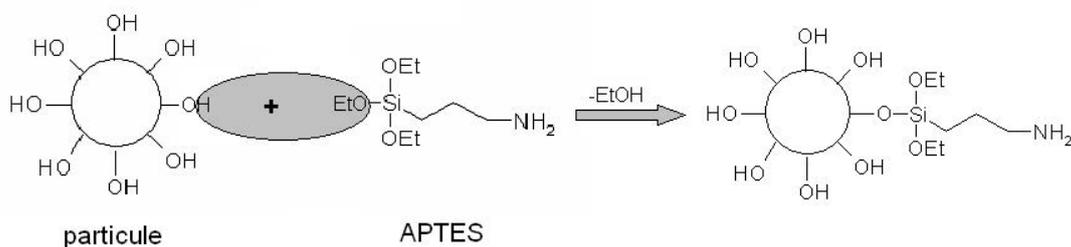


FIGURE IV.2 – Schéma du greffage d'une molécule d'APTES sur une NP

IV.1.2.2 Protocole expérimental

Afin de limiter les réactions d'hydrolyse-condensation dans le milieu réactionnel et de mieux contrôler le greffage de l'APTES sur les particules, les réactions de fonctionnalisation ont été réalisées en milieu anhydre, dans le toluène. Dans un premier temps, les NPs sont séchées à 120°C sous vide pendant trois heures afin d'activer les groupements hydroxyles. Puis, 500 mg de particules sont mises en suspension dans 50 ml de toluène et la quantité voulue d'APTES est ajoutée. Le mélange est agité à reflux à 110°C (température d'ébullition du toluène) pendant 24 à 72h. Il est ensuite centrifugé et lavé plusieurs fois au toluène puis à l'éthanol avant d'être séché à 110°C sous vide. Selon ce protocole une grande variété de particules ont été modifiées avec différentes concentrations en APTES : $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$, $\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ (Ln = Gd ou Y), $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$ ou $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} @ \text{SiO}_2$. Pour chaque type de particule les concentrations en APTES introduites et le nom des échantillons sont récapitulés dans le Tableau IV.1. Pour chaque échantillon le nom est de la forme GR-X où GR est le taux de modification déterminé par analyse élémentaire et X le matériau modifié (Si pour $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$, Y et Gd pour $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ respectivement, GdS pour $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$, GdSi pour $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} @ \text{SiO}_2$ et GdT

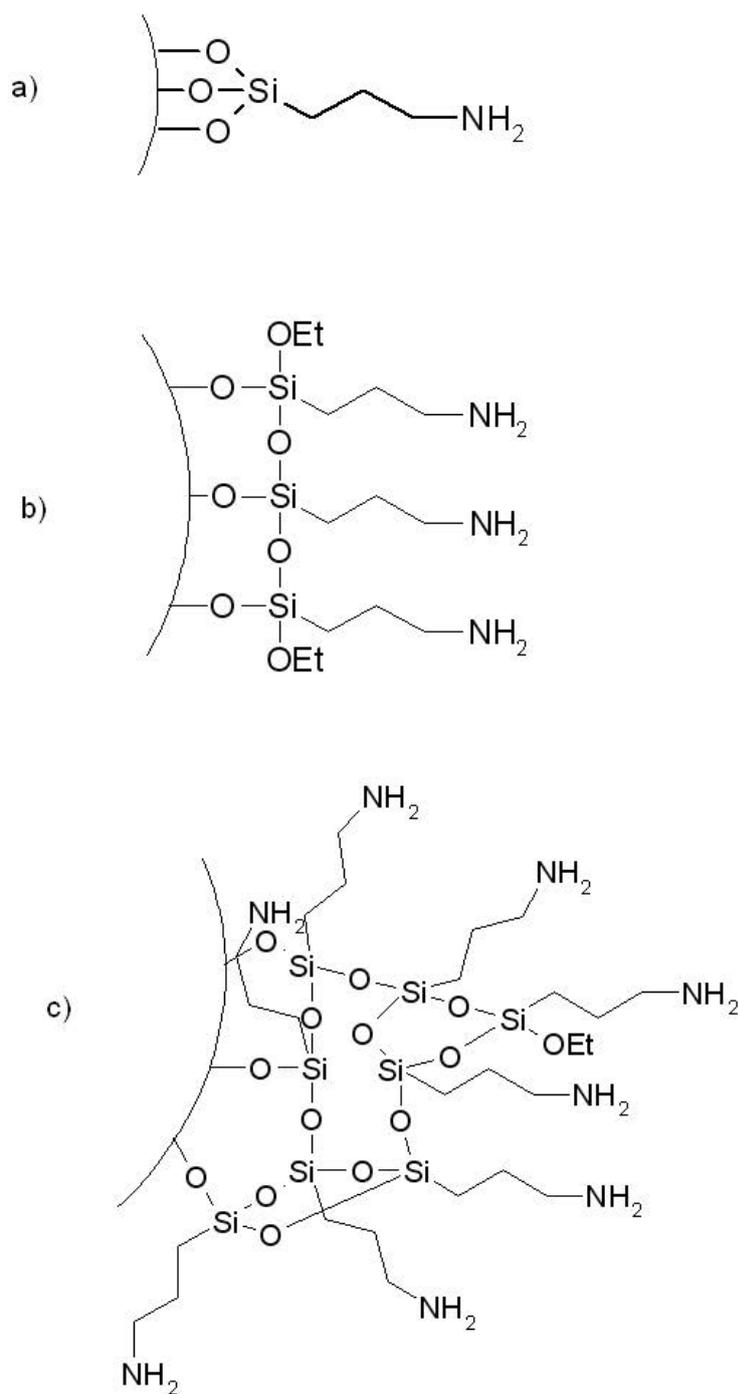


FIGURE IV.3 – Schéma représentant les différents modes de greffage possible

pour $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ +TEOS/APTES).

Dans un premier temps, le détail des caractérisations sera présenté pour les NPs de SiO_2 et Y_2O_3 modifiées avec APTES. Les résultats principaux obtenus sur les autres types de nanopar-

ticules (Gd₂O₃, Gd₂O₂S, Gd₂O₃@SiO₂ et Gd₂O₃+TEOS/APTES) seront ensuite discutés. Nous avons concentré notre travail sur la caractérisation physico-chimique des NPs modifiées avec l'APTES, pour notamment déterminer la quantité d'organosilane greffée, ainsi que les modes de greffage (formation d'une monocouche ou greffage d'oligomère).

IV.2 Modification des NPs de SiO₂ :Eu³⁺ et Y₂O₃ :Eu³⁺

Les NPs luminescentes de silice et d'oxyde d'yttrium, synthétisées selon les procédés décrits au chapitre III, ont été modifiées selon le protocole décrit au paragraphe IV.1.2.2.

IV.2.1 Détermination des taux de greffages

Dans un premier temps, la composition des NPs modifiées par APTES, notamment les taux de carbone et d'azote ont été déterminés par analyse élémentaire (EA). A partir des pourcentages massiques en azote, les taux de greffage ont été calculés pour chacun des échantillons (Equation IV.1). Les taux de greffage peuvent être définis comme la quantité d'APTES greffée pour une quantité de matériau donnée, et sont exprimés en mol d'APTES par mol de matériau.

$$GR = \frac{N\% * M}{14 * (100 - (N\% + C\%))} \quad (IV.1)$$

où N% et C% sont les pourcentages massiques en carbone et en azote respectivement et M est la masse molaire des matériaux modifiés. Ces masses peuvent être assimilées à celles des oxydes avant modification du fait de la faible quantité d'organosilane greffée.

Les taux de greffage ainsi déterminés sont regroupés dans le Tableau IV.1(col. A). La Figure IV.5 présente l'évolution des taux de greffage déterminés par analyse élémentaire en fonction de la quantité d'APTES introduite. Pour les NPs de silice comme pour celles d'yttrium, les taux de greffage tendent vers des valeurs maximales, qui sont 0,08 molAPTES/molSiO₂ et 0,05 molAPTES/molY₂O₃. Ces valeurs, relativement faibles comparées aux quantités introduites correspondent aux quantités maximales qu'il est possible de greffer à la surface des NPs. A partir des résultats d'analyse élémentaire, les rapports C/N expérimentaux ont également été calculés. On peut établir le mode de greffage (GM), c'est-à-dire le nombre de groupements éthoxy participant à la réaction. Pour cela on compare les C/N expérimentaux avec les valeurs théoriques des modèles récapitulés dans le Tableau IV.4. Les C/N théoriques sont 3, 5, 7 ou 9

pour GM3, GM2, GM1 et GM0 respectivement (dans ce dernier cas les molécules sont seulement adsorbées).

GM3	$\begin{array}{c} \text{M-O} \\ \\ \text{M-O}-\text{Si} \\ \\ \text{M-O} \end{array} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	$M_{\text{organique}} = 58$ $(\text{C}_3\text{H}_8\text{N})$	C/N=3/1
GM2	$\begin{array}{c} \text{OEt} \\ \\ \text{M-O}-\text{Si} \\ \\ \text{M-O} \end{array} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	$M_{\text{organique}} = 87$ $(\text{C}_5\text{H}_{13}\text{N})$	C/N=5/1
GM1	$\begin{array}{c} \text{OEt} \\ \\ \text{M-O}-\text{Si} \\ \\ \text{OEt} \end{array} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	$M_{\text{organique}} = 116$ $(\text{C}_7\text{H}_{18}\text{N})$	C/N=7/1
GM0	$\begin{array}{c} \text{OEt} \\ \\ \text{EtO}-\text{Si} \\ \\ \text{OEt} \end{array} \text{---} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	$M_{\text{organique}} = 145$ $(\text{C}_9\text{H}_{23}\text{N})$	C/N=9/1

FIGURE IV.4 – Tableau récapitulatif des caractéristiques des différents modes de greffage possibles (GM)

matériau avant modification	concentration introduite en APTES (mol/mol)	nom de l'échantillon
SiO ₂ :Eu ³⁺	0,006	0,010-Si
	0,030	0,027-Si
	0,060	0,040-Si
	0,120	0,048-Si
	1,200	0,079-Si
Y ₂ O ₃ :Eu ³⁺	0,113	0,034-Y
	0,226	0,039-Y
	0,452	0,044-Y
	1,129	0,051-Y
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	0,050	0,030-Gd
	0,100	0,116-Gd
	0,200	0,018-Gd
	0,250	0,116-Gd
	0,500	0,038-Gd
	1,000	0,057-Gd
Gd ₂ O ₂ S :Eu ³⁺	0,050	0,037-GdS
	0,100	0,070-GdS
	0,200	0,023-GdS
	0,250	0,071-GdS
	0,500	0,055-GdS
	1,000	0,058-GdS
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ @SiO ₂	0,050	0,028-GdSi
	0,100	0,021-GdSi
	0,200	0,070-GdSi
	0,250	0,025-GdSi
	0,500	0,022-GdSi
	1,000	0,017-GdSi
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ +TEOS/APTES	0,000	0,000-GdT
	0,100	0,001-GdT
	0,250	0,002-GdT
	0,500	0,014-GdT
	1,000	0,035-GdT

TABLE IV.1 – *Récapitulatif des échantillons*

[APTES] introduite (mol/mol)	EA			ATG						G) e_{OS} (nm)	H) n_{OS}
	A) GR (mol/mol)	B) nom de l'échantillon	C) C/N	D) GM	E) taux de greffage (mol/mol)			F) GM			
					GR0	GR1	GR2		GR3		
0,006	0,010	0,010-Si	14,5	0	0,021	0,027	0,040	0,071	0	16,7	33
0,030	0,027	0,027-Si	7,9	1	0,022	0,028	0,041	0,073	1	17,6	35
SiO ₂ :Eu ³⁺ 0,060	0,040	0,040-Si	4,9	1-2	0,025	0,032	0,046	0,082	1-2	19,4	38
0,120	0,048	0,048-Si	6,3	1	0,035	0,045	0,065	0,115	1	26,5	53
1,200	0,079	0,079-Si	4,4	2-3	0,037	0,047	0,068	0,122	2-3	28,2	56
0,113	0,034	0,034-Y	5,2	(2)	0,005	0,006	0,009	0,015	-	0,58	1
0,226	0,039	0,039-Y	9,3	0	0,012	0,016	(0,023)	0,040	3	1,5	3
Y ₂ O ₃ :Eu ³⁺ 0,452	0,044	0,044-Y	6,3	1-2	0,012	0,016	(0,023)	0,041	3	1,52	3
1,129	0,051	0,051-Y	5,4	2	0,014	0,018	(0,026)	0,045	3	1,70	3

Col. A : suivant la formule IV.1, avec N% des EA

Col. C : avec C% et N% des EA

Col. D : modes de greffage à partir du rapport C/N déterminé par EA

Col. E : différents taux de greffage à partir des ATG, avec les modèles à 0, 1, 2 ou 3 ethoxy greffés (Tableau IV.4)

Col. F : modes de greffage à partir des meilleures concordances entre Col. A et Col. E

Col. G et H : estimation de l'épaisseur e_{OS} de la couche greffée (formule IV.2) et du nombre de monocouches

TABLE IV.2 – Résumé des résultats des analyses élémentaires et thermiques

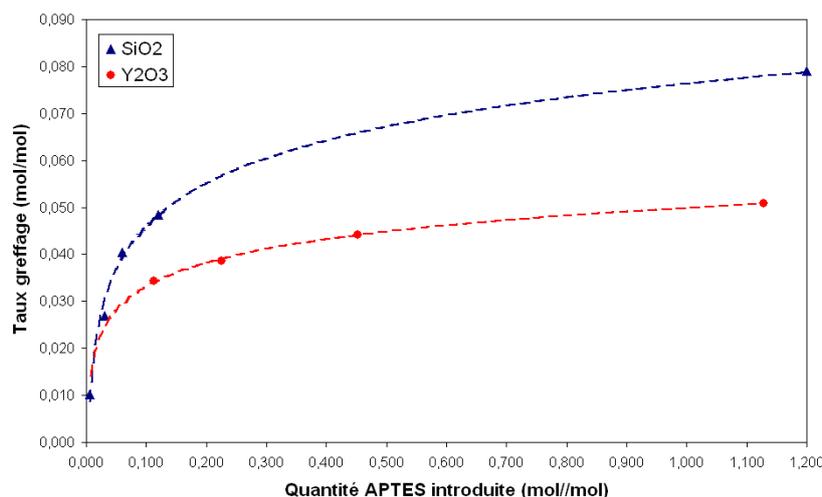


FIGURE IV.5 – Variation du taux de greffage en fonction de la quantité d'APTES pour les NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$

L'analyse des taux de greffage a été complétée par des analyses thermogravimétriques. Les courbes d'analyse thermique des NPs de silice modifiées présentent deux événements principaux (Figure IV.6) : une première perte de masse d'environ 2% autour de 85°C, correspondant à l'évaporation de l'eau adsorbée et une perte principale entre 250 et 500°C, attribuée à la décomposition de l'APTES et l'élimination des résidus organiques. Pour les NPs d' Y_2O_3 modifiées, un exemple de courbes ATG est donné Figure IV.7. La décomposition et l'élimination de l'APTES correspondent à la perte de masse mesurée entre 200 et 470 °C. Jusqu'à 1000°C on observe une perte de masse continue, liée à la cristallisation des NPs avec la transformation des carbonates résiduels en oxyde.

A partir des pertes principales correspondant à l'élimination de l'APTES, plusieurs taux de greffage peuvent être calculés, en fonction du mode de greffage considéré. Pour chaque échantillon, quatre taux de greffage (GR0, GR1, GR2 et GR3) ont été déterminés (Tableau IV.2 (col. E)) en considérant la perte de masse organique associée au greffage par 0, 1, 2 ou 3 ethoxy. Les valeurs présentant le meilleur accord avec les taux de greffage déterminés à partir du N % sont mises en évidence en caractères gras. Excepté pour l'échantillon le plus faiblement modifié, on observe un bon accord entre les deux types d'analyses (Col. A et E). Pour les échantillons 0,027-Si, 0,040-Si et 0,048-Si le greffage est effectué par un ou deux ethoxy, alors que pour l'échantillon le plus fortement modifié (0,079-Si), il apparaît que deux ou trois ethoxy ont réagi. Ces modes de greffage déterminés à partir des ATG sont également en bon

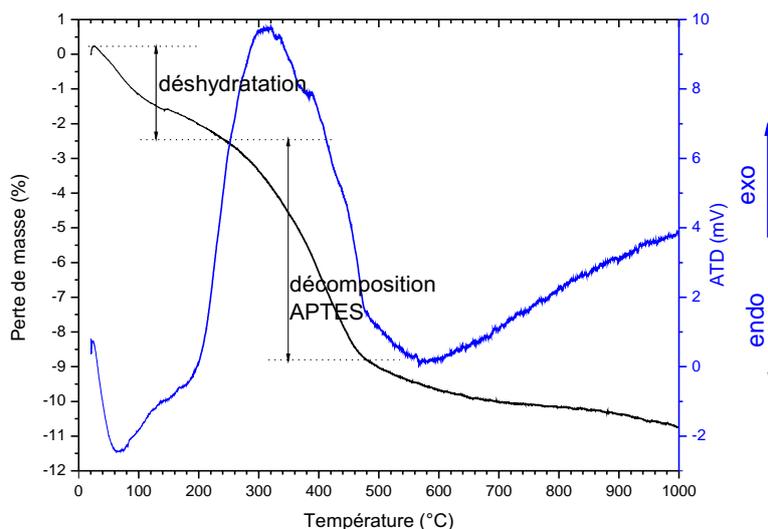


FIGURE IV.6 – Courbes d'analyse thermique de NPs de SiO_2 modifiées avec APTES

accord avec ceux qui découlent du C/N (Col. D) et indiquent une condensation plus importante de l'APTES lorsque la quantité introduite augmente.

Pour les particules d' Y_2O_3 , les valeurs issues de l'ATG s'accordent bien avec le GR de la colonne A, si l'on considère un modèle de condensation via 3 éthoxy. Comme pour les silices toutefois, l'accord n'est pas vérifié pour la plus faible quantité introduite (échantillon 0,034-Y). Pour tous les Y_2O_3 modifiés, le rapport C/N total est beaucoup trop important et conduirait à des taux de condensation trop faibles (notés entre parenthèses Col. D). Nous attribuons cet effet principalement aux carbonates résiduels constituant la matrice, dont l'élimination entraîne une augmentation du rapport C/N expérimental. Ce dernier ne doit donc pas être pris en compte pour la détermination des modes de greffage dans le cas d' Y_2O_3 .

IV.2.2 Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane

Un autre paramètre à analyser lors du greffage est l'épaisseur de la couche d'organosilane greffée. En effet, comme il a été mentionné au chapitre I, cette dernière doit être la plus fine possible, afin de ne pas perturber l'activité de la bio-molécule. La détermination de l'épaisseur de la couche greffée a été réalisée à partir des pertes de masse mesurées par ATG.

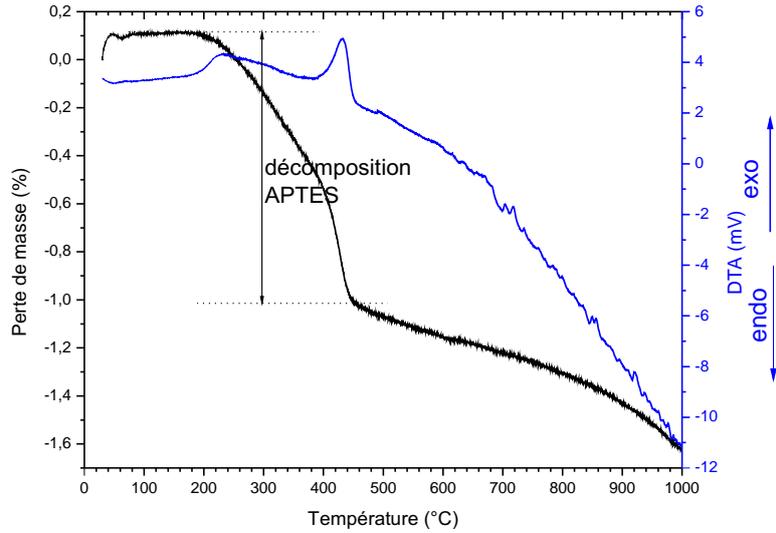


FIGURE IV.7 – Courbes d’analyse thermique de NPs d’ Y_2O_3 modifiées avec APTES

Le volume moyen d’une particule modifiée peut être calculé selon la formule IV.2 :

$$V_G = V_{NP} \left(1 + \frac{\Delta M}{M_{Ox}} * \frac{\rho_{Ox}}{\rho_{OS}} \right) \quad (\text{IV.2})$$

où V_{NP} est le volume d’une NP nue, ΔM est la perte de masse due à la décomposition de l’organosilane (déterminée par ATG), M_{Ox} est la masse d’oxyde mesurée à la fin de l’ATG, ρ_{Ox} et ρ_{OS} sont respectivement les densités des oxydes et de l’organosilane ($\rho_{OS}=1,0 \text{ g.cm}^{-3}$ [35]).

Le rayon d’une particule greffée peut alors être déterminé après avoir soustrait celui d’une particule nue et l’épaisseur de la couche e_{OS} peut être calculée. Le rayon moyen des NPs d’ Y_2O_3 nues a été déterminé par microscopie électronique : il est d’environ 75 nm. Pour les particules de silice il est évalué à environ 350 nm. Les valeurs de e_{OS} calculées sont regroupées dans le Tableau IV.2(col. G).

Les résultats montrent que l’épaisseur de la couche d’organosilane greffée sur les particules de silice varie de 16 à 28 nm, soit dix fois l’épaisseur calculée pour les NPs d’ Y_2O_3 , qui n’excède pas 1,5 nm. Comme on peut le voir sur les clichés TEM (Figure IV.8), une couche apparaît clairement à la surface des particules de silice, dont l’épaisseur est évaluée à environ 25-30 nm. Cette couche n’est pas homogène ni régulière mais se présente sous la forme de nanoplots d’APTES polymérisé, répartis tout autour de la surface de la particule. De plus, lorsque le taux de greffage augmente, la couche autour des particules devient plus irrégulière et s’étend

largement en dehors de la surface de la particule.

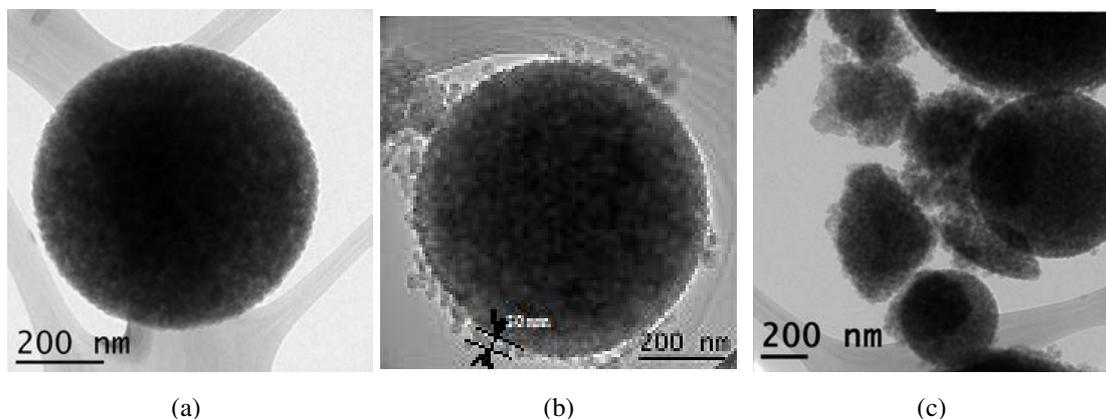


FIGURE IV.8 – Clichés de microscopie des particules de silice (a) vierges, et modifiées par APTES : 0,040-Si (b) et 0,079-Si (c)

Une couche s'est également formée à la surface des NPs de Y_2O_3 , observable en microscopie à haute résolution. Elle apparaît alors plus homogène et beaucoup plus fine, de l'ordre de 1 nm, ce qui est concordant avec les valeurs obtenues par le calcul. En outre, les clichés de microscopie ne présentent aucun agrégat ce qui signifie que si l'excès d'organosilane a réagi et a polymérisé, les agglomérats formés ont été éliminés lors des étapes de lavage et centrifugation.

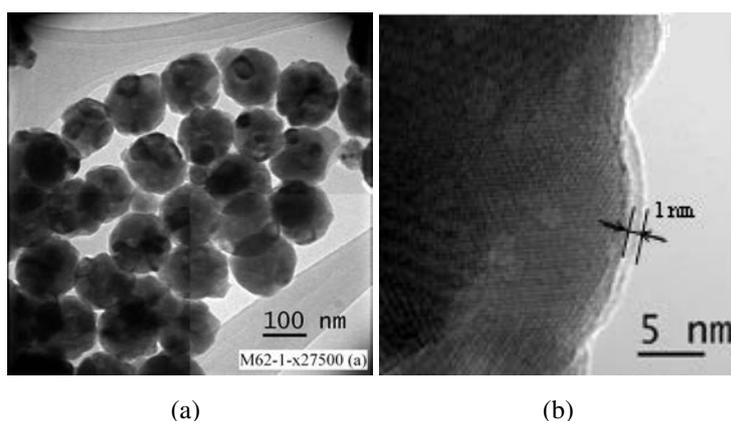


FIGURE IV.9 – Clichés de microscopie des particules de Y_2O_3 modifiées par APTES : (a) 0,044-Y et (b) HRTEM 0,051-Y

La longueur d'une chaîne $O-Si-(CH_2)_3-NH_2$ a été estimée à environ 0.5 nm en utilisant le logiciel AVOGADRO, ce qui signifie que e_{OS} correspond à 3 couches d'organosilane pour Y_2O_3

et entre 30 et 60 couches pour SiO₂.

Les considérations à propos des taux de greffages, la détermination et la mesure de l'épaisseur de la couche d'organosilane greffée supportent le modèle d'une condensation par 3 groupements éthoxy dans le cas des particules d'Y₂O₃. Un tel modèle peut être réalisé soit par réaction des trois éthoxy sur la particule (Figure IV.3(a)), soit par réaction de seulement un ou deux éthoxy sur la particule et condensation des autres avec d'autres molécules d'APTES comme le montre la Figure IV.3(b). Ces deux modèles entraînent alors la formation d'une couche faiblement réticulée de faible épaisseur. Le schéma (Figure IV.3(c)) présentant la formation d'une couche plus réticulée, moins ordonnée et plus épaisse semble plus approprié pour décrire le greffage de l'APTES sur les particules de silice.

IV.2.3 Spectroscopie IR

Afin de confirmer la présence et le greffage de manière covalente de l'APTES dans les échantillons fonctionnalisés, ces derniers ont été analysés par spectroscopie IR. Les spectres IR des particules de silice pures et modifiées sont présentés Figure IV.10. La position et l'attribution des bandes caractéristiques observées sont regroupées Table IV.3.

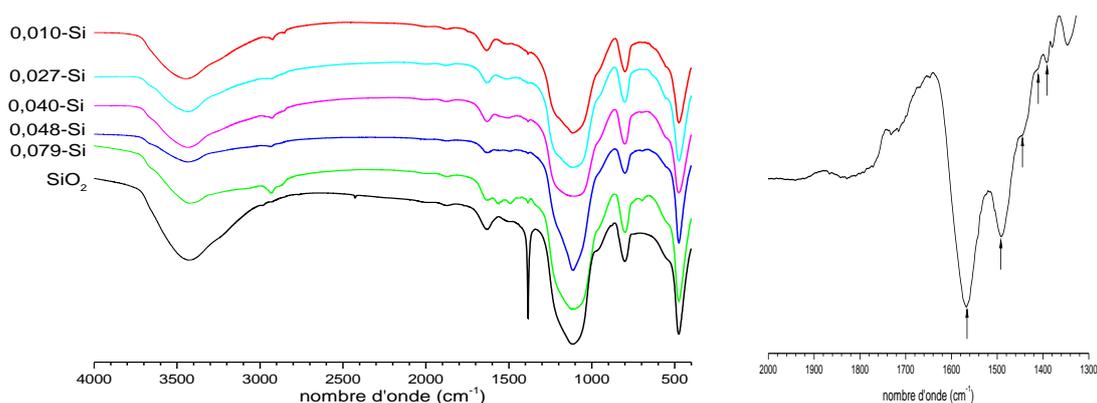


FIGURE IV.10 – *Spectres IR des particules de silice nues et modifiées. A droite, spectres détaillés obtenus par différence des spectres des particules modifiées et nues*

Outre les bandes caractéristiques des liaisons Si-O-Si, décrites au paragraphe III.5.2.2 pour les particules de silice vierges, les spectres IR de ces particules modifiées présentent à 2870 et 2930 cm⁻¹ et entre 1350 et 1450 cm⁻¹ des raies fines liées aux vibrations des liaisons C-H de

$\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$		$\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$	
NPs vierges	NPs modifiées (bandes additionnelles)	NPs vierges	NPs modifiées (bandes additionnelles)
3000-3700 (O-H)		3430 (O-H)	
	2870, 2930 (C-H ₂)		2853, 2932, 2967 (C-H ₂)
1630 (O-H)		1634 (O-H)	
	1568, 1500 (N-H)		1568, 1515 (N-H)
		1503 (CO ₃ ²⁻)	
	1438, 1412, 1390 (C-H ₂)		1438, 1412, 1390 (C-H ₂)
		1387 (CO ₃ ²⁻)	
1385 (NO ₃ ⁻)			
	1244 (Si-C)		1230 (Si-C)
1110, 1215 (Si-O-Si)			1159 (Si-O-X) (X=C,Y)
980 (Si-OH)		1104 (CO ₃ ²⁻)	
470, 800 (Si-O-Si)		450, 490 (Y-O-Y)	

TABLE IV.3 – Récapitulatif des positions et des attributions des bandes d'absorption IR pour les échantillons $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$

la chaîne propyle. Les autres bandes caractéristiques de l'APTES sont masquées par le massif large et intense de la matrice de silice. Toutefois, un certain nombre d'informations peuvent être obtenues par différence entre le spectre des particules modifiées et celui des particules nues (Figure IV.10) qui fait notamment apparaître des bandes à 1568 et 1500 cm^{-1} caractéristiques des amines, ainsi que les bandes à 1438, 1412 et 1390 cm^{-1} qui sont la signature des CH₂ de la chaîne propyle [44].

Concernant les NPs d' Y_2O_3 , de nouvelles bandes apparaissent également sur les spectres enregistrés après greffage (Figure IV.11), à 2853, 2932 et 2967 cm^{-1} , dues aux vibrations C-H. De plus, comme aucune bande liée à la NP ne vient masquer la région située entre 1000 et 1400 cm^{-1} les bandes apparaissant dans cette zone peuvent sans ambiguïté être attribuées à l'APTES. Ainsi, si la bande observée à 1230 cm^{-1} est clairement reliée aux vibrations des liaisons Si-CH₂ de la chaîne propyle [54, 136], il est difficile de déterminer avec certitude l'origine du pic situé à 1159 cm^{-1} , ce dernier pouvant tout aussi bien être du aux liaisons Si-O-Y, ce qui prouverait une

interaction covalente entre les particules et l'APTES, qu'aux liaisons Si-O-C des groupements éthoxy de l'APTES.

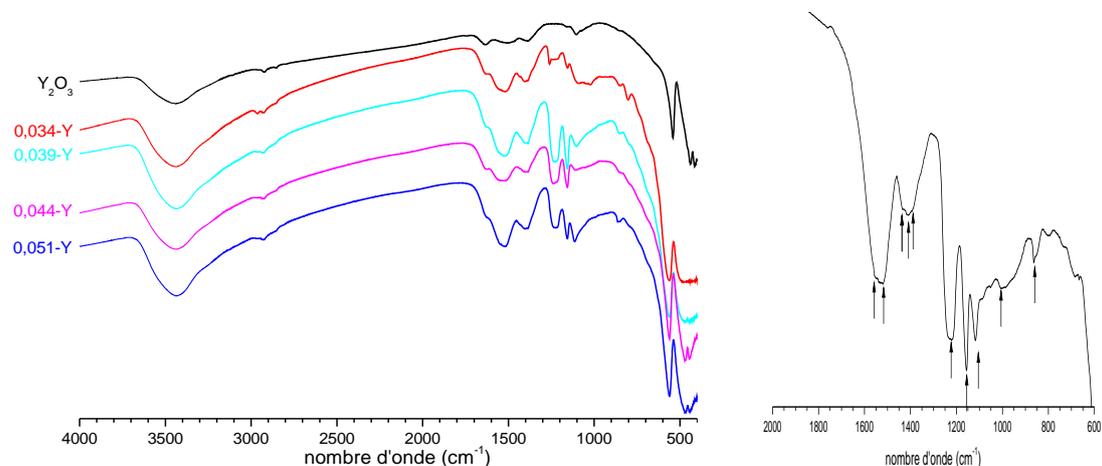


FIGURE IV.11 – Spectres IR des particules d' Y_2O_3 nues et modifiées. A droite, spectres détaillés obtenus par différence des spectres des particules modifiées et nues

Cependant, l'analyse des taux de greffage avait révélé que l'APTES était préférentiellement greffé à la surface des NPs via les trois groupements éthoxy, ce qui limite la présence de liaisons Si-O-C dans les échantillons. La bande située à 1159 cm^{-1} serait donc attribuée aux liaisons Si-O-Y, prouvant ainsi un greffage covalent de l'APTES. En outre, même s'il est difficile d'isoler les vibrations des groupements NH_2 de celles des carbonates (1503 cm^{-1}) et de l'eau (1634 cm^{-1}) sur les spectres non traités, le spectre différentiel révèle clairement la présence d'amines à 1568 et 1515 cm^{-1} . Sur ce même spectre, les bandes correspondant aux CH_2 de la chaîne propyle peuvent, quant-à-elles, être observées à 1390 , 1412 et 1438 cm^{-1} .

IV.2.4 Spectroscopie RMN

La coordination de Si dans les oxydes et les organosilanes a été l'objet de nombreuses études, en particulier par RMN du silicium, qui est de ce fait bien documentée. La nomenclature distingue ainsi différents types d'atomes de silicium nommés Q^2 , Q^3 et Q^4 lorsqu'ils font partie de la matrice et T^1 , T^2 et T^3 s'ils proviennent de l'organosilane (Figure IV.12), chaque type d'environnement étant caractérisé par une valeur de déplacement chimique. Ainsi, un déplacement chimique de -111 ppm est attribué aux atomes Q^4 du bulk ($\text{Si}(\text{OSi})_4$), alors que les atomes de silicium associés aux silanols de surface Q^3 ($\text{Si}(\text{OSi})_3(\text{OH})$) donneront lieu à un déplacement

de -100 ppm. Un déplacement de -90 ppm correspondra aux Q^2 ($(Si(SiO)_2(OR)_2)$). De même, si l'atome d'oxygène lié au silicium est impliqué dans un groupement organosilane, les signaux correspondant aux unités T^2 ($(SiO)_2-Si-R(OR)$) et T^3 ($(SiO)_3-Si-R$) apparaîtront respectivement à 58 et -67 ppm.

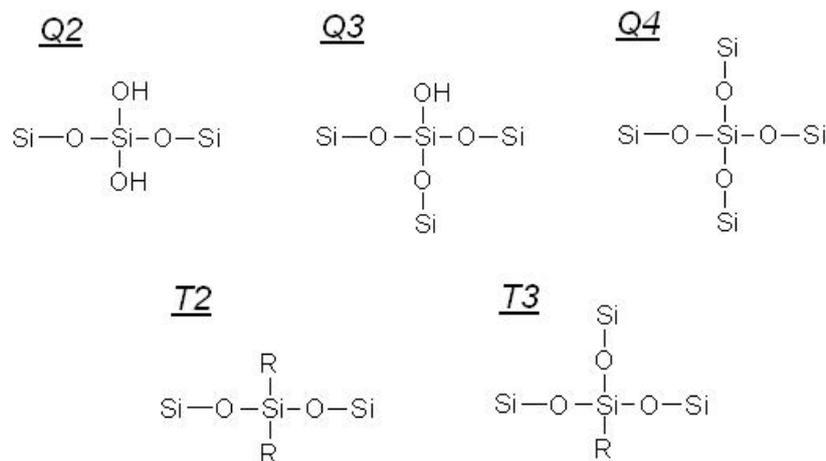
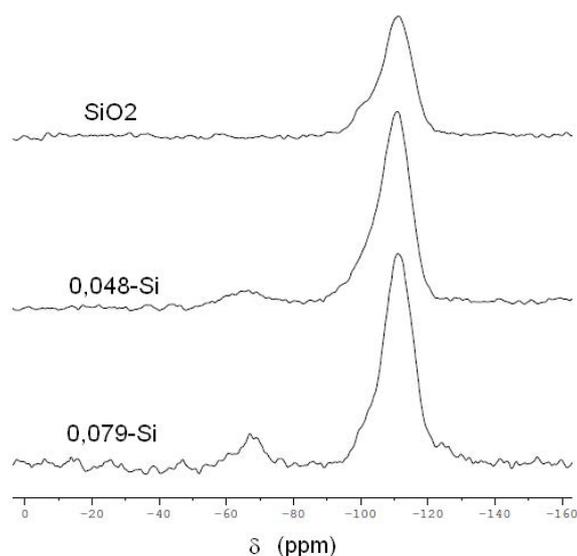
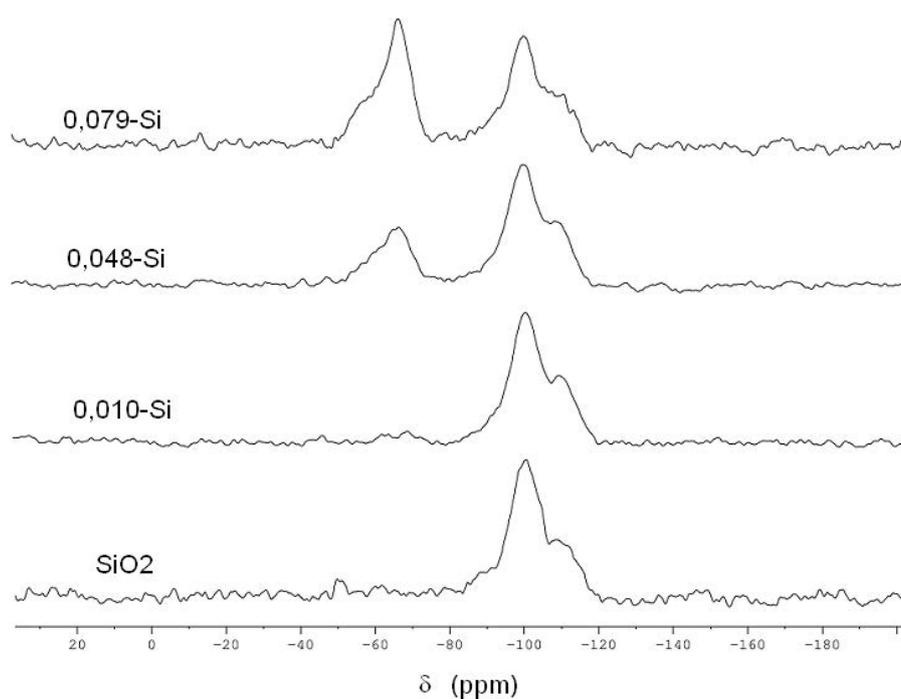


FIGURE IV.12 – Dénomination des atomes de silicium

Sur les spectres $^{29}Si\{^1H\}$ DP-MAS présentés Figure IV.13, il apparaît la signature caractéristique de la matrice de silice : un pic intense à -111 ppm correspondant aux atomes de silicium Q^4 , ainsi qu'un épaulement lié aux Q^3 , dont l'intensité décroît avec l'introduction de l'APTES. Sur ces mêmes spectres, la bande liée aux atomes de silicium de l'organosilane T^3 apparaît pour l'échantillon 0,048-Si, et est clairement visible pour l'échantillon 0,079-Si. Lorsque les spectres de ces mêmes échantillons sont enregistrés avec la technique de polarisation croisée ($^{29}Si\{^1H\}$ CP-MAS), la réponse des atomes de silicium à proximité des protons est exaltée, ce qui, aura comme principale conséquence de diminuer la réponse des atomes Q^4 comparativement aux autres contributions (Q^3 , T^2 et T^3). Les spectres enregistrés avec cette technique sont présentés Figure IV.14. Les pics T^3 sont alors clairement observables pour les échantillons 0,079-Si et 0,048-Si, et plus faiblement pour l'échantillon 0,010-Si.

Les spectres $^{13}C\{^1H\}$ DP-MAS (Figure IV.15) présentent, 3 pics à 10, 26 et 44 ppm, chacun d'eux correspondant à un CH_2 de la chaîne propyle de l'APTES. Puisque les intensités respectives de ces pics demeurent similaires, on peut en déduire que le squelette de la chaîne aminiopropyl est conservé après le processus de greffage.

FIGURE IV.13 – Spectres $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ DP-MAS des particules de silice nues et modifiéesFIGURE IV.14 – Spectres $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ CP-MAS des particules de silice nues et modifiées

Ces résultats confirment donc le succès de la modification de surface des particules de silice et l'établissement d'un lien covalent pour tous les échantillons, y compris les plus faiblement modifiés.

Les mêmes analyses ont été réalisées sur les nanoparticules d' Y_2O_3 modifiées, mais aucun signal n'a pu être détecté, que ce soit pour le silicium ou pour le carbone. Cela peut être expliqué

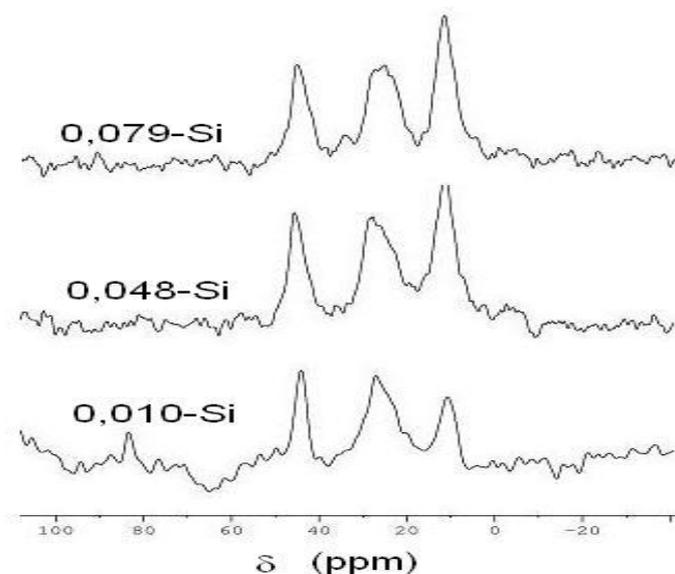


FIGURE IV.15 – Spectres $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ DP-MAS des particules de silice nues et modifiées

par la fine épaisseur calculée de la couche d'organosilane qui est environ dix fois faible pour les NPs d' Y_2O_3 que pour celles de SiO_2 (Tableau IV.2(col. G)).

IV.2.5 Spectroscopie XPS

Les NPs d' Y_2O_3 modifiées, pour lesquelles aucun signal n'a pu être détecté par RMN du solide ont été étudiées par XPS. Comme la profondeur analysée par cette technique ne dépasse pas 4 nm, la réponse des groupements greffés à la surface est largement augmentée en comparaison de celle du bulk. Les spectres globaux des échantillons sont présentés Figure IV.16. Pour les NPs d' Y_2O_3 non modifiées, les pics présents correspondent aux orbitales Y 4s, Y 3p, Y 3s et O 1s [137], un faible signal attribué à Eu 4d étant aussi détecté. Après greffage de l'APTES, les modifications les plus importantes sont l'apparition de deux nouveaux pics à 103,2 et 399,6 eV correspondants respectivement aux niveaux d'énergie Si 2p et N 1s de l'APTES, confirmant le greffage. De ces spectres, les ratios atomiques N/Y et Si/N ont pu être calculés et sont regroupés Tableau IV.4. En accord avec les résultats des analyses chimiques et thermiques, les ratios N/Y sont presque les mêmes pour tous les échantillons étudiés. De même, pour tous les échantillons, les ratios Si/N sont plus élevés que 1, qui est la valeur attendue dans le cas de l'APTES. Cet écart est attribué au recouvrement des pics N 1s et Y 3s ce qui conduit à une sous-estimation de la quantité d'azote. Les spectres détaillés des niveaux énergétiques O 1s, C 1s et N 1s ont également été enregistrés.

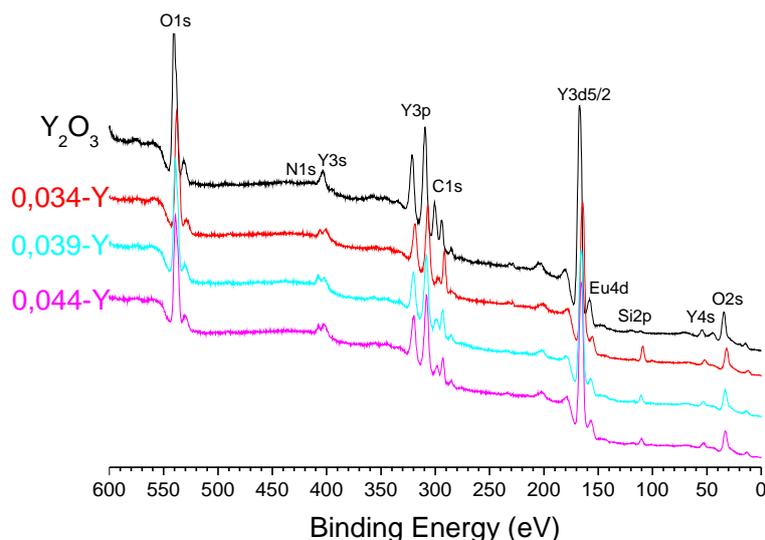


FIGURE IV.16 – Spectre XPS global des NPs d' Y_2O_3 modifiées avec APTES

Le pic du niveau C 1s a également été analysé en détail (Figure IV.17(a)). Les particules d' Y_2O_3 nues, ayant été mise en suspension dans le toluène afin de servir de référence, la composante majeure observée à 285,0 eV lors de la déconvolution est attribuable aux liaisons C-H résiduelles du toluène (Figure IV.17(b)). De plus, le pic à 286,6 eV peut être lié aux liaisons C-O des carbonates résiduels. Après modification, la déconvolution du pic C 1s fait apparaître une seconde composante autour de 286,0 eV, qui augmente avec le taux de fonctionnalisation, reflétant à la fois les contributions de la chaîne aminopropyl et des groupements éthoxy de l'APTES. Enfin, la troisième composante centrée à 283,5 eV est à relier à la présence des liaisons C-Si. En effet, cet environnement a été confirmé lors de l'analyse des spectres des niveaux Si 2p, qui présentent, outre les sous-pics SiO_2 et SiOx à 103,5 et 102,7 eV, une petite composante liée aux liaisons Si-C. Ces attributions sont en concordance avec les analyses IR qui ont permis de mettre en évidence les liaisons Si-C.

Concernant les amines, une seule composante à 399,6 eV, caractéristique des groupements NH_2 pic N 1s, alors que la signature des amines protonées NH_3^+ vers 402,5 eV décrite par Maria Chong et al. est absente [138] (Figure IV.17(c)).

L'analyse du niveau Y 3d confirme la présence de la phase Y_2O_3 avec un pic caractéristique à 157,5 eV, et ceci pour tous les échantillons. Le spectre O 1s des particules d' Y_2O_3 nues (Figure IV.17(a)) présente deux composantes principale à 529,5 eV et 531,5 eV liées respectivement au

bulk Y_2O_3 et aux hydroxyls de surface des NPs, le pic moins intense situé à 532,5 eV étant à attribuer aux liaisons O-C des groupements carbonates résiduels. Après modification par APTES, la contribution des O-H diminue très fortement, au bénéfice de liaisons O-Si, matérialisées par l'apparition d'un nouveau pic à 532,5 eV, qui chevauche celui des liaisons O-C des carbonates. Cependant, comme la proportion de carbonates de la NP est supposée constante l'apparition de cette troisième composante permet de mettre en évidence la présence de la couche d'APTES et des liaisons O-Si à l'interface couche/particule [137].

		Y_2O_3	0,034-Y	0,039-Y	0,044-Y
Rapport	N/Y	-	0,20	0,16	0,24
élémentaire	Si/N	-	3,4	1,7	1,6
aire du pic O 1s (%)	O-bulk	29,8	19,1	26,4	20,9
	O-H	54,6	16,4	27,1	9,9
	O-Si, O-C	15,6	64,5	51,5	69,2
aire du pic C 1s (%)	C-Si	-	2,5	6,7	7,2
	C-H	-	83,4	71,9	68,9
	C-N	-	13,1	21,4	23,8

TABLE IV.4 – Compositions chimiques des NPs d' Y_2O_3 modifiées avec APTES et vierges, déterminées par XPS

Les analyses par RMN et XPS permettent donc de montrer, non seulement la présence, mais aussi le greffage de l'APTES de façon covalente à la surface des NPs. De plus, la faible variation, à la fois des rapports d'intensité des trois pics observés sur les spectres $^{13}C\{^1H\}$ DP-MAS, mais également du rapport N/Y calculé à partir des analyses XPS indiquent que le squelette de l'APTES et particulièrement la chaîne aminopropyle est conservée lors de la réaction de greffage.

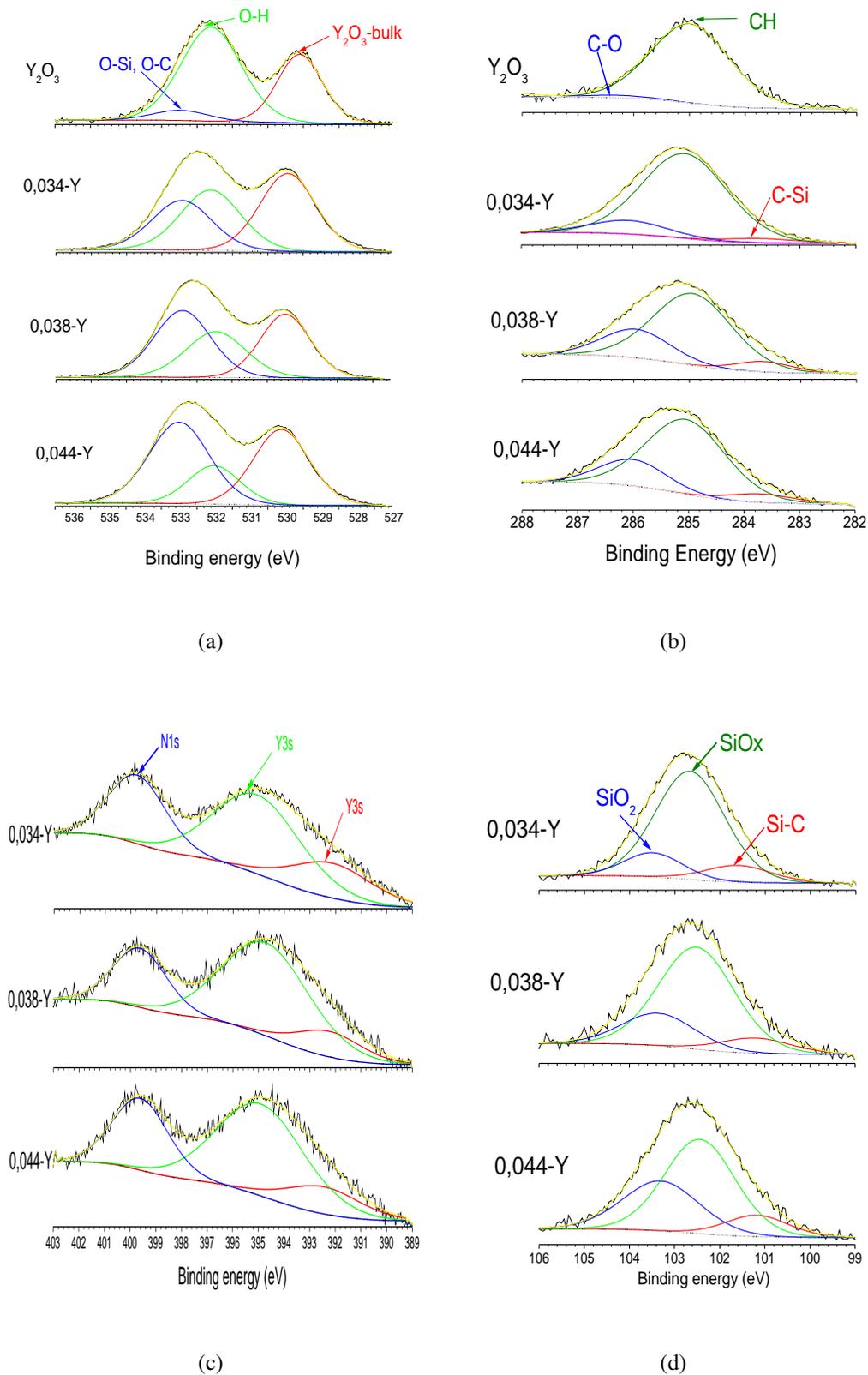


FIGURE IV.17 – Spectre XPS des NPs d' $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ modifiées avec différentes concentration en APTES enregistrés pour différents seuils : (a) niveau O1s, (b) niveau C1s, (c) niveau N1s et (d) niveau Si2p

IV.2.6 Potentiel zéta

Un autre paramètre clé pour la fonctionnalisation est le taux de couverture des NPs par les amines, puisque ce sont ces fonctions qui serviront de base pour lier les récepteurs biologiques. Ce paramètre a été suivi par mesure du potentiel zéta, mesuré en fonction du pH, après dispersion des particules dans un électrolyte (0,25 mg dans 1 mL de NaCl 10^{-3} M). Pour les particules de silice nues, le point isolélectrique (IEP) a été déterminé à pH 1,7 Figure IV.18. Comme il a été décrit dans la Ref. [139], l'IEP de la silice amorphe se situe aux alentours de pH 2-3, et est contrôlé par la déprotonation des groupes silanols Q^3 . L'échantillon 0,027-Si ne présente presque aucune modification comparé aux particules de silice pures. Pour les taux de greffage supérieurs, l'IEP est observé à un pH beaucoup plus élevé, autour de 9,5. Cette valeur est l'évidence directe de la présence de groupes amines à la surface des particules qui sont protonées à $pH < 9,5$ et sous forme neutre NH_2 à pH supérieur.

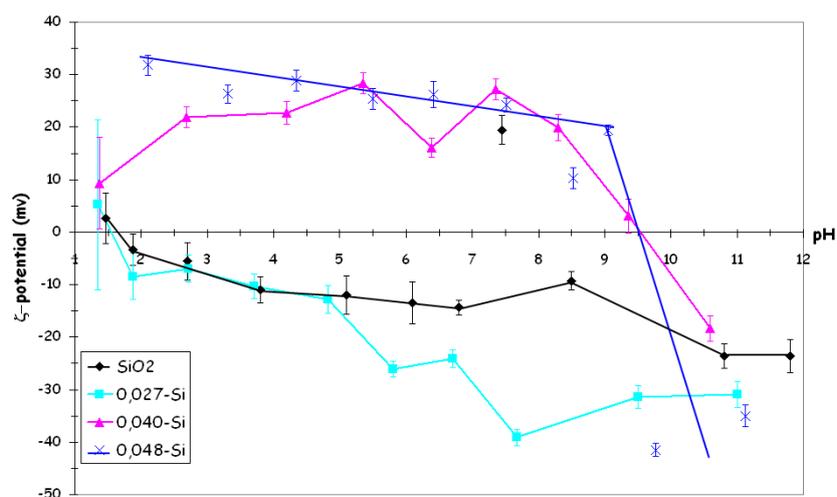


FIGURE IV.18 – Courbes de suivi du potentiel zéta des NPs de $SiO_2 :Eu^{3+}$ modifiées avec différentes concentration en APTES

Le point isolélectrique des NPs nues d' Y_2O_3 est mesuré à pH 8,3 (Figure IV.19). Cette valeur est beaucoup plus élevée que pour les particules de silice. A titre de comparaison, pour les NPs de maghémite l'IEP apparaît à pH 6,5 [135]. Pour les particules d' Y_2O_3 modifiées par APTES, l'IEP augmente à 8,6 pour le plus faible taux de greffage (échantillon 0,034-Y) et atteint la valeur 9,2 pour 0,039-Y et 0,044-Y, prouvant la présence de groupements amines en surface.

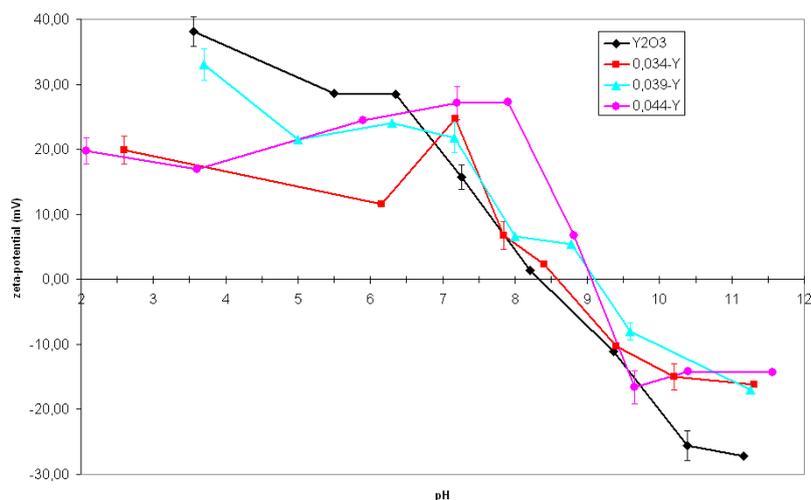


FIGURE IV.19 – Courbes de suivi du potentiel zéta des NPs d' $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ modifiées avec différentes concentration en APTES

IV.2.7 Luminescence

La modification et le greffage de l'APTES ont été réalisés sur des NPs luminescentes, afin de les rendre compatibles pour une future utilisation en tant que bio-marqueurs. De ce fait, l'influence de l'APTES sur les propriétés de luminescence doit être étudiée. Nous avons donc comparé les propriétés avant et après modification. La Figure IV.20 présente les spectres de luminescence enregistrés sur les poudres d' $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$, de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ et l'échantillon 0,040-Si. Les spectres observés pour les particules nues de $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ont été décrits au Chapitre III.

Après réaction avec l'APTES, des spectres similaires d'émission et d'excitation de l' Eu^{3+} sont enregistrés, montrant que l'environnement des ions Eu^{3+} n'a pas changé. Ceci était attendu, car l'émission provient des ions Eu^{3+} substitués aux Y^{3+} , essentiellement dans le bulk de la particule. Pour les particules de silice on observe une amplification du fond de luminescence après modification. Ce fond est dû à la luminescence des défauts de la silice. La proportion de silice dans l'échantillon est augmentée après réaction avec l'APTES, ce qui exalte le fond par rapport à l'émission de Eu^{3+} . Toutefois, l'émission rouge caractéristique demeure bien observable après modification.

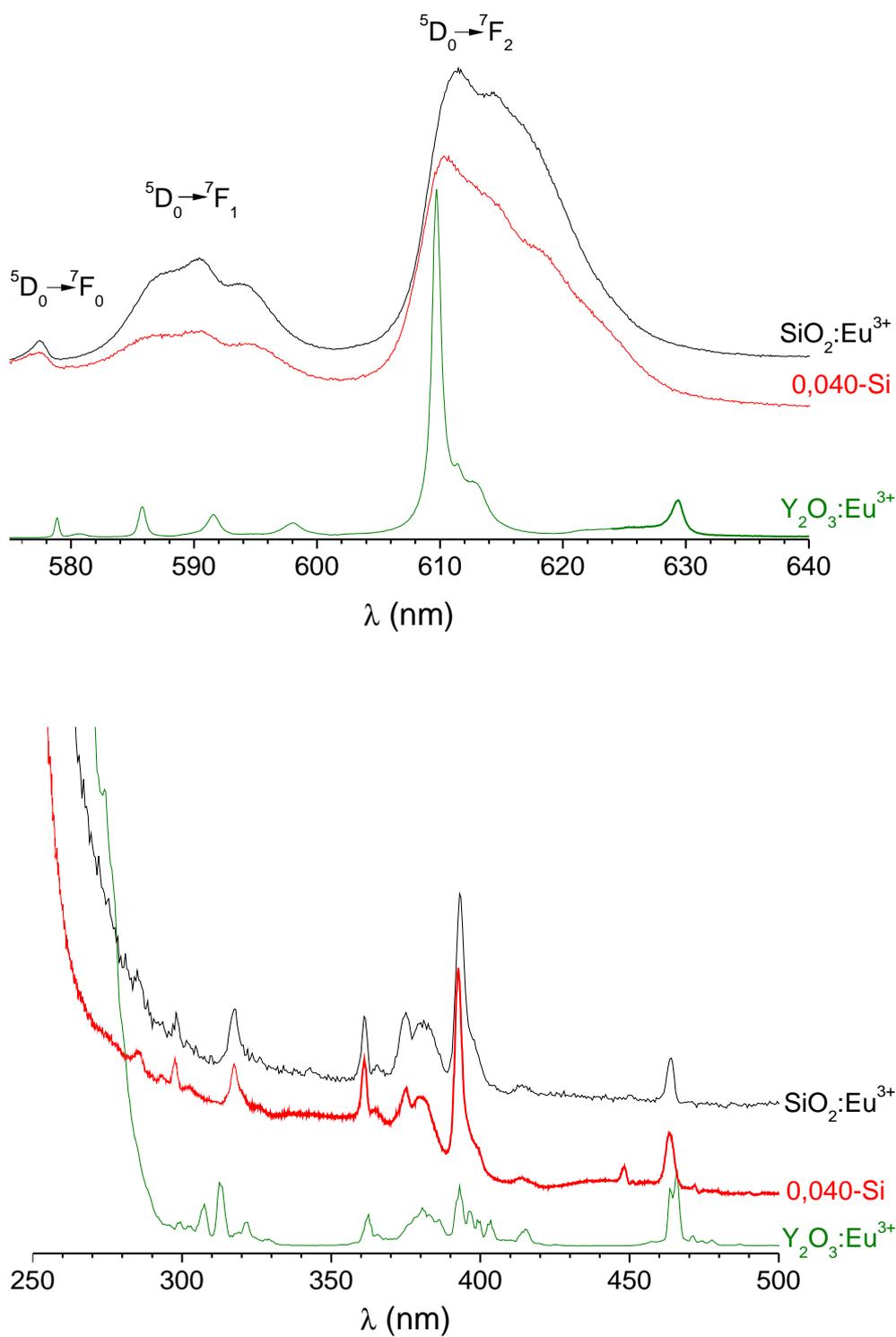


FIGURE IV.20 – Spectres de luminescence enregistrés sur poudre : $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ et $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ et $0,040\text{-Si}$. En haut spectre d'émission des NPs après excitation à 393 nm, en bas : spectre d'excitation enregistrés à 612 nm

IV.3 Modification des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

Après avoir caractérisé en détail les NPs de silice et d'oxyde d'yttrium, nous présentons ici, de façon plus concise, les résultats obtenus sur les NPs d'oxyde et d'oxysulfure de gadolinium, analysées suivant la même démarche. Les différences avec les NPs d' Y_2O_3 seront discutées.

IV.3.1 Détermination des taux de greffage

Comme pour les particules de silice et d'oxyde d'yttrium, les taux de greffage ont été déterminés par EA, selon l'équation IV.1. Les résultats sont regroupés dans le Tableau IV.5, et l'évolution des taux de greffage en fonction de la quantité d'APTES introduite pour chacun des matériaux est présentée en Figure IV.21. Pour l'oxysulfure de gadolinium, le taux de greffage tend vers une valeur maximale de 0,06 molAPTES/mol Gd_2O_2S . Cette valeur est proche des 0,05 molAPTES/mol Y_2O_3 et l'évolution du taux de greffage est également similaire à celle observée pour les NPs d'oxyde d'yttrium. Pour les NPs d'oxyde de gadolinium, contrairement à l'yttrium, l'évolution du taux de greffage est plus irrégulière et aucune tendance ne se dessine. Ce comportement pourrait être attribué à la saturation de la surface des NPs par l'APTES qui intervient extrêmement rapidement. Bien qu'apparaissant de façon moins marquée, cette saturation intervient également rapidement lors de la modification des NPs de Gd_2O_2S et Y_2O_3 et pour tous ces échantillons les taux de greffage mesurés n'évoluent que très peu en fonction de la quantité introduite.

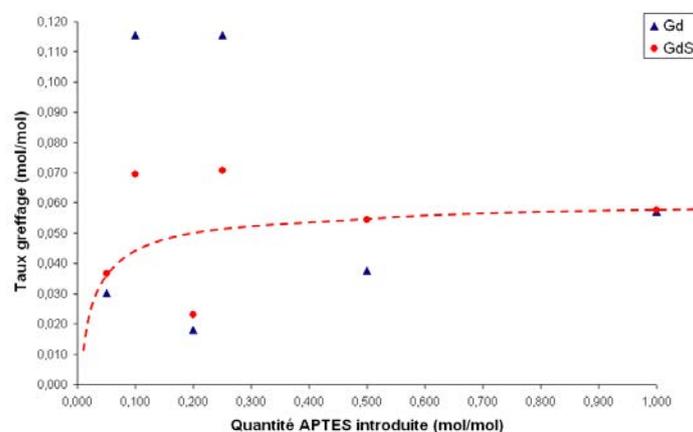


FIGURE IV.21 – Variation du taux de greffage en fonction de la quantité d'APTES pour les NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

Pour chacun des échantillons, les rapports C/N expérimentaux et les modes de greffage ont également été déterminés selon les mêmes considérations que pour les échantillons de silice ou d' Y_2O_3 , et sont regroupés dans le Tableau IV.5. Pour l'oxyde de gadolinium, la détermination des rapports C/N indique que l'APTES est greffé sur les NPs via les trois groupement éthoxy, alors que pour les oxysulfures, les modes de greffage sont plus aléatoires, et ne semblent pas suivre de règles particulières.

Comme pour les particules de silice et d'oxyde d'yttrium, l'analyse des taux de greffage a été complétée par des analyses thermogravimétriques.

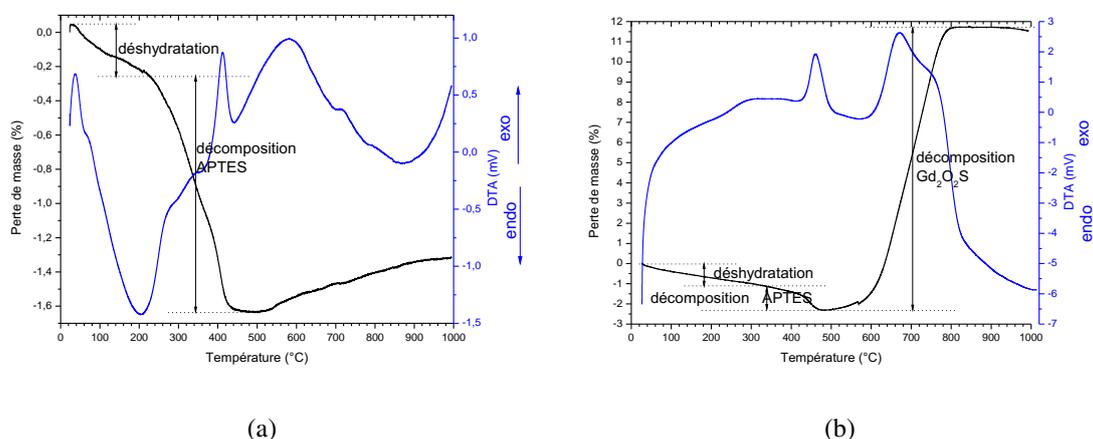


FIGURE IV.22 – Courbes d'analyse thermique de NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$ modifiées avec APTES : (a) 0,116-Gd et (b) 0,023-GdS

Les courbes d'analyse thermique des NPs de Gd_2O_3 (Figure IV.22 (a)) présentent deux événements principaux : une première perte de masse, d'environ 0,5%, entre 20 et 250°C, correspondant à la déshydratation avec l'évaporation de l'eau adsorbée, suivie par une perte principale entre 250 et 600°C, attribuée à la décomposition de l'APTES et l'élimination des résidus organiques. On peut remarquer qu'il n'y a pas de perte notable à plus haute température, qui correspondrait à la décomposition des carbonates résiduels comme cela avait été décrit pour Y_2O_3 . En effet, pour Gd_2O_3 nous avons choisi une température de traitement thermique de 850°C (contre 650°C pour Y_2O_3), afin de les éliminer.

[APTES] introduite (mol/mol)	EA				ATG						
	A) GR (mol/mol)	B) nom de l'échantillon	C) C/N	D) GM	E) taux de greffage (mol/mol)			F) GM		G) e_{OS}	H) n_{OS}
					GR0	GR1	GR2	GR3			
0,05	0,030	0,030-Gd	5,3	2	0,015	0,019	0,028	0,049	2	-	-
0,10	0,116	0,116-Gd	3,9	3	0,038	0,048	0,069	0,122	3	4,86	10
0,20	0,018	0,018-Gd	8,4	0-1	0,016	0,021	0,030	0,053	0-1	1,89	4
0,25	0,117	0,117-Gd	2,4	3	0,027	0,035	0,050	0,089	3	2,39	5
0,50	0,038	0,038-Gd	3,8	3	0,029	0,038	0,055	0,097	1	3,16	6
1,00	0,057	0,057-Gd	3,0	3	0,026	0,033	0,048	0,85	2-3	2,50	5
0,05	0,037	0,37-GdS	3,8	3	0,007	0,010	0,014	0,025	3	1,81	4
0,10	0,070	0,070-GdS	5,7	3	0,011	0,015	0,021	0,037	-	3,13	6
0,20	0,023	0,023-GdS	12,2	0	0,023	0,030	0,043	0,077	1	4,15	8
0,25	0,071	0,071-GdS	5,5	2	0,013	0,017	0,024	0,042	-	2,55	5
0,50	0,055	0,055-GdS	2,5	3	0,023	0,030	0,043	0,077	2-3	2,26	4
1,00	0,058	0,058-GdS	7,2	1	0,032	0,042	0,061	0,108	2	3,42	7

 TABLE IV.5 – Résumé des résultats des analyses élémentaire et thermiques pour les NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

La signification des colonnes est la même que dans le Tableau IV.2

Les taux de greffage ont été calculés à partir des pertes de masse correspondant à l'élimination de l'APTES. Un bon accord peut être trouvé entre les taux calculés par EA (Col. A) et les GR_n (Col. E), calculés à partir des analyses thermiques. De même, on remarque une bonne concordance entre les C/N déterminés par ces deux méthodes (Col. C et F). Ainsi, pour l'oxyde de gadolinium, comme pour l'oxyde d'yttrium, un greffage via les trois fonctions éthoxy a été mis en évidence.

Le profil des courbes de décomposition thermique des NPs de Gd_2O_2S (Figure IV.22 (b)) est bien différent, et deux grandes zones peuvent être distinguées. Jusqu'à $500^\circ C$, une première perte de masse de faible amplitude, liée à la déshydratation du matériau ($20-320^\circ C$), puis une deuxième, plus importante, attribuée à la décomposition de l'APTES ($320-500^\circ C$) sont observées. La deuxième zone de température ($> 500^\circ C$) est marquée par une prise de masse importante due à la transformation de l'oxysulfure en oxysulfate [140], la décomposition $Gd_2O_2SO_4 \rightarrow Gd_2O_3$ ayant lieu au dessus de $1070^\circ C$. Les taux de greffage calculés à partir de l'ATG et à partir des EA s'avèrent moins concordants que pour les oxydes et on ne peut pas tirer de conclusions quant aux modes de greffage.

IV.3.2 Détermination de l'épaisseur de la couche d'organosilane

Comme pour les particules d'oxyde d'yttrium, l'épaisseur de la couche d'organosilane a été calculée selon la formule IV.2, les résultats sont présentés Tableau IV.5, ainsi que le nombre de monocouches correspondantes. Les résultats montrent que l'épaisseur de la couche d'organosilane greffée sur les particules varie de 1,8 à 4,9 nm, ce qui correspond à l'ajout de 4 à 10 monocouches d'APTES, ce qui est légèrement plus élevé que pour les NPs d' Y_2O_3 . Il convient également de noter que des épaisseurs similaires ont été calculées pour Gd_2O_2S .

Afin de visualiser la couche de silice, les particules modifiées ont également été imagées par TEM. Pour l'oxyde de gadolinium, les images font état de particules sphériques, monodisperses en taille, plus ou moins agglomérées. Les images de microscopie haute résolution (HRTEM) réalisées sur ces particules révèlent la présence d'une couche amorphe autour des NPs, attribuée à l'APTES (Figure IV.23(d)). Nous avons pu remarquer que le greffage est inhomogène, des épaisseurs allant de 1 à 10 nm ayant été mesurées, pour un même échantillon.

De plus, nous avons également constaté que cette couche n'est pas présente autour de toutes les NPs, et que certaines ne sont pas recouvertes. On peut également noter que lorsque le taux de greffage augmente, des agrégats vont apparaître, d'abord de façon isolée, en dehors de la surface des particules (0,057-Gd), puis de façon agglomérée entre les NPs (0,116-Gd), permettant de conclure qu'au delà d'une certaine quantité d'APTES, le mode de greffage va évoluer et passer d'un greffage en monocouche à une réticulation plus importante.

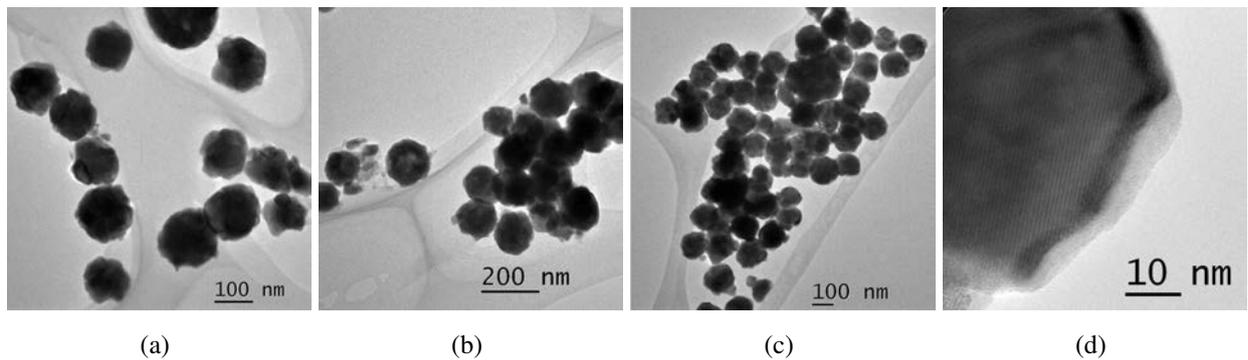


FIGURE IV.23 – Clichés de microscopie électronique en transmission des NPs de Gd_2O_3 modifiées : (a) 0,038-Gd, (b) 0,057-Gd et (c) 0,117-Gd. (d) Image HRTEM de la couche d'APTES sur 0,038-Gd

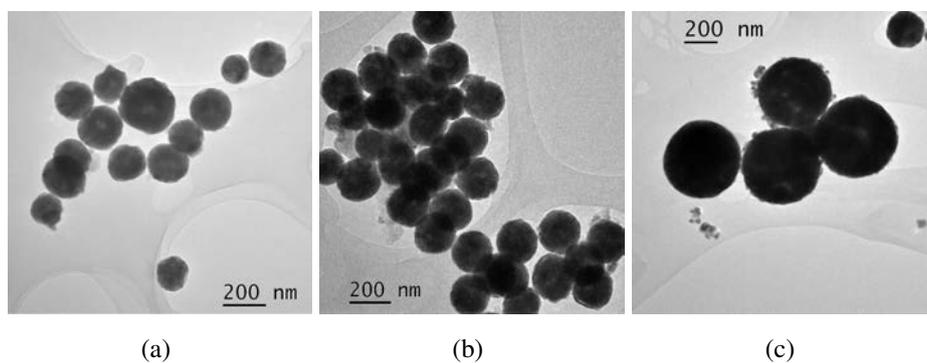


FIGURE IV.24 – Clichés de microscopie électronique en transmission des NPs de Gd_2O_3S modifiées : (a) 0,055-GdS, (b) 0,058-GdS et (c) 0,070-GdS

IV.3.3 Spectroscopie IR

Comme pour les NPs de silice ou d'oxyde d'yttrium, les NPs à base de gadolinium ont été analysées par spectroscopie IR. Les spectres IR des particules nues et modifiées sont présentés Figure IV.25 et IV.26. La position et l'attribution des bandes caractéristiques observées sont regroupées Tableau IV.6.

$Gd_2O_3 :Eu^{3+}$		$Gd_2O_2S :Eu^{3+}$	
NPs vierges	NPs modifiées (bandes additionnelles)	NPs vierges	NPs modifiées (bandes additionnelles)
3435 (O-H)		3447 (O-H)	
	2962, 2927, 2854 (C-H ₂)		2997, 2962, 2924, 2855 (C-H ₂)
1636 (O-H)		1634 (O-H)	
	1587 (N-H)		1540 (N-H)
1497 (CO ₃ ²⁻)		1541 (CO ₃ ²⁻)	
	1447, 1384 (C-H ₂)		1384 (C-H ₂)
1389 (CO ₃ ²⁻)		1387 (CO ₃ ²⁻)	
	1260 (Si-C)		1228 (Si-C)
1154 (Si-O-X) (X=C,Gd)			1153 (Si-O-X) (X=C,Gd)
1110 (Si-O-Si)			1117 (Si-O-Si)
1068 (CO ₃ ²⁻)			
1022 (Si-O-Si)			1003 (Si-O-Si)
851 (CO ₃ ²⁻)		846 (CO ₃ ²⁻)	
	805 (Si-O)		
543, 443 (Gd-O-Gd)		757, 704, 674, 446 (Gd-O-Gd et/ou Gd-S-Gd)	

TABLE IV.6 – Tableau récapitulatif des bandes observées par spectroscopie IR et de leur attribution

Outre les bandes caractéristiques des d'impuretés carbonates et d'hydroxyls, décrites au paragraphe III.3.3.1 pour les particules de Gd_2O_3 vierges et au paragraphe III.4.3.1 pour celles

de Gd_2O_2S , les spectres des particules modifiées présentent également des bandes révélant la présence de l'APTES. Ainsi, entre 3000 et 2850 cm^{-1} et entre 1450 et 1350 cm^{-1} , les spectres IR présentent de fines bandes liées aux vibrations des liaisons C-H de la chaîne aminopropyl. De plus, bien qu'aucune bande liée aux matrices Gd_2O_3 et Gd_2O_2S , n'apparaissent théoriquement entre 1000 et 1400 cm^{-1} , les bandes des carbonates résiduels, observées pour les particules nues, masquant partiellement celles de l'APTES, et perturbent l'analyse. Toutefois, comme pour les particules de silice et d' Y_2O_3 , un certain nombre d'informations peuvent être obtenues par différence entre les spectres des particules modifiées et celui des particules nues.

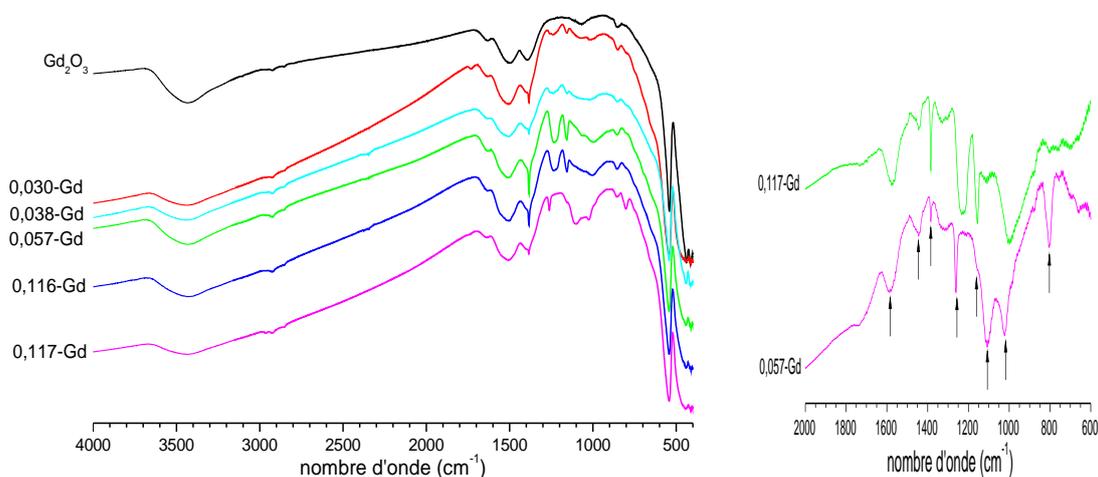


FIGURE IV.25 – *Spectres IR des particules de Gd_2O_3 nues et modifiées. A droite, spectres détaillés obtenus par différence des spectres des particules modifiées et nues*

Ainsi, pour les NPs de Gd_2O_3 , un deuxième pic, caractérisant les vibrations C-H de la chaîne aminopropyl peut être observé à 1447 cm^{-1} , ainsi qu'une bande à 1586 cm^{-1} , qui peut être attribuée aux vibrations des liaisons N-H des amines. La présence de l'APTES dans les échantillons peut également être mise en évidence par les pics intenses à 1260 cm^{-1} , lié aux vibrations des liaisons Si- CH_2 de la chaîne aminopropyl, et à 1110 et 1022 cm^{-1} , caractéristiques des liaisons Si-O-Si, démontrant ainsi un certain degré de polymérisation de l'APTES. Enfin, la présence d'un pic à 1150 cm^{-1} peut être attribuée aux liaisons Si-O-X (X = Gd ou C), sans toutefois pouvoir privilégier avec certitude l'une ou l'autre des origines. Cependant, l'étude des modes de greffage ayant révélé que le greffage s'établissait préférentiellement via les trois groupements éthoxy, il semble pertinent de privilégier les liaisons Si-O-Gd, prouvant alors une

interaction covalente entre les particules de Gd_2O_3 et l'APTES.

Concernant les NPs de Gd_2O_2S , le spectre différentiel fait apparaître à 1540 cm^{-1} une bande caractéristique des vibrations des liaisons N-H des amines de la chaîne aminopropyl de l'APTES, ainsi que les bandes Si-C à 1228 cm^{-1} . Enfin, la présence des bandes caractéristiques des vibrations Si-O-Si à 1117 et 1003 cm^{-1} et Si-O-X (X = C ou Gd) à 1153 cm^{-1} confirme le greffage de l'APTES. Cependant, là encore, il est très difficile de déterminer avec exactitude l'origine de cette bande car le nombre de groupements éthoxy participant aux greffage de l'APTES s'est révélé aléatoire.

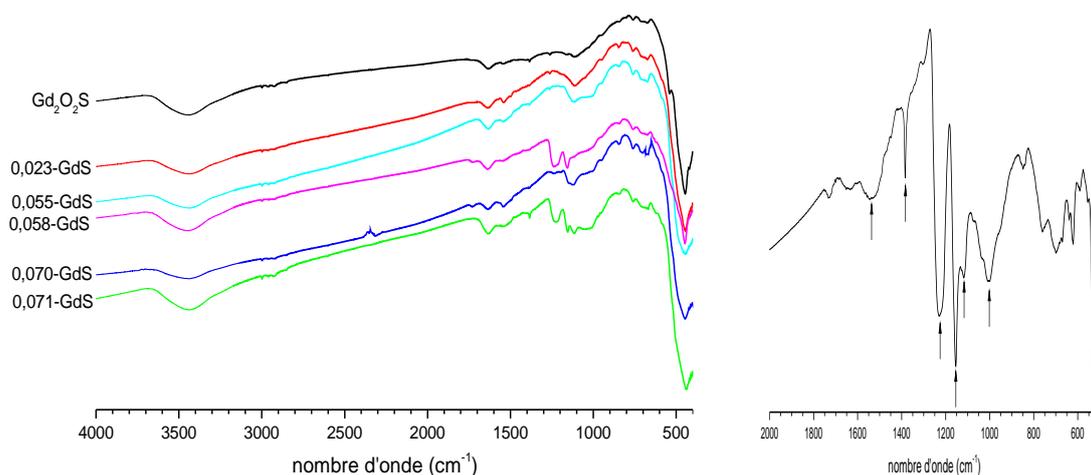


FIGURE IV.26 – Spectres IR des particules de GdS nues et modifiées. A droite, spectres détaillés obtenus par différence des spectres des particules modifiées et nues

En outre, des spectres très différents peuvent être enregistrés dans la zone $1000\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$, particulièrement pour les NPs de Gd_2O_2S modifiées. Ainsi, l'échantillon 0,055-GdS, pour lequel quelques excroissances et agglomérats peuvent être observés (Figure IV.24(a)), ne présente, dans cette zone, qu'une bande large relativement intense à 1003 cm^{-1} , liée aux vibrations des liaisons Si-O-Si. Sur le spectre de l'échantillon 0,058-GdS cette bande est totalement absente alors que deux bandes correspondant aux liaisons Si-O-X et Si-C situées à 1156 et 1228 cm^{-1} respectivement sont observées. Pour cet échantillon, de très légères excroissances apparaissent sur les clichés TEM, mais aucun agglomérat n'est observé. Il vient donc que l'absence des bandes Si-O-Si sur les spectres IR permet de conclure que l'APTES n'a pas polymérisé et

ne s'est donc déposé que sous forme d'une fine couche à la surface des particules. Enfin, pour l'échantillon 0,070-GdS, les bandes attribuées aux vibrations des liaisons Si-O-X et SiO₂ apparaissent simultanément, ce qui signifie qu'à la fois une couche d'APTES a été greffée à la surface des particules, mais que ce dernier a également polymérisé en dehors de la surface pour former des agglomérats, visibles sur les clichés de microscopie (Figure IV.24(c)). Des observations similaires ont également été faites sur les échantillons de Gd₂O₃, en particulier pour 0,117-Gd.

Deux mécanismes concurrents interviennent donc lors du greffage de l'APTES sur les NPs d'oxyde et d'oxysulfure de lanthanide : le premier consiste en la création de liaisons covalentes entre la surface de la NP et les molécules d'APTES, permettant le greffage d'une fine couche d'organosilane sur les particules. Le deuxième mécanisme consiste en la polymérisation des molécules d'APTES entre elles, sur ou en dehors de la surface des NPs, entraînant alors la formation d'un réseau de silice et l'apparition d'agglomérats.

IV.3.4 Potentiel zéta

Une preuve supplémentaire du greffage de l'APTES provient des mesures de potentiel zéta. En effet, pour les particules de Gd₂O₃, le point isoélectrique a été déterminé à pH 7,8. Comme pour les particules Y₂O₃, cette valeur élevée peut être expliquée par le faible nombre de groupements hydroxyl présents à la surface des particules. Après modification avec l'APTES, l'IEP augmente à pH 8,2 pour le plus faible taux de greffage (0,030-Gd), et atteint un plateau autour de pH 8,7 à partir de 0,057-Gd, démontrant que les NPs sont recouvertes d'APTES.

Pour les NPs de Gd₂O₂S, le potentiel zéta reste faible (< 10 mV) pour les pH compris entre 2 et 7,3 et prend une valeur faiblement négative à pH > 7,3. Après modification par l'APTES, le pH de l'IEP pour atteindre 8,6 pour l'échantillon ayant le taux de greffage le plus élevé (0,071-GdS), démontrant également la présence d'amines sur les NPs de Gd₂O₂S.

IV.3.5 Luminescence

Comme pour les matériaux précédents, très peu de modifications des spectres apparaissent après le greffage de l'APTES (Figures IV.29 et IV.30). Pour chacun, les bandes caractéristiques

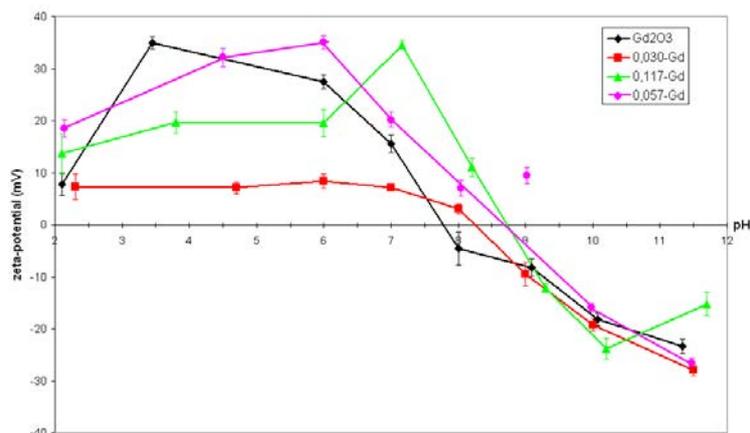


FIGURE IV.27 – Courbes de suivi du potentiel zéta des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ modifiées avec différentes concentrations en APTES

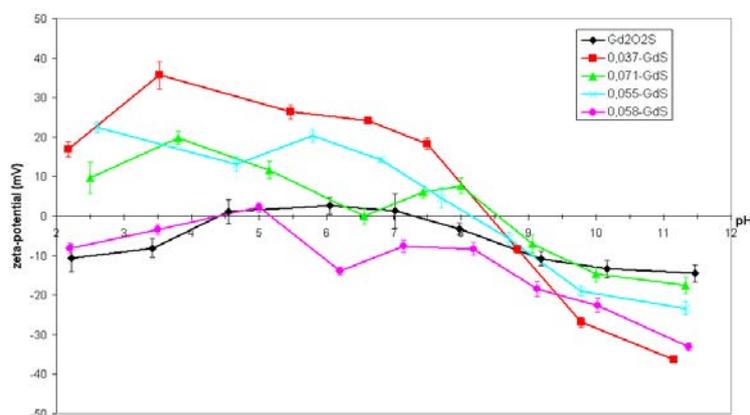


FIGURE IV.28 – Courbes de suivi du potentiel zéta des NPs de $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$ modifiées avec différentes concentration en APTES

des transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$ ($J=0-4$) de l'euprium sont observables, indiquant que l'environnement des ions Eu^{3+} n'est pas notablement modifié en présence de l'APTES, ce qui était attendu puisque l'émission provient majoritairement des centres luminescents du bulk, et que ceux présents en surface des NPs ne jouent qu'un rôle mineur. Les durées de vie mesurées après modification ($1,55 \pm 0,22$ ms pour 0,116-Gd et $0,69 \pm 0,10$ ms pour 0,055-GdS) sont du même ordre que pour les particules nues. Nous discuterons plus en détail de l'effet des modifications sur la luminescence au paragraphe IV.5.

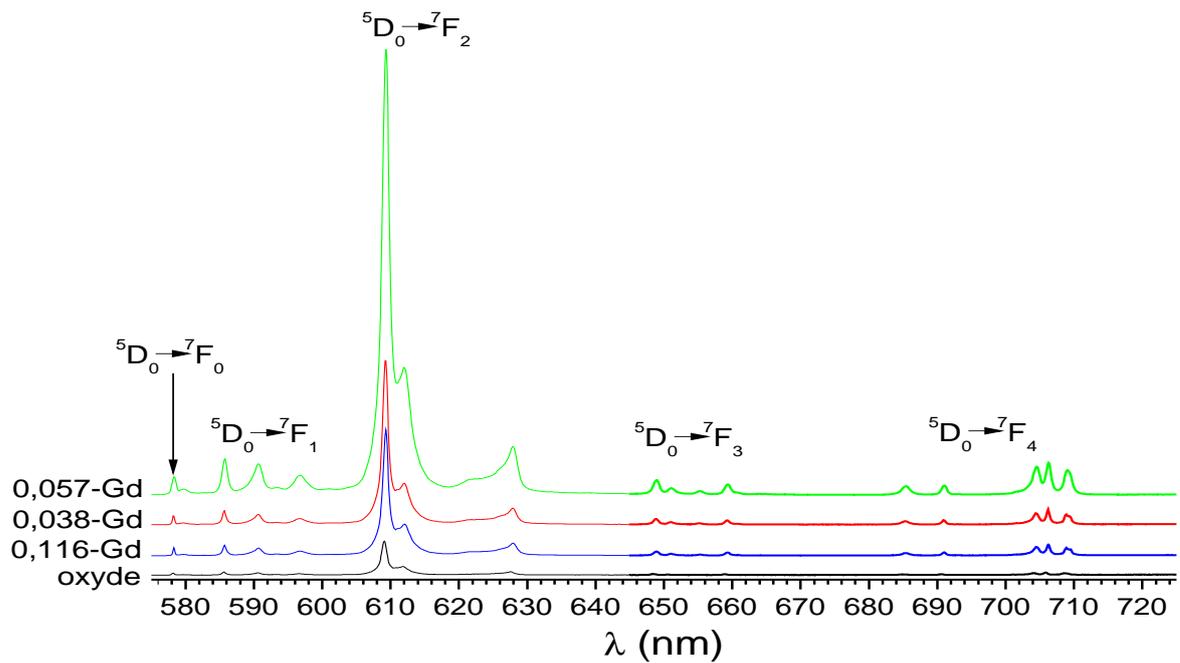


FIGURE IV.29 – Spectres d'émissions des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ modifiées avec APTES : 0,038-Gd, 0,057-Gd et 0,116-Gd ($\lambda_{ex} = 254 \text{ nm}$)

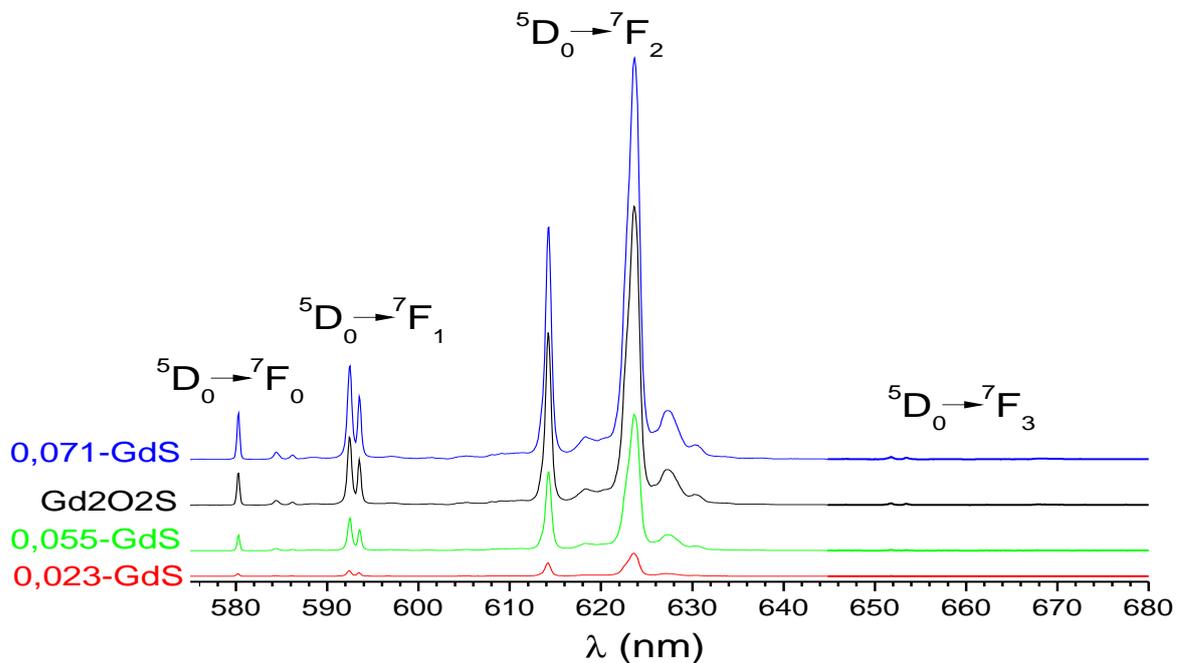


FIGURE IV.30 – Spectres d'émissions des NPs de $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$ modifiées avec APTES : 0,023-GdS, 0,055-GdS et 0,071-GdS ($\lambda_{ex} = 355 \text{ nm}$)

IV.4 Modification des NPs encapsulées dans une couche de silice

Comme il a été mentionné au chapitre I, l'encapsulation des NPs dans une couche de silice, réputée réactive vis à vis du matériel biologique, est une voie couramment employée pour favoriser le greffage de l'APTES à la surface des NPs. Pour ce faire, deux méthodes sont généralement décrites. La première, réalisée en deux étapes, consiste, dans un premier temps, à déposer une couche de silice à la surface de la NP selon le procédé Stöber, puis, dans un second temps, à greffer l'APTES, selon le protocole décrit au début de ce chapitre, sur la NP encapsulée. La seconde méthode est réalisée en une seule étape, et consiste à encapsuler la NP dans une croûte de silice contenant des fonctions amines. Pour cela, un dépôt mixte TEOS/APTES est réalisé à la surface des particules par le procédé Stöber.

Dans un premier temps, le coating de silice des NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ sera décrit et les particules obtenues seront caractérisées d'un point de vue chimique, morphologique et optique. Après avoir étudié le coating des NPs, nous nous intéresserons à leur fonctionnalisation par APTES et les deux voies de modification seront comparées.

IV.4.1 Encapsulation des NPs de Gd_2O_3

IV.4.1.1 *Protocole expérimental*

Le protocole utilisé se base sur une technique Stöber modifiée [141]. La manipulation est ainsi réalisée en milieu alcoolique. Les particules sont mises en suspension dans l'éthanol avec une concentration de 10mg/ml et de l'ammoniaque est ajouté (0,006 ml/mg). Ce dernier joue le rôle de catalyseur et a pour effet de favoriser les réactions de polymérisation par basification du milieu. Enfin, après homogénéisation la source de silice (TEOS) est introduite et le mélange est agité pendant 2h à température ambiante. Les particules sont finalement séparées par centrifugation, lavées à l'éthanol et séchées à l'étuve pendant une nuit.

IV.4.1.2 *Caractérisation*

Dans un premier temps, afin de vérifier que le TEOS a bien polymérisé pour former la croûte de silice, les particules ont été analysées par spectroscopie IR.

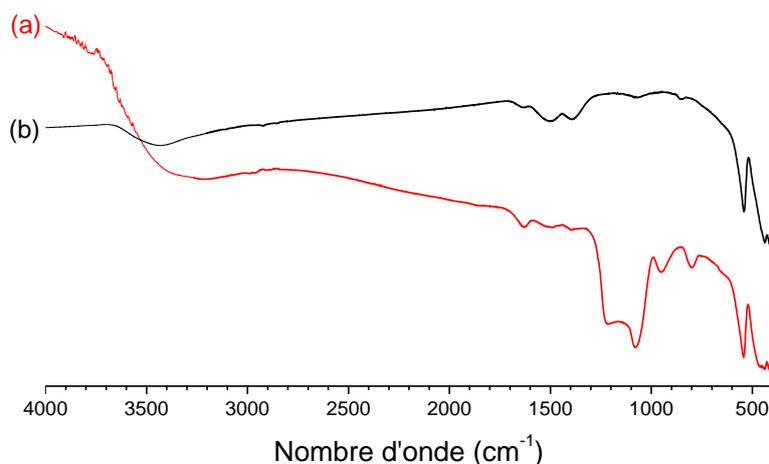


FIGURE IV.31 – Spectre IR des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$ (a), comparé à celui des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ (b)

Le spectre IR (Figure IV.31 présente ainsi un certain nombre de bandes caractéristiques de la silice, dont les plus importantes, à 1210 , 1073 et 805 cm^{-1} , correspondent aux modes de vibration des liaisons Si-O-Si. La bande située à 954 cm^{-1} . De plus, les bandes caractéristiques des carbonates résiduels, déjà décrites pour les NPs de Gd_2O_3 sont également visibles à 1398 et 1507 cm^{-1} . Enfin, les groupes hydroxyls OH, qu'ils soient liés aux hydroxyls de surface ou aux molécules d'eau adsorbées sont caractérisés par la bande à 1630 cm^{-1} . Cette bande apparaît plus intense après encapsulation dans la couche de silice.

Afin de vérifier que les bandes caractéristiques de la silice observées par spectroscopie IR sont bien dues au dépôt d'une croûte et non pas à la formation de particules de silice, les NPs ont été observées par TEM.

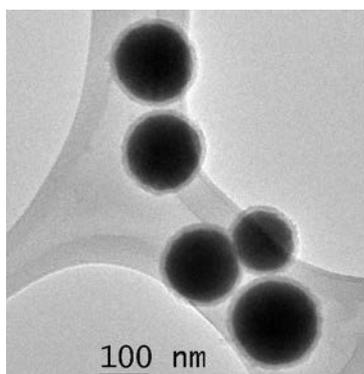


FIGURE IV.32 – Images TEM de NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$

Les images Figures IV.32 montrent qu'une couche d'environ 20 nm s'est formée autour des NPs d'oxyde de gadolinium. Celle-ci apparaît régulière et uniforme et aucune particule secondaire ne semble s'être formée. De plus, l'encapsulation a bien été réalisée sur les particules individuelles. L'absence de poly-encapsulation indique donc une bonne dispersion des NPs lors de leur mise en suspension.

Les propriétés de luminescence ont également été analysées. Les spectres d'émission des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$ sont présentés Figures IV.33. La durée de vie du niveau 5D_0 est de $1,30 \pm 0,20$ ms. Cette valeur, ainsi que le rendement quantique interne en découlant seront discutés au paragraphe IV.5.

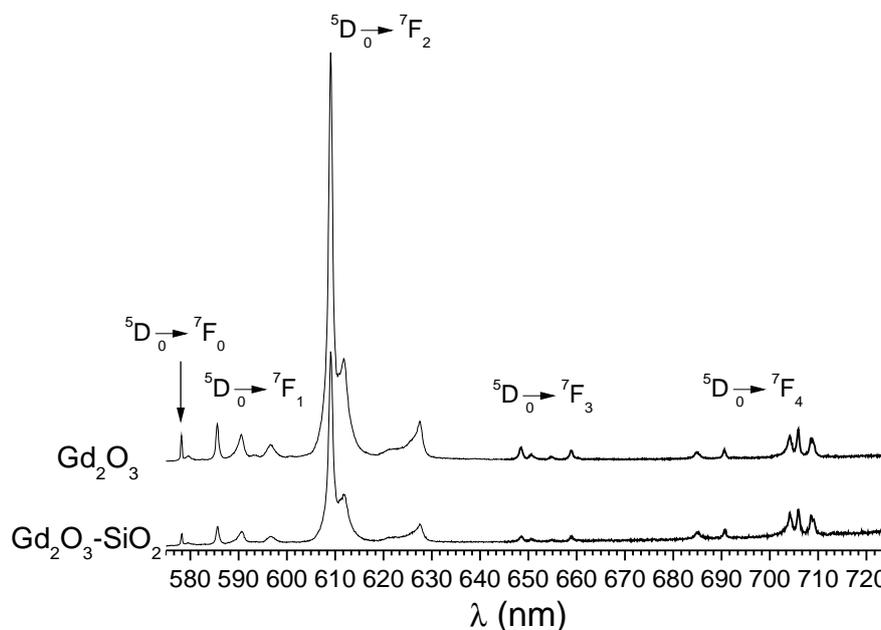


FIGURE IV.33 – Comparaison entre les spectres d'émission des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$ et $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$

IV.4.2 Modification des NPs avec l'APTES

Les deux méthodes généralement décrites dans la littérature ont été envisagées. D'une part, les NPs encapsulées dans une croûte de silice ont été fonctionnalisées par l'APTES selon le procédé décrit au paragraphe IV.4.1.1. D'autre part, une couche mixte de silice contenant des

fonctions amines a été déposée à la surface des NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$. Pour cela, la méthode Stöber, employée pour encapsuler les NPs dans une croûte de silice, a été adaptée, en remplaçant le TEOS par un mélange TEOS/APTES, dont on peut faire varier le quantité d'aminosiloxane, tout en gardant une concentration en organosilane constante. Les NPs modifiées par les deux méthodes ont été caractérisées et comparées.

IV.4.2.1 *Détermination des taux de greffage*

Pour chacune des voies de modification, les taux de greffage ont été déterminés à partir des pourcentages d'azotes mesurés par analyse élémentaire. Les résultats sont regroupés dans le Tableau IV.7, et l'évolution des taux de greffage en fonction de la quantité d'APTES introduite est représentée Figure IV.34.

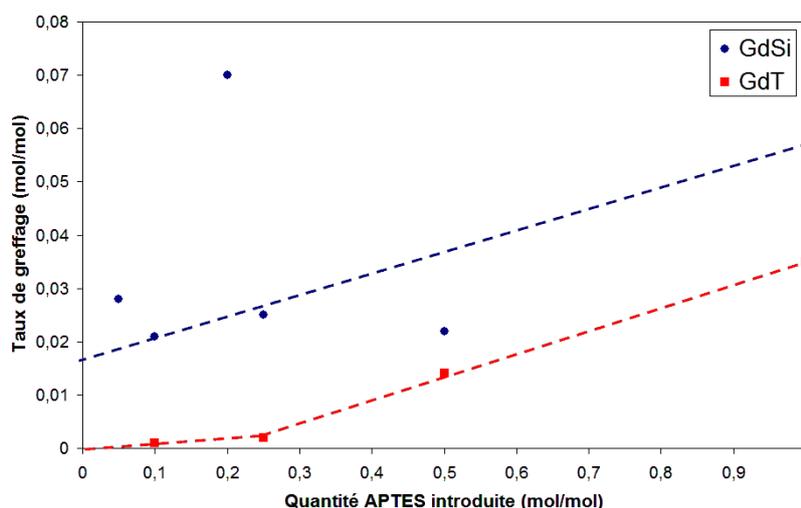


FIGURE IV.34 – *Variation du taux de greffage en fonction de la quantité d'APTES*

Pour les NPs modifiées par la méthode comportant deux étapes (appelée méthode indirecte dans la suite du manuscrit), les taux de greffage augmentent de façon linéaire, lors de l'augmentation des concentrations introduites en APTES. Pour les NPs encapsulées dans une couche mixte TEOS/APTES en une seule étape (appelée méthode directe dans la suite du manuscrit), l'évolution du taux de greffage diffère légèrement de celle observée par la méthode indirecte. En effet, pour les faibles quantités d'APTES introduites, les taux de greffage calculés sont proches de zéro, puis à partir de 0,20 molAPTES/mol $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} @ \text{Si}$ introduites, le taux de greffage augmente de façon linéaire.

[APTES] introduite (mol/mol)	EA				ATG							H) n _{OS}
	A) GR (mol/mol)	B) nom de l'échantillon	C) C/N	D) GM	E) taux de greffage (mol/mol)				F) GM	G) e _{OS}		
					GR0	GR1	GR2	GR3				
0,05	0,028	0,028-GdSi	9,9	0	-	-	-	-	-	-	-	-
0,10	0,021	0,021-GdSi	24,2	0	0,079	0,103	0,148	0,263	0	0,34	1	
0,20	0,070	0,070-GdSi	19,5	0	0,111	0,144	0,208	0,369	0	1,21	2	
0,25	0,025	0,025-GdSi	19,2	0	0,038	0,050	0,072	0,128	0	3,42	7	
0,50	0,022	0,022-GdSi	22,0	0	0,010	0,014	0,019	0,34	2	2,18	4	
1,00	0,057	0,057-GdSi	30,0	0	0,026	0,033	0,048	0,85	2-3	2,50	5	
0,05	0,030	0,0-GdT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,10	0,001	0,001-GdT	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,25	0,002	0,002-GdT	63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,50	0,014	0,014-GdT	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,00	0,035	0,035-GdT	7,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLE IV.7 – Résumé des résultats des analyses élémentaires et thermiques pour les NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ @SiO₂ :Eu³⁺ et $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ +TEOS/APTES

La signification des colonnes est la même que dans le Tableau IV.2

Pour chacun des échantillons, les rapports C/N ont également été déterminés. Pour la méthode indirecte celui-ci reste globalement constant mais élevé (≈ 20), probablement en raison d'une polymérisation incomplète du TEOS lors de la formation de la couche de silice. En effet, si toutes les fonctions ethoxy ne subissent pas de réaction d'hydrolyse-condensation, leur décomposition lors d'un traitement thermique va entraîner une augmentation de la quantité de carbone produite.

Les NPs modifiées par la méthode directe ont également un rapport C/N élevé, mais au lieu d'être constant, celui-ci diminue lorsque la quantité d'APTES introduite augmente. Là encore, le fort pourcentage de carbone provient des fonctions ethoxy du TEOS n'ayant pas réagi.

La courbe d'analyse thermique des NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+} @\text{SiO}_2 +\text{APTES}$ présente quatre événements majeurs : le premier, de faible amplitude, correspond à la déshydratation des matériaux entre 20 et 250°C. Puis entre 250 et 470°C, les courbes présentent une importante perte de masse, liée à la décomposition de l'APTES et à l'élimination des résidus organiques. Une troisième perte de masse peut être observée entre 470 et 830°C, et peut être attribuée à la cristallisation de la croûte de silice. Enfin, au dessus de 830°C, la perte de masse observée est due à la décomposition des carbonates résiduels. Le profil des courbes de décomposition thermique des NPs modifiées par la méthode directe est très différent et présente une seule perte de masse régulière entre 230 et 1000°C. Celle-ci est principalement attribuée à la décomposition et la cristallisation de la couche de silice, avec l'élimination des silanols de surface et des groupements éthoxy qui n'ont pas été condensés. Dans cette perte est également incluse la contribution de la décomposition de l'APTES, mais celle-ci est probablement trop faible pour être détectée par rapport à celle de la silice.

A partir des pertes de masse correspondant à la décomposition de l'APTES, les différents taux de greffage ont pu être calculés en fonction des modes de greffage considérés. Les résultats, présentés dans le Tableau IV.7, montrent que la meilleure concordance qui puisse être trouvée entre les taux de greffage déterminés par EA et par ATG correspond à une simple adsorption de l'APTES sur les NPs. Toutefois, le très fort pourcentage de carbone lié aux ethoxys du TEOS non polymérisés entraîne une surestimation de la perte de masse et donc du taux de greffage.

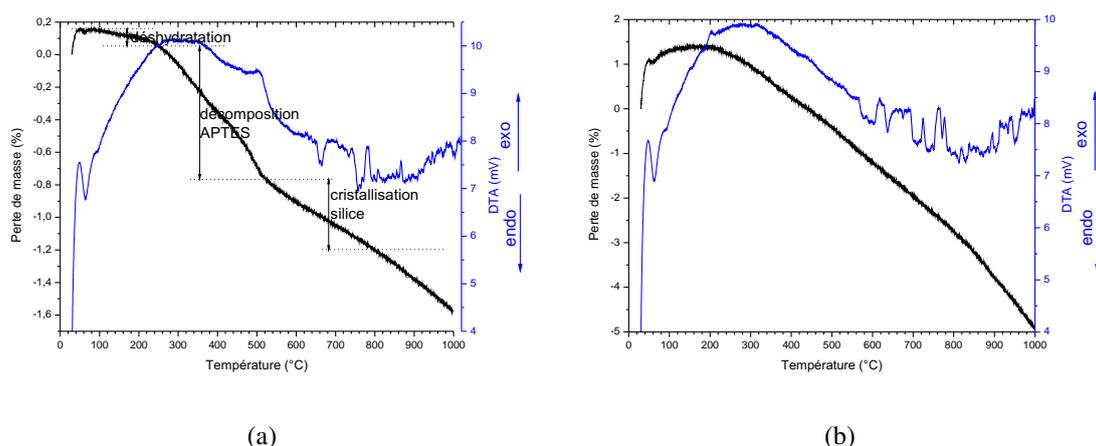


FIGURE IV.35 – Courbes d'analyse thermique (rouge) et dérivée (noir) de NPs de Gd_2O_3 encapsulées dans la silice, (a) selon la méthode indirecte et (b) selon la méthode directe

IV.4.2.2 Détermination l'épaisseur de la couche d'organosilane

Seules les courbes de décomposition thermique des échantillons obtenus selon la méthode indirecte sont interprétables. L'épaisseur de la couche d'organosilane a été calculée selon la formule IV.2, dans laquelle ρ_{ox} a été déterminé en faisant la moyenne pondérée des densités de l'oxyde Gd_2O_3 et de la silice dense SiO_2 . Les résultats sont présentés Tableau IV.7, ainsi que le nombre de monocouches correspondantes. Il apparait alors que l'épaisseur de la couche d'APTES greffée à la surface des NPs est faible et ne dépasse pas 3,5 nm pour l'échantillon le plus fonctionnalisé, ce qui correspond à environ 7 monocouches.

Afin de visualiser la couche d'APTES, les particules fonctionnalisées ont été observées par TEM. Pour le procédé indirect, les images de l'échantillon ayant le plus faible taux de greffage (0,017-GdSi) présentent des NPs sphériques enrobées par une couche de silice homogène de 30 nm d'épaisseur environ. Sur le pourtour de cette couche des irrégularités qui ne sont pas visibles pour les NPs de $Gd_2O_3@SiO_2$ (Figure IV.36(a)) peuvent être observées et attribuées au dépôt d'une fine couche supplémentaire d'APTES. Toutefois cette couche n'a pas pu être mieux mise en évidence par HRTEM. En effet, les deux couches (SiO_2 et APTES) ayant une composition et un état cristallin (amorphe) similaire, aucun contraste n'apparaîtra en HRTEM, et on ne pourra pas les distinguer. Pour l'échantillon 0,022-GdSi, possédant très légèrement plus d'APTES, une irrégularité de la surface des NPs est toujours observée, mais les clichés révèlent également la formation d'agrégats d'APTES polymérisé (Figure IV.36(b)), ce qui signifie que la saturation

de la surface est atteinte.

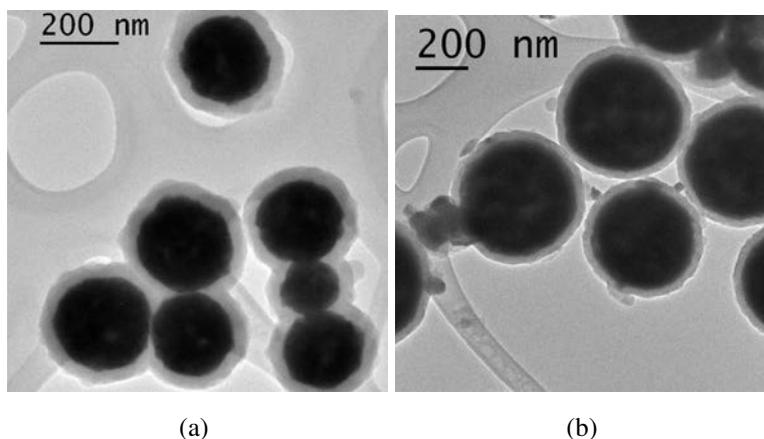


FIGURE IV.36 – Images TEM des NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ fonctionnalisées selon la méthode indirecte : (a) 0,017-GdSi et (b) 0,022-GdSi

Pour le procédé direct, quel que soit le taux de greffage, les images (Figure IV.37) montrent que l'encapsulation n'a pas été réalisée, mais qu'il y a eu formation de particules secondaires. Seul l'échantillon 0,000-GdT, présente la formation d'une faible couche de silice de 6 nm environ, mais pour cet échantillon l'APTES n'a pas pu être détecté par EA.

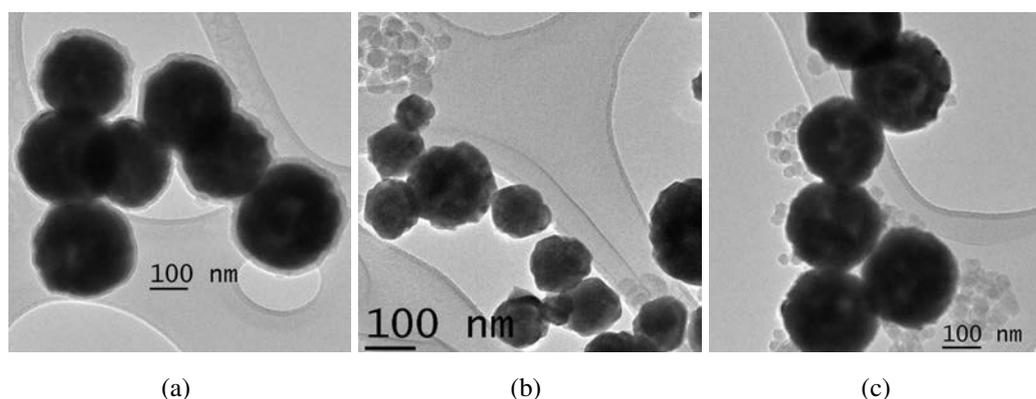


FIGURE IV.37 – Images TEM des NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ fonctionnalisées selon la méthode directe : (a) 0,000-GdT, (b) 0,002-GdT et (c) 0,035-GdSi

IV.4.2.3 Spectroscopie IR

Afin de déterminer, dans la mesure du possible, le type de liaisons créées entre l'APTES et la surface des NPs, les échantillons ont été analysés par spectroscopie IR. Les spectres IR des particules nues et modifiées par chacune des deux méthodes sont présentés Figure IV.38 et IV.39.

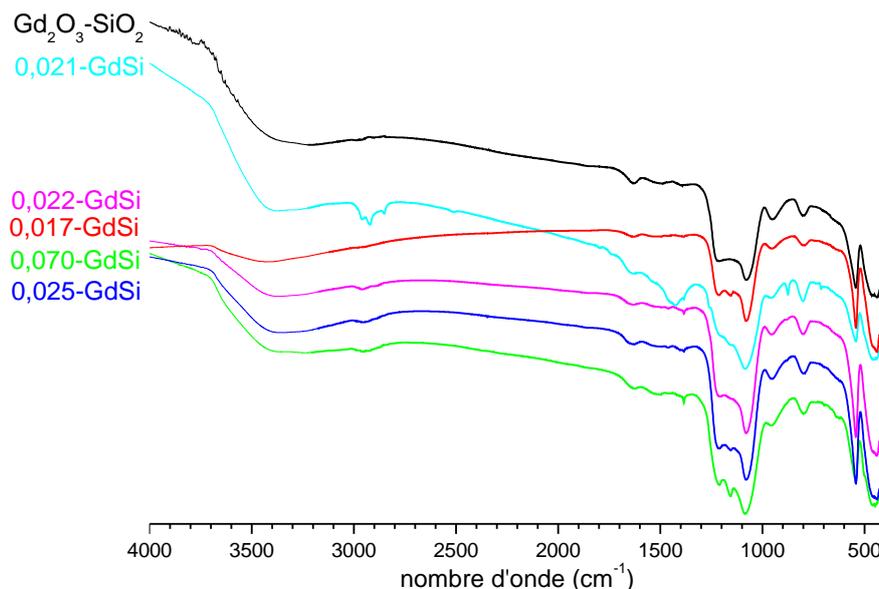


FIGURE IV.38 – Spectres IR des NPs $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$ fonctionnalisées par APTES (méthode indirecte)

Pour les particules fonctionnalisées par la méthode indirecte, outre les bandes caractéristiques des particules $Gd_2O_3 @SiO_2$, décrites au paragraphe IV.4.1.2, deux bandes liées à l'APTES apparaissent. La première, située vers 2950 cm^{-1} correspond aux vibrations des liaisons C-H de la chaîne aminopropyl, tandis que la deuxième apparaît à 1160 cm^{-1} et peut être attribuée aux liaisons Si-O-C. Pour les échantillons préparés par la méthode directe aucune différence ne peut être observée lors de l'introduction de l'APTES.

IV.4.2.4 Luminescence

Les spectres d'émission des NPs encapsulées et modifiées par chacune des deux méthodes sont présentés Figure IV.40 et IV.41. Les valeurs des durées de vie sont $1,45 \pm 0,21\text{ ms}$ (méthode directe) et $1,26 \pm 0,19\text{ ms}$ (méthode indirecte).

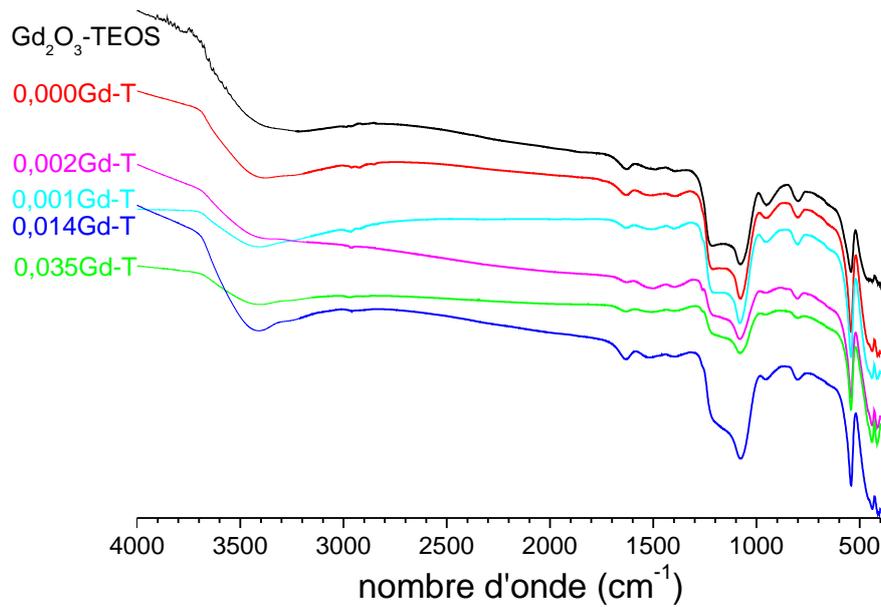


FIGURE IV.39 – Spectres IR des NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ fonctionnalisées selon la méthode directe

IV.5 Efficacités de luminescence

Comme nous l'avons fait pour les particules non modifiées, nous pouvons comparer les efficacités de luminescence. Les opérations déjà décrites au paragraphe III.5 ont été appliquées aux spectres d'émission des particules après modification des surfaces. Les résultats qui nous semblent les plus informatifs sont reportés dans le Tableau IV.8. Afin de minimiser les erreurs dans la collecte des spectres et leur traitement, les mesures des $\sum A_{0,J}$ reportées ont été faites avec les mêmes conditions expérimentales pour les particules nues et après modification. Il y a donc quelques différences dans les valeurs de $\sum A_{0,J}$ pour les particules nues dans ce Tableau, par rapport au Tableau III.7.

En considérant ces valeurs nous pouvons tirer quelques conclusions cohérentes pour les NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$. Après modification par APTES, les $\sum A_{0,J}$ ne changent pas, mais les valeurs de τ_{exp} , donc celles des q augmentent (de 70% pour les particules non modifiées à 80% pour 0,116-Gd et 90% pour 0,057-Gd). Nous pouvons conclure que la modification a globalement diminué la probabilité des désexcitations non radiatives. Cette conclusion va bien dans le sens du greffage sur la surface au cours duquel des Eu-O-H de surface sont remplacées par des Eu-O-Si. En revanche, l'encapsulation par le TEOS produit plutôt l'effet contraire (diminution du τ_{exp}), ce qui prouve que le nombre de liaisons Eu-O-H n'a pas diminué : il y a bien coating (la

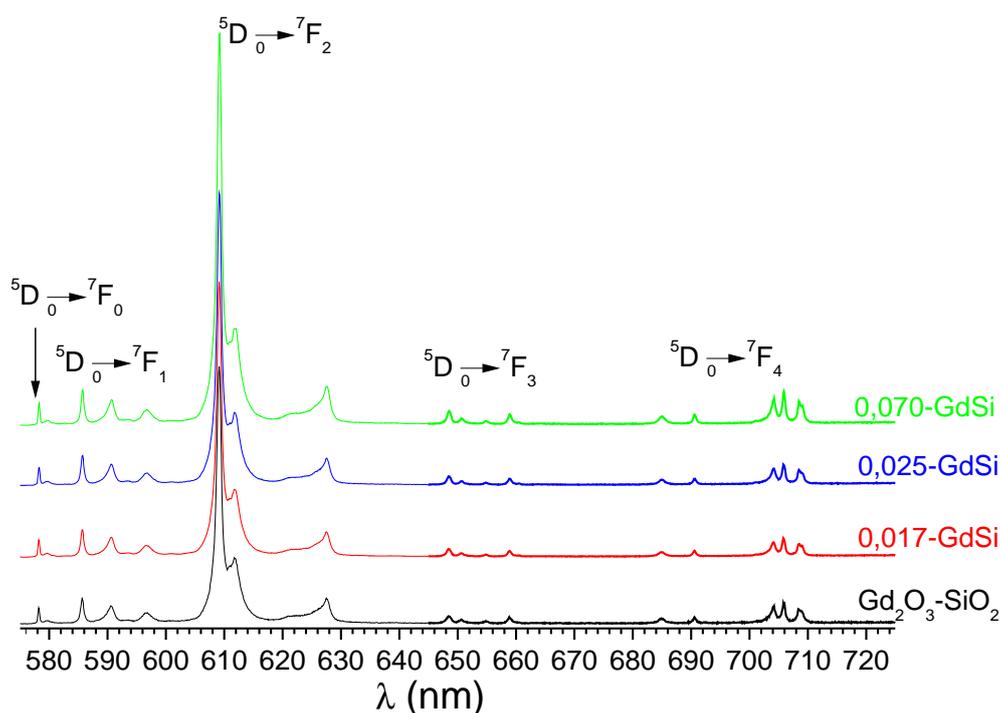


FIGURE IV.40 – Spectres d'émissions des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$ APTES (méthode indirecte)

Echantillon	$\sum A_{0-J}$ J = 0-4	τ_{rad} (ms)	τ_{exp} (ms)	q %
$Gd_2O_3 :Eu^{3+}$	488	2,05	1,43	69,8
0,116-Gd	516	1,94	1,55	79,9
$Gd_2O_2S :Eu^{3+}$	583	1,71	0,70	40,4
0,055-GdS	640	1,56	0,69	45
$Gd_2O_3 :Eu^{3+} @SiO_2$	530	1,89	1,32	70
0,017-GdSi	618	1,62	1,26	78
0,002-GdT	609	1,64	1,45	88,3

TABLE IV.8 – Calcul des $\sum A_{0-J}$ et des efficacités pour les échantillons modifiées avec APTES

couche de silice est clairement visible par TEM), mais il n'y a pas eu de greffage. Pour les autres échantillons, nous avons reporté les valeurs numériques dans le tableau sans avoir cherché à les interpréter, d'autant que les diverses caractérisations réalisées ont montré que les échantillons modifiés sont assez inhomogènes.

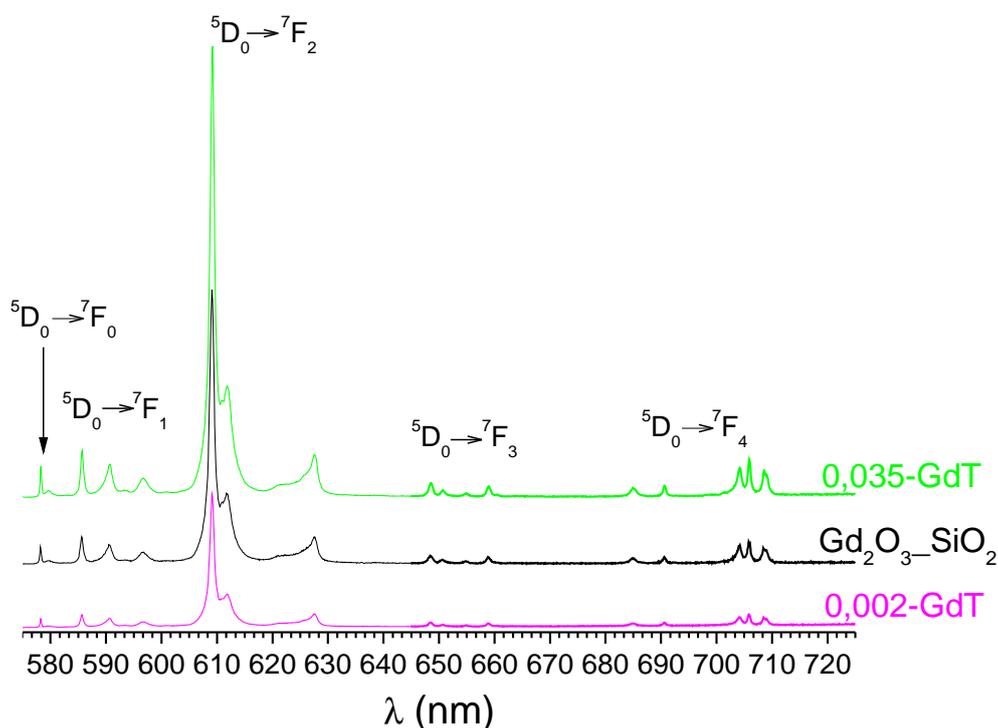


FIGURE IV.41 – Spectres d'émissions des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+} + TEOS/APTES$ (méthode directe)

IV.6 Détermination du taux d'amines accessibles

Bien que le taux de greffage, c'est à dire la quantité d'APTES greffée ou adsorbée à la surface des particules soit une information importante, cette dernière doit toutefois être relativisée. En effet, lors de la modification, une couche plus ou moins importante peut se former, emprisonnant des fonctions amines et entraînant une diminution du nombre de NH_2 accessibles, susceptible de participer à une future fonctionnalisation. Ceci est particulièrement vrai si l'on se trouve dans un cas où les groupements ethoxy se condensent avec les molécules d'APTES du milieu réactionnel, comme décrit Figure IV.3(c). Le nombre d'amines accessibles aux fonctions biologiques est donc un paramètre fondamental. Il peut être déterminé optiquement à l'aide d'un second fluorophore : la fluorescéine isothiocyanate. Cette molécule est un colorant organique qui présente une grande affinité pour les fonctions amines sur lesquelles elle va venir se coupler dans un rapport 1/1 selon l'équation IV.3. La méthode de dosage la plus fréquemment employée est décrite dans la Ref. [142]. Elle est utilisée pour mesurer le nombre d'amines dans des protéines ou autres entités bio-chimiques. Elle peut être aussi appliquée pour des particules

en suspension [35].



IV.6.1 Principe

En pratique, on relève le spectre d'absorption UV-visible. Connaissant le coefficient d'absorption à la longueur d'onde de mesure, il est aisé de déterminer la concentration en FITC dans la suspension analysée avec la formule de Beer-Lambert : $A = \epsilon.C.l$ où ϵ est le coefficient d'extinction molaire du composé à la longueur d'onde de mesure et l la dimension de la cuve. En ramenant ensuite la concentration déterminée à un nombre de moles de matériau, on peut alors obtenir la concentration en NH_2 accessible en mol de NH_2 par mol d'oxyde, et en rapportant cette valeur au taux de greffage, on peut finalement accéder aux taux de NH_2 accessibles. Un spectre d'absorption typique obtenu avec des NPs de silice est présenté Figure IV.42.

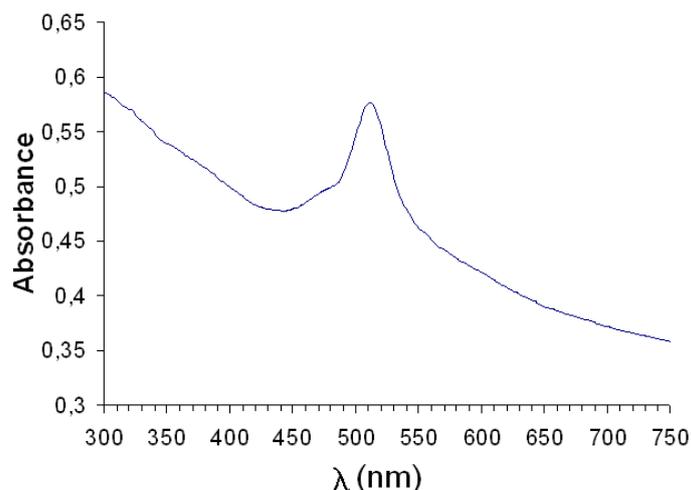


FIGURE IV.42 – Spectre d'absorption UV visible de NPs de SiO_2 +APTES couplée avec le FITC

Sur un tel spectre, après correction de la ligne de base pour effacer le fond lié à la diffusion, l'absorbance due au FITC peut être mesurée. Toutefois, lorsque les concentrations en FITC sont très faibles, la diffusion liée à la présence des NPs devient prépondérante, masquant alors le signal lié au FITC. Pour faire face à ce problème, nous avons mis au point une méthode basée sur les propriétés de luminescence des particules en utilisant les rapports des intensités d'émission du FITC et de l'euporium. Sous excitation à 393 nm, la luminescence de l' Eu^{3+} et du FITC sont détectés simultanément. Un spectre caractéristique est présenté Figure IV.43.

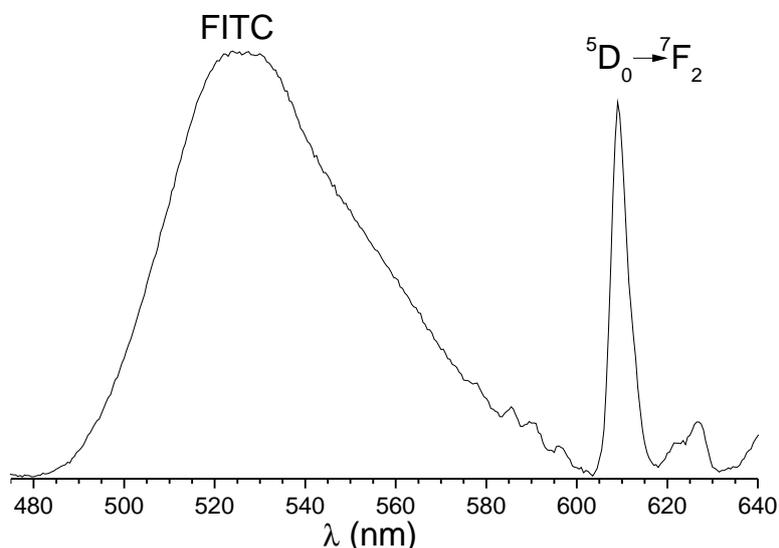


FIGURE IV.43 – Spectre d'émission de NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ +APTES, couplées avec FITC ($\lambda_{ex} = 393\text{ nm}$) après correction de la ligne de base

Sur ce spectre, la surface du pic correspondant au FITC, ainsi que celle correspondant à l' Eu^{3+} sont déterminées, et le rapport des deux calculé. La transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ est utilisée comme étalon interne, son intensité ne dépend que du nombre de Eu^{3+} excités, donc du nombre de particules si celles-ci sont de même taille. Ce rapport des émissions FITC/ Eu^{3+} sera donc un indicateur de la quantité de FITC présent dans l'échantillon.

Des analyses similaires doivent être réalisées sur des échantillons "étalon", contenant différentes concentrations connues en FITC. Nous avons utilisé des suspensions de NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$, à une concentration de 0,25 mg/ml dans l'éthanol, auxquelles des concentrations variables de FITC ont été ajoutées. Pour ces échantillons standards, les rapports des émissions FITC/ Eu^{3+} sont tracés en fonction de la concentration en FITC dans l'échantillon. La droite obtenue est présentée Figure IV.44. Connaissant l'équation de cette droite, et les rapports des émissions FITC/ Eu^{3+} des échantillons à analyser, il devient alors possible de déterminer la concentration en FITC donc d'amines accessibles dans l'échantillon.

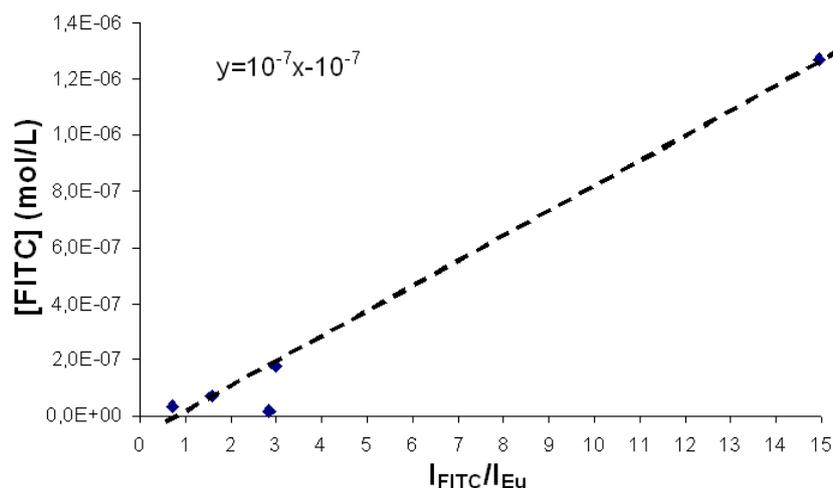


FIGURE IV.44 – Courbe d'étalonnage représentant la concentration en FITC en fonction du rapport des intensités d'émission FITC/Eu

IV.6.2 Réaction de couplage du FITC

La réaction de couplage du FITC avec des NPs modifiées est réalisée dans le diméthylformamide (DMF). Le protocole utilisé a été mis au point à l'aide de ceux décrits par Giaume et al. [35] et Invitrogen [142]. Divers essais ont du être réalisés pour son optimisation.

Dans un premier temps, les NPs greffées sont mises en suspension dans le DMF, à une concentration de 0,25 mg/ml. Afin de favoriser le couplage du FITC avec les NH₂ de l'APTES, du triéthylamine (NEt₃) est ajoutée à une concentration de 1% molaire par rapport à la concentration en APTES déterminée par analyse élémentaire. Le TEA est une base faible qui a pour fonction de basicifier légèrement le milieu afin que toutes les fonctions amines de l'APTES se présentent bien sous leur forme NH₂ et non pas NH₃⁺ qui n'est pas ciblé par le FITC. Parallèlement, une solution de FITC est préparée à une concentration de 7 mg/ml dans le DMF.

Après homogénéisation de la suspension de NPs, la quantité voulue de FITC est ajoutée. Les études préliminaires que nous avons réalisées ont montré qu'une quantité équivalente à deux fois la concentration en NH₂ déterminée par analyse élémentaire était optimale pour réaliser le couplage. Les suspensions sont ensuite agitées pendant 12h à température ambiante et à l'abri de la lumière puis elles sont centrifugées et lavées plusieurs fois à l'éthanol afin d'éliminer toute trace de FITC résiduel qui risquerait de perturber les mesures.

Enfin, les NPs ainsi couplées sont mises en suspension dans l'éthanol à une concentration de 0,25 mg/ml afin d'être analysées.

IV.6.3 Caractérisations

Pour les échantillons de silice, les taux d'amines accessibles ont été déterminés par absorption UV-visible. En effet, la bande d'absorption du FITC est clairement visible sur ces spectres, permettant une analyse pertinente. En revanche, l'émission de l'euporium, masquée par celle du FITC, n'a pas pu être enregistrée, rendant impossible la détermination de la concentration en NH_2 accessibles par les spectres de luminescence.

Pour les NPs d'oxyde, d'oxysulfure et d'oxyde encapsulé, l'absorption liée au FITC s'est avérée trop faible, et seule la diffusion des particules apparaît sur le spectre UV-visible. En revanche, cette faible concentration en FITC a rendu la quantification des amines accessibles possible par étude des propriétés de luminescence.

IV.6.4 Résultats

Le Tableau IV.9 présente les résultats des concentrations en NH_2 accessibles ainsi que les taux d'amines accessibles.

Pour les échantillons de silice, la concentration mesurée augmente légèrement entre 0,027-Si et 0,040-Si (de $1,57 \cdot 10^{-4}$ mol/mol à $2,11 \cdot 10^{-4}$ mol/mol) puis n'évolue plus pour les autres échantillons, indiquant que le nombre d'amines accessibles reste constant pour tous ces échantillons. Ramenée à une surface, cette concentration varie de 0,40 à 0,58 NH_2/nm^2 . Cette très faible évolution des concentrations, quels que soient les taux de greffage déterminés par analyse élémentaire indique que la majorité des amines se trouvent au sein de la couche greffée. Cela se traduit également par des faibles pourcentages d'amines accessibles, qui diminuent lorsque le taux de greffage et l'épaisseur de la couche greffée augmentent, confortant l'idée de la formation d'une couche fortement réticulée. Cette faible concentration en NH_2 accessibles, et surtout sa constance permettent donc de conclure que la majorité des amines se trouvent au sein de la couche greffée, et bien que l'épaisseur de cette dernière augmente, le nombre de NH_2 susceptibles de réagir ne varie pas, confortant ainsi l'idée de formation d'une couche fortement réticulée.

Pour les échantillons d'yttrium, les concentrations en FITC mesurées sont légèrement plus élevées et atteignent $5,06 \cdot 10^{-4}$ mol/mol pour 0,051-Y. Les particules d' Y_2O_3 sont beaucoup

	nom de l'échantillon	[FITC] (mol/mol*)	densité (NH ₂ /nm ²)	densité access. NH ₂ /particule	taux NH ₂ access. (%)
	0,010	-	-	-	-
SiO ₂ :Eu ³⁺	0,027-Si	1,57.10 ⁻⁴	0,40	6,2.10 ⁵	0,58
	0,040-Si	2,11.10 ⁻⁴	0,54	8,4.10 ⁵	0,53
	0,048-Si	2,26.10 ⁻⁴	0,58	9,0.10 ⁵	0,47
	0,079-Si	2,26.10 ⁻⁴	0,58	9,0.10 ⁵	0,47
		0,034-Y	-	-	-
Y ₂ O ₃ :Eu ³⁺	0,039-Y	2,81.10 ⁻⁴	0,07	4978	0,72
	0,044-Y	-	-	-	-
	0,051-Y	5,06.10 ⁻⁴	0,13	8954	0,99
		0,018-Gd	1,35.10 ⁻⁴	0,04	3000
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	0,030-Gd	5,52.10 ⁻⁴	0,17	12000	1,84
	0,038-Gd	4,70.10 ⁻⁴	0,15	10000	1,24
	0,057-Gd	1,56.10 ⁻³	0,49	35000	2,73
	0,116-Gd	1,26.10 ⁻³	0,40	28000	1,09
	0,117-Gd	1,19.10 ⁻³	0,38	27000	1,02
		0,023-GdS	0	0	0
Gd ₂ O ₂ S :Eu ³⁺	0,037-GdS	0	0	0	0
	0,055-GdS	1,28.10 ⁻⁴	0,04	2639	0,23
	0,058-GdS	1,02.10 ⁻⁴	0,03	2098	0,18
	0,070-GdS	9,83.10 ⁻⁵	0,03	2018	0,14
	0,071-GdS	8,52.10 ⁻⁵	0,02	1749	0,12
		0,017-GdSi	2,06.10 ⁻⁵	0,01	3648
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺ @SiO ₂	0,021-GdSi	2,65.10 ⁻⁴	0,17	47104	1,26
	0,022-GdSi	0	0	0	0
	0,025-GdSi	0	0	0	0
	0,028-GdSi	-	-	-	-
	0,070-GdSi	6,86.10 ⁻⁴	0,43	121820	0,98

*mol/mol : moles de FITC par moles d'oxyde ou d'oxysulfure

TABLE IV.9 – Résumé des déterminations du nombre d'amines accessibles

plus petites que celles de silice et pour une même concentration molaire en oxyde, la surface développée par les particules d' Y_2O_3 est plus grande que celle développée par la silice. Il y a donc en moyenne $0,13 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$ sur Y_2O_3 contre $0,58 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$ sur SiO_2 .

Pour les NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$, des concentrations en FITC légèrement plus importantes que pour $Y_2O_3 :Eu^{3+}$ (environ 3 à 4 fois) ont été mesurées. Donc, la densité d'amines à la surface des NPs de Gd_2O_3 varie de $0,15$ à $0,50 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$, alors qu'elle ne dépasse pas $0,13 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$ pour les NPs d' Y_2O_3 . On peut également noter que le taux d'amines accessibles atteint son maximum pour l'échantillon 0,057-Gd, puis diminue lorsque le taux de greffage augmente. Ainsi, la densité d'amines accessible maximale est évaluée à $35000 \text{ NH}_2 / \text{particule}$, soit $0,49 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$. Cette évolution est attribuée à la saturation de la surface par les molécules d'APTES, qui intervient pour 0,057-Gd. Pour les taux de greffage supérieurs, l'autocondensation de l'APTES entraîne la formation d'agrégats visibles sur les clichés TEM de ces échantillons.

Pour les oxysulfures, bien que les taux de greffage soient comparables à ceux de Gd_2O_3 , les concentrations en FITC sont beaucoup plus faibles et les densités en amines accessibles ne dépassent pas $0,004 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$. Les clichés de microscopie électronique révèlent que ces faibles valeurs sont dues au fait que la majorité des molécules d'APTES se trouvent confinées à l'intérieur d'objets constitués par des agglomérats de taille plus ou moins importante.

Enfin, pour les particules d'oxyde encapsulées, la luminescence du FITC a seulement pu être enregistrée sur les NPs modifiées par la voie indirecte. Excepté pour les échantillons ayant le taux de greffage le plus élevé, les concentrations en amines accessibles sont relativement faibles car de nombreux agglomérats d'APTES se sont formés.

Les résultats des analyses FITC montrent donc que d'une manière générale les densités d'amines accessibles sont faibles. Nous avons également montré que ces densités passent par un maximum, puis lorsque la surface des particules est saturée, des agglomérats d'APTES se forment, entraînant une diminution de la densité d'amines accessibles. Les matériaux pour lesquels la saturation de la surface intervient la moins rapidement sont les oxydes d'yttrium et de gadolinium, des densités d'amines accessibles plus importantes étant mesurées pour Gd_2O_3 . Ainsi, pour ces NPs la densité en amines accessibles va de $0,04$ à $0,5 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$. Ces valeurs

sont entre 4 et 40 fois plus faibles que celles déterminées par D. Giaume [35] sur des NPs d' $\text{YVO}_4 @ \text{SiO}_2$ qui reporte $1,9 \text{ NH}_2 / \text{nm}^2$. Toutefois, nos particules mesurant environ 150 nm de diamètre, chacune présente entre 3000 et 35000 amines accessibles, ce qui est beaucoup plus élevé que les $4300 \text{ NH}_2 / \text{particule}$ d' YVO_4 .

Les particules de silice présentent également des quantités d'amines accessibles intéressantes, mais pour ces dernières le taux d'amines accessibles, c'est à dire le rapport entre le nombre de NH_2 accessibles et le nombre total de molécules d'APTES est plus faible. Cela indique qu'une plus grande quantité d'agglomérats s'est formée, et que la modification telle que nous l'avons décrite n'est pas optimale pour ces particules.

IV.7 Bilan

Dans ce chapitre nous avons étudié la modification de la surface des différents types de NPs par l'APTES. Au cours de cette étude, nous avons utilisé et adapté un certain nombre de méthodes de mesures et d'analyses globales ou microscopiques de façon à préciser :

- *le mode de greffage de l'APTES sur les NPs*
- *la répartition de l'organosilane après condensation dans l'échantillon (sur les particules ou en dehors)*
- *le nombre de fonctions amines accessibles sur les NPs.*

Les analyses pratiquées sur les NPs ainsi fonctionnalisées ont montré qu'il est possible de lier de manière covalente l'APTES à la surface des NPs. Toutefois, la saturation est très vite atteinte et l'APTES qui n'est pas greffé va polymériser sur lui-même pour former des agrégats, visibles par TEM. Pour les particules de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ préparées par SP, nous avons mesuré des taux de greffage importants. Toutefois une forte réticulation et l'apparition de nombreux agglomérats ont été mis en évidence, la présence de ces agglomérats conduisant à des taux d'amines accessibles relativement faibles. La méthode choisie n'est donc pas très bien adaptée.

Pour les NPs de Ln_2O_3 ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd), les taux de greffage déterminés par analyse élémentaire sont plus faibles que pour la silice, mais contrairement à celle-ci aucun agglomérat n'a été détecté. Au contraire, une couche homogène de 5 nm en moyenne a été observée par HRTEM. Pour ces NPs, bien que le taux de greffage soit plus faible que pour la silice, la concen-

tration en amines accessibles, déterminée par la luminescence du FITC, s'avère plus élevée. Nous sommes donc parvenus à contrôler les conditions opératoires résultant en un greffage de l'APTES à la surface des NPs.

Pour les oxydes $Y_2O_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$, la méthode retenue est donc bien adaptée et conduit au greffage de 35000 amines accessibles par particules de Gd_2O_3 et 9000 amines accessibles par particules de Y_2O_3 .

En ce qui concerne les NPs de Gd_2O_2S , les taux de greffage déterminés par EA sont du même ordre que pour les NPs d'oxyde, mais des agrégats ont été observés hors de la surface des particules, leur présence entraînant une diminution de la concentration en amines accessibles.

L'encapsulation des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ dans une couche de silice fonctionnalisée par l'APTES a également été étudiée. Les deux voies de greffage ont été étudiées :

1. indirecte : encapsulation dans une couche de silice puis greffage de l'APTES
2. directe : encapsulation dans une couche mixte TEOS/APTES

Les analyses ont montré que de faibles quantités d'organosilanes ont été greffées, l'APTES ayant majoritairement polymérisé pour former des agglomérats.

Pour toutes les particules la luminescence de Eu^{3+} a été observée. Dans le cas des particules de $SiO_2 :Eu^{3+}$, avant modification, on observait la luminescence de l' Eu^{3+} et une émission centrée dans le bleu due à la matrice de silice. Après modification par APTES, cette émission a tendance à augmenter par rapport à celle des Eu^{3+} . En effet, la quantité globale de silice dans l'échantillon augmente à cause de la présence de nanoplots en surface des microparticules et aux agrégats formés par auto-condensation. Pour les autres particules, la luminescence des Eu^{3+} reste intense et garde essentiellement la même répartition spectrale après modification. Une étude plus approfondie des efficacités démontre toutefois que dans les cas où il y a eu un greffage de l'aminosiloxane sur l'oxyde, celui-ci provoque une augmentation de la durée de vie moyenne mesurée pour le niveau émetteur 5D_0 , donc du rendement quantique de luminescence.

CHAPITRE V

VERS DE NOUVEAUX BIO-MARQUEURS

Contents

V.1	<u>Mise en suspension des particules</u>	156
V.2	<u>Observation des NPs par microscopie de fluorescence et microscopie confocale</u>	157
V.2.1	Microscopie de fluorescence	158
V.2.2	Microscopie confocale	159
V.3	<u>Internalisation des NPs dans les cellules</u>	160
V.3.1	Protocole expérimental	161
V.3.2	Observation des particules au microscope confocal	161
V.4	<u>Cytométrie en flux</u>	162
V.5	<u>Bilan</u>	165

Dans ce chapitre nous présentons les résultats d'expériences d'internalisation des NPs par des cellules. Toutefois, la mise en oeuvre de ces expériences a nécessité la vérification d'un certain nombre de pré-requis tels que la conservation des propriétés de luminescence lors de la mise en suspension des particules ou encore la possibilité de détecter la luminescence des NPs par les techniques d'analyse biologiques telles que la microscopie de fluorescence ou la microscopie confocale. Nous démontrerons aussi la possibilité de détecter nos particules par cytométrie de flux.

V.1 Mise en suspension des particules

Dans le but d'utiliser les NPs comme marqueur luminescent, les propriétés de luminescence des particules sphériques de $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Gd}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ont été étudiées, après dispersion dans l'eau à une concentration de 1 mg/mL, ce qui correspond à $8,1 \cdot 10^{13}$ NPs de $\text{Gd}(\text{OH})\text{CO}_3$ et $5,7 \cdot 10^{13}$ NPs de Gd_2O_3 par litre de suspension, soit une concentration en ions luminescents de $2,1 \cdot 10^{-4}$ et $2,8 \cdot 10^{-4}$ M, respectivement. La stabilité de la suspension colloïdale au cours du temps a été vérifiée par mesure UV-visible, et la faible diminution de l'absorbance au cours du temps (moins de 20% après 30 min) montre que les particules ne s'agglomèrent pas en suspension.

Les spectres d'émission de l'ion Eu^{3+} enregistrés sur les suspensions de $\text{Gd}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ sont présentés figure V.1 et comparés à ceux des poudres sèches. Les principales caractéristiques observées pour les poudres sèches se retrouvent également pour les suspensions. Les durées de vie sont très proches dans les deux cas, à savoir $0,55 \pm 0,06$ ms pour l'hydroxycarbonate et $1,34 \pm 0,13$ ms pour l'oxyde. La constance des propriétés de photoluminescence confirme la stabilité chimique des suspensions. Les intensités des émissions, intégrées sur

la gamme de longueur d'onde prenant en compte les transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0-2}$ sont regroupées dans le tableau V.1. Sous excitation à 393 nm, c'est à dire dans la transition $^7F_0 \rightarrow ^5L_6$ de l' Eu^{3+} , les émissions ont presque les mêmes intensités intégrées, voir même légèrement plus élevées pour l'hydroxycarbonate. En revanche, sous excitation à 254 nm, dans la bande de transfert de charge ligand-métal, les intensités relatives sont totalement différentes, et l'émission de l'hydroxycarbonate, n'est que de 3% de celle de l'oxyde. Ces différences peuvent être expliquées par comparaison des spectres d'excitation correspondants (figure V.2). En effet, l'excitation à 254 nm est très faible et l'absorption à cette longueur d'onde sera donc particulièrement inefficace pour exciter les ions Eu^{3+} , contrairement à l'oxyde où la bande d'excitation très importante peut être observée en dessous de 280 nm.

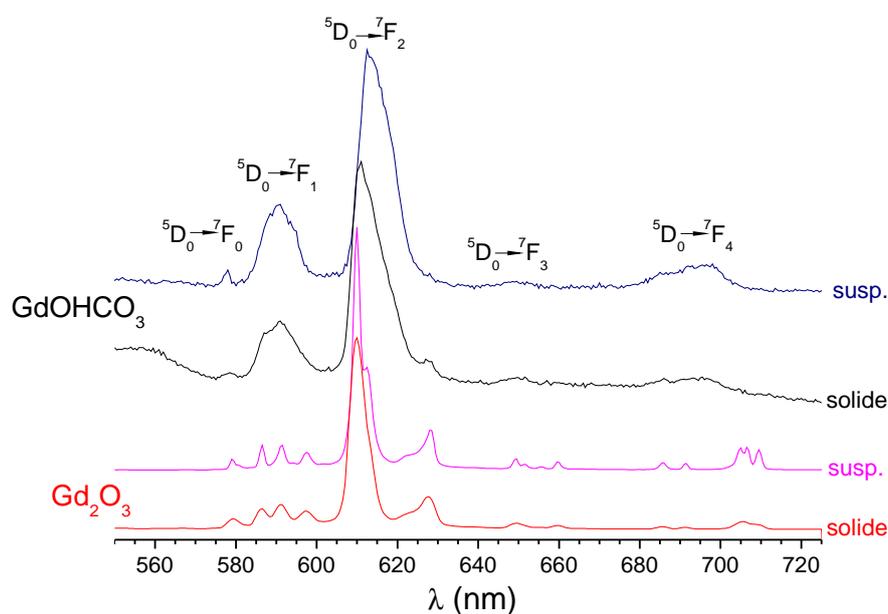


FIGURE V.1 – Spectres d'émission des NPs de $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ et $GdOHCO_3:Eu^{3+}$, en suspension à 1mg/ml dans l'eau et sur poudre sèche

V.2 Observation des NPs par microscopie de fluorescence et microscopie confocale

Parmi les moyens de détection utilisés en biologie, la visualisation des cellules par microscopie de fluorescence et microscopie confocale sont des techniques très fréquemment employées. Ces techniques permettent de détecter la fluorescence émise par les NPs, que celles-ci soient

Echantillon		τ	I	I
		$(\lambda_{ex}) = 254 \text{ nm}$	$(\lambda_{ex}) = 254 \text{ nm}$	$(\lambda_{ex}) = 393 \text{ nm}$
t6	Solide	0,62 ms	-	-
Gd(OH)CO ₃ :Eu ³⁺	Suspension	0,55 ms	3	1
t6-annealed	Solide	1,45 ms	-	-
Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	Suspension	1,34 ms	100	1

TABLE V.1 – Durée de vie du niveau 5D_0 et intensités intégrées sur la plage $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0-2}$ pour les poudres sèches et en suspension

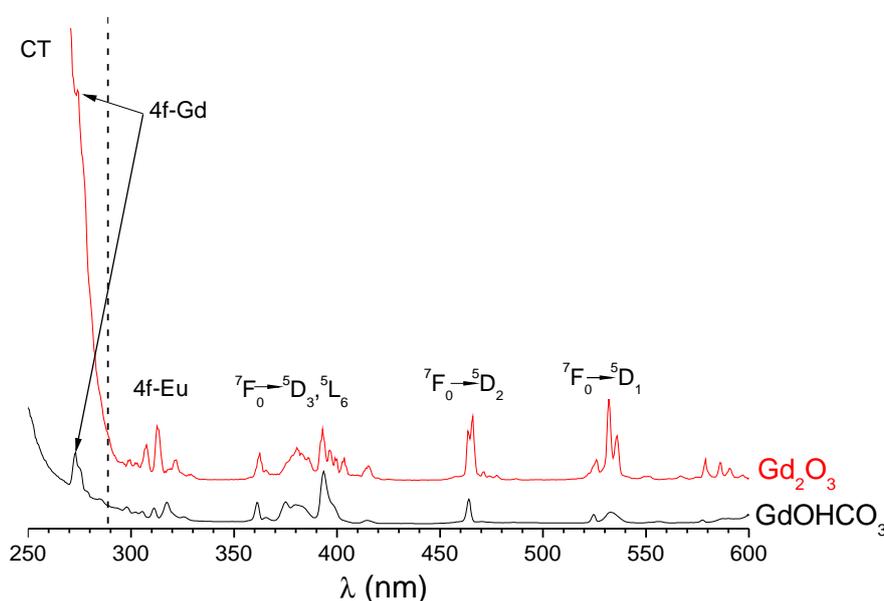


FIGURE V.2 – Spectres d'excitation enregistrés à 610 nm pour Gd(OH)CO₃ :Eu³⁺ et Gd₂O₃ :Eu³⁺

sèches, déposées sur un substrat, ou en suspension, coincées entre lame et lamelle.

V.2.1 Microscopie de fluorescence

Les NPs de carbonate de gadolinium dopé europium, d'oxyde et d'oxysulfure ont été observées en microscopie de fluorescence, sur poudre sèches et en suspension dans l'eau, après excitation à 365 nm. Les clichés sont présentés Figure V.3 et V.4. Sur toutes les images réalisées sur les poudres sèches, des agglomérats de particules, plus ou moins importants, peuvent être observés (Figure V.3), ces agglomérats présentant tous une luminescence rouge relativement intense. Lors de la mise en suspension des NPs dans l'eau, à une concentration de 1 mg/ml, la

luminescence rouge est globalement conservée (Figure V.4). De plus, pour tous les échantillons une meilleure dispersion des particules a pu être observée, caractérisée par une diminution de la taille des agrégats. Enfin, lors de la mise en suspension des NPs d'hydroxycarbonate $Gd(OH)CO_3 :Eu^{3+}$, une intense luminescence rouge a pu être détectée sur l'ensemble du champ d'observation, révélant que la dispersion de ces NPs dans l'eau donne des suspensions particulièrement homogènes.

D'autres dopants ont également été testés, par exemple le Tb^{3+} . Les images des poudres sèches de $Gd(OH)CO_3 :Tb^{3+}$ (Figure V.5(a)) montrent la présence d'agglomérats de particules de taille relativement importante. Lors de la mise en suspension des particules, comme pour celles dopées à l'euporium, une intense luminescence verte est détectée sur l'ensemble du champ d'observation (Figure V.5(b)), ce qui signifie que la suspension est assez homogène.

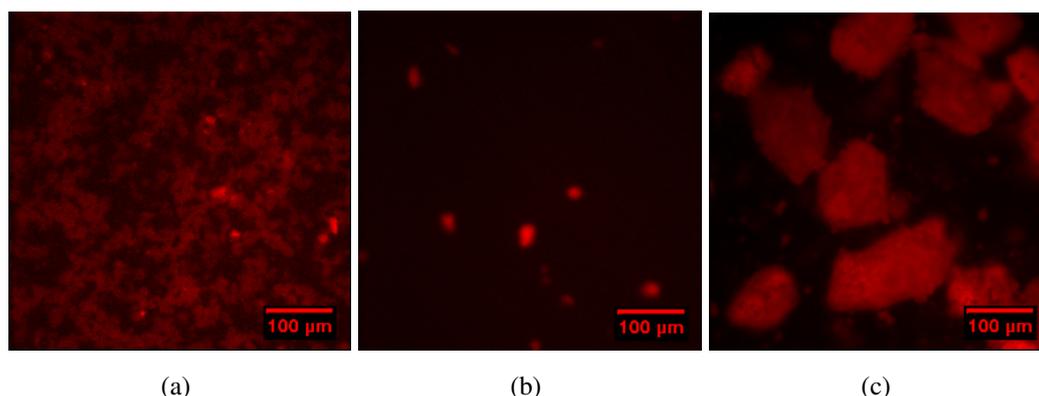


FIGURE V.3 – Clichés de microscopie de fluorescence réalisés sur poudres sèches ($\lambda_{ex} = 365 \pm 5$ nm) (a) $Gd(OH)CO_3 :Eu^{3+}$, (b) $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et (c) $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

V.2.2 Microscopie confocale

Les observations en microscopie confocale ont été réalisées sur des échantillons de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et les images obtenues ont été comparées à celles réalisées en microscopie de fluorescence classique. Pour ces observations, une excitation à 488 nm a été employée. L'énergie associée à cette longueur d'onde se situe entre les niveaux 5D_2 et 5D_1 . Les ions sont excités dans le niveau 5D_1 et le niveau émetteur 5D_0 est atteint par désexcitations non radiatives. Les clichés montrent la présence d'agrégats formés de particules beaucoup plus petites, relativement dispersées. En mode confocal, le même type d'images a pu être réalisé, avec une résolution meilleure, malgré

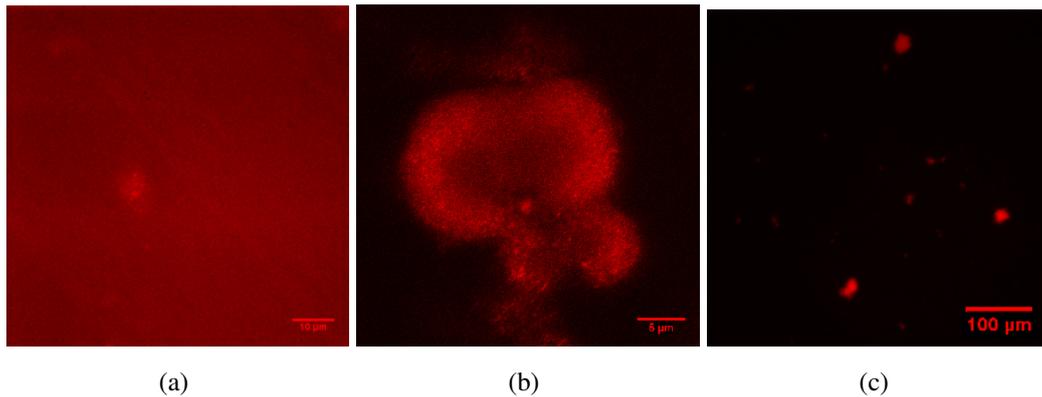


FIGURE V.4 – Clichés de microscopie de fluorescence réalisés sur les suspensions (1 mg/ml, $\lambda_{ex} = 365 \pm 5$ nm) (a) $GdOHCO_3 :Eu^{3+}$, (b) $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ et (c) $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$

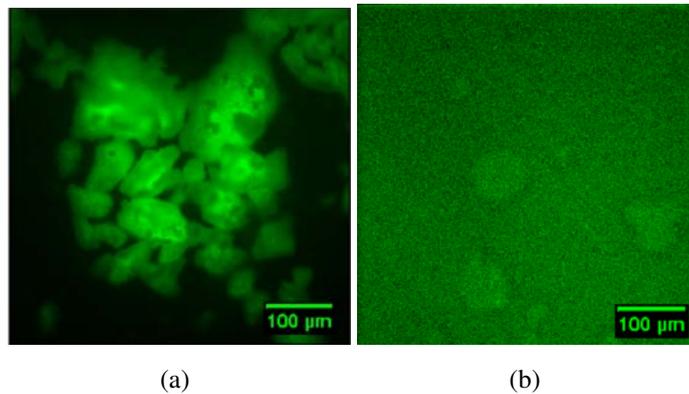


FIGURE V.5 – Clichés de microscopie de fluorescence réalisés sur particules de $GdOHCO_3 :Tb^{3+}$ (a) sur poudres sèches et (b) en suspension ($\lambda_{ex} = 365 \pm 5$ nm)

une plus faible intensité.

V.3 Internalisation des NPs dans les cellules

Afin de démontrer le potentiel de marquage biologique des NPs à base de lanthanide, les particules sphériques d'hydroxycarbonates, d'oxydes ou d'oxysulfure de gadolinium dopés Eu^{3+} ont été mises en contact avec des cellules cancéreuses. De même, des NPs de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ fonctionnalisées avec l'APTES ont été testées.

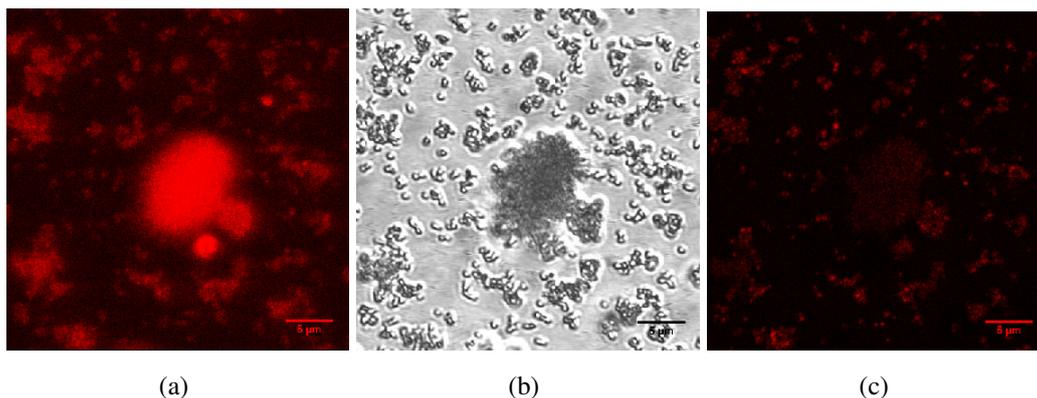


FIGURE V.6 – Clichés de microscopie de $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ (a) en fluorescence, (b) en champ clair et (c) en mode confocale (1 mg/ml, $\lambda_{ex} = 488$ nm)

V.3.1 Protocole expérimental

Les cellules cancéreuses HeLa sont maintenues dans un milieu de culture supplémenté avec 10% de FBS (fetal bovine serum) et 1% de penicilline et streptomycine dans une atmosphère régulée en CO_2 (5%). Pour la mise en contact des NPs, 2 mL de cellules diluées de 1 :2 à 1 :4 sont disposées dans des boîtes de culture. Pour cela, elles sont disposées sur des lamelles stériles 18x18 mm. Les cellules sont maintenues pendant 2 jours dans le milieu de culture afin de réaliser leur accroche sur les lamelles et leur multiplication. Des solutions de NPs à 1 mg/mL dans le PBS sont préparées et soumises à sonification pendant 30 min, avant d'être ajoutées aux cellules dans le milieu de culture de façon à atteindre le rapport 1 :200. Après incubation 12h à 37°C, le milieu de culture est extrait et les cellules sont lavées deux ou trois fois avec du PBS, puis 2 ml de milieu de culture sont à nouveau ajoutés. L'observation des cultures est réalisée sans autre préparation, les boîtes sont placées dans une chambre à atmosphère contrôlée (37°C, 5% CO_2) et observées au microscope confocal en configuration inversée (observations réalisées à la City-U, Hong Kong).

V.3.2 Observation des particules au microscope confocal

Les images de microscopie confocale réalisées sur tous les types de particules ont été obtenues sous excitation à 514 et 488 nm. En effet, ces deux longueurs d'onde se situent entre les niveaux ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_1$ et ${}^7F_0 \rightarrow {}^5D_2$ et sont susceptibles d'exciter l'ion Eu^{3+} dans son niveau 5D_1 . L'émission a été enregistrée sur une bande spectrale allant de 550 à 670 nm. Les clichés de microscopie de fluorescence confocale sont présentés figure V.7 (gauche). Les images de la

colonne de droite sont la superposition de ces images de fluorescence avec les images en champ clair de la même zone. D'autres dopants ont été testés, et des NPs de $\text{GdOHCO}_3 : \text{Tb}^{3+}$ et $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Er}^{3+}$ ont également été internalisées par les cellules et observées au microscope confocal, sur une bande spectrale allant de 500 à 700 nm.

On reconnaît les cellules vivantes ayant internalisé les NPs par la superposition des images de fluorescence et en champ clair. En effet, une intense fluorescence rouge ou verte peut être observée dans le cytoplasme, plus intense autour du noyau. Sur ces images, quelques agrégats de NPs apparaissent également, avec une fluorescence plus intense. Ces agrégats ne semblent pas être internalisés mais seulement adsorbés ou déposés à la surface des cellules. Des observations tout à fait similaires ont été faites lorsque les NPs ont été modifiées avec APTES.

Pour évaluer la cytotoxicité des NPs envers les cellules, les mêmes observations ont été reprises après 24h d'incubation. On n'observe pas de différence notable avec les images précédentes, ce qui est une preuve qualitative de la non toxicité des NPs envers les cellules.

V.4 Cytométrie en flux

La cytométrie en flux, pour l'analyse ou le tri des cellules, est une technique extrêmement répandue dans les laboratoires de recherche biologique mais aussi dans les laboratoires d'analyse médicale (cf. Chapitre I). Les fluorophores utilisés en cytométrie en flux sont essentiellement des molécules organiques, qui seront fonctionnalisées pour atteindre une entité biologique définie, conduisant à une variété énorme d'applications [142]. D'un autre côté, des microbilles de polymère ou de silice contenant un chromophore organique sont aussi proposées [143]. Sur leur surface est greffée une fonction de reconnaissance et chaque ensemble formé par la microbille et ses espèces ciblées/accrochées est ensuite vue comme un objet unique par le cytomètre.

Les cytomètres sont construits avec plusieurs sources laser, les longueurs d'onde d'excitation sont donc fixées. Dans la configuration dont nous avons disposé, il y a quatre longueur d'onde d'excitation : 355, 405, 488 et 515 nm.

Il y a une très importante limitation pour l'observation des marqueurs Ln^{3+} par cytométrie, qui est le temps d'observation de l'objet luminescent. Selon le principe de fonctionnement d'un

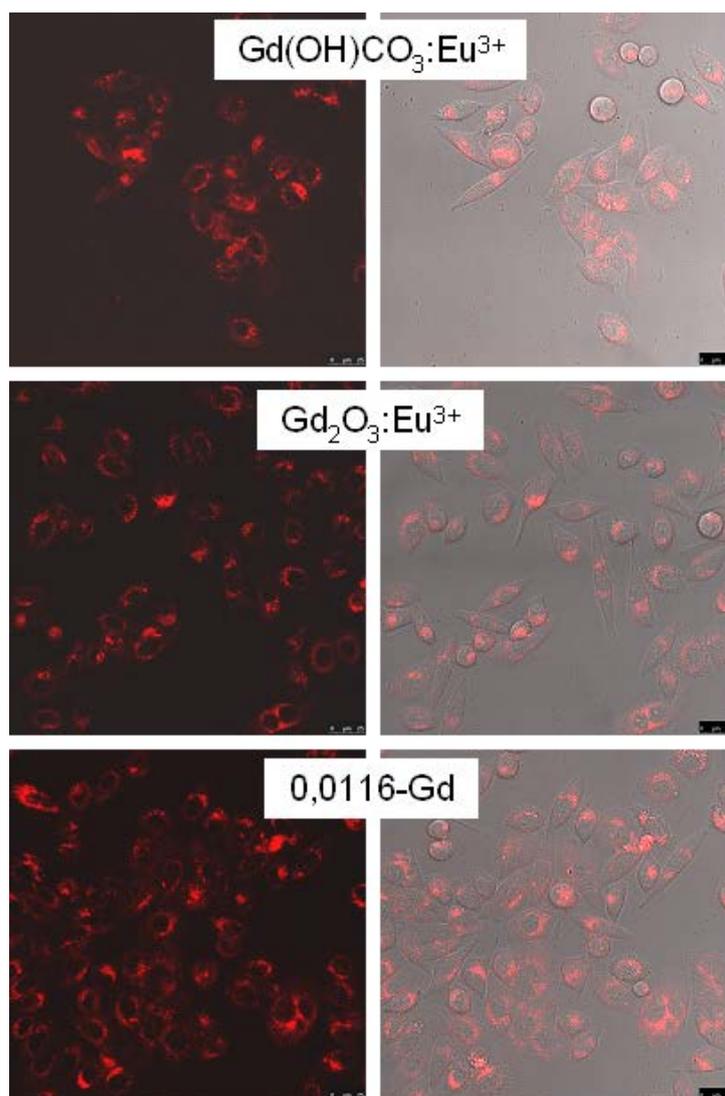


FIGURE V.7 – Images de cellules *HeLa* observées par microscopie de fluorescence confocale après 12h d'internalisation. Haut : $Gd(OH)CO_3:Eu^{3+}$, milieu : $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ et bas : 0,116-Gd

cytomètre décrit Figure V.9, un objet luminescent traverse la zone de mesure/détection en 1 à 10 μs , en fonction des conditions du flux. Considérant l'échelle de temps typique d'un déclin, le nombre de photons observables est donc très faible par rapport au nombre total émis.

Malgré ces conditions expérimentales très restrictives, les NPs d'oxysulfure de gadolinium dopées europium, nues et modifiées par l'APTES ont été introduites dans le flux et correctement détectées. La longueur d'onde d'excitation est fixée à 355 nm, la longueur d'onde d'observation à 610 ± 20 nm. Les résultats sont présentés figure V.10. Sur ces spectres les valeurs en abscisse correspondent à l'intensité de fluorescence mesurée, tandis que l'axe des ordonnées est représentatif du nombre d'objets détectés. Pour les NPs d'oxyde, l'intensité de luminescence mesurée est quasiment nulle. Cette mesure est ainsi considérée comme le blanc de référence

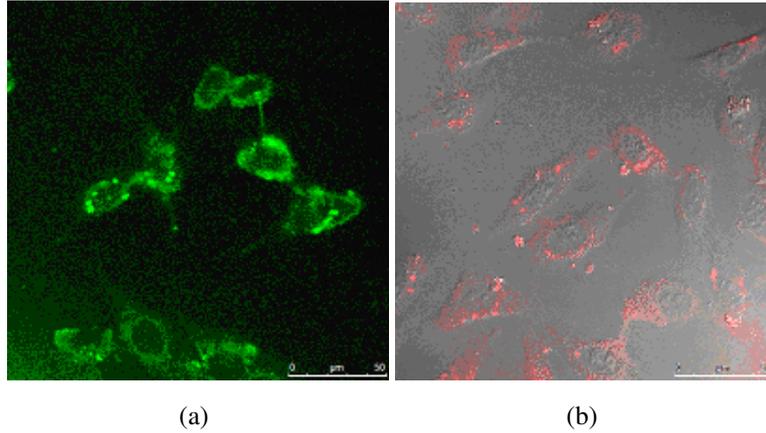


FIGURE V.8 – Images de microscopie de fluorescence confocale des NPs de (a) $GdOHCO_3:Tb^{3+}$ et de (b) $Gd_2O_3:Er^{3+}$ internalisée dans des cellules HeLa ($\lambda_{ex} = 488\text{ nm}$)

pour nos expériences. En revanche, pour les particules d’oxysulfure, le signal enregistré possède une intensité plus élevée, significative pour ce type d’analyse.

Nous voyons bien ici qu’en fait c’est la réponse du marqueur (sa “brillance” c.f. Eq. II.26) qui est déterminante.

$$\epsilon \cdot \Phi_{\lambda_{em}/\lambda_{ex}} = \epsilon \cdot \frac{Nb_{Ph.emis}}{Nb_{Ph.absorbes}}$$

Seules les NPs luminescentes qui ont une bande d’absorption efficace (ici la CTS S-Eu) à 355 nm ont donc pu être détectées.

Enfin, un des buts que nous poursuivons est d’utiliser les NPs comme marqueurs dans les expériences de cytométrie en temps retardé. Dans la Ref. [144], les auteurs décrivent un dispositif dans lequel la fenêtre de mesure de la luminescence est décalée en temps et ouverte pendant 30 μs . Ces conditions ont été optimisées pour la mesure des émissions des lanthanides. Pour notre part, nous avons aussi détecté la luminescence des $Gd_2O_2S:Eu^{3+}$ en temps retardé, mais dans des conditions moins favorables (fenêtre 1 μs , décalage $\Delta t = 20\ \mu s$). Nous observons pratiquement les mêmes efficacités après ce Δt (Figure V.11). Cette observation est particulièrement encourageante pour de futurs développements car, après 20 μs l’auto fluorescence des milieux biologiques est pratiquement éteinte.

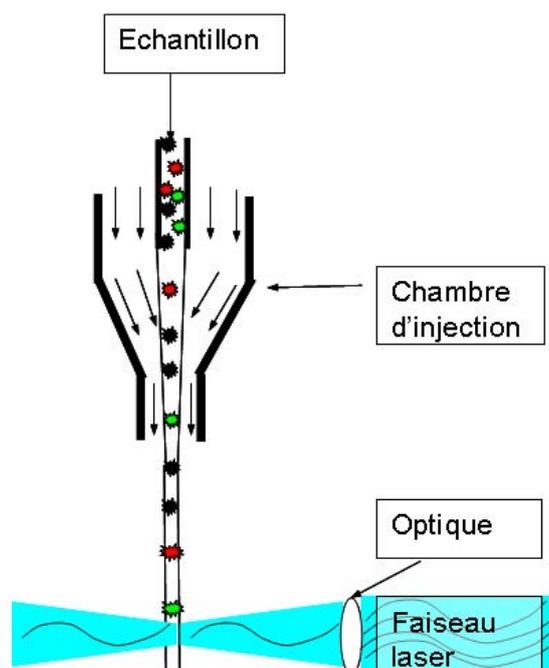


FIGURE V.9 – Principe de fonctionnement d'un appareil de cytométrie en flux

V.5 Bilan

En vue d'une future utilisation en tant que bio-marqueurs, les propriétés de luminescence des NPs de $Gd(OH)CO_3 :Eu^{3+}$ et $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ ont été étudiées lors de leur mise en suspension dans l'eau, ceci afin de simuler le milieu biologique. Les résultats ont alors montré que malgré une diminution globale du signal, la luminescence reste bien observable lors de la mise en suspension des NPs, que ce soient les hydroxycarbonates ou les oxydes. De plus, nous avons également mis en évidence que, sous excitation convenable (393 nm), le signal émis par les oxydes et par les hydroxycarbonates en suspension observés dans les mêmes conditions sont du même ordre.

L'observation des différents types de NPs ($Gd(OH)CO_3 :Eu^{3+}$, $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$, $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$) au microscope de fluorescence et au microscope confocal constitue une première étape, démontrant que les NPs peuvent être détectées par les outils couramment utilisés en biologie. Enfin, nous avons également pu observer la luminescence de ces NPs après leur internalisation dans des cellules sans provoquer leur mort.

Au cours des expériences en microscopie de fluorescence nous n'avons pas été réellement confrontés au manque d'intensité du signal émis, que ce soit sur lames ou dans les cellules.

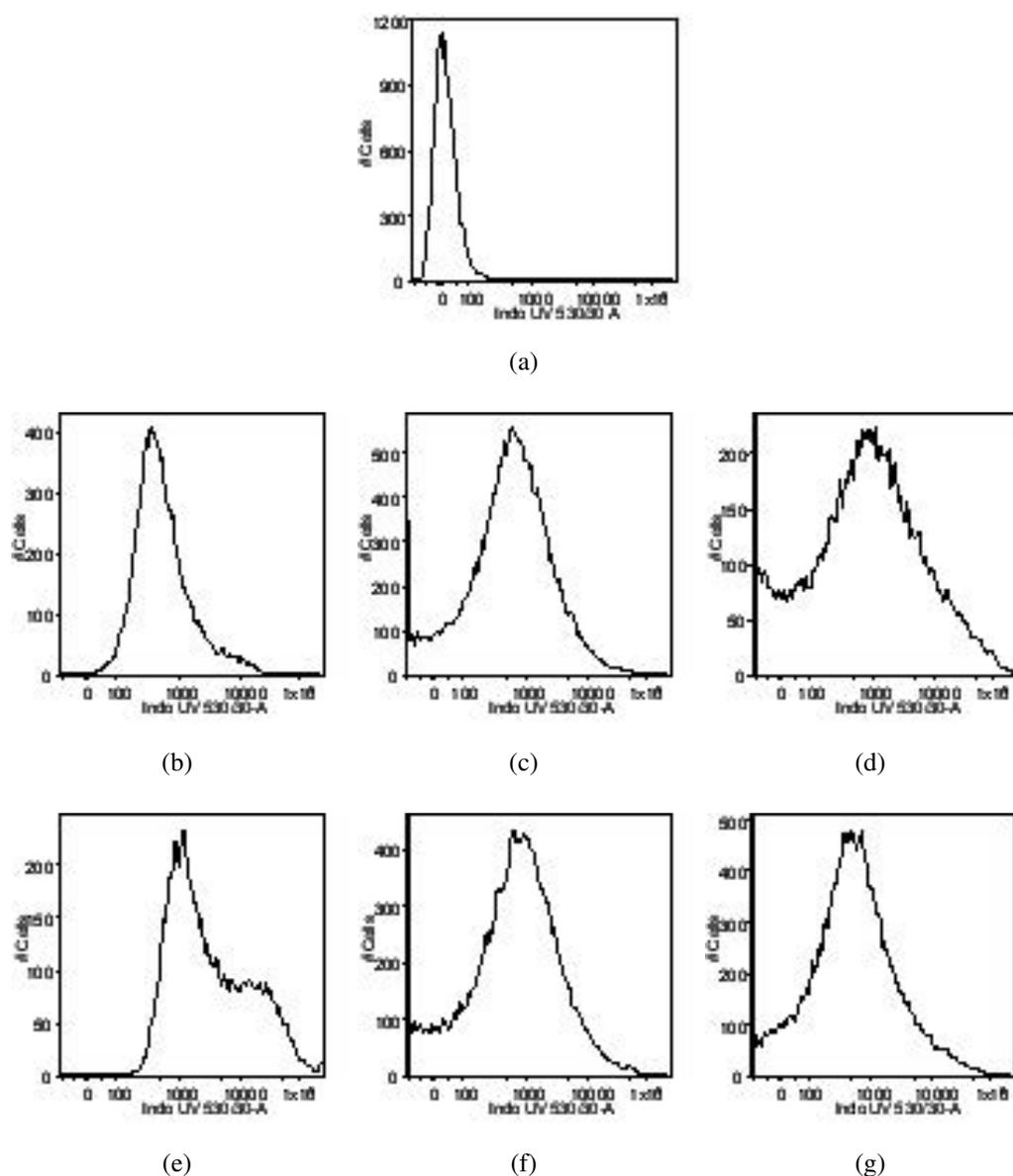


FIGURE V.10 – Courbes d'analyse en cytométrie de flux des NPs de $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$ nues et modifiée ($\lambda_{ex} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 610 \pm 20 \text{ nm}$) (a) $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ (blanc), (b) $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$, (c) 0,037-GdS, (d) 0,055-GdS, (e) 0,058-GdS, (f) 0,070-GdS et (g) 0,071-GdS

Les NPs de $Gd(OH)CO_3 :Eu^{3+}$, que nous n'avons initialement considérées que comme des précurseurs pour les oxydes et les oxysulfures, révèlent également un bon potentiel comme marqueurs dans les cellules. Cette observation confirme bien les mesures en suspension. Lorsque l'excitation est réalisée dans les transitions $intra-4f^n$, la différence de rendement interne mesurée sur les poudres (73% pour l'oxyde et 22% pour l'hydroxycarbonate) ne donne pas lieu à des différences significatives dans les intensités observées. Il faut toutefois noter que nous n'avons pas la certitude d'observer des particules uniques, ce qui serait nécessaire pour une

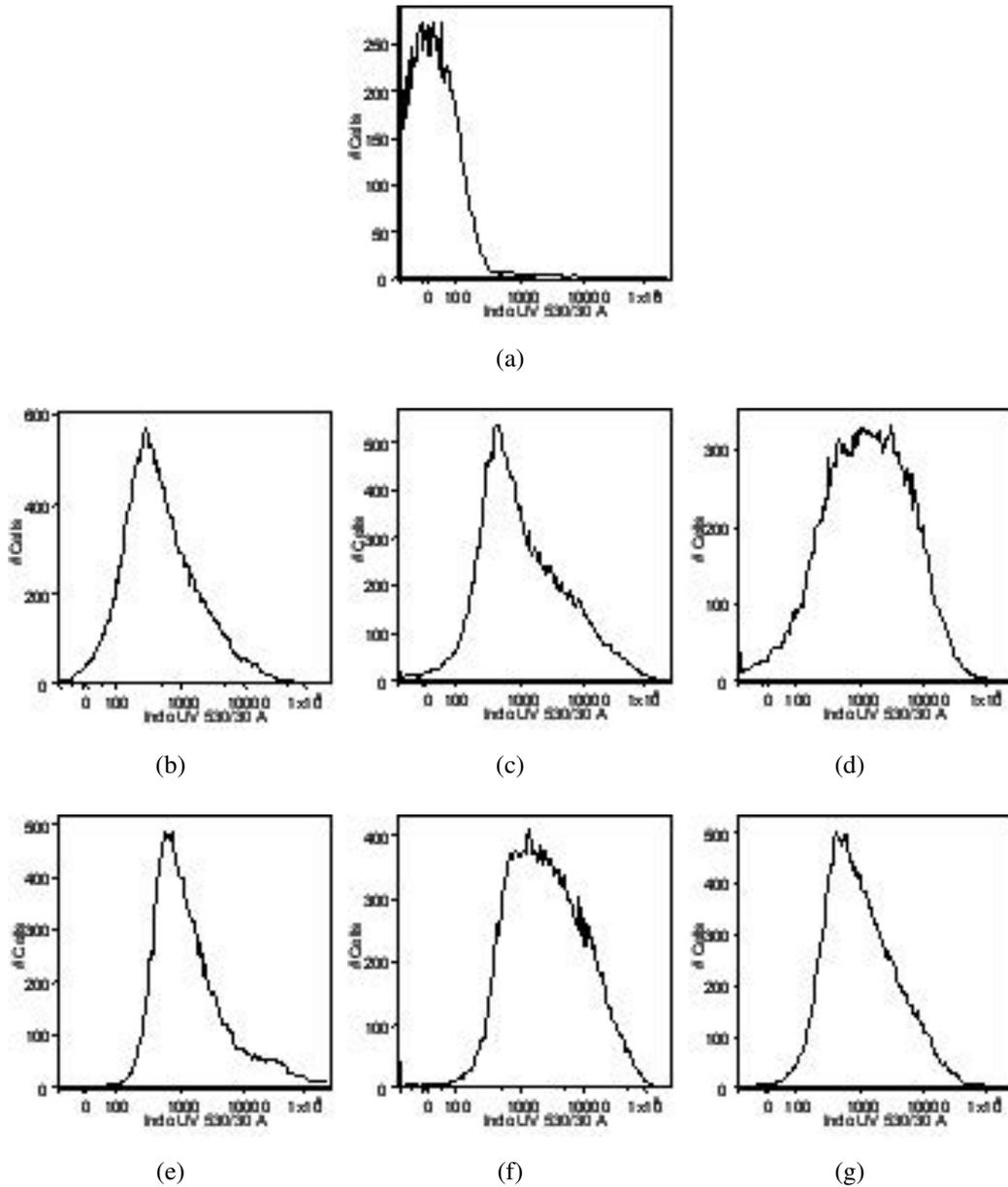


FIGURE V.11 – Courbes d'analyse en cytométrie de flux des NPs de $Gd_2O_2S:Eu^{3+}$ nues et modifiée ($\lambda_{ex} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 610 \pm 20 \text{ nm}$, $\Delta t = 20 \mu s$) (a) $Gd_2O_3:Eu^{3+}$ (blanc), (b) $Gd_2O_2S:Eu^{3+}$, (c) 0,037-GdS, (d) 0,055-GdS, (e) 0,058-GdS, (f) 0,070-GdS et (g) 0,071-GdS

comparaison plus pertinente. Ces NPs d'hydroxycarbonate, que nous avons observées dopées par Eu^{3+} (ou Tb^{3+}) présentent en outre l'avantage d'être plus facilement dispersées. Les modifications de surface par APTES que nous avons effectuées n'ont modifié ni l'internalisation des NPs, ni l'efficacité globale de luminescence.

Nous avons pu détecter les NPs de $Gd_2O_2S:Eu^{3+}$ dans un cytomètre de flux. Dans ce cas, la mesure est faite sur une particule unique (ou des agrégats de quelques NPs) avec une

longueur d'onde d'excitation fixée à 355 nm. Dans ces conditions de mesures très contraignantes, c'est l'efficacité d'absorption qui est le facteur essentiel et parmi nos NPs, seules les $Gd_2O_2S :Eu^{3+}$ présentent une absorption importante à cette longueur d'onde, et ont été convenablement détectées.

Conclusion

Les travaux, objets de ce mémoire, s'inscrivent dans le cadre des études sur l'utilisation de NPs inorganiques comme bio-marqueurs, et plus particulièrement de NPs présentant des propriétés de luminescence induites par des ions lanthanides. Le choix du système s'est porté sur des oxydes et des oxysulfures de lanthanides, dopés europium, connus pour être des luminophores efficaces déjà utilisés dans des systèmes de visualisation, notamment en tant que luminophores rouge dans les écrans TV.

Dans le cadre de ces travaux, différents types de NPs luminescentes ont été étudiées : des NPs d'hydroxycarbonate, d'oxyde et d'oxysulfure de gadolinium (et d'yttrium), ainsi que des NPs de silice. L'originalité de la synthèse de ces particules réside dans le fait que les oxydes et les oxysulfures peuvent être obtenues à partir des mêmes précurseurs, les hydroxycarbonates. Ces derniers sont synthétisés par précipitation contrôlée à partir des précurseurs nitrates en solution aqueuse à température modérée (85°C). Les différentes analyses ont montré que les particules obtenues sont sphériques, monodisperses en taille, avec un diamètre moyen de 150 nm environ. Les oxydes sont ensuite obtenus par traitement thermique des NPs d'hydroxycarbonate, tandis que les oxysulfures sont préparés par un procédé de sulfuration utilisant le CS₂ comme agent sulfurant, ces deux réactions s'effectuant sans changement de morphologie ni agglomération des particules. Ces NPs d'oxyde et d'oxysulfure sont donc sphériques monodisperses en taille. Des particules sub-microniques de SiO₂:Eu³⁺ synthétisées par spray pyrolyse ont également été étudiées.

La deuxième étape de cette étude a été le développement et le contrôle de la modification de la surface des NPs par un aminosilane : l'APTES. En effet, une telle étape est nécessaire si l'on veut pouvoir utiliser ces NPs comme bio-marqueurs. L'étude du greffage de l'APTES sur des NPs de SiO_2 , Ln_2O_3 ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd) et de $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}$ a été effectuée en détail. Nous avons ainsi montré que l'APTES est greffé de manière covalente à la surface des NPs, mais que la saturation des surfaces est atteinte très rapidement. Cela a pu être mis en évidence par détermination des taux de greffage qui atteignent un plateau, ainsi que par spectroscopie IR, RMN, XPS et mesure du potentiel ζ . Nous avons également pu déterminer les modes de greffage de l'APTES à la surface des NPs pour chaque type de matériau, ainsi que l'épaisseur de la couche greffée. De plus l'étude des propriétés de luminescence des NPs fonctionnalisées a montré que ces dernières ne subissent aucune modification lors du greffage de l'APTES, l'intensité d'émission, l'efficacité d'émission et la durée de vie du niveau émetteur étant conservées. Enfin, le taux d'amines accessibles a également pu être évalué par étude des propriétés de luminescence des NPs modifiées après couplage avec le FITC. Il apparaît alors qu'une très faible proportion des molécules d'APTES présente dans les échantillons peut finalement servir de support à une future fonctionnalisation, les matériaux les plus favorables étant les NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd).

Enfin, dans une troisième étape, après avoir montré que les propriétés de luminescence des matériaux étaient compatibles avec une utilisation en tant que bio-marqueurs, les NPs ont été internalisées par des cellules cancéreuses et leur luminescence a pu être observée par microscopie confocale. Nous avons également prouvé que les NPs de $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$ peuvent être utilisées comme marqueurs luminescents pour la détection au cytomètre de flux.

Ainsi, lors de ce travail de conception de marqueurs biologiques, deux étapes majeures ont été réalisées avec succès, à savoir la synthèse de nanoparticules, et leur modification de surface pour les rendre bio-compatibles. Reste maintenant à poursuivre le processus et greffer des récepteurs spécifiques, afin de cibler des fonctions particulières de l'organisme.

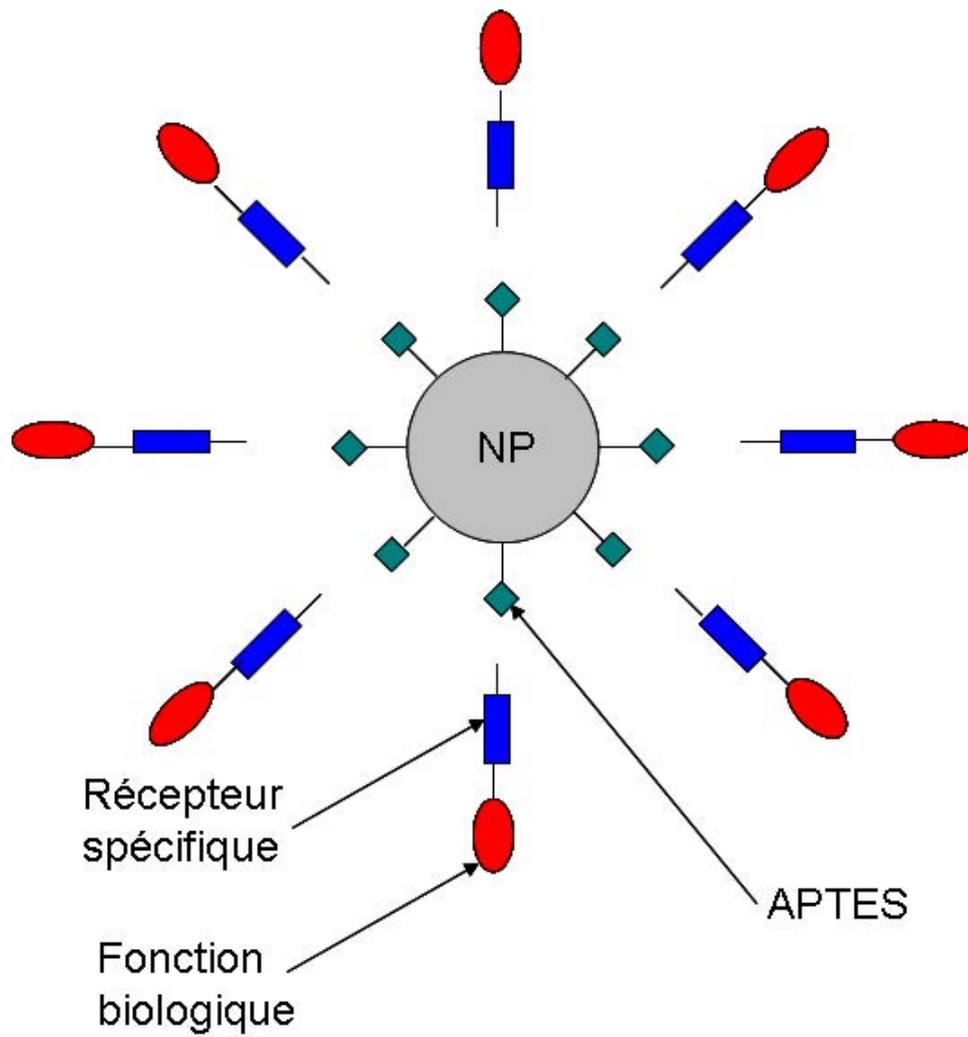


FIGURE V.12 – *Etat d'avancement du processus de fonctionnalisation*

ANNEXE A

CARACTÉRISTIQUES DES PARTICULES

	SiO ₂ :Eu ³⁺	Y ₂ O ₃ :Eu ³⁺	Gd ₂ O ₃ :Eu ³⁺	Gd ₂ O ₂ S :Eu ³⁺
M (g/mol)	60	225,8	362,5	378,5
d (g/cm ³)	2,2	5,03	7,6	7,3
Nb motif/maille		16	16	1
V _{maille} (nm ³)		1,192	1,264	0,086
R (nm)	350	75	75	75
S (nm ²) (Eq. A.1)	1,54.10 ⁶	7,07.10 ⁴	7,07.10 ⁴	7,07.10 ⁴
V (nm ³) (Eq. A.1)	1,8.10 ⁸	1,77.10 ⁶	1,77.10 ⁶	1,77.10 ⁶
σ (m ² /g)	81,5	6,55	5,75	
m _{particule} (g) (Eq. A.1)	3,05.10 ⁻¹³	8,89.10 ⁻¹⁵	1,34.10 ⁻¹⁴	1,29.10 ⁻¹⁴
Nb particule/mol (Eq. A.2)	1,52.10 ¹⁴	2,54.10 ¹⁶	2,70.10 ¹⁶	2,93.10 ¹⁶
Nb particule/g (Eq. A.2)	2,53.10 ¹²	1,13.10 ¹⁴	7,45.10 ¹³	7,75.10 ¹³
Nb particule/cm ³ (Eq. A.2)	5,57.10 ¹²	5,66.10 ¹⁴	5,66.10 ¹⁴	5,66.10 ¹⁴
Nb M*/particule (Eq. A.3)	4,04.10 ⁹	4,75.10 ⁷	4,47.10 ⁷	4,11.10 ⁷
Nb M*/cm ³ (Eq. A.3)	2,25.10 ²²	2,68.10 ²²	2,53.10 ²²	2,33.10 ²²
Nb M*/g (Eq. A.3)	1,02.10 ²²	5,34.10 ²¹	3,33.10 ²¹	3,19.10 ²¹
Nb Eu/g (Eq. A.4)	5,11.10 ²⁰	2,67.10 ²⁰	1,67.10 ²⁰	1,60.10 ²⁰
Nb Eu/cm ³ (Eq. A.4)	1,13.10 ²¹	1,34.10 ²¹	1,27.10 ²¹	1,17.10 ²¹
Nb Eu/particule (Eq. A.4)	2,02.10 ⁸	2,38.10 ⁶	2,24.10 ⁶	2,06.10 ⁶

* M = Y, Gd ou Si

TABLE A.1 – Récapitulatif des caractéristiques des particules nues

$$S = 4.\pi.R^2 \quad V = \frac{4}{3}.\pi.R^3 \quad m = d.V \quad (\text{A.1})$$

$$Nb_{part./mol} = \frac{M}{m} \quad Nb_{part./g} = \frac{1}{m} \quad Nb_{part./cm^3} = \frac{d}{m} \quad (\text{A.2})$$

$$Nb_{M^*/part.} = \frac{2.V.Nb_{motif/maille}}{V_{maille}} \quad Nb_{M^*/cm^3} = \frac{2.Nb_{motif/maille}}{m.V_{maille}} \quad Nb_{M^*/g} = \frac{2.V.d.Nb_{motif/maille}}{m.V_{maille}} \quad (\text{A.3})$$

$$Nb_{Eu/part.} = 5\%.Nb_{Gd/part.} \quad Nb_{Eu/cm^3} = 5\%.Nb_{Gd/cm^3} \quad Nb_{Eu/g} = 5\%.Nb_{Eu/g} \quad (\text{A.4})$$

ANNEXE B

TECHNIQUES DE CARACTÉRISATION

B.1 Microscopie électronique en transmission

Lorsqu'un faisceau d'électrons traverse un échantillon, il interagit avec les atomes constituant le matériau, ce qui va produire différents types de rayonnements (figure : B.1). Les observations portent essentiellement sur le faisceau transmis (diffraction élastique et inélastique), mais l'analyse des rayonnements X émis apportent des mesures complémentaires sur la composition de l'échantillon. L'imagerie par microscopie électronique à transmission repose sur les interactions élastiques entre le faisceau incident et les atomes du matériau observé.

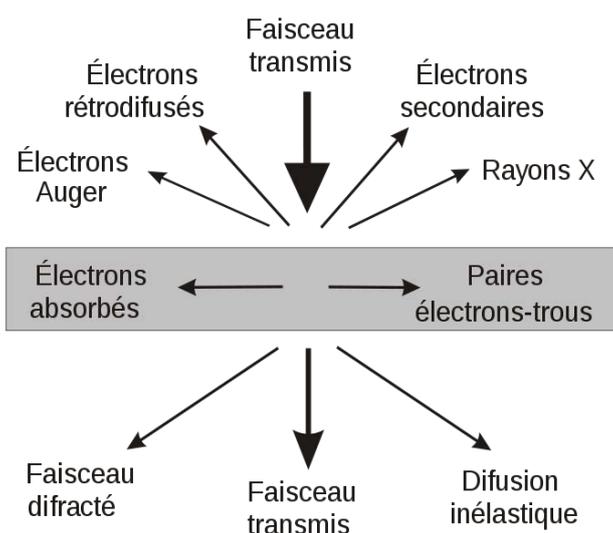


FIGURE B.1 – Schéma illustrant les différents types de rayonnements produits lors de l'interaction rayonnement-matière

Un microscope électronique à transmission se compose de quatre parties majeures :

- Une source, permettant de produire les électrons. Elle est située au sommet du microscope et est généralement constituée d'un filament (LaB_6 ou W), porté à un fort potentiel (100 à 300 kV), afin d'extraire les électrons, soit par effet thermo-électrique, soit par effet de champ (FEG).
- Une colonne, dont la fonction principale est de conduire les électrons depuis la source jusqu'au dispositif de visualisation (écran fluorescent ou caméra), en passant par l'échantillon. Cette colonne est principalement constituée de lentilles électromagnétique qui permettent de diriger le faisceau en faisant varier le courant qui leur est appliqué.
- Un échantillon, qui est introduit dans la colonne. Afin de pouvoir observer le faisceau transmis, il doit être relativement mince (de quelques centaines de nm).
- Un système de vide très poussé, nécessaire pour permettre la circulation des électrons.

Les observations ont été réalisées sur trois microscopes du CEMES :

- Un CM20 (Philips), équipé d'un filament LaB_6 et d'une caméra Gatan 1024×1024 pixels.
- Un CM20 FEG (Philips), équipé d'une caméra 1024×2048 pixels, développée par le laboratoire. Ce microscope est également équipé d'un détecteur EDX.
- Un CM30 (Philips), équipé d'un filament LaB_6 .

Tous les échantillons ont été observés par dépôt de quelques gouttes de poudre en suspension dans l'éthanol sur une grille de cuivre recouverte d'un très fin film de carbone.

B.2 Diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X permet d'identifier la nature des phases présentes dans un matériau et d'obtenir des informations sur sa structure cristalline.

Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques présentant des longueurs d'onde proches des distances inter-atomiques des solides que l'on désire analyser. Ainsi, lorsqu'un faisceau de rayons X est envoyé sur un cristal, il y a diffraction par les atomes du réseau et on obtient un diagramme de diffraction présentant des pics, renseignant sur la nature de l'échantillon. A l'aide de la loi de Bragg, donnant les conditions d'interférence constructives, il est alors possible d'interpréter chaque pic du DRX.

Loi de Bragg :

$$2d_{hkl} \sin \theta = n\lambda$$

où : $d_{(hkl)}$ est la distance entre 2 plans cristallins d'indice h , k et l

θ est l'angle que fait le faisceau incident avec les plans (hkl) ,

λ est la longueur d'onde du faisceau incident et n est un entier relatif, correspondant à l'ordre de la diffraction

Le diffractogramme de rayons X correspond ainsi à l'intensité du rayonnement diffracté en fonction de la position du détecteur. A partir de la position des pics, il est alors possible de remonter aux différents $d_{(hkl)}$ d'un cristal et ainsi de connaître la structure cristalline.

Les diagrammes de diffraction ont été réalisés à l'aide d'un diffractomètre XRD 300TT SEIFERT, en configuration de Bragg-Brentano ($\theta - 2\theta$), travaillant avec la radiation $K\alpha$ du cuivre ($\lambda=1,5406\text{\AA}$). Les échantillons ont été préparés en déposant une fine couche de poudre sur un porte échantillon en aluminium de 1 cm^2 spécialement usiné à cette fin.

B.3 WAXS

La technique de diffusion des rayons X aux grands angles est souvent utilisée pour déterminer la structure des polymères, de nanoparticules ou de matériaux peu cristallisés, voir amorphes. En effet, un objet contenant des zones cristallisées étendues donne par diffraction des pics bien définis. Lorsque la taille des zones ordonnées diminue, les pics s'élargissent, jusqu'à se recouvrir. Le WAXS permet de retrouver les informations structurales qui persistent dans ces spectres. Cette technique se réfère spécifiquement à l'analyse des pics de Bragg dispersés aux grands angles, ce qui (selon la loi de Bragg) implique qu'ils sont causés par des structures de taille sub-nanométrique.

B.3.1 Principe de la technique

L'échantillon à étudier est placé dans un faisceau de rayons X monochromatique. Il produit un rayonnement diffusé noté $I(s)$ dans toutes les directions de l'espace, s étant le module du vecteur d'onde égal à $(4\pi \sin \theta / \lambda)$ avec θ la moitié de l'angle de diffusion et λ la longueur d'onde du RX incident.

La mesure de l'intensité diffusée en fonction de l'angle de diffusion conduit à une courbe $I(s) = f(\theta)$. Cette intensité peut se décomposer en deux termes. Un premier terme dit intensité

indépendante (I_{indep}), n'est fonction que de la composition chimique et s'exprime en fonction des facteurs atomiques de diffusion des espèces chimiques présentes dans le matériau. Le second terme, dit intensité réduite ($i(s)$), contient toute l'information structurale. L'intensité totale de diffusion élastique peut donc s'écrire :

$$I(s) = i(s) + I_{indep} \quad (\text{B.1})$$

Cette intensité réduite peut être examinée directement dans l'espace réciproque, mais peut également être examinée dans l'espace réel en effectuant une transformée de Fourier de l'intensité réduite :

$$F(r) = \frac{2r}{\pi} \int_{s_{min}}^{s_{max}} s \cdot i(s) \sin(rs) ds \quad (\text{B.2})$$

Cet espace réel est en fait l'espace des distances inter-atomiques entre atomes du matériau étudié. Le résultat de cette opération est une fonction de distribution radiale (FDR) réduite qui donne une image de la répartition des distances inter-atomiques. L'analyse de la fonction de distribution radiale fournit une mesure moyenne de la distance métal-métal et/ou métal-ligand et de l'étendue de l'ordre intérieur de la particule. La distribution des distances inter-atomique ne suffit pas à proposer une structure, et il est nécessaire de la comparer à des FDR simulées pour les différents modèles structuraux envisagés. Le calcul de l'intensité théorique correspondant à un modèle se fait grâce à la formule de Debye :

$$i(s) = 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N f_i(s) f_j(s) \left[\frac{\sin(s \cdot r_{ij})}{s \cdot r_{ij}} \right] \exp(-b_{ij} s^2) \quad (\text{B.3})$$

où N est le nombre total d'atomes dans le modèle, f_i le facteur de diffusion atomique de l'atome i , r_{ij} la distance entre les atomes i et j , b_{ij} un facteur d'agitation thermique affectant l'interaction entre les atomes i et j . La transformée de Fourier de cette intensité réduite théorique conduit à la FDR théorique directement comparable à la FDR expérimentale.

Comme dans le cas de toutes les techniques statistiques, le principal inconvénient de cette technique vient du fait qu'elle fournit une structure moyenne du système étudié. Pour une utilisation optimisée, il faut que le système soit parfaitement homogène et présente des particules de même structure et de même taille. En effet, la présence dans le milieu d'espèces minoritaires n'est pas facilement décelable par WAXS mais perturbe la FDR. De même, une FDR résultant de la présence dans le système de particules de tailles non monodisperses sera difficilement interprétable. La connaissance, au préalable, de la distribution en taille des particules est donc nécessaire à l'interprétation de la FDR expérimentale.

Les mesures WAXS sont réalisées sur une petite quantité de poudre placée dans un capillaire de Lindemann qui est scellé sous vide afin d'éviter tout risque d'oxydation. Il n'y a aucun risque de modification structurale induite par l'interaction rayonnement-matière. Les mesures de diffusion X ont été réalisées sur un goniomètre à deux cercles ω/θ dédié qui possède une résolution angulaire de $0,001^\circ$ sur chaque axe et une précision supérieure à $0,005^\circ$ sur l'angle. Il est équipé d'un tube à rayon à rayon X classique, d'un monochromateur avant graphite plan, et d'un détecteur à scintillation. Toutes les fonctions du diffractomètre sont sous le contrôle d'un micro-ordinateur. Le rayonnement utilisé est la raie K_α du molybdène ($\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$). Une mesure typique permet de collecter 457 points équidistants en s dans le domaine angulaire $0^\circ \leq \theta \leq 65^\circ$ en une vingtaine d'heure. Pour chaque échantillon les données ont été enregistrées pendant 20h, et ont été corrigées des effets de polarisation, d'absorption et de diffusion du capillaire vide. Ils ont ensuite été normalisés et une transformée de Fourier a été appliquée pour obtenir la fonction de distribution radiale.

B.4 XPS

La spectroscopie de photoélectron X (XPS) est une technique spectroscopique quantitative qui permet de déterminer la composition élémentaire, la formule empirique, les états chimiques et électroniques de la surface d'un matériau. Si on considère un atome isolé qui est sur le point d'être ionisé par un photon X d'énergie totale $h\nu + E_i$, où $h\nu$ est l'énergie du photon et E_i celle de l'atome dans son état initial. Suite à l'absorption du photon et à l'émission du photoélectron, l'énergie totale est devenue $EC + E_f$ où EC est l'énergie cinétique de l'électron et E_f l'énergie de l'atome dans son état final. Comme l'énergie totale est conservée :

$$h\nu + E_i = EC + E_f \Leftrightarrow h\nu - EC = E_f - E_i = BE \quad (\text{B.4})$$

avec BE qui est l'énergie de liaison de l'orbitale d'où l'électron est éjecté et est égal à la différence entre l'énergie photonique (que l'on connaît) et l'énergie électronique (que l'on mesure). Cette énergie de liaison est donc déterminée par la différence entre l'énergie totale de l'atome à son état initial et de l'ion à son état final. Chaque élément produit un jeu de pics à des énergies de liaison caractéristiques. Ces pics correspondent aux configurations électroniques des électrons de chaque atome (1s, 2s, 2p, 3s...). De plus, le nombre d'électrons détectés pour chacun des pics est directement lié à la quantité d'élément mesurée par unité de volume analysée. Pour pouvoir déterminer les pourcentages atomiques, le signal XPS doit être corrigé par un fac-

teur de sensibilité relative (RSF) et normalisé par rapport à l'ensemble des éléments détectés.

Les spectres XPS sont obtenus en irradiant le matériau avec un faisceau de rayons X et en mesurant simultanément l'énergie cinétique et le nombre d'électrons s'échappant du matériau. Les électrons ou photo-électrons émis étant fortement absorbés par le matériau, c'est uniquement ceux dont l'origine se trouve très près de la surface qui seront mesurés. C'est pourquoi la profondeur sondée par l'XPS n'est que de quelques nanomètres.

L'XPS permet de détecter tous les éléments ayant un nombre atomique (Z) supérieur ou égal à 3. Pour tous ces éléments, la limite de détection est de l'ordre de 1/1000. Des limites de détection de l'ordre du ppm peuvent toutefois être atteinte en accumulant le signal sur de longues périodes.

Les analyses XPS ont été réalisées à l'institut de chimie d'Araraquara, UNESP, Brésil. L'appareil utilisé est un spectromètre commercial UNI-SPECS UHV. Les échantillons sont excités par la raie $K\alpha$ du magnésium ($E=1253,6$ eV), et la bande passante du détecteur est de 10 eV. La diffusion inélastique des électrons de coeur est soustraite en utilisant la formule de Shirley. Les énergies de liaison sont corrigées en utilisant les fonctions CH_2 des polymères dont l'énergie est fixée à 285 eV. La composition de la surface est déterminée à partir des surfaces relatives des pics, corrigées par les facteurs de sensibilité des éléments correspondants. Les spectres sont déconvolués sans imposer de contraintes particulières. La largeur à mi-hauteur des pics (FWHM) varie entre 1,6 et 2 eV, et la résolution en énergie sur la position des pics est de 0,1 eV.

B.5 Détermination de la surface spécifique d'un solide : mesure

BET

La surface spécifique désigne la surface réelle d'un objet par opposition à sa surface apparente. Elle est souvent exprimée en m^2/g . La surface spécifique d'une poudre est estimée à partir de la quantité d'azote adsorbée en relation avec sa pression à la température d'ébullition de l'azote liquide et sous une pression atmosphérique normale. L'adsorption physique est le résultat d'interactions spécifique adsorbat-adsorbant. C'est un processus spontané, parfaitement

réversible, qui se fait sans modification de la structure moléculaire. La détermination de la surface spécifique se fait via la détermination de la quantité de gaz adsorbé, selon le modèle de Brauner, Emmett et Teller, souvent appelé méthode BET.

L'adsorption (ou la désorption) peut être représentée par un isotherme qui relie l'activité d'un adsorbat contenu dans une atmosphère donnée, à la quantité d'adsorbat adsorbée sur un solide en équilibre avec cette atmosphère. L'isotherme d'adsorption est ainsi le reflet des interactions entre un solide et un adsorbat. En fonction des différentes caractéristiques de l'isotherme, il sera alors possible de déterminer le type de pores, le volume total et le rayon moyen des pores, ainsi que la distribution de taille des mésopores. Le calcul de la répartition poreuse se fait par la méthode BJH qui est basée sur l'analyse pas à pas de la branche d'adsorption ou de désorption de l'isotherme. La méthode BJH, de Barrett, Joyones et Hallanda (1951), fait donc le lien entre des données thermodynamiques de l'isotherme de sorption et des données géométriques, propriétés intrinsèques du solide.

Les analyses BET ont été réalisées sur un appareil BELSORP Mini II. L'échantillon est d'abord chauffé à 150°C sous vide pendant 16h, afin de désorber toutes les molécules d'eau. Il est ensuite placé dans une cellule que l'on plonge dans l'azote liquide. L'azote gaz est alors introduit dans la cellule et se condense à la surface du matériau : l'appareil effectue une mesure de pression avant et après l'introduction de l'azote. La mesure des différents volumes permet alors de remonter aux quantités de gaz adsorbées par le solide et ainsi de déterminer la surface spécifique grâce à la méthode BET.

Lorsque les particules sont sphériques et monodisperses, et si elles ne sont pas poreuses, la mesure de la surface BET permet de remonter à leur taille :

$$r = \frac{3000}{\sigma * d} \quad (\text{B.5})$$

r = rayon de la NP en nm, d = densité en g/cm^{-3} et σ = surface spécifique en m^2/g

B.6 Potentiel zéta et diffusion de la lumière

Le potentiel zéta (potentiel ζ) représente la charge que la particule acquiert grâce aux ions qui l'entourent quand elle est en solution. Plus précisément, le potentiel ζ est la différence de

potentiel qui existe entre la couche dense de Stern et le liquide environnant (Figure B.2). La valeur de potentiel ζ peut être directement reliée à la stabilité des dispersions colloïdales et indique le degré de répulsion entre des particules chargées similaires adjacentes. Ainsi, pour des particules assez petites, une valeur élevée du potentiel ζ confèrera une bonne stabilité à la dispersion colloïdale. Cependant le potentiel ζ ne peut pas être mesuré directement et doit être calculé selon des modèles théoriques et des mesures expérimentales de la mobilité électrophorétique. Cette mobilité peut être obtenue en mesurant la vitesse avec laquelle les particules vont migrer vers des électrodes (de charge opposée) lorsqu'un champ électrique est appliqué à une dispersion. Cette vitesse est alors obtenue par mesure de la variation de fréquence ou de phase, due au mouvement des particules, d'un faisceau laser, et convertie en potentiel ζ en tenant compte de la viscosité du solvant et la permittivité diélectrique et en appliquant la théorie de Smoluchowski. En outre, le potentiel ζ va varier en fonction d'un grand nombre de paramètres tels que la concentration en particules ou le pH de la dispersion.

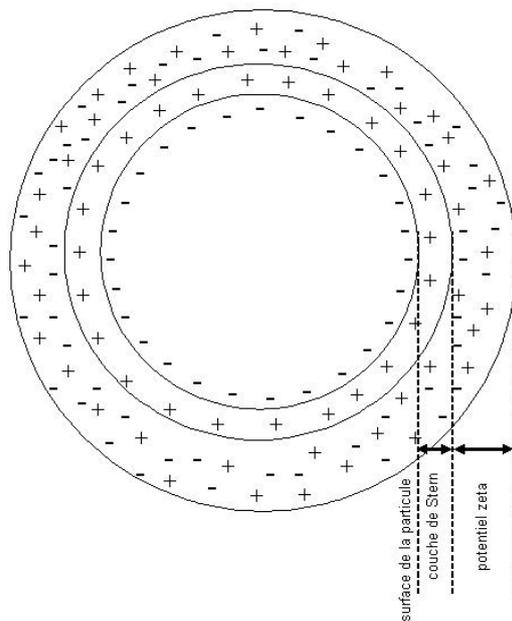


FIGURE B.2 – Définition du potentiel ζ

Le potentiel ζ peut donc s'annuler lorsque les charges du milieu vont compenser les charges de surface de la particule. Ce point est appelé point de charge nulle (PZC) ou point isoélectrique (IEP). Le pH correspondant à ce point dépend du matériau considéré et va varier en fonction des charges de surface. La mesure du potentiel ζ en fonction du pH est donc un outil de choix pour caractériser la surface des particules.

Les mesures de potentiel ζ ont été réalisées à l'IQ d'Araraquara, sur un appareil Zeta Plus BIC. Tous les échantillons ont été préparés par mise en suspension des poudres ($C=0,25$ mg/ml) dans un électrolyte NaCl 10^{-3} M. Pour chacun des échantillons, le pH a été ajusté par ajout de NaOH 10^{-3} ou 10^{-2} M et HCl 10^{-3} ou 10^{-2} M.

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) est une technique d'analyse spectroscopique non destructive permettant d'accéder à la taille de particules en suspension dans un liquide. Lorsque la lumière d'un laser atteint des petites particules dans une microcuvette, la lumière diffuse dans toutes les directions (différence d'indice). Ce phénomène est principalement de la diffusion de Rayleigh, diffusion élastique où les particules sont plus petites que la longueur d'onde considérée. On peut mesurer l'intensité de la lumière diffusée par les particules à un angle considéré (90° typiquement) au cours du temps. Cette dépendance en temps vient du fait que les particules dans un liquide sont soumises au mouvement Brownien à cause de l'agitation thermique. La distance entre diffuseurs (concentration locale) change ainsi sans cesse. Il en résulte des interférences constructives ou destructives et l'intensité totale mesurée contient des informations sur la vitesse de mouvement des particules. Un traitement mathématique est mis en œuvre. On définit la fonction d'autocorrélation qui permet de comparer le signal mesuré à lui-même, mais avec un petit décalage temporaire. Une modélisation graphique permet d'extraire un temps caractéristique de décroissance de cette fonction. Si l'autocorrélation décroît rapidement (tau faible), c'est que le signal mesuré varie rapidement. C'est le cas lorsque les particules se déplacent assez vite, donc qu'elles sont de petites tailles (plus mobiles). Le rayon hydrodynamique est le rayon d'une sphère théorique qui aurait le même coefficient de diffusion que la particule considérée. Pour une particule chargée la sphère considérée contient la particule entourée de sa couche diffuse, ce qui entraîne une surestimation par rapport à une mesure de taille par microscopie.

B.7 Analyse thermogravimétrique et élémentaire

L'analyse thermogravimétrique est une technique d'analyse qui consiste en la mesure de variation de masse d'un échantillon en fonction de la température. Un appareil se compose typiquement d'une enceinte étanche permettant de contrôler l'atmosphère de l'échantillon, d'un four permettant de gérer la température, d'un module de pesée (microbalances), d'un disposi-

tif de mesure de température tel qu'un thermocouple et d'un système de contrôle. L'analyse thermo-différentielle, généralement couplée à la précédente permet de suivre, en fonction de la température du four, la différence de température entre l'échantillon étudié et une référence interne

Les analyses ATG/ATD simultanées ont été réalisées au CIRIMAT et/ou au CEMES. Au CIRIMAT, l'appareil utilisé est un SETARAM TG-DTA 92-16, utilisant environ 20 mg d'échantillon. Ce dernier est comparé à l' α -alumine utilisée comme référence. La température varie de 20 à 1000°C à la vitesse de 3,8°C/min et l'échantillon est balayé par un flux d'air à 1,5 L/h. Au CEMES, les analyses ont été réalisées sur un LABSYSTG-ATD-1600°C utilisant environ 20 mg d'échantillon, également comparé à l' α -alumine. La température varie de 20 à 1000°C à la vitesse de 10°C/min et l'échantillon est balayé par un flux de dioxygène.

B.8 Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est basée sur l'absorption ou la réflexion de radiations électromagnétiques appartenant au domaine infrarouge (1-1000 μm). Les bandes d'absorptions situées dans le moyen IR proviennent de l'interaction entre la composante électrique du rayonnement électromagnétique et les dipôles oscillants associés aux liaisons chimiques (modes de vibration). En raison des propriétés de symétrie du champ électrique incident, les vibrations symétriques sont invisibles en IR.

Les spectres ont été réalisés sur un appareil Perkin Elmer Spectrum 100 Series, dans le domaine 4000-400 cm^{-1} . L'analyse des poudres est réalisée en pastille, préparées par frittage de l'échantillon dans un matrice de bromure de potassium (1/100 en masse).

B.9 Résonance magnétique nucléaire du solide

La résonance magnétique nucléaire est une technique de spectroscopie applicable à des particules ou des ensembles de particules qui ont un spin nucléaire non nul. Dans le phénomène de résonance magnétique nucléaire, un noyau atomique absorbe le rayonnement électromagnétique à une fréquence spécifique caractéristique du noyau considéré, en présence d'un fort champ

magnétique, avec pour conséquence une modification du moment magnétique nucléaire du noyau. Dès la fin de l'excitation il va y avoir retour à l'état d'équilibre par un processus de relaxation qui prend un temps plus ou moins long (appelé temps de relaxation) en fonction de l'état physique de la substance. Une expérience de RMN classique se déroule donc en trois étapes :

- La matière à étudier est d'abord placée dans un champ magnétique intense qui va orienter les spins nucléaires
- Ces spins sont ensuite excités par une onde radio à la fréquence de résonance. Certains spins basculent alors en recevant cette énergie.
- A l'arrêt de l'excitation, les spins tendent à revenir à leur état initial. Cette désexcitation comporte deux parties : une composante appelée spin-spin, due à l'interaction entre les spins, et une composante appelée spin-réseau, provoquée par l'interaction des spins avec l'environnement (autres atomes).

Si dans les liquides cette dernière composante est moyennée et annulée par mouvement brownien, dans les solides elle est très présente car les molécules sont figées dans l'espace, et elle entraîne un fort élargissement des raies.

Pour réduire la largeur des pics et étudier séparément chacune des interactions, il existe cependant plusieurs techniques ou astuces dont les plus courantes sont :

- La méthode de l'angle magique (RMN MAS) : la mise en rotation de l'échantillon à un angle de $54,7^\circ$ (dit angle magique ou magic angle spin) a pour conséquence de rétrécir la largeur du signal.
- Découplage spins rares-spins abondants : afin de mieux percevoir le signal dû à des spins rares dispersés au sein de spins abondants, l'application d'un fort champ radiofréquence à la fréquence des spins abondants a pour effet d'annuler la contribution de ces derniers. Il ne reste alors plus que celle des spins rares qui peut ainsi être observée.
- La polarisation croisée (ou cross polarization : CP) : cette séquence consiste à transférer l'aimantation du noyau abondant vers le noyau peu abondant. Cela a alors pour effet d'augmenter la réponse des noyaux peu abondants, mais ne peut être quantitatif, puisque la contribution des noyaux peu abondants spatialement proches des noyaux abondants sera plus importante que celle des noyaux peu abondants éloignés des noyaux abondants.

Les analyses RMN ont été réalisées au Laboratoire de Chimie de Coordination par M. COPPEL, sur un spectromètre BRUCKER Avance 400 (9,4T). Les spectres RMN des noyaux ^{29}Si ont été enregistrés en orientant l'échantillon, placé dans un rotor en zircon de 4 mm tournant à 12 KHz, à l'angle magique avec une fréquence de 83,3 KHz et un temps de recyclage de 60s. Deux types de séquence ont été appliquées : une séquence de cross polarisation $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ CP-MAS et une séquence de découplage $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ DP-MAS . Pour les séquences $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ CP-MAS CP/MAS, la durée du pulse de cross polarisation a été fixée à 3 ms avec une répétition toutes les 5 s. Pour les séquences $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ DP-MAS l'échantillon a été incliné à 30° et les mesures ont été réalisées toutes les 60 s.

Les spectres RMN des noyaux ^{13}C ont également été enregistrés dans les mêmes conditions que les noyaux ^{29}Si (MAS, rotor en zircon de 4 mm tournant à 12 KHz, fréquence de rotation de 83,3 KHz et temps de recyclage de 60s) en appliquant une séquence de polarisation croisée. Le temps de contact entre les noyaux de carbone et d'hydrogène a été fixé à 2 ms avec un temps de recyclage de 3 s.

Pour tous les spectres, les déplacements chimiques sont reportés par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence.

B.10 Luminescence

B.10.1 Appareil micro-raman

L'appareil utilisé est un spectromètre UV Dilor XY, équipé d'une caméra CCD. L'excitation des échantillons est réalisée à 488 nm par un laser Kr-Ar, dont le faisceau est focalisé par un microscope optique sur l'échantillon déposé sur une lame de verre.

B.10.2 Spectrophotomètre

Cet appareil autorise des mesures sur des échantillons solides, déposés sous forme de poudre dans des portes échantillons spécialement usinés à cet effet, ou sur des échantillons liquides, dans des cuves en quartz. L'appareil utilisé est un spectrophotomètre Jobin Yvon Fluorolog FL3-22, équipé d'un photomultiplicateur Hamamatsu R928. L'excitation est réalisée par une

lampe Xe 450 W et les bandes spectrales sont sélectionnée par des monochromateurs comportant chacun un jeu de deux fentes motorisées dont l'ouverture peut être sélectionnée de manière continûment variable entre 0 et 7mm. Le Fluorolog-3 comporte également un détecteur de référence (une photodiode) qui reçoit une fraction de la lumière incidente et permet la normalisation du signal de fluorescence par rapport à l'intensité d'excitation reçue. Cette référence est très utile pour corriger les fluctuations de la lampe dans le temps (long terme) et pour les acquisitions des spectres d'excitation. Pour l'analyse des déclin de luminescence, une lampe Xe pulsée a été employée.

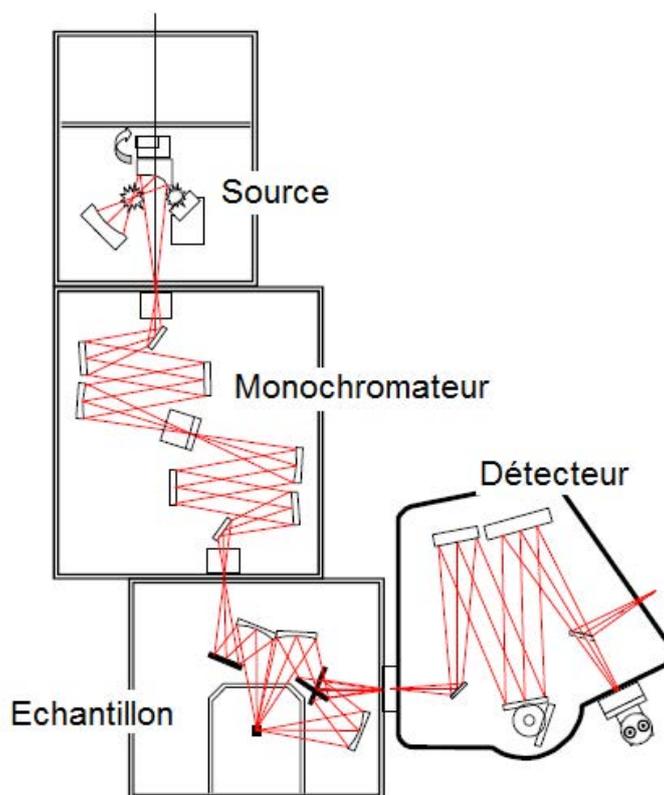


FIGURE B.3 – Schéma du spectrophotomètre

B.11 Microscopie de fluorescence

B.11.1 Microscopie de fluorescence en champ large

La microscopie de fluorescence est un technique communément employée en biologie, qui tire profit des propriétés de fluorescence des matériaux, pour les appliquer à la microscopie classique. Dans ces configurations, c'est le signal de luminescence qui est observé au lieu,

ou en plus, des phénomènes de réflexion ou d'absorption de la lumière. La figure B.4 donne le principe de fonctionnement d'un microscope de fluorescence. La source excitatrice envoie une radiation à une longueur d'onde spécifique, qui va être focalisée sur l'échantillon grâce à l'objectif. La luminescence émise par l'échantillon est ensuite transmise au détecteur par ce même objectif. Comme la majeure partie de la radiation excitatrice est transmise, seule la partie réfléchie ou réémise par l'échantillon sera analysée par le détecteur.

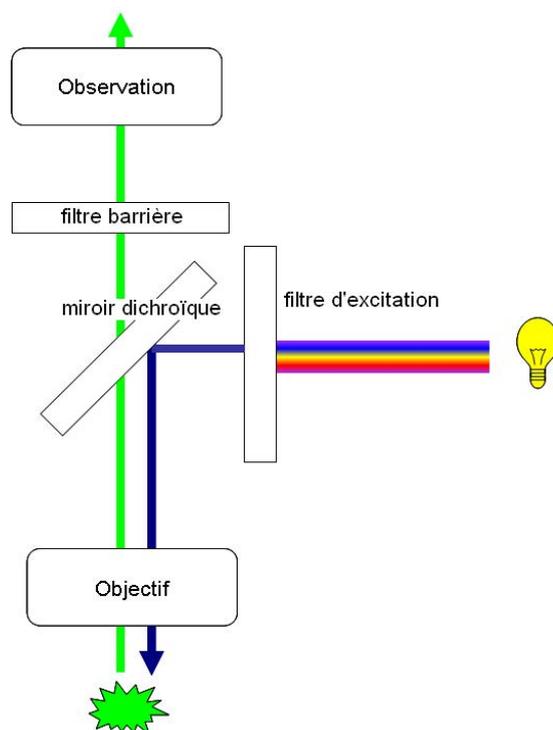


FIGURE B.4 – Schéma de principe d'un microscope de fluorescence

Les clichés de microscopie de fluorescence en champ large ont été réalisés à l'IPBS sur un microscope droit, équipé d'une caméra CCD, permettant de visualiser les images. L'excitation a été réalisée à 365 ± 5 nm, et la luminescence a été enregistrée sur tout le spectre visible, entre 400 et 800 nm. Pour toutes les images le temps d'exposition était fixé à 200 ms.

B.11.2 Microscopie confocale des particules

La microscopie confocale repose sur le même principe que la microscopie champ large, mais utilise, en plus, une résolution en z, permettant d'éliminer tout les signaux n'appartenant pas au plan de focalisation. Cette technique permet ainsi une reconstruction 3D des images à partir des images plan par plan obtenues.

Les clichés de microscopie confocale des particules ont également été réalisés à l'IPBS,

sur un microscope confocal ZEISS LSM 510, équipé d'un laser Ar d'une puissance nominale de 25 mW travaillant à 3,125 mW. L'excitation est réalisée à 488 nm et l'émission enregistrée entre 585 et 800 nm. La confocalité des images est assurée grâce à un pinhole placé devant le détecteur (valeur du pinhole 130 ce qui correspond à 1 unité d'Airy).

B.11.3 Microscopie confocale des cellules

Les images de microscopie confocale des cellules ont été réalisées au département de chimie de l'université de Hong Kong (City U) à l'aide d'un microscope confocal Leica SP5, équipé d'un laser Ar et d'un laser pulsé Ti-saphir femtoseconde. Le faisceau du laser argon comprend plusieurs raies entre 457 et 514 nm, parmi lesquelles on sélectionne une longueur d'onde excitatrice. Le faisceau est focalisé sur les cellules via un objectif 40x en immersion dans l'huile. Lors de ces expériences, les cellules (HeLa) ont été observées directement dans le milieu de culture (5% CO₂, 37°C) et collées sur une lame de verre.

B.12 Cytométrie en flux

La cytométrie de flux est définie comme l'étude précise d'objets isolés (particules, cellules, bactéries...vivantes ou mortes), entraînée par un flux liquide ou gazeux, permettant de faire défiler ces objets à grande vitesse dans le faisceau laser en les comptant et les caractérisant.

Il s'agit donc d'analyser les signaux optiques ou physiques émis par un objet coupant ce faisceau et plus particulièrement la lumière réémise par diffusion ou fluorescence. Les signaux optiques recueillis peuvent être de trois types, chacun ayant une intensité corrélée avec les propriétés particulières :

- la lumière diffusée : celle-ci renseigne sur la morphologie et la structure de l'objet. Si la diffusion de la lumière est mesurée dans l'axe du rayon incident, l'intensité du signal peut être corrélée avec la taille et la viabilité cellulaire. Sous un angle de 90°, la mesure correspond à la structure intra-cellulaire de la cellule (granulosité, morphologie, rapport nucléo-cytoplasmique).
- la lumière absorbée : cette mesure évolue proportionnellement au diamètre de la cellule (supposée sphérique) et à l'indice d'absorption des constituants.
- la fluorescence émise : cette fluorescence peut être d'origine endogène, mais le plus souvent, elle est apportée à la cellule par un fluorochrome. Celui-ci absorbe l'énergie du laser

et réémet l'énergie absorbée sous forme de photons d'une longueur d'onde plus élevée.

Ces signaux sont ensuite séparés par des filtres optiques, et collectés par des photomultiplicateurs, amplifiés, numérisés, traités et stockés informatiquement. Le résultat d'une analyse peut se présenter sous la forme d'histogrammes monoparamétrés (un paramètre en abscisse, l'ordonnée correspondant au nombre d'événements par canal), ou sous la forme d'histogrammes biparamétrés (un paramètre en abscisse, un autre en ordonnée, le nombre d'évènements étant représenté par la densité de nuages de points). Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est donc multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers d'événements par seconde.

L'analyse par cytométrie de flux est réalisée sur des objets individuels, il est donc nécessaire que les échantillons se présentent sous la forme d'une suspension.

Les principales applications de la cytométrie de flux concernent le domaine clinique. Il est ainsi possible de

- suivre une population de cellules par la taille et la granulosité du cytoplasme
- évaluer la présence de protéines membranaires sur des cellules vivantes
- trier des cellules vivantes selon l'expression de certains marqueurs
- évaluer la viabilité d'une population de cellules, sa mortalité et de type de mort

Par exemple, en cancérologie la cytométrie de flux est utilisée pour détecter les cellules pathologiques, en mesurant le contenu anormal d'ADN dans le noyau de la cellule tumorale. Elle permet également de suivre la distribution des cellules dans les différentes phases du cycle en fonction de divers stimulus ou de l'ajout de certaines drogues. Enfin, de nombreuses études en pharmacologie font aussi appel à cette technique pour la mise au point de drogues antimétabolites ou pour l'immunothérapie.

L'appareil utilisé est un cytomètre de flux BD LSR II, comportant quatre lasers alignés qui permettent d'acquérir jusqu'à dix couleurs. Les lasers sont fixes et transmettent le faisceau à la cellule de mesure et aux détecteurs via un système de miroirs. Ces détecteurs, appelés en fonction de leur géométrie, "trigons" et "octagons" collectent la fluorescence et transforment l'intensité en un signal électronique puis numérique. Le schéma de principe de l'appareil utilisé est présenté Figure B.5.

Dans cette configuration, l'enregistrement du signal n'est réalisé que sur $1 \mu\text{s}$ et la durée de parcours entre chacun des laser est de $20 \mu\text{s}$.

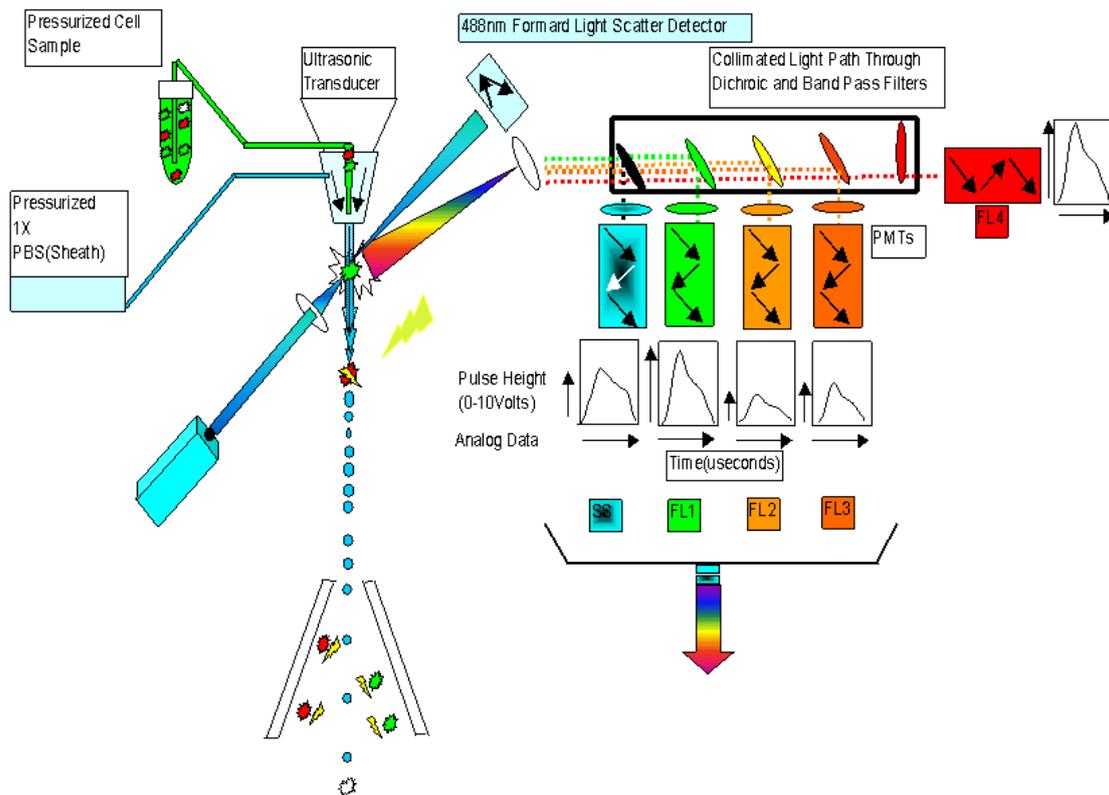


FIGURE B.5 – Schéma de principe de l'appareil utilisé

ANNEXE C

PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

C.1 Synthèse des NPs de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} : \text{Eu}^{3+}$

C.1.1 *Principe*

Les NPs luminescentes de $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3 : \text{Eu}^{3+}$ (Ln = Y ou Gd) ont été synthétisées à partir de précurseurs nitrates en milieu aqueux. La méthode utilisée se base sur la décomposition de l'urée pour une température supérieure à 70°C, décrite par Matijevic et Hsu [93]. Le mécanisme réactionnel a été présenté au paragraphe III.2.1.1.

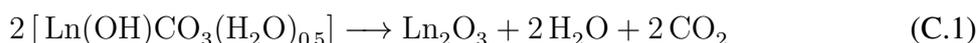
Nous avons sélectionné les conditions de synthèse par coprécipitation les mieux appropriées pour obtenir des particules sphériques monodisperses en taille.

C.1.2 *Mode opératoire*

Les concentrations utilisées sont : $5,6 \cdot 10^{-3}$ M pour les précurseurs de lanthanides (yttrium ou gadolinium et europium, avec un rapport Ln/Eu = 0,95/0,05), et 0,5 M en urée. Une synthèse typique est réalisée pour 800 mL de solvants, ce qui correspond à 2,13 mL de $\text{Gd}(\text{NO}_3)_3$, 151,3 μL de $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$ et 24 g d'urée. Les précurseurs nitrates, ainsi que l'urée sont alors dissous dans l'eau distillée et la solution est placée dans un ballon fermé hermétiquement, et agitée à 85°C pendant environ 2h. Il se forme ainsi un précipité blanc. La suspension est alors centrifugée afin d'isoler le précipité, qui est ensuite lavé plusieurs fois à l'eau distillée pour éliminer l'urée, les sels d'ammonium et les précurseurs qui n'auraient pas réagi. Il est ensuite séché à l'étuve à 80°C pendant une nuit.

C.2 Synthèse des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$

Les NPs d'oxyde de lanthanide sphériques et monodisperses en taille ont été obtenues par traitement thermique des NPs d'hydroxycarbonate. La température de calcination a été fixée à 850°C pendant 4 heures afin de les convertir les hydroxycarbonates en oxyde selon l'équation C.1.



De cette manière, des oxydes d'yttrium Y_2O_3 et de gadolinium Gd_2O_3 , tous les deux dopés à l'euporium ont été produits.

C.3 Synthèse des NPs de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$

Les nanoparticules de $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}$ ont été préparées par sulfuration des particules d'hydroxycarbonates de lanthanides, par sulfuration de ces dernières. Le montage (figure III.24) a été conçu pour un double emploi : sulfuration et recuit sous gaz inerte (argon).

Après optimisation, le protocole final retenu pour réaliser une sulfuration par CS_2 est le suivant :

- Un traitement de 1h30 à 750°C sous une atmosphère suffisante composée d'un mélange argon (50ml/min) et soufre (5ml/min) (vitesse de montée du four = 10°C/min). Cette 1^e étape a pour effet de produire l'oxysulfure.
- Un recuit de 4h à 1000°C sous atmosphère inerte (argon), afin de cristalliser l'oxysulfure.

Remarque : Le CS_2 est maintenu dans un bain de glace à 4°C pendant toute la durée de l'expérience afin, d'une part d'obtenir une tension de vapeur saturante constante, et d'autre part d'éviter tout risque d'explosion.

C.4 Synthèse des NPs de $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$ par spray pyrolyse

Les poudres de silice ont été préparées à partir d'un précurseur commercial : le Ludox AS 40 (Sigma Aldrich). Celui-ci est constitué d'une dispersion colloïdale de nanoparticules de silice de 20 nm dans une solution aqueuse d'ammonium contenant 40% en masse de SiO_2 à un pH d'environ 2. La concentration en SiO_2 dans la solution à nébuliser est 0,3 M. L'euporium a été

apporté à la solution sous forme d'ions Eu^{3+} , par ajout d'une solution de nitrate d'euporium (1,96 M) dans un rapport $\text{Eu}/(\text{Eu}+\text{Si}) = 5\%$. Enfin, le solvant utilisé est constitué d'un mélange éthanol/eau = 1/10 (v/v). La température de la zone de chauffage est fixée à 600°C.

C.5 Modification des NPs avec l'APTES

Les réactions de fonctionnalisation ont été réalisées en milieu anhydre, dans le toluène. Dans un premier temps, les NPs sont séchées à 120°C sous vide pendant trois heures afin d'activer les groupements hydroxyles. Puis, 500 mg de particules sont mises en suspension dans 50 ml de toluène et la quantité voulue d'APTES est ajoutée. Le mélange est agité à reflux à 110°C (température d'ébullition du toluène) pendant 24 à 72h. Il est ensuite centrifugé et lavé plusieurs fois au toluène puis à l'éthanol avant d'être séché à 110°C sous vide. Selon ce protocole une grande variété de particules ont été modifiées avec différentes concentrations en APTES : $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$, $\text{Ln}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ (Ln = Gd ou Y), $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$ ou $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} @ \text{SiO}_2$. Dans le chapitre IV, les échantillons sont notés GR-X où GR est le taux de modification déterminé par analyse élémentaire et X le matériau modifié (Si pour $\text{SiO}_2 : \text{Eu}^{3+}$, Y et Gd pour $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ et $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ respectivement, GdS pour $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S} : \text{Eu}^{3+}$. GdSi est la notation employée pour $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} @ \text{SiO}_2$ et GdT pour $\text{Gd}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+} + \text{TEOS/APTES}$).

C.6 Dosage du taux d'amines accessibles

La réaction de couplage du FITC avec des NPs modifiées est réalisée dans le diméthylformamide (DMF). Le protocole utilisé a été mis au point à l'aide de ceux décrits par Giaume et al. [35] et Invitrogen [142]. Divers essais ont du être réalisés pour son optimisation.

Dans un premier temps, les NPs greffées sont mises en suspension dans le DMF, à une concentration de 0,25 mg/ml. Afin de favoriser le couplage du FITC avec les NH_2 de l'APTES, du triéthylamine (NEt_3) est ajoutée à une concentration de 1% molaire par rapport à la concentration en APTES déterminée par analyse élémentaire. Le TEA est une base faible qui a pour fonction de basicifier légèrement le milieu afin que toutes les fonctions amines de l'APTES se présentent bien sous leur forme NH_2 et non pas NH_3^+ qui n'est pas ciblé par le FITC. Pa-

rallèlement, une solution de FITC est préparée à une concentration de 7 mg/ml dans le DMF.

Après homogénéisation de la suspension de NPs, la quantité voulue de FITC est ajoutée. Les études préliminaires que nous avons réalisées ont montré qu'une quantité équivalente à deux fois la concentration en NH_2 déterminées par analyse élémentaire était optimale pour réaliser le couplage. Les suspensions sont ensuite agitées pendant 12h à température ambiante et à l'abri de la lumière puis elles sont centrifugées et lavées plusieurs fois à l'éthanol afin d'éliminer toute trace de FITC résiduel qui risquerait de perturber les mesures.

C.7 Internalisation des NPs dans les cellules

Les cellules cancéreuses HeLa sont maintenues dans un milieu de culture supplémenté avec 10% de FBS (fetal bovine serum) et 1% de pénicilline et streptomycine dans une atmosphère régulée en CO_2 (5%). Pour la mise en contact des NPs, 2 mL de cellules diluées de 1 :2 à 1 :4 sont disposées dans des boîtes de culture. Pour cela, elles sont disposées sur des lamelles stériles 18x18 mm. Les cellules sont maintenues pendant 2 jours dans le milieu de culture afin de réaliser leur accroche sur les lamelles et leur multiplication. Des solutions de NPs à 1 mg/mL dans le PBS sont préparées et soumises à sonification pendant 30 min, avant d'être ajoutées aux cellules dans le milieu de culture de façon à atteindre le rapport 1 :200. Après incubation 12h à 37°C, le milieu de culture est extrait et les cellules sont lavées deux ou trois fois avec PBS, puis 2 ml de milieu de culture sont à nouveau ajoutés. L'observation des cultures est réalisée sans autre préparation, les boîtes sont placées dans une chambre à atmosphère contrôlée (37°C, 5% CO_2) et observées avec un microscope confocal en configuration inversée.

Bibliographie

- [1] M. Bruchez Jr., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, and A.P. Alivisatos. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. Science, New Series, Vol. 281, No. 5385 :2013–2016, 1998.
- [2] A. Sukhanova, J. Devy, L. Venteo, H. Kaplan, M. Artemyev, V. Oleinikov, D. Klinov, M. Pluot, J.H.M. Cohen, and I. Nabiev. Biocompatible fluorescent nanocrystals for immunolabeling of membrane proteins and cells. Analytical Biochemistry, 324 :60–67, 2004.
- [3] T. Jamieson, R. Bakhshi, D. Petrova, R. Pocock, and A.M. Seifalian M. Imani. Biological applications of quantum dots. Biomaterials, 28 :4717–4732, 2007.
- [4] L. Zhu, S. Ang, and W.T. Liu. Quantum dots as a novel immunofluorescent detection system for cryptosporidium parvum and giardia lamblia. Applied physics and environment biology, 70 :597–598, january 2004.
- [5] E.R. Goldman, A.R. Clapp, G.P. Anderson, H.T. Uyeda, J.M. Mauro, I.L. Medintz, and H. Mattoussi. Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents. Anal. Chem., 76 :684–688, 2004.
- [6] B. Ballou, B.C. Lagerholm, L.A. Ernst, M.P. Bruchez, and Alan S. Waggoner. Noninvasive imaging of quantum dots in mice. Bioconjugate Chem., 15 :79–86, 2004.
- [7] M. Bele, O. Siiman, and E. Matijevic. Preparation and flow cytometry of uniform silica-fluorescent dye microspheres. Journal of Colloid and Interface Science, 254 :274–282, 2002.
- [8] S. Santra, P. Zhang, K. Wang, R. Tapeç, and W. Tan. Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. Anal. Chem., 73 :4988–4993, 2001.

- [9] X. Zhao, R. Tapeç-Dytioco, and W. Tan. Ultrasensitive dna detection using highly fluorescent bioconjugated nanoparticles. J. Am. Chem. Soc., 125 :11474–11475, 2003.
- [10] J.C.G. Bünzli. Lanthanide luminescence for biomedical analyses and imaging. Chem. Rev., 110 :2729–2755, 2010.
- [11] Hemmila I. Applications of fluorescence in immunoassays. Wiley Interscience, 1st ed :New York, 1991.
- [12] A. Picot, A. D’Alé, .L. Baldeck, A. Grichine, A. Duperray, C. Andraud, and O. Maury. Long-lived two-photon excited luminescence of water-soluble europium complex : Applications in biological imaging using two-photon scanning microscopy. J. Am. Chem. Soc., 130 :1532–1533, 2008.
- [13] G.L. Law, K.L. Wong, C.W.Y. Man, W.T. Wong, S.W. Tsao, M.H.W. Lam, and P.K.S. Lam. Emissive terbium probe for multiphoton in vitro cell imaging. J. Am. Chem. Soc., 130 :3714–3715, 2008.
- [14] H. Harma, A.M. Pelkkikangas, T. Soukka, and Timo Lovgren P. Huhtinen, Saira Huopalahti. Sensitive miniature single-particle immunoassay of prostate-specific antigen using time-resolved fluorescence. Analytica Chimica Acta, 482 :157–164, 2003.
- [15] Z. Ye, M. Tan, G. Wang, and J. Yuan. Preparation, characterization, and time-resolved fluorometric application of silica-coated Terbium(III) fluorescent nanoparticles. Anal. Chem., 76 :513–518, 2004.
- [16] Y. Chen and Z. Lu. Dye sensitized luminescent europium nanoparticles and its time-resolved fluorometric assay for DNA. Analytica Chimica Acta, 587 :180–186, 2007.
- [17] S. Sivakumar, P.R. Diamente, and F.C.J M. van Veggel. Silica-coated Ln³⁺-doped LaF₃ nanoparticles as robust down-and up-converting biolabels. Chem. Eur. J., 12 :5878 – 5884, 2006.
- [18] D.K. Chatterjee, A.J. Rufaihah, and Yong Zhang. Upconversion fluorescence imaging of cells and small animals using lanthanide doped nanocrystals. Biomaterials, 29 :937–943, 2008.
- [19] R. Asakura, T. Isobe, K. Kurokawa, H. Aizawa, and M. Ohkubo. Tagging of avidin immobilized beads with biotinylated YAG :Ce³⁺ nanocrystal phosphor. Anal Bioanal Chem, 386 :1641–1647, 2006.

- [20] D.Y. Kong, Z.L. Wang, C.K. Lin, Z.W. Quan, Y.Y. Li, C.X. Li, and J. Lin. Biofunctionalization of $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ nanoparticles. *Nanotechnology*, 18 :075601, 2007.
- [21] A. Doat, M. Fanjul, F. Pelle, E. Hollande, and A. Lebugle. Europium-doped bioapatite : a new photostable biological probe, internalizable by human cells. *Biomaterials*, 24 :3365–3371, 2003.
- [22] E. Beaurepaire, V. Buissette, M.P. Sauviat, D. Giaume, K. Lahlil, A. Mercuri, D. Casanova, A. Huignard, J.L. Martin, T. Gacoin, J.P. Boilot, and A. Alexandrou. Functionalized fluorescent oxide nanoparticles : artificial toxins for sodium channel targeting and imaging at the single-molecule level. *Nano Lett.*, 4(11), 2004.
- [23] D. Dosev, M. Nichkova, M. Liu, B. Guo, G.Y. Liu, B.D. Hammock, and I.M. Kennedy. Application of luminescent $\text{Eu}:\text{Gd}_2\text{O}_3$ nanoparticles to the visualization of protein micropatterns. *Journal of Biomedical Optics*, 10 :064006, 2005.
- [24] M. Nichkova, D. Dosev, S., J.G., B.D. Hammock, and I.M. Kennedy. Microarray immunoassay for phenoxybenzoic acid using polymer encapsulated $\text{Eu}:\text{Gd}_2\text{O}_3$ nanoparticles as fluorescent labels. *Anal. Chem.*, 77 :6864–6873, 2005.
- [25] M. Nichkova, D. Dosev, R. Perron, S.J. Gee, B.D. Hammock, and I.M. Kennedy. Eu-doped Gd_2O_3 nanoparticles as reporters for optical detection and visualization of antibodies patterned by microcontact printing. *Anal Bioanal Chem*, 384 :631–637, 2006.
- [26] M. Nichkova, D. Dosev, S.J. Gee, B.D. Hammock, and I.M. Kennedy. Multiplexed immunoassays for proteins using magnetic luminescent nanoparticles for internal calibration. *Analytical Biochemistry*, 369 :34–40, 2007.
- [27] D. Dosev, M. Nichkova, R.K. Dumas, S.J. Gee, B.D. Hammock, K.L., and I.M. Kennedy. Magnetic/luminescent core/shell particles synthesized by spray pyrolysis and their application in immunoassays with internal standard. *Nanotechnology*, 18 :055102–055108, 2007.
- [28] C. Louis, R. Bazzi, C.A. Marquette, J.L. Bridot, S. Roux, G. Ledoux, B. Mercier, L. Blum, P. Perriat, and O. Tillement. Nanosized hybrid particles with double luminescence for biological labeling. *Chem. Mater.*, 17 :1673–1682, 2005.
- [29] S. Setua, D. Menon, A. Asok, S. Nair, and M. Koyakutty. Folate receptor targeted, rare-earth oxide nanocrystals for bi-modal fluorescence and magnetic imaging of cancer cells. *Biomaterials*, 31 :714–729, 2010.

- [30] L. Illum, P.D.E. Jones, J. Kreuter, R.W. Baldwin, and S.S. Davis. Adsorption of monoclonal antibodies to polyhexylcyanoacrylate nanoparticles and subsequent immunospecific binding to tumour cells in vitro. International Journal of Pharmaceutics, 17(1) :65–76, 1983.
- [31] L. Illum, P.D. Jones, R.W. Baldwin, and S.S. Davis. Tissue distribution of poly(hexyl 2-cyanoacrylate) nanoparticles coated with monoclonal antibodies in mice bearing human tumor xenografts. J Pharmacol Exp Ther, 230(3) :733–736, 1984.
- [32] L. Manila, L. Roblot-Treupelb, and P. Couvreur. Isobutyl cyanoacrylate nanoparticles as a solid phase for an efficient immunoradiometric assay. Biomaterials, 7(3) :212–216, 1986.
- [33] J.S. Tan, D.E. Butterfield, C.L. Voycheck, K.D. Catdwell, and J.T. Li. Surface modification of nps by PEO/PPO block copolymers to minimize interactions with blood components and prolong blood circulation in rats. Biomaterials, 14 (11) :823–833, 1993.
- [34] H. Xu, F. Yan, E.E. Monson, and R. Kopelman. Room-temperature preparation and characterization of poly(ethylene glycol)-coated silica nanoparticles for biomedical applications. Journal of biomedical material research, 66A :870–879, 2003.
- [35] D. Giaume, M. Poggi, D. Casanova, G. Mialon, K. Lahlil, A. Alexandrou, T. Gacoin, and J.P. Boilot. Organic functionalization of luminescent oxide nanoparticles : toward their application as biological probes. Langmuir, 24 (19) :11018–11026, 2008.
- [36] V. Maurice, T. Georgelin, J.M. Siaugue, and V. Cabuil. Synthesis and characterization of functionalized core-shell Fe_2O_3 - SiO_2 nanoparticles. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 321 :1408–1413, 2009.
- [37] J. Dong, Z. Xu, and F. Wang. Engineering and characterization of mesoporous silica-coated magnetic particles for mercury removal from industrial effluents. Applied Surface Science, 254(11) :3522–3530, 2008.
- [38] W. Posthumus, P.C.M.M. Magusin, J.C.M. Brokken-Zijp, A.H.A. Tinnemans, and R. van der Linde. Surface modification of oxidic nanoparticles using 3-methacryloxypropyltrimethoxysilane. Journal of Colloid and Interface Science, 269 :109–116, 2004.
- [39] Z.S. Csogor, M. Nacken, M. Sameti, C.M. Lehr, and H. Schmidt. Modified silica particles for gene delivery. Materials Science and Engineering C, 23 :93–97, 2003.

- [40] C. Gellerman, W. Storch, and H. Wolter. Synthesis and characterization of the organic surface modifications of monodisperse colloidal silica. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 8 :173–176, 1997.
- [41] X. Wang I. Koh, B. Varughese, L. Isaacs, S.H. Ehrma, and D.S. English. Magnetic iron oxide nanoparticles for biorecognition : evaluation of surface coverage and activity. J. Phys. Chem. B, 110 :1553–1558, 2006.
- [42] L. Bergman, J. Rosenholm, A.B. Ost, A. Duchanoy, P. Kankaanpaa, J. Heino, and M. Linden. On the complexity of electrostatic suspension stabilization of functionalized silica nanoparticles for biotargeting and imaging applications. Journal of Nanomaterials, pages Article ID 712514, 9 pages, 2008.
- [43] C. Picard. Cours à la journée thématique sur la luminescence des lanthanides : des bases aux applications. Université Paul Sabatier, Toulouse, 2010.
- [44] M. Luechinger, R. Prins, and G.D.Pirngruber. Functionalization of silica surfaces with mixtures of 3-aminopropyl and methyl groups. Microporous and Mesoporous Materials, 85 :111–118, 2005.
- [45] Z. Luan, J.A. Fournier, J.B. Wooten, and D.E. Miser. Preparation and characterization of (3-aminopropyl)triethoxysilane-modified mesoporous SBA-15 silica molecular sieves. Microporous and Mesoporous Materials, 83 :150–158, 2005.
- [46] A.S. Maria Chong and X.S. Zhao. Functionalization of SBA-15 with aptes and characterization of functionalized materials. J. Phys. Chem. B, 107 :12650–12657, 2003.
- [47] M. Arroyo-Hernandez, J. Pérez-Rigueiro, and J.M. Martinez-Duart. Formation of amine functionalized films by chemical vapour deposition. Materials Science and Engineering C, 26 :938 – 941, 2006.
- [48] Z. Jianying, L. Yuhan, G. Haiquan, and G. Lianxun. Relative surface density and stability of the amines on the biochip. Chin J Anal Chem, 34(9) :1235–1238, 2006.
- [49] A. Van Blaaderen and A Vrij. Synthesis and characterization of monodisperse colloidal organo-silica spheres. Journal of colloid and interface science, 156 :1–18, 1993.
- [50] Z. Xu, Q. Liu, and J.A. Finch. Silanation and stability of 3-aminopropyl triethoxy silane on nanosized superparamagnetic particles : I.Direct silanation. Applied Surface Science, 120 :269–278, 1997.

- [51] S. Campelja, D. Makovec, and M. Drofenik. Functionalization of magnetic nanoparticles with 3-aminopropylsilane. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 321 :1346–1350, 2009.
- [52] Q. Lu, A.H. Li, F.Y. Guo, L. Sun, and L.Ch. Zhao. Experimental study on the surface modification of $Y_2O_3 :Tm^{3+}/Yb^{3+}$ nanoparticles to enhance upconversion fluorescence and weaken aggregation. Nanotechnology, 19 :145701–145710, 2008.
- [53] A.C. Faure, G. Barbillon, M. Ou, G. Ledoux, O. Tillement, S. Roux, D. Fabregue, A. Descamps, J.L. Bijeon, C.A. Marquette, C. Billotey, C. Jamois, T. Benyatou, and P. Perriat. Core/shell nanoparticles for multiple biological detection with enhanced sensitivity and kinetics. Nanotechnology, 19 :485103–485111, 2008.
- [54] L.D. White and C.P. Tripp. Reaction of (3-aminopropyl)dimethylethoxysilane with amine catalysts on silica surfaces. Journal of Colloid and Interface Science, 232 :400–407, 2000.
- [55] G. Racah. Theory of complex spectra. II. Phys. Rev., 62 :438–462, 1942.
- [56] G. Racah. Theory of complex spectra. III. Phys. Rev., 63 :367–382, 1943.
- [57] G. Racah. Theory of complex spectra. IV. Phys. Rev., 76 :1352–1365, 1949.
- [58] G. Racah. $L(L+1)$ correction in the spectra of the iron group. Phys. Rev., 85 :381–382, 1952.
- [59] R.J. Elliott and K.W.H. Stevens. The magnetic properties of certain rare-earth ethyl sulphates. Proc. Roy. Soc. Lond. A, 219 :387–404, 1953.
- [60] R.J. Elliott and K.W.H. Stevens. The theory of magnetic resonance experiments on salts of the rare earths. Proc. Roy. Soc. Lond. A, 218 :553–566, 1953.
- [61] R.J. Elliott and K.W.H. Stevens. Matrix elements and operator equivalents connected with the magnetic properties of rare earth ions. Proc. Roy. Soc. Lond. A, 65 :209, 1952.
- [62] B.R. Judd. Série de cours sur les configurations électroniques et le champ cristallin. Faculté des Sciences d’Orsay, 1962.
- [63] J.L. Prather. Atomic energy levels in crystals. N.B.S Monography, 19, 1961.
- [64] Spectroscopic properties of ions in crystals, author = B.G. Wybourne, journal = Intersciences Pub., year = 1965,.
- [65] B. R. Judd. Optical absorption intensities of rare-earth ions. Phys. Rev., 127 :750–761, 1962.

- [66] G.S. Ofelt. Intensities of crystal spectra of rare-earth ions. *J. Chem. Phys.*, 37 :511, 1962.
- [67] S.J.L. Ribeiro. Cours à la journée thématique sur la luminescence des lanthanides : des bases aux applications. Université Paul Sabatier, Toulouse, 2010.
- [68] G. Mialon. Monocristaux YVO_4 :Ln à l'échelle nanométrique : Mécanismes de fluorescence et « upconversion ». PhD thesis, Ecole Polytechnique de Palaiseau, France, 2009.
- [69] J. Dexpert-Ghys. Etude au moyen de la sonde structurale ponctuelle europium des sites cristallographiques des lanthanides dans quelques oxydes. PhD thesis, Université Paris Sud, Orsay, France, 1979.
- [70] L.D. Carlos, R.A.S. Ferreira, V. de Zea Bermudez, and S.J.L. Ribeiro. Lanthanide-containing light-emitting organic–inorganic hybrids : A bet on the future. *Adv. Mater.*, 21 :509–534, 2009.
- [71] J. Dexpert-Ghys, B. Piriou, N. Jacquet Francillon, and C. Sombret. Europium site selective spectroscopy of aluminosilicate glasses : structural approach and influence of phosphorous on the lanthanide's environment. *J. Non crist. Solids*, 125 :117–128, 1990.
- [72] M.H.V. Werts, R.T.F. Jukes, and J.W. Verhoeven. The emission spectrum and the radiative lifetime of Eu^{3+} in luminescent lanthanide complexes. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 4 :1542–1548, 2002.
- [73] K. Binnemans, K. Van Herck, and C. Görller-Warland. Influence of dipicolinate ligands on the spectroscopic properties of europium (III) in solution. *Chem. Phys. Lett.*, 266 :297–302, 1997.
- [74] P. Dorenbos. Systematic behaviour in trivalent lanthanide charge transfer energies. *Journal of Physics : Condensed Matter.*, 15(49) :8417, 2003.
- [75] P. Dorenbos. The Eu^{3+} charge transfer energy and the relation with the band gap of compounds. *Journal of luminescence*, 111 :89–104, 2005.
- [76] R.M. Supkowskia and Jr. W.DeW. Horrocks. On the determination of the number of water molecules, q, coordinated to europium(III) ions in solution from luminescence decay lifetimes. *Inorganica Chimica Acta*, 340 :44–48, 2002.
- [77] Jobin Yvon. A guide to recording fluorescence quantum yields. <http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Fluorescence/quantumyieldstrad.pdf>.

- [78] B. Bihari, H. Eilers, and B.M. Tissue. Spectra and dynamics of monoclinic Eu_2O_3 and $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ nanocrystals. Journal of Luminescence, 75 :1–10, 1997.
- [79] W.O. Gordon, J.A. Carter, and B.M. Tissue. Long-lifetime luminescence of lanthanide-doped gadolinium oxide nanoparticles for immunoassays. Journal of Luminescence, 108 :339–342, 2004.
- [80] D. Nicolas, B. Masenelli, P. Mélinon, E. Bernstein, C. Dujardin, G. Ledoux, and C. Esnou. Structural transition in rare earth oxide clusters. The Journal of Chemical Physics, 125 :171104, 2006.
- [81] D. Dosev, B. Guo, and I.M. Kennedy. Photoluminescence of $\text{Eu}:\text{Y}_2\text{O}_3$ as an indication of crystal structure and particle size in nanoparticles synthesized by flame spray pyrolysis. Aerosol Science, 37 :402 – 412, 2006.
- [82] David Nicolas. Étude d'agrégats d'oxydes de terres rares. Thèse, 83-2007.
- [83] I. Djerdj, G. Garnweitner, D.S. Su, and M. Niederberger. Morphology-controlled nonaqueous synthesis of anisotropic lanthanum hydroxide nanoparticles. Journal of Solid State Chemistry, 180 :2154–2165, 2007.
- [84] T. Kim Anh, L. Quoc Minh, N. Vu, T. Thu Huong, N. Thanh Huong, C. Barthou, and W. Streck. Nanomaterials containing rare-earth ions Tb, Eu, Er and Yb : preparation, optical properties and application potential. Journal of Luminescence, 102-103 :391–394, 2003.
- [85] T. Hirai and T. Orikoshi. Preparation of $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Yb,Er}$ and $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Yb,Er}$ infrared-to-visible conversion phosphor ultrafine particles using an emulsion liquid membrane system. Journal of Colloid and Interface Science, 269 :103–108, 2004.
- [86] R. Bazzi, M.A. Flores, C. Louis, K. Lebbou, W. Zhang, C. Dujardin, S. Roux, B. Mercier, G. Ledoux, E. Bernstein, P. Perriat, and O. Tillement. Synthesis and properties of europium-based phosphors on the nanometer scale Eu_2O_3 , $\text{Gd}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, and $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$. Journal of Colloid and Interface Science, 273 :191–197, 2004.
- [87] N. Joffin, B. Caillier, J. Dexpert-Ghys, M. Verelst, G. Baret, A. Garcia, P. Guillot, J. Galy, R. Mauricot, and S. Schamm. Elaboration by spray pyrolysis and characterization in the vuv range of phosphor particles with spherical shape and micronic size. J. Phys. D : Appl. Phys., 38 :3261–3268, 2005.

- [88] Y.C. Kang, S.B. Park, I.W. Lenggoro, and K. Okuyama. $\text{Y}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$ phosphor particles with sphericity, submicron size and non-aggregation characteristics. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 60 :379–384, 1999.
- [89] S. Chandra, F.L. Deepak, J.B. Gruber, and D.K. Sardar. Synthesis, morphology, and optical characterization of nanocrystalline $\text{Er}^{3+}:\text{Y}_2\text{O}_3$. J. Phys. Chem. C, 114 :874–880, 2010.
- [90] K.L. Wong, G.L. Law, M.B. Murphy, P.A. Tanner, W.T. Wong, P.K.S. Lam, and M.H.W. Lam. Functionalized europium nanorods for in vitro imaging. Inorganic Chemistry, Vol. 47, No. 12, 2008.
- [91] Y. Mao, J.Y. Huang, R. Ostroumov, K.L. Wang, , and J.P. Chang. Synthesis and luminescence properties of erbium-doped Y_2O_3 nanotubes. J. Phys. Chem. C, 112 :2278–2285, 2008.
- [92] Y. Mao, X. Guo, T. Tran, K.L. Wang, C.K. Shih, and J.P. Chang. Luminescent properties of ensemble and individual erbium-doped yttrium oxide nanotubes. The Journal of Applied Physics, 105 :094329, 2009.
- [93] E. Matijevic and W.P. Hsu. Preparation and properties of monodispersed colloidal particles of lanthanide compounds. Journal of colloid and interface science, 118(2) :506–523, 1987.
- [94] B. Aiken, W.P. Hsu, and E. matijevic. Preparation and properties of monodispersed colloidal particles of lanthanide compounds : yttrium (III) and mixed yttrium (III)/cerium (III) systems. J. Am. Ceram. Soc., 71 (10) :845–853, 1988.
- [95] E. Matijevic. Preparation and properties of uniform size colloids. Chem. Mater., 5 (4) :412–426, 1993.
- [96] L. Muresana, E.J. Popovici, R. Grecua, and L.B. Tudoranb. Studies on the synthesis of europium activated yttrium oxide by wet-chemical method -1. Influence of precursor quality on phosphor photoluminescence properties.
- [97] J. Trojan-Piegza, E. Zych, D. Hreniak, W. Strek, and L. Kepinski. Structural and spectroscopic characterization of $\text{Lu}_2\text{O}_3:\text{eu}$ nanocrystalline spherical particles. J. Phys. : Condens. Matter, 16 :8320–8323, 2004.
- [98] W.A. Kaczmarek and H. Riesen. Structural and morphological properties of RE^{3+} doped sesquioxide Y_2O_3 spherical nanoparticles. J. Mater. Sci., 41 :1029–1037, 2006.

- [99] J.G.Li, X. Li, X. Sun, and T. Ishigaki. Monodispersed colloidal spheres for uniform $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ red-phosphor particles and greatly enhanced luminescence by simultaneous Gd^{3+} doping. *J. Phys. Chem. C*, 112 :11707–11716, 2008.
- [100] N.A. Dulina, Y.V. Yermolayeva, A.V. Tolmachev, Z.P. Sergienko, O.M. Vovk, E.A. Vovk, N.A. Matveevskaya, and P.V. Mateychenko. Synthesis and characterization of the crystalline powders on the basis of $\text{Lu}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$ spherical submicron-sized particles. *Journal of the European Ceramic Society*, 30 :1717–1724, 2010.
- [101] J.M. Sung, S.E. Lin, and W.C.J. Wei. Synthesis and reaction kinetics for monodispersive $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Tb}^{3+}$ spherical phosphor particles. *Journal of the European Ceramic Society*, 27 :2605–2611, 2007.
- [102] H. Peng, S. Huang, F. You, J. Chang, S. Lu, and L. Cao. Preparation and surface effect analysis of trivalent europium doped nanocrystalline $\text{La}_2\text{O}_2\text{S}$. *J. Phys. Chem. B*, 109 :5774–5778, 2005.
- [103] C. Guo, L. Luan, C. Chen, D. Huang, and Q. Su. Preparation of $\text{Y}_2\text{O}_2\text{S}$ phosphors by a novel decomposition method. *Materials letters*, 62 :600–602, 2008.
- [104] Y. Park, D. Kim, J. Lee, S.H. Lee, and K.J. Kim. Effects of urea concentration and reaction temperature on morphology of gadolinium compounds prepared by homogeneous precipitation. *Materials Chemistry and Physics*, 106 :149–157, 2007.
- [105] A. Sungur and M. Kizilyalli. Synthesis and structure of $\text{Gd}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=2-3$). *Journal of less common metals*, 93 :419–423, 1983.
- [106] R. Miyawaki, J. Kuriyama, and I. Nakai. The redefinition of tenerite-(Y), $\text{Y}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2-3\text{H}_2\text{O}$, and its crystal structure. *American Mineralogis*, 78 :425–432, 1993.
- [107] Y. Zhang, M. Gao, K. Han, Z. Fang, X. Yin, and Z. Xu. Synthesis, characterization and formation mechanism of dumbbell-like Y_2CO_3 and rod-like $\text{Y}_2(\text{CO}_3)_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$. *Journal of Alloys and Compounds*, 374 :598–604, 2009.
- [108] M. Ionashiro L. Moscardini D’Assuncao, I. Giolito. Thermal decomposition of the hydrated basic carbonates of lanthanides and yttrium. *Thermochimica Acta*, 137 :319–330, 1989.
- [109] Allen G. Oliver David L. Rogow, Claudia H. Swanson and Scott R. J. Oliver. Two related gadolinium aquo carbonate 2-d and 3-d structures and their thermal, spectroscopic, and paramagnetic properties. *Inorganic Chemistry*, 48(4) :1533–1541, 2009.

- [110] G. Plancque, V. Moulin, and C. Moulin . Toulho. Speciation by time-resolved laser-induced fluorescence. Analytica Chimica Acta, 478 :11–22, 2003.
- [111] M. Zinkevich. Thermodynamics of rare earth sesquioxides. Progress in Materials Science, 52 :597–647, 2007.
- [112] J. Dexpert-Ghys, M. Faucher, and P. Caro. Site-selective excitation, crystal-field analysis, and energy transfer in europium-doped monoclinic gadolinium sesquioxide. a test of the electrostatic model. Physical Review B, Volume 23, number 2 :1981.
- [113] A. Saiki, N. Ishizawa, N. Mizutani, and M. Kato. Structural change of c-type rare earth oxides, ytterbium oxide and erbium oxide at high temperatures. J. Ceram. Soc. Jpn., 93 :649–654, 1985.
- [114] B.H. O'Connor and T.M. Valentine. A neutron diffraction study of the crystal structure of the c-form of yttrium sesquioxide. Acta Cryst., B25 :2140–2144, 1969.
- [115] N.C. Chang and J.B. Gruber. Spectra and energy levels of eu in Y_2O_3 . The Journal of Chemical Physics, 41(10), 1964.
- [116] J. Heber, K.H. Hellwege, U. Köbler, and H. Murmann. Energy levels and interaction between Eu^{3+} -ions at lattice sites of symmetry C_2 and symmetry C_{3i} in Y_2O_3 . Z. Physik, 237 :189–204, 1970.
- [117] R.P. Leavitt, J.B. Gruber, N.C. Chang, and C.A. Morrison. Optical spectra, energy levels, and crystal-field analysis of tripositive rare-earth ions in V_2O_3 . II. non-kramers ions in c2 sites. J. Chem. Phys., 76(10), 1982.
- [118] R.B. Hunt Jr. and R.G. Pappalardo. Fast excited state relaxation of Eu-Eu pairs in commercial $Y_2O_3 :Eu^{3+}$. J. Lumin., 34 :133–146, 1985.
- [119] M. Buijs, A. Meyerink, and G. Blasse. Energy transfer between Eu^{3+} ions in lattice with two different crystallographic sites : $Y_2O_3 :Eu^{3+}$, $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ and Eu_2O_3 . J. Lumin., 34 :9–20, 1985.
- [120] Peter A. Tanner and Ka Leung Wong. Synthesis and spectroscopy of lanthanide ion-doped Y_2O_3 . J. Phys. Chem. B, 108 :136–142, 2004.
- [121] J. Dexpert-Ghys and M. Faucher. Laser induced polarized fluorescence in cubic yttrium sesquioxide doped with trivalent europium. Physical Review B, 20(1) :10–20, 1979.
- [122] B. Mercier, C. Dujardin, G. Ledoux, C. Louis, and O. Tillement. Observation of the gap blueshift on $Gd_2O_3 :Eu^{3+}$ nanoparticles. Journal of Applied Physics, 96(11), 2004.

- [123] Z. Wei-Wei, X. Mei, Z. Wei-Ping, Y. Min, Q. Ze-Ming, X. Shang-Da, and C. Garapon. Site-selective spectra and time-resolved spectra of nanocrystalline $\text{Y}_2\text{O}_3 : \text{Eu}^{3+}$. Chemical Physics Letters, 376 :318–323, 2003.
- [124] J.C. Boyer, F. Vetrone, J.A. Capobianco, A. Speghini, and M. Bettinelli. Variation of fluorescence lifetimes and Judd-Ofelt parameters between Eu^{3+} doped bulk and nanocrystalline cubic Lu_2O_3 . J. Phys. Chem. B, 108 :20137–20143, 2004.
- [125] L. Ozawa. Nonlinear dependence of cathodoluminescence on activator concentrations. Appl. Phys. Lett., 33(7) :586–587, 1978.
- [126] C.W. Struck and W.H. Fonger. Role of the charge transfer states in feeding and thermalizing emptying the ^5D states of Eu^{3+} in yttrium and lanthanum oxysulfide. Journal of Luminescence, 1-2 :456–469, 1970.
- [127] J. Dexpert-Ghys, Y. Charreire, M. Leskela, and L. Niinisto. Transient properties of the luminescence of Eu^{3+} and Tb^{3+} in oxysulfide matrices. Journal of the Electrochemical Society, 132 :712, 1985.
- [128] C.M. Michail, I.G. Valais, A.E. Toutountzis, N.E. Kalyvas, G.P. Fountos, S.L. David, I.S. Kandarakis, and G.S. Panayiotakis. Light emission efficiency of $\text{Gd}_2\text{O}_3\text{S} : \text{Eu}$ (gos :eu) powder screens under x-ray mammography conditions. IEEE Transactions on nuclear science, 55(6) :3703–3709, 2008.
- [129] O.J. Sovers and T. Yoshioka. Host cation effects on the fluorescence spectrum of Eu^{3+} in oxysulfides. The journal of chemical physics, 51(12) :5330–5336, 1969.
- [130] H.A. Eick. The preparation, lattice parameters and some chemical properties of the rare earth mono-thio oxides. J. Am. Chem. Soc., 80(1) :43–44, 1958.
- [131] A.M. Pires, M.R. Davolos, and E.B. Stucchi. Eu as a spectroscopic probe in phosphors based on spherical fine particle gadolinium compounds. International Journal of Inorganic Materials, 3 :785–790, 2001.
- [132] L. Delgado da Vila, E.B. Stucchi, and M.R. Davolos. Preparation and characterization of uniform, spherical particles of $\text{Yd}_2\text{O}_3\text{S}$ and $\text{Eu} : \text{Yd}_2\text{O}_3$. J. Mater. Chem., 7(10) :2113–2116, 1997.
- [133] J.M.A. Caiut, L. Bazin, R. Mauricot, H. Dexpert, S.J.L. Ribeiro, and J. Dexpert-Ghys. Luminescent nano-composites generated from a spray. Journal of Non-Crystalline Solids, 354 :4860–4864, 2008.

- [134] L. Petit, J. Griffin, N. Carlie, V. Jubera, M. García, F.E. Hernández, and K. Richardson. Luminescence properties of Eu^{3+} or Dy^{3+}/Au co-doped SiO_2 nanoparticles. Materials Letters, 61 :2879–2882, 2007.
- [135] E. Bourgeat-Lami S. Mornet E. Duguet C. Delaite P. Dumas C. Flesch, M. Joubert. Organosilane-modified maghemite nanoparticles and their use as co-initiator in the ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone. Colloids and Surfaces A : Physicochem. Eng. Aspects, 262 :150–157, 2005.
- [136] S. Cousinié. Nanoluminophores inorganiques : greffage de complexes de ruthénium (II) et d'euporium (III) sur nanoparticules de silice. PhD thesis, Université Toulouse III, 2007.
- [137] J.F. Moulder, W.F. Stickle, P.E. Sobol, and K.D. Bombin. Handbook of X ray Photoelectron spectroscopy : A reference book of standard spectra for identification and interpretation of XPS data. Physical Electronics, 1995.
- [138] Angeline T. Kustedjo S.Z. Qiao A.S. Maria Chong, X.S. Zhao. Functionalization of large-pore mesoporous silicas with organosilanes by direct synthesis. Microporous and Mesoporous Materials, 72 :33–42, 2004.
- [139] J.M. Rosenholm and M. Lindén. Wet-chemical analysis of surface concentration of accessible groups on different amino-fonctionnalized mesoporous SBA-15 silicas. Chem. Mater., 19 :5023–5034, 2007.
- [140] M. Leskelä and L. Niinistö. Thermal decomposition of rare earth oxysulfides in air. Journal of thermal analysis, 18 :307–314, 1980.
- [141] L. Jin, X. Mao, Sh. Wang, and M. Dong. Optimization of the rheological properties of yttria suspensions. Ceramics International, 35 :925–927, 2009.
- [142] Molecular Probes Invitrogen. Amine-reactive probes : Protocole de dosage des amines réactives.
- [143] www.luminexcorp.com.
- [144] D. Jin, R. Connaly, and J. Piper. Practical time gated luminescence flow cytometry. I :concepts. Cytometry Part A, 71A :783–796, 2007.

SYNTHESE ET CARACTERISATION DE NANOPARTICULES LUMINESCENTES A BASE DE LANTHANIDES : VERS DE NOUVEAUX BIO-MARQUEURS

Ce travail concerne la mise au point de nanoparticules (NPs) luminescentes utilisables comme bio-marqueurs. Des nanoparticules inorganiques ont été synthétisées, dans lesquelles l'ion luminescent (Eu^{3+} pour la plupart des mesures) est introduit en substitution dans une matrice oxyde.

Des nanoparticules de $\text{LnOHCO}_3:\text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ ou Gd), de $\text{Ln}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, de $\text{Ln}_2\text{O}_3\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ et de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ ont été caractérisées avec les techniques ATG, DRX-WAXS, TEM, IR et photoluminescence (PL). La précipitation contrôlée en présence d'urée est la voie qui a été optimisée pour obtenir des NPs sphériques et monodisperses en taille (150 ± 15 nm). Ces particules d'hydroxycarbonate de lanthanide amorphes peuvent être utilisées comme marqueurs luminescents, telles quelles, ou après leur conversion en oxyde ou en oxysulfure. Pour les particules de $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$, c'est la synthèse par pyrolyse d'aérosol qui a été employée. Ces particules sont sphériques d'un diamètre moyen de 350 nm.

Dans un second temps, les NPs inorganiques ont été modifiées en surface, par réaction avec des alcoxysilanes, afin d'y greffer des fonctions amines réactives. Plusieurs voies de modification ont été explorées : avec APTES (aminopropyltriéthoxysilane), avec TEOS (tetraéthoxysilane) puis APTES ou avec le mélange TEOS+APTES. Les mêmes techniques de caractérisation ont été appliquées aux particules modifiées, ainsi que l'analyse chimique, la RMN du solide et l'XPS. Des mesures de DLS et potentiel ζ des NPs en suspension dans l'eau ont été réalisées, ainsi que l'évaluation du nombre de NH_2 accessibles par le couplage avec FITC (fluorescéine isothiocyanate). La modification directe de l'oxyde (Y_2O_3 , Gd_2O_3) par APTES est la voie la plus favorable, et permet de greffer une couche d'environ 1 nm d'épaisseur, homogène à l'observation par TEM et présentant le plus grand nombre de NH_2 accessibles.

Finalement, pour progresser vers les applications de marquage luminescent en milieu biologique, la luminescence des particules a été observée et analysée :

- au spectrofluorimètre, après leur dispersion dans l'eau
- au microscope de fluorescence, sur lame de verre, sous excitation en bande large
- au microscope confocal, sous excitation laser, après internalisation des particules dans des cellules cancéreuses
- au cytomètre de flux

Mots clés : Europium, Luminescence, Nanoparticules, Bio-marquage, Greffage, Amino-silane

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF LANTHANIDE- BASED LUMINESCENT NANOPARTICLES : TOWARD NEW BIO-LABELS

This work deals with the development of luminescent nanoparticles (NPs) suitable as bio-labels. Inorganic NPs have been synthesized, in which luminescent ion (Eu^{3+} in most of cases) is substituting ions of the oxide host matrix.

NPs of $\text{Ln}(\text{OH})\text{CO}_3:\text{Eu}^{3+}$ ($\text{Ln} = \text{Y}$ or Gd), $\text{Ln}_2\text{O}_3:\text{Eu}^{3+}$, $\text{Ln}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Eu}^{3+}$ and $\text{SiO}_2:\text{Eu}^{3+}$ have been characterized by the way of TGA, WAXS-XRD, TEM, IR and photoluminescence (PL) techniques. The controlled precipitation using urea as precipitating agent is the way chosen and optimized to obtain spherical and monodispersed in size (150 ± 15 nm) NPs. These particles of amorphous lanthanide hydroxycarbonate can directly be used as luminescent bio-labels or after their conversion in oxide or oxysulfide. For the silica particles, the synthesis by aerosol pyrolysis has been used. The obtained particles are spherical with a main diameter of 350 nm.

In a second step, the surface of the inorganic NPs has been modified, in order to graft amino-reactive functions. Several modification ways have been explored: with APTES (aminopropyltriethoxysilane), with TEOS (tetraethoxysilane) and then APTES, or with a TEOS/APTES mixture. The same characterizations techniques have been applied to the modified particles, and chemical analysis, solid state NMR and XPS. DLS and ζ -potential of the NPs dispersed in water have also been measured. These analyses have been completed by the evaluation of the number of accessible amine functions by coupling with FITC (fluoresceine isothiocyanate). The direct modification of oxides (Y_2O_3 or Gd_2O_3) with APTES is the best way, and an homogenous layer of 1 nm with a high number of accessible amine can be grafted.

Finally, to move toward luminescent bio-labelling in biological medium, the luminescence of the NPs has been observed and analyzed using:

- A spectrofluorimeter, after their dispersion in water
- A fluorescence microscope, on glass slides, under broad band excitation
- A confocal microscope, under laser excitation, after their internalisation in cancer cells
- A flow cytometer

Keywords : Europium, Luminescence, Nanoparticles, Bio-labelling, Grafting, Amino-silane
