N° d'ordre : 339-2012 Année 2012

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par
L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ECOLE DOCTORALE DE PHYSIQUE ET D'ASTROPHYSIQUE
Pour l'obtention du

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Présentée et soutenue publiquement le 21 Décembre 2012
par

HAMOUDA Ramzi

Synthèse et caractérisation de nanoclusters stabilisés par des ligands thiolés

Directeur de thèse : RAYANE Driss

JURY : M. Brevet Pierre-François, Président
M. Chandezon Frédéric, Rapporteur
M. Jouvet Christophe, Rapporteur
M. Bertorelle Franck, Examinateur
M. O'Hair Richard, Examinateur
M. Rayane Driss, Directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	M. François-Noël GILLY
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur Hamda BEN HADID
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur Philippe LALLE
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur Germain GILLET
Secrétaire Général	M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux	Administrateur provisoire : M. le Professeur G. KIRKORIAN
UFR d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA.
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. De MARCHI
Département Biologie	Directeur : M. le Professeur F. FLEURY
Département Chimie Biochimie	Directeur : Mme le Professeur H. PARROT
Département GEP	Directeur : M. N. SIAUVE
Département Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Département Mathématiques	Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN
Département Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Département Physique	Directeur : Mme S. FLECK
Département Sciences de la Terre	Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. C. COLLIGNON
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI
Polytech Lyon	Directeur : M. P. FOURNIER
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. C. VITON
Institut Universitaire de Formation des Maîtres	Directeur : M. R. BERNARD
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : Mme la Professeure V. MAUME-DESCHAMPS

Remerciements :

Ce mémoire de thèse est le résultat d'un travail de trois années de recherches mené au laboratoire de spectrométrie ionique et moléculaire au sein de l'équipe spectrométrie de biomolécules et agrégats.

Je veux d'abord remercier la région Rhône Alpes pour m'avoir soutenu financièrement durant cette thèse.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse Driss Rayane, professeur Université Lyon1, pour m'avoir permis d'effectuer une thèse extrêmement intéressante, à l'intersection de deux grandes disciplines : la physique et la chimie.

J'adresse mes sincères remerciements à Philippe Dugourd, directeur de recherche et chef d'équipe, qui a suivi de près ces travaux. Je te remercie pour ta disponibilité et tes discussions scientifiques qui m'ont permis d'avancer dans mon travail de thèse.

Je tiens également à remercier profondément Rodolphe Antoine, directeur de recherche au sein de cette même équipe, qui a contribué à la réussite de ce travail. Je le remercie pour sa présence et sa passion scientifique.

La thèse est un travail d'équipe et généralement l'encadrement de recherches n'est pas uniquement le fait de directeur de thèse. Bien souvent une autre personne y associée. Elle explique le principe de synthèse, enseigne la chimie liée au sujet, assiste à des expériences… C'est cette personne qui distille au jour le jour une partie de son savoir. J'exprime donc toute ma gratitude à Franck Bertorelle, Ingénieur de recherche au LASIM. Pour moi un vrai modèle de gentillesse et de rigueur scientifique. En trois mots que ne sauraient tout résumer : un grand merci !

Je remercie également Michel Broyer, professeur au LASIM ainsi que professeur à l'IUF, pour leur suivi de ma thèse et ses remarques pertinentes.

Je souhaite remercier Frédéric Chandezon et Christophe Jouvet pour avoir pris le temps de corriger ce manuscrit de thèse. Richard O'Hair pour avoir accepté de participer à ce jury et Pierre-François Brevet pour avoir présidé ce jury avec dynamisme.

Merci à Michel Pellarin, directeur de recherche au LASIM, pour son investissement dans l'expérience dépôt de nanclusters par spectromètre de masse. Merci à Emmanuel Cottancin, maitre de conférences au LASIM, pour les séances de microscopie électronique à transmission.

Mes remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe : Luke MacAleese, Fabien Chirot, Marion Girod, Isabelle Compagnon pour leurs discussions et critiques utiles. Merci également aux thésards et post-doc avec lesquels j'ai passé d'agréables moments : Bruno Bellina (pour moi ce fut un plaisir de partage le bureau avec toi), Delphine Manchon, Claire brunet, Quentin Enjalbert, Vernier Arnaud, Frédéric Poussigue et Tristan Doussineau.

Je remercie tous les membres du laboratoire qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre et tout particulièrement Christian Bordas, Marc Barbaire, Alain Bourgey, Christian Clavier, Alexis Mosset, Claude Lesage, Sad Mezzour et Francisco Pinto.

Je remercie ma famille pour leur soutien inconditionnel et pour leur aide.

Je dédie tout spécialement cette thèse à ma mère, qu'elle trouve là toute ma gratitude pour tout l'amour et l'éduction qu'elle a su me donner.

« Soit A un succès dans la vie. Alors A = x + y + z, où x = travailler, y = s'amuser, z = se taire. »

de Albert Einstein
Extrait du magazine The Observer

Table des matières

Liste des abréviations **8**
Introduction **10**
Bibliographie 16
Chapitre 1 : Introduction à l'étude des clusters métalliques (Au, Ag) stabilisés par des ligands **18**
I. Introduction 18
II. Approche théorique 23
1. Propriétés optiques d'un solide métallique 23
1.1. Structure électronique du cristal 23
2. Exploration du modèle d'électron libre pour les clusters 30
III. Synthèse des clusters d'or en solution 30
1. Synthèse des nanoparticules d'or 30
1.1. Méthode de Turkevich 30
1.2. Méthode de Brust 31
1.3. La transition de nanoparticules vers les clusters 33
IV. Quelques résultats marquants 34
1. Clusters d'or et d'argent stabilisés par des ligands 34
1.1. Clusters d'or 34
1.2. Clusters d'argent 35
V. Bibliographie 37
Chapitre 2 : Techniques instrumentales **39**
I. Spectromètre de masse 39
1. La source d'ionisation douce : ionisation par électrospray 39
1.1. La formation de gouttelettes chargées 41
1.2. La fission de gouttelettes chargées 43
1.3. L'émission des ions en phase gazeuse 43
2. Transfert des ions vers le piège 43
3. Fonctionnement de piège 3D et piège quadripolaire linéaire 44
II. Couplage spectrométrie de masse-laser 50
1. Laser 50
2. Couplage : piège-laser 53
2.1. Accès optique aux ions piégés 53
2.2. Synchronisation du spectromètre de masse avec laser 55

III. Méthodes de caractérisation 55
1. Séparation sur gel de polyacrylamide et chromatographie 55
2. Spectroscopie en solution 57
2.1. Principe général 57
2.2. Spectrophotomètre dans le domaine UV-Visible 58
2.3. Spectrofluorimétrie dans le domaine UV-Visible 59
IV. Bibliographie 61
Chapitre 3 : Étude spectroscopique des clusters d'or stabilisés par les glutathions 62
I. Introduction 62
II. Caractérisation et étude spectroscopique du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ 64
1. Synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ 64
1.1. Choix du ligand 64
1.2. La méthode de synthèse 65
1.3. Préparation de l'échantillon 66
2. Optimisation des paramètres de la source pour la détection des clusters 68
3. Spectre de masse et obtention de la structure isotopique 71
3.1. Spectre de masse 71
3.2. Charge du cœur du cluster 73
4. Étude du cluster par CID 75
5. Propriétés optiques du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ 78
5.1. Spectroscopie ultraviolet visible 80
5.2. Spectroscopie de fluorescence 81
5.3. Propriétés électroniques du cluster 82
6. Activation par laser LID et spectre d'absorption en phase gazeuse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ 85
6.1. Isolation et activation par laser 85
6.2. Mesure de la courbe du taux de détachement électronique 87
6.3. Influence de la puissance laser 88
6.4. Courbe du taux de détachement électronique du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ 89
III. Caractérisation de petits clusters d'or stabilisés par les glutathions 92
1. Synthèse et séparation des clusters sur gel d'électrophorèse 93
1.1. Synthèse des clusters 93
1.2. Séparation des clusters sur le gel d'électrophorèse 93
2. Spectre de masse, isolation et études des clusters par CID 95
2.1. Spectre de masse 95
2.2. Isolation et étude des clusters par CID 97
3. État d'oxydation du cœur 101

IV. Conclusion et perspectives : 105
V. Bibliographie: 106
Chapitre 4 : Caractérisation des clusters d'argent stabilisés par des ligands thiolés 108
I. Introduction : 108
II. Caractérisation et étude spectroscopique des clusters d'argent stabilisés par les glutathions 112
1. Synthèse des clusters d'argent stabilisés par les glutathions 112
1.1. Synthèse A : préparation et séparation sur gel d'électrophorèse (méthode Bigioni) 112
1.2. Synthèse des clusters sans séparation : synthèse B 113
1.3. Synthèse de petits clusters sans séparation : Synthèse C 114
2. Caractérisation 114
2.1. Caractérisation des clusters par électrophorèse 114
2.2. Caractérisation des clusters par spectrométrie da masse 117
3. Propriétés optiques des clusters en solution 122
4. Activation par laser et spectre optique en phase gazeuse du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ 125
5. Structure et propriétés électroniques du cluster $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ 129
III. Caractérisation des clusters d'argent stabilisés par l'acide dihydrolipoique : 130
1. Synthèse du cluster 130
2. Spectre de masse, isolation et études du cluster par CID 131
3. Propriétés optiques du cluster $Ag_{29}(DHLA)_{12}$ 134
4. Activation laser et la courbe du taux de détachement électronique en fonction de longueur d'onde 136
IV. Conclusion et perspectives : 138
V. Bibliographie : 139
Conclusion et perspectives 141
Annexes 143
Article 1: Electron Emission of Gas-Phase $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ Gold Cluster and Its Action Spectroscopy 144
Article 2: Glutathione capped gold $Au_N(SG)_M$ clusters studied by isotope-resolved mass spectrometry 150
Article 3: Silver cluster-biomolecule hybrids: from basics towards sensors 156
Article 4 : Synthesis, Characterization and Optical Properties of Low Nuclearity Liganded Silver Clusters : $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ 166

Liste des abréviations

- **AFM** : Atomic force microscope
- **Ag** : Argent
- **Au** : Or
- **DHLA** : Dihydrolipoic acid
- **DMSA** : Acide dimercaptosuccinique
- **CID** : Collision induced dissociation
- **Cu** : Cuivre
- **Cys** : Cystéine (residue)
- **ECD :** Electron capture dissociation
- **EDD** : Electron detachement dissociation
- **ESI** : Electrospray ionisation
- **ETD** : Electron transfert dissociation
- **FEL** : Free electron laser
- **Glp** : acide pyroglutamique
- **Gly** : glycine
- **LASIM** : Laboratoire de spectrométrie ionique et moléculaire
- **LCQ** : Liquid chromatography quadrupole
- **LTQ** : Linear trap quadrupole
- **MALDI** : Matrix-assisted laser desorption/ionisation
- **MFM** : Magnetic force microscope
- **MS** : Mass spectrometry
- **m/z** : Rapport masse sur charge
- **OPO** : Oscillateur paramétrique optique
- **PAMAM** : Poly(amido amine)
- **RMN** : Résonance magnétique nucléaire
- **SG** : Glutathion
- **STM** : Scanning tunneling microscope
- **TEM**: Transmission electron microscopy
- **TOAB** : Bromure de tétraoctylammonium
- **Trp** : Tryptophane
- **u.a** : Unité arbitraire
- **UV** : Ultra violet
- **XRD** : X ray diffraction

Nom	Formule brute	Masse molaire (g/mol)
Acide dihydrolipoique	$C_8H_{16}O_2S_2$	208.34
Acide dimercaptosuccinique	$C_4H_6O_4S_2$	182.21
Acide pyroglutamique	$C_5H_7NO_3$	129.11
Bromure de tétraoctylammonium	$C_{32}H_{68}BrN$	546.79
Cystéine (residue)	C_3H_5NOS	103.14
dodécanethiol	$C_{12}SH$	177.2
Glutathion	$C_{10}H_{17}N_3O_6S$	307.32
Glycine	$C_2H_5NO_2$	75
Tryptophane	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	204.22
Ubiquitine	$C_{378}\ H_{630}\ N_{105}\ O_{118}\ S_1$	8564.84

Introduction

Richard P. Feynman disait dans son discours à l'American Physical Society en 1959 « there's Plenty of Room at the Bottom » [(1)] (il existe une quantité de place en bas). Le grand mérite de ce physicien est d'avoir montré que l'état solide d'un matériau peut être considéré comme état pertinent d'analyse. Il proposait une approche descendante « top down » qui consiste à utiliser des matériaux massifs ultrapurs pour fabriquer des pièces, des composants et des machines entières de plus en plus petites, par assemblage ou dans une approche monolithique [(2)]. À cette époque, une autre approche paraissait intéressante, l'approche du bas en haut « bottom-up », qui consiste à utiliser les propriétés intrinsèques d'assemblage de molécules ou d'atomes en structures comme réponse à des problèmes technologiques. Néanmoins, cette approche n'a pas été trop utilisée en raison de la limite de résolution des méthodes de caractérisation.

Le développement des instruments à balayage comme le microscope à force atomique (AFM), le microscope à effet tunnel (STM), le microscope à force magnétique (MFM) a révolutionné le monde de nanosciences. Ces appareils permettent d'évaluer, par balayage toute la surface, la topographie des matériaux nanostructurés.

L'approche « bottom-up » est la plus bénéficiaire de ces développements techniques. Désormais, des études de caractérisation ont pu être réalisées sur les colloïdes d'or ou clusters formés en phase gazeuse par vaporisation laser. Jusqu'à présent, les études des effets de tailles sur les propriétés optiques ont été menées sur des solutions polydispserses. La difficulté d'interpréter les résultats expérimentaux à cause de la présence d'élargissement inhomogènes dans les spectres optiques a ouvert la voie pour étudier des nanoparticules uniques.

En fait, le terme « nanoparticule » a pris son propre sens en 1994 par le chimiste M.Brust lorsqu'il a développé une nouvelle méthode de synthèse permettant l'élaboration de petits nano-objets d'or [(3)]. Le précurseur d'or est transféré dans le toluène par l'addition de bromure de tétraoctylammonium (TOAB). Il est ensuite réduit par un excès de borohydrure de sodium ($NaBH_4$). Les nanoparticules formées peuvent être redispersées dans un solvant organique sans agrégation ou décomposition. Les ligands (RS) assurent une stabilisation du cœur formé d'un certain nombre d'atomes d'or et offrent en surface de nombreux sites d'accrochage qui permettent le griffage d'un nombre de biomolécules selon les besoins. Depuis ces travaux, le mot nanoparticule est devenu porteur de beaucoup d'enthousiasme et d'intérêt auprès du monde scientifique.

L'étude des nanoparticules métalliques s'inscrit dans le cadre de développement d'un nouveau système hybride qui pourrait être exploité dans des applications médicales et biologiques. En fait, les outils actuels de la détection par fluorescence basés sur le marquage par greffage d'un fluorophore organique sur l'entité biologique ont atteint leurs limites en terme de sensibilité et de stabilité et ne répondent pas aux exigences nouvelles de la détection. Ces molécules organiques fluorescentes possèdent des rendements quantiques et des taux d'extinction très élevés mais elles sont instables à température ambiante. La recherche d'un fluorophore stable est donc importante pour l'amélioration du diagnostic par fluorescence. Grâce à l'apport de nanotechnologies, de nouveaux fluorophores ont pu être développés. Ces fluorophores possèdent autre une taille nanométrique (de 1 à quelques centaines de nm), des propriétés intrinsèques (la fluorescence, stabilité à température ambiante…) liées à leurs tailles. Ces cristaux nanoparticulaires (appelés souvent les quantum dots) constituent une alternative prometteuse [4-6]. Néanmoins, leur toxicité liée à leur composition à base de cadmium empêche leur application biologique. L'approche basée sur l'utilisation des nanoparticules comme plate forme pour la multi-fonctionnalisation par un ou plusieurs fluorophores et entités biologiques semblait la plus intéressante. Dans ce contexte, des nanoparticules d'or stabilisés par des molécules organiques ont été développées [3]. Ces nanoparticules sont généralement élaborées en solution par des méthodes chimiques permettant de contrôler plusieurs paramètres comme la taille, la forme, la stabilité…

À la fin du XXe siècle, R.L.Whetten a développé une nouvelle méthode de synthèse permettant la formation des nanoparticules d'or stabilisés par les glutathions (SG) dont la taille inférieure à 2 nm [7]. Ces clusters possèdent des propriétés intrinsèques liées à leurs tailles qui n'ont pas été observées avec les nanoparticules comme l'absorption, la fluorescence, la stabilité, la possibilité de changer les ligands [8,9].... Depuis ces travaux, le domaine d'élaboration et d'étude des clusters des métaux nobles formés en solution a pris un nouvel essor.

La spectrométrie de masse couplée à une source d'ionisation douce (ESI [10], *electrospray ionisation*, MALDI [11-13], *matrix assisted laser desorption ionisation)* est une des principales techniques analytiques utilisées pour la caractérisation des clusters. Cette technique permet de transférer les ions en phase gazeuse et déterminer le rapport masse molaire/charge de l'ion. Grâce au développement de plusieurs types analyseurs (le quadripôle QMS, piège ionique quadripolaire QIT, analyseur à temps de vol TOF, l'analyseur à résonance cyclotronique ICR …), la rapidité de balayage, la précision en masse et la haute résolution ont été

atteints [14]. L'analyse de la solution contenant des clusters métalliques par la spectrométrie de masse permet de déterminer leurs stœchiométries [9], c'est-à-dire le nombre d'atomes métalliques formant le cœur et le nombre des ligands (molécules organiques stabilisant le cœur). Par la conjonction avec d'autres méthodes de caractérisation comme le spectrophotomètre, on pourrait étudier l'effet de la taille sur les propriétés électroniques (la bande d'absorption). La détermination de la stœchiométrie exacte permet aux théoriciens d'étudier les propriétés structurelles, optiques, électroniques d'un nouveau cluster exploré expérimentalement. Ce type de caractérisation peut motiver des études que ce soit sur le plan expérimental ou sur le plan théorique (l'effet des ligands, l'effet de dopage…). L'intérêt de cette technique se manifeste aussi sur la possibilité d'étudier les propriétés structurelles des ions par la voie de fragmentation [15]. Parmi les différents échantillons, les protéines sont les plus étudiées par cette méthode. En effet, à partir des fragments obtenus, on peut remonter à la séquence en acide aminé de la protéine.

Différentes méthodes de fragmentation ont été développées et chacune possède des avantages et des inconvénients. Elles peuvent être différenciées en deux groupes selon le mode d'excitation : excitation vibrationnelle ou excitation électronique. La fragmentation induite par un gaz CID est la technique la plus utilisée pour fragmenter par chauffage [16,17]. Elle existe en routine sur les spectromètres de masse commerciaux. D'autres méthodes d'excitation vibrationnelle ont été développées comme le chauffage par un laser infrarouge [18,19]. Les méthodes d'activation électronique sont essentiellement la capture électronique ECD [20], la dissociation par transfert d'électron ETD [21] et la dissociation par détachement d'électron EDD [22].

La spectrométrie de masse pourrait être aussi couplée à d'autres techniques de caractérisation permettant de déterminer la structure de l'ion en phase gazeuse comme la mobilité ionique [15]. Le principe de la mobilité ionique consiste à séparer les ions selon l'une de leurs mobilités. Récemment, cette technique a montré son potentiel afin d'explorer les propriétés structurelles des clusters métalliques. À titre d'exemple, les expériences de la mobilité ionique réalisées sur le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ ont montré la présence d'une seule structure. Cependant, avec cette technique on ne peut pas remonter à la structure tridimensionnelle.

Les expériences de diffraction de rayon X (XRD) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont les techniques les plus fréquemment utilisées permettant d'étudier les structures tridimensionnelles. Toutefois, ces techniques sont difficiles à mettre en œuvre pour l'analyse de certains clusters. En effet, les expériences XRD nécessitent un échantillon très pur avec

une quantité suffisante [23]. La RMN quant à elle, ne permet pas l'analyse des clusters paramagnétiques.

Les techniques spectroscopiques permettent de sonder par différentes méthodes les propriétés optiques de la matière. Une des techniques qui apparaît intéressante est la spectrométrie de masse couplée à la spectroscopie laser. En effet, l'étude des systèmes complexes en phase gazeuse permet de s'affranchir des interactions avec les solvants. Cependant, la difficulté provient de la faible densité d'ions dans le spectromètre de masse.

Sur le plan expérimental, plusieurs types de lasers ont été couplés à la spectrométrie de masse et ont chacun leur spécificité. Selon la gamme de la longueur d'onde, on peut sonder des informations sur les transitions rotationnelles et l'orientation du dipôle permanent (spectroscopie micro-onde), sur les transitions vibrationnelles (spectroscopie Infra rouge) ou sur les transitions électroniques (spectroscopie ultraviolet et visible). Le développement des sources lumineuses intenses et accordables dans le domaine de l'infrarouge comme les lasers à électrons libres [24] (FEL) utilisant le rayonnement synchrotron et les lasers OPO [25] a permis de déterminer les fréquences de vibrations des liaisons et de remonter à la structure en comparant le spectre expérimental aux spectres calculés pour différentes structures.

Dans le domaine ultraviolet et visible, les avancées réalisées ont permis d'étudier de gros systèmes moléculaires (peptides, protéines…) [26,27]. Les résultats expérimentaux (spectres optiques obtenus en phase gazeuse) en conjonction avec le calcul théorique ont permis d'explorer les propriétés électroniques des complexes et attribuer les bandes d'absorption à une transition électronique bien définie. L'effet de l'environnement sur la stabilité et les propriétés électroniques pourrait être étudié par la comparaison entre le spectre expérimental et le spectre d'absorption de la solution.

C'est dans ce contexte que l'équipe a développé un montage expérimental permettant de coupler un spectromètre commercial à un laser (OPO) ultraviolet visible accordable en longueur d'onde. Deux types des spectromètres de masse ont été modifiés pour injecter un faisceau laser à l'intérieur de piège; un spectromètre à piège quadripolaire ionique 3D LCQ^{DUO} [28] (Thermo Electron, San Jose, CA, USA) et un spectromètre de masse à piège linéaire *LTQ*(Thermo Electron, San Jose, CA, USA) [29]. Les avantages de ce montage expérimental sont nombreux et notamment : i) la production des anions radicalaires et la possibilité d'activer de nouveau ces espèces par CID ou par laser, ii) la détermination du spectre optique d'un ion en phase gazeuse en balayant la longueur d'onde du laser dans

l'ultraviolet et le visible. Récemment, notre équipe a réalisé des expériences de photodissociation sur des systèmes à grand nombre de degrés de liberté comme des peptides, des protéines et des complexes métaux/peptide afin d'explorer leurs propriétés structurelles et électroniques.

Dans la littérature, avant nos résultats sur le cluster Au_{25} $(SG)_{18}$ en 2010, aucune étude spectroscopique en phase gazeuse n'a été réalisée sur les petits clusters synthétisés en solution. En fait, les raisons pour lesquelles ces types d'expériences n'ont pas été réalisés auparavant sont principalement dues à la difficulté d'élaborer ces clusters et à leur fragilité.

Ce travail de thèse présente les premières études spectroscopiques en phase gazeuse sur des clusters stabilisés par des ligands thiolés, et plus particulièrement des clusters d'or et d'argent. Ces études nous a permis d'avoir accès à la réponse optique de ces clusters et présente à ce titre le premier spectre de photodétachement des clusters thiolés en phase gazeuse.

Ce travail regroupe deux domaines extrêmement intéressants :

- l'élaboration des clusters en solution qui reflète une chimie bien développée.
- l'utilisation d'un montage expérimental couplant un spectromètre de masse à haute résolution et un laser ultraviolet visible accordable en longueur d'onde pour sonder des informations sur les propriétés structurelles, optiques et électroniques de clusters.

Le plan utilisé pour ce manuscrit est le suivant :

Le premier chapitre donne un aperçu de l'état de l'art dans le domaine de nanoparticules y compris les méthodes de synthèse.

La partie expérimentale concernant le fonctionnement des spectromètres à piège ionique et à piège quadripolaire, le fonctionnement du laser ultraviolet visible accordable en longueur d'onde, les modifications qui ont réalisées afin d'injecter le laser au centre de piège et les techniques analytiques usuelles pour la caractérisation des clusters sera développé dans le deuxième chapitre.

Le chapitre 3 décrit la synthèse et la caractérisation des clusters d'or stabilisés par les glutathions. La première partie du chapitre est consacrée au cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. Je montrerai l'apport du spectromètre de masse à haute résolution et la spectroscopie laser pour explorer les propriétés structurelles et électroniques du cluster. La deuxième partie du chapitre porte sur l'étude de petits clusters d'or stabilisés par les glutathions.

Les résultats obtenus concernant la synthèse, la caractérisation et l'étude spectroscopique en phase gazeuse des clusters d'argents stabilisés par différents ligands thiolés seront présentés dans le chapitre 4.

Bibliographie

(1) Feynman, R. P. *Engineering and Science* **1960**, *23*, 22.

(2) O.F.T.O, Arago26*,* **2001**.

(3) Brust , M.; Fink , J.; Bethell , D.; Schiffrin, D. J.; Kiely, C. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication* **1995**,801, doi*10.1039/C39950001655*, 1655.

(4) Derfus, A. M.; Chan, W. C. W.; Bhatia, S. n. *Nano Letters* **2004**, *4*, 11.

(5) Larson, D. R.; Zipfel, W. R.; Williams, R. M.; Clark, S. W.; Bruchez, M. P.; Wise, F. W.; Webb, W. W. *Science* **1998**, *281*, 2013.

(6) Chandezon, F.; Reynaud, C. CLEFS CEA **2005**, *52*, 55.

(7) Schaaff, T. G.; G, K.; Shafigullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 10643.

(8) Tsunoyama, H.; Sakurai, H.; Ichikuni, N.; Negishi, Y.; Tsukuda, T. *Langmuir* **2004**, *20*, 11293.

(9) Negishi, Y.; Nobusada, k.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 5261.

(10) Fen, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. *Science* **1989**, *246*, 64.

(11) Tanaka, K.; Waki, H.; Ido, Y.; Akida, S.; Yoshida, Y.; Yoshida, T. *Rapid communications in Mass Spectrometry* **1988**, *2*, 151.

(12) karas, M.; Hillenkamp, F. *Angewandte Chimie* **1988**, *28*, 760.

(13) karas, M.; Bachmann, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1987**, *78*, 53.

(14) Heeren, R. M. A.; Kleinnijenhuis, A. J.; McDonnel, L. A.; Mize, T. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 1048.

(15) Angel, L. A.; Majors, L. T.; Dharmaratne, A. C.; Dass, A. *ACS Nano* **2010**, *4*, 4691.

(16) Wells, J.; McLuckey, S. *Biological Mass Spectrometry* **2005**, *402*, 148.

(17) Cooks, R. G. *Journal of Mass Spectrometry* **1995**, *30*, 1215.

(18) Brodbelt, J. S.; Wilson, J. J. *Mass Spectrometry Reviews* **2009**, *28*, 390.

(19) Little, D. P.; Speir, J. P.; Senko, M. W.; Oconnor, P. B.; McLafferty, F. W. *Analytical Chemistry* **1994**, *66*, 2809.

(20) Zubarev, R. A.; Kelleher, N. L.; Mclafferty, F. W. *Journal of the American Chemical Society* **1998**, *120*, 3265.

(21) Syka, J. E.; Coon, J. J.; Schroeder, M. J.; Shabanowit, J.; Hunt, D. F. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2004**, *101*, 9528.

(22) Budnik, B. A.; Haselmann, k. F.; Zubarev, R. A. *Chemical Physics Letters* **2001**, *342*, 299.

(23) Wu, Z.; Gayathri, C.; Gil, R. R.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 6535.

(24) Ortega, J. M.; Berset, J. M.; Chaput, R.; Glotin, F.; Humbert, G.; Jaroszynsji, P.; Joly, P.; Kergosien, J.; Lerel, J.; Marcouillé, O.; Peremans, A.; Prazeres, R.; Tadjeddine, A. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* **1996**, *375*, 618

(25) Polfer, N. C.; Oomens, J. *Mass spectrometry Reviews* **2009**, *28*, 468.

(26) Weinkauf, R.; Schanen, P.; Metsala, A.; Schlag, E. W. *The Journal of Physical Chemistry* **1996**, *100*, 18567.

(27) Nolting, D.; Marian, C.; Weinkauf, R. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2004**, *6*, 2633.

(28) Dugourd, P.; Antoine, R.; Broyer, M.; Talbot, F. O. *WO 2006/064132 A1* **2006**.

(29) Antoine, R.; Joly, L.; Tabarin, T.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Lemoine, J. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 265.

Chapitre 1 : Introduction à l'étude des clusters métalliques (Au, Ag) stabilisés par des ligands

I. Introduction

En 1857, Michael Faraday a réussi à synthétiser des colloïdes d'or par la réduction de sel d'or et a montré que la couleur de la solution est corrélée avec la taille des nanoparticules et la morphologie des ligands [(1)]. Quelques années plus tard, les propriétés optiques des nanoparticules d'or ont été étudiées et expliquées par Gustav Mie lorsqu'il a résolu les équations de Maxwell de nanoparticule unique en interaction avec la lumière [(2)]. L'établissement de la théorie de bandes dans les années 60 et le développement de la physique des semi-conducteurs ont pu expliquer la nature physique de l'excitation optique des nanoparticules [(3)].

À cette époque, de nouveaux nano-objets métalliques ont été explorés grâce au développement de plusieurs sources d'ionisation comme la vaporisation par laser, la vaporisation par chauffage. Ces nano-objets formés en phase gazeuse par l'agrégation des atomes sont appelés des « agrégats », c'est-à-dire des particules dont les dimensions sont submicrométriques. L'étude de ces agrégats peut s'avérer fondamentale si on veut suivre l'évolution des propriétés de la matière partant de l'atome et allant vers le solide. Comme par exemple le passage de la structure des niveaux d'énergie électroniques discrets des atomes aux structures de bandes électroniques des solides.

Dans les années 1990, des études réalisées sur les petits agrégats de lithium au LASIM ont permis d'observer les transitions entre des excitations électroniques de type moléculaire et des excitations collectives de type résonance plasmon de surface [(4)]. Ces études se sont ensuite étendues à d'autres systèmes, de quelques dizaines d'atomes. Quelques années plus tard, une autre équipe a étudié les propriétés optiques d'agrégats de métaux nobles (Au, Ag, Cu) de quelques nanomètres de diamètre encapsulés en matrice d'aluminium. Expérimentalement, l'effet de la taille sur la résonance plasmon de surface a été observé et interprété dans le cadre d'un modèle semi-quantique [(5)]. La figure 1.1 présente les spectres d'absorption expérimentaux obtenus pour l'argent, l'or et le cuivre comparées aux spectres d'absorption théoriques. Dans le cas de l'argent, les spectres d'absorption expérimentaux présentent une bande intense qui correspond à la résonance plasmon de surface. Cette bande se déplace

légèrement vers le bleu (hautes énergies) quand la taille diminue. Pour l'or et le cuivre, on observe la diminution de l'intensité de la bande résonance plasmon de surface et un faible déplacement vers le bleu lorsque la taille diminue. Un modèle semi-quantique basé sur une approche de *jellium* a été développé afin d'interpréter ces effets de taille [5]. Ce modèle prend en compte les propriétés d'écrantage des électrons de cœur (électrons (n-1)d^{10}) et la matrice environnante. Les spectres d'absorption obtenus par ce modèle (figure 1.1 (B)) reproduisent le déplacement de la bande résonance plasmon de surface lorsque la taille diminue et l'atténuation dans l'or et le cuivre.

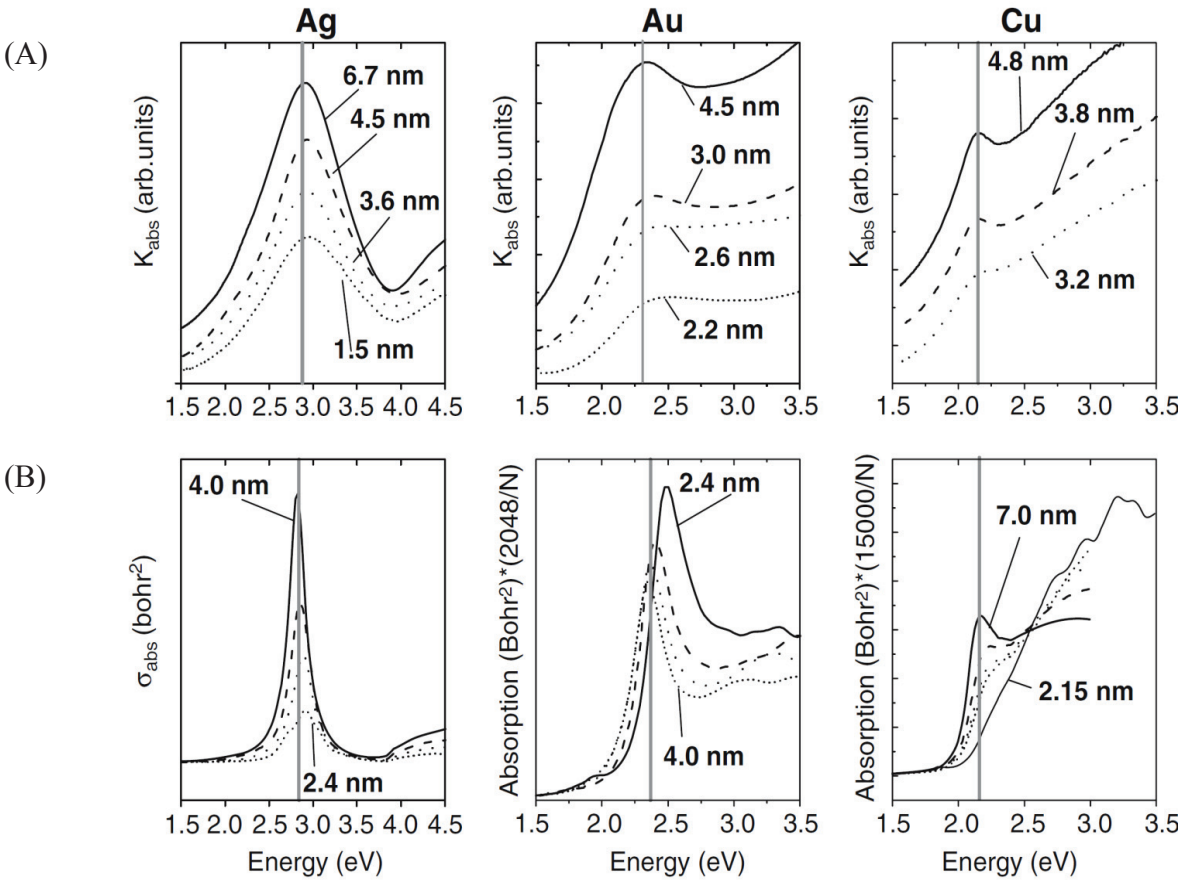


Figure 1.1: Evolution des spectres d'absorption de nanostructures en fonction de leur diamètre. Les spectres expérimentaux (A) comparées aux spectres théoriques (B) pour l'argent, l'or et le cuivre [5].

À l'échelle nanométrique, le nombre d'atomes en surface n'est plus négligeable par rapport au nombre d'atomes en volume. Soit un agrégat de N atomes, de masse M_0 et de forme à peu près sphérique. Sa masse vaut $M = N \times M_0 = V \times d$ où V est le volume de la sphère ($V = 4/3\pi R^3$) et d est la densité du solide massif correspondant. Alors le nombre d'atomes dans l'agrégat est :

$$N = \frac{4}{3}\pi R^3 \frac{d}{M_0}$$

Soit, pour l'or et l'argent, approximativement

$$N_{Au\ ou\ Ag} \approx 250 R^3_{(nm)}$$

Par exemple, une nanoparticule d'or ou d'argent de 10 nm de diamètre contient environ 30 000 atomes. À partir de ce modèle, on peut estimer le rapport du nombre d'atomes en surface par rapport au nombre d'atomes totale :

$$\frac{N_{Surf}}{N} = \frac{4\pi R^2 (2r_s)}{\frac{4}{3}\pi R^3} N \approx \frac{6r_s}{R}$$

Où r_s est le rayon de Wigner-Seitz. Il correspond au rayon de la sphère dont le volume est équivalent au volume occupé par un atome dans le solide. Il est de l'ordre de $r_s \approx 0.16$ nm pour l'or et l'argent. Pour un agrégat (nanoparticule) de 2 nm de diamètre, environ 48% des atomes sont en surface. Lorsque la taille de nanoparticule diminue, le nombre d'atomes en surface augmente jusqu'à devenu supérieure à la fraction d'atomes en volume en dessous d'un rayon de 1 nm. Plus la nanoparticule est petite, plus la surface prend d'importance, ceci implique une amplification des effets de surface.

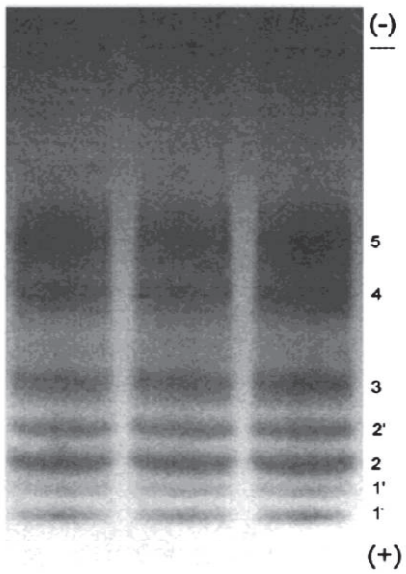
L'effet de la taille d'agrégat de métaux nobles (Au, Ag et Cu) sur les propriétés optiques, entre autres l'absorption, a été étudié par la spectroscopie de photoélectrons [(6)]. La spectroscopie d'absorption d'agrégats d'or (1-233 atomes), d'argent (1-60 atomes) et de cuivre (1-411 atomes) a révélé pour chaque taille un grand nombre de transitions optiques qui reflète un comportement de type moléculaire.

Ces agrégats de taille inférieure à 2 nm présentent de nouvelles propriétés optiques et électroniques qui n'ont pas été observées avec le solide massif. Cependant le seul désavantage de ces agrégats est leur courte durée de vie. Parallèlement avec l'étude des agrégats de métaux

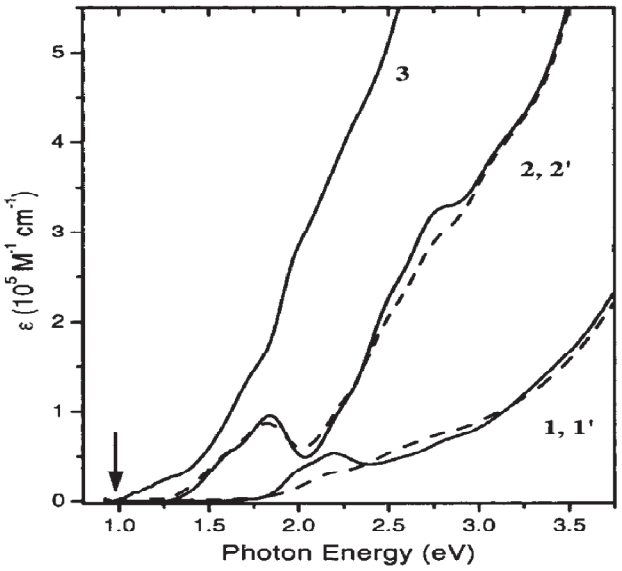
nobles, des grandes avancés ont été réalisés sur la synthèse de petits agrégats d'or stabilisés par des ligands thiolés en solution (taille < 2nm). Ces matériaux hybrides métallo-organiques sont l'association des avantages de deux parties sans en retrouver les inconvénients de chacun. Le cœur métallique apporte une morphologie fixée avec une taille et une structure caractéristique ainsi que des propriétés optiques et électroniques. Les molécules organiques greffés en surface permettront le contrôle de la réactivité et de la solubilité en solution de nanoparticules et assureront aussi l'interface avec la biologie. Le large panel de molécules organiques à notre disposition ouvre la possibilité de créer différentes nanoparticules hybrides, même si les liaisons métallo-organique ne sont pas nombreuses. Les liaisons or-thiol et argent-thiol sont parmi les liaisons métallo-organiques les plus répandues. Les composés organiques thiolés (RS) sont essentiellement utilisés pour stabiliser les nanoparticules ce qui explique leur utilisation dès l'étape de synthèse. La taille et la forme finale des clusters sont sensibles à de nombreux facteurs, notamment le type de composé organique. Cette stabilisation prendra tout son intérêt lors des étapes d'extraction et de purification des nanoparticules. Ces molécules organiques peuvent être fonctionnalisées via leurs fonctions terminales permettant la création d'un système hybride de propriétés adaptées pour plusieurs applications. La figure 1.2 montre les spectres d'absorption expérimentaux pour les clusters d'or stabilisés par les glutathions et les clusters d'argent stabilisés par les glutathions de taille inférieure à 2 nm. Ces clusters ont été d'abord séparés sur un gel d'électrophorèse avant d'être analysés par le spectrophotomètre. Pour les deux clusters, les spectres d'absorption présentent de bandes qui correspondent aux transitions HOMO-LUMO sans l'apparition de la résonance plasmon de surface. En plus, la position de la bande d'absorption est corrélée avec la taille du cluster ; lorsque la taille du cluster augmente, la bande d'absorption se déplace vers les hautes énergies.

Dans cette étude Bibliographique, je présenterai la progression des méthodes de synthèse chimiques permettant l'élaboration des clusters d'or ou d'argent de tailles inférieures à 2 nm avec un accent mis sur les clusters d'or stabilisés par les glutathions. J'exposerai aussi quelques résultats marquants qui ont motivé ces travaux de recherche.

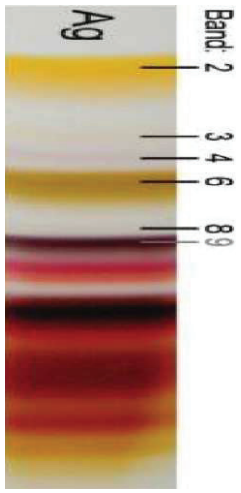
(A)



(B)



(C)



(D)

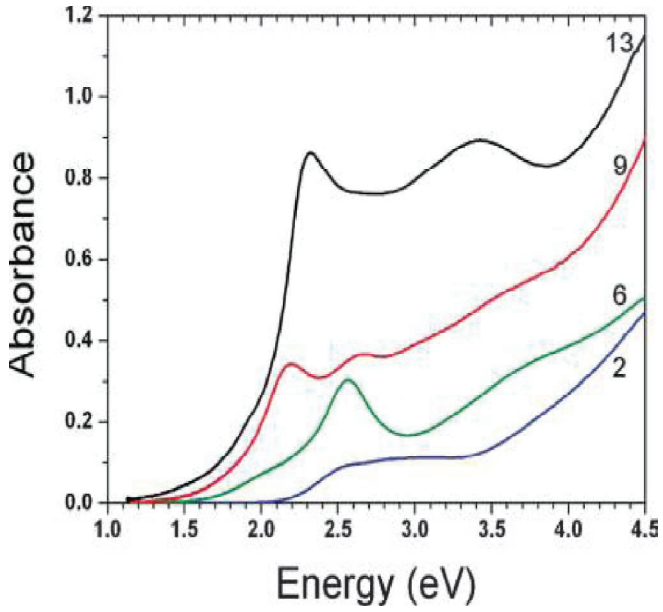


Figure 1.2 : Image de séparation des clusters d'or stabilisés par les glutathions (Au(SG)) sur le gel d'électrophorèse (A), les spectres d'absorption des clusters Au(SG) [7] (B), image de séparation des clusters Ag(SG) sur le gel d'électrophorèse (C) et les spectres d'absorption des clusters Ag(SG) [8] (D)

II. Approche théorique

Un des buts essentiels de la physique du solide est l'étude de matériaux cristallins, dont parmi eux les métaux nobles. L'exploitation des propriétés à l'échelle nanométrique est nécessaire pour expliquer les propriétés du solide. Pour les nanoparticules qui se situent entre la physique du solide et la physique des agrégats, leurs propriétés dépendent fortement du nombre d'atomes de surface. Dans le domaine ultra violet-visible-proche infrarouge, les propriétés optiques sont essentiellement dues à l'interaction de la lumière avec les électrons de valence.

1. Propriétés optiques d'un solide métallique

La délocalisation des électrons des couches externes des atomes constituant le solide provoque la cohésion du cristal métallique. Ce sont ces électrons qui assurent la liaison métallique entre les ions du réseau cristallin. La structure électronique d'un cristal est décomposée en une série de bandes ; de bandes électroniques permises, souvent séparées par des bandes interdites ou gaps. Il est donc facile de présenter les interactions d'un métal avec les photons comme des transitions électroniques entre états occupés et états vides. Dans ce paragraphe, nous passerons en revue quelques approches théoriques de base permettant de rendre compte de la structure électroniques en bandes pour le métal.

1.1. Structure électronique du cristal

1.1.1. Hamiltonien électronique

La structure électronique d'un solide peut être calculée en résolvant l'équation de Schrödinger

$$H|\varphi\rangle = E|\varphi\rangle$$

H est l'opérateur hamiltonien, φ la fonction d'onde du solide et E la valeur propre correspond à φ. H représente les énergies cinétiques et les énergies d'interactions de toutes les particules. Pour résoudre l'équation de Schrödinger, il est nécessaire d'utiliser des approximations. Dans le cristal, on considère deux constituants ; les cœurs ioniques des atomes et les électrons des couches externes. En l'absence de champ extérieur, l'hamiltonien est la somme d'un terme électronique, d'un terme ionique et d'un terme d'interaction électrons-ions :

$$H = H_{el} + H_{ion} + H_{el\text{-}ion}$$

Dans l'approximation du jellium, l'hamitonien totale de système s'écrit :

$$H = -\sum_i \frac{\hbar^2}{2m}\nabla_i^2 + \frac{1}{8\pi\varepsilon_0}\sum_{ii'}\frac{e^2}{\left|\vec{r}_i - \vec{r}_{i'}\right|} + H_+$$

Avec $\vec{r}_i$ et m sont la position et la masse d'un électron d'indice i, $\hbar = \frac{h}{2}$ avec h la constante de Planck, ε_0 est la permittivité électrique de vide et $H_+ = H_{ion} + H_{el\text{-}ion}$

L'approximation de jellium consiste à modéliser les ions sous forme d'une densité moyenne de charge positive fixe. Cette approximation permet d'étudier de nombreuses propriétés des métaux.

1.1.2. Modèle d'électron libre

Le modèle d'électron libre consiste à négliger les interactions entre les électrons. Cette approche du gaz d'électron sans interaction permet d'introduire la relation de dispersion énergie/vecteur d'onde électronique et la notion de sphère de Fermi.

En négligeant les interactions, l'équation de Schrödinger pour chaque électron s'écrit :

$$-\frac{\hbar^2}{2m}\nabla^2\varphi(\vec{r}) = E\varphi(\vec{r})$$

La solution de cette équation est la fonction d'onde $\varphi(\vec{r}) = e^{i\vec{k}\vec{r}}$ où $\vec{k}$ est le vecteur d'onde électronique.

Pour un électron la relation de dispersion énergie/vecteur d'onde électronique est :

$$E = \frac{\hbar^2 k^2}{2m}$$

Pour déterminer le spectre des valeurs permises du vecteur d'onde électronique, on considère un volume parallélépipédique $V(g) = L_x L_y L_z$. En utilisant les conditions aux limites périodiques de la fonction d'onde dites de Born-Von Karman, on peut normaliser la fonction d'onde :

$$\varphi(\vec{r}) = \frac{1}{\sqrt{V_g}}e^{i\vec{k}\vec{r}}$$

On peut représenter les états du gaz d'électrons par un réseau périodique dans l'espace des vecteurs d'ondes électroniques. Chaque point est défini par un volume $(2\pi)^3 / Vg$ et par deux états quantiques différents. On peut donc obtenir la densité d'états en énergie

$$g(E) = \frac{1}{2\pi^2}(\frac{2m}{\hbar^2})^{3/2} E^{1/2}$$

L'état fondamental est représenté par une sphère de rayon K_F contenant N/2 points de ce réseau périodique dans le réseau réciproque. Le rayon de cette sphère s'appelle sphère de Fermi :

$$K_F = (3\pi^2 n_{e-})^{1/3}$$

Le niveau de Fermi correspond aux états électroniques peuplés les plus énergétiques

$$E_F = \frac{\hbar^2}{2m}(3\pi^2 n_{e-})^{3/2}$$

L'énergie de fermi est environ 5.5 eV pour l'or et l'argent. Dans l'état fondamental, a chaque état peuplé ($\vec{k}$, m_s) est associé un autre état peuplé (-$\vec{k}$,-m_s). Donc l'impulsion totale et le spin total du gaz d'électrons libres dans son état fondamental sont nuls.

Afin d'imaginer l'utilité d'évoquer des électrons libres pour l'or et l'argent, la figure 1.3 montre les surfaces de fermi du palladium, du platine, de l'argent et de l'or. On constate que les surfaces de Fermi de l'or et l'argent sont très proches du cas idéal des électrons libres contrairement aux cas de palladium et du platine.

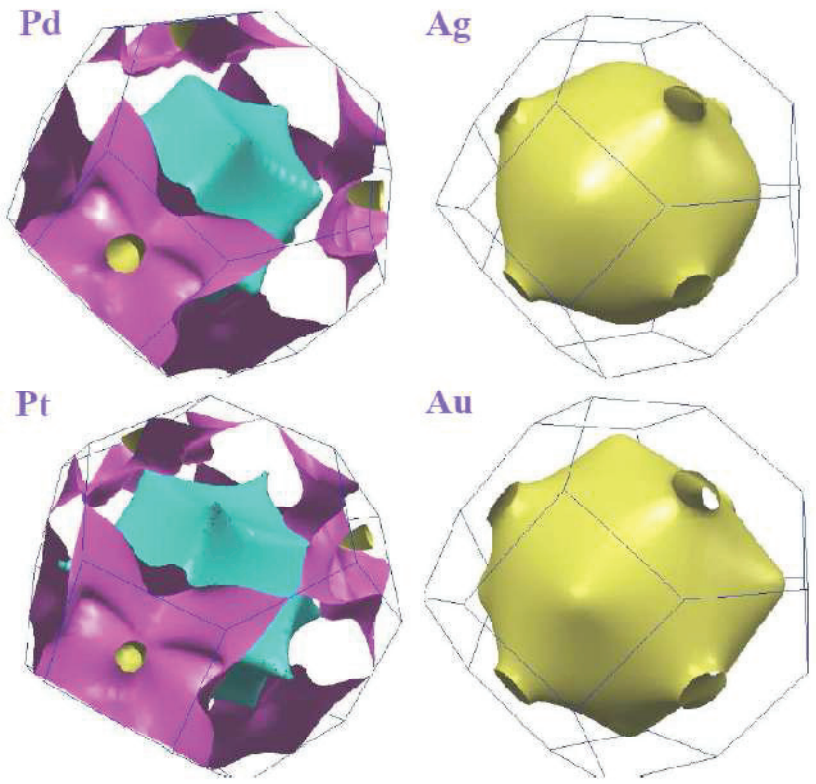


Figure 1.3 : Schéma des surfaces de Fermi du palladium (Pd), platine, de l'argent et de l'or

La probabilité d'occupation d'un état quantique est déterminée par la fonction de distribution

- $f(E) = 1$ pour $E \leq E_F$
- $f(E) = 0$ pour $E > E_F$

À l'aide de cette fonction, on peut déterminer l'énergie totale E_{Tot} ou le nombre total d'électrons N :

$$E_{Tot} = \int_0^\infty f(E)g(E)EdE$$

et

$$N = \int_0^\infty f(E)g(E)dE$$

À température non nulle, la fonction $f(E,T)$ est donnée par la distribution de Fermi-Dirac :

$$f(E,T) = \left\{ 1 + \exp\left(\frac{E(\vec{K}) - \mu}{k_B T}\right) \right\}^{-1}$$

Où μ est le potentiel chimique du gaz d'électrons et K_B la constante de Boltzmann.

La distribution en énergie est représentée sur la figure 1.4. On remarque sur cette figure que les seuls niveaux d'énergie autour de niveau de Fermi sont les concernés par la redistribution thermique des probabilités d'occupation.

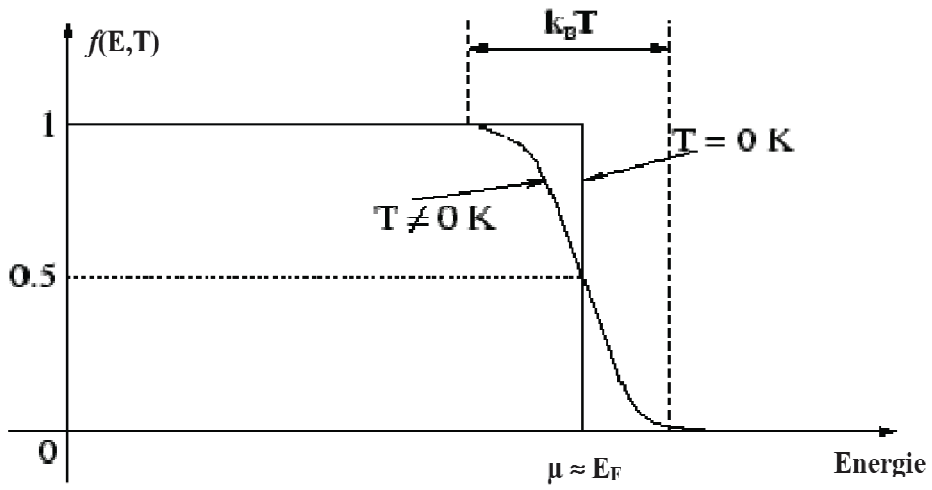


Figure 1.4 : Distribution de Fermi à la température du zéro absolu et à la température T non nulle

1.1.3. Les électrons dans un potentiel périodique : structure de bande

Le modèle d'électron libre décrit dans le paragraphe précédent permet de comprendre certaines propriétés des métaux, telles que leur chaleur spécifique, leur susceptibilité magnétique, etc. Mais ce modèle n'explique pas la différence entre métaux, semi-conducteurs et isolants. Pour expliquer ces phénomènes, il est nécessaire d'étudier une théorie considérant que les électrons ne sont pas libres mais qu'ils se déplacent dans un potentiel U(r) qui possède la périodicité de réseau. Ce potentiel prend en compte l'interaction d'électron avec les ions et son interaction avec les autres électrons.

$$U(r) = U(r + R)$$

L'étude théorique de l'équation de Schrödinger conduit à des solutions appelées fonctions de Bloch sous la forme d'un produit d'une onde plane par une fonction U_n ayant la périodicité de réseau :

$$\psi_n(\vec{k},\vec{r}) = u_{\vec{k},n}(\vec{r})e^{i\vec{k}\vec{r}}$$

Le calcul des relations de dispersion énergie/vecteur d'onde électronique montre que certaines bandes d'énergies sont interdites E_g, on les appelle bandes interdites ou gaps ; d'autres bandes d'énergies sont permises (bande de conduction et bande de valence)

Le niveau occupé de plus haute énergie, dans l'état fondamental, est appelé niveau de Fermi. Si le niveau de Fermi se trouve à l'intérieur d'une bande passante, le solide est métallique. Par contre, si le niveau de fermi est à l'intérieur d'une bande interdite, le solide est isolant ou semi-conducteur.

L'absorption d'un photon d'énergie supérieure ou égale à celle du gap fait passer un électron de la bande de valence à la bande de conduction. L'électron photogénéré et le trou sont liés par interaction coulombienne et forment un complexe appelé exciton

$$V_C = -\frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon|R_e - R_h|}$$

La description classique d'un système à deux corps est applicable à l'exciton : étudier le mouvement de l'électron (R_e, m_e^*) et du trou (R_h, m_h^*) en interaction colombienne revient à étudier le mouvement du centre du masse (R, M) et d'une particule réduite (r, μ).

$$R = \frac{1}{M^*}(m_e^* R_e + m_h^* R_h)\,,\ M^* = m_e^* + m_h^*,\quad r = R_e - R_h\,,\ \mu = \frac{m_e^* m_h^*}{m_e^* + m_h^*}$$

L'hamiltonien s'écrit alors :

$$H = -\frac{\hbar^2}{2M}\nabla_R^2 - \frac{\hbar^2}{2\mu}\nabla_R^2 - \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon r}$$

On caractérise l'exciton par son rayon de Bohr effectif :

$$\alpha_B = \frac{4\pi\varepsilon_0\varepsilon\hbar^2}{\mu e^2} = \varepsilon\frac{m_e}{\mu}\alpha_B^H$$

Où α_B^H est le rayon de Bohr de l'atome d'hydrogène

Les énergies propres de l'exciton sont donnée par :

$$E_n = E_g - n^2\frac{e^2}{8\pi\varepsilon_0\varepsilon\alpha_B} + \frac{\hbar^2|k|^2}{2M}$$

Avec K = K_e + K_h le vecteur d'onde de l'exciton.

La figure 1.5 montre une comparaison entre le modèle des électrons libres et les électrons dans un potentiel périodique. Le potentiel V induit des gaps en bord de la première zone de Brillouin.

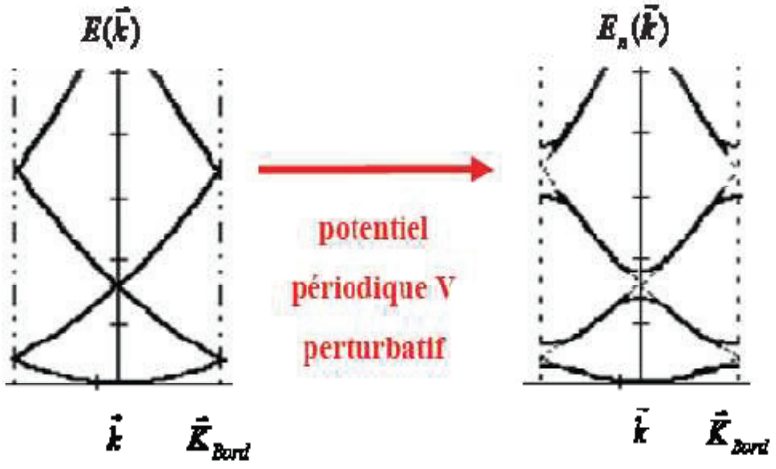


Figure 1.5 : Schéma des structures de bandes des gaz d'électrons libres et quasi-libres

2. Exploration du modèle d'électron libre pour les clusters

Pour les nanoclusters, l'écart entre les niveaux d'énergie δ augmente lorsque la taille diminue. On peut utiliser l'énergie thermique $k_B T$ comme un critère pour estimer à quelle taille l'énergie électronique sera comparée avec l'énergie thermique

$$\delta = k_B T$$

Pour les nanoclusters d'or dont l'énergie de Fermi est E_F = 5.5 eV, le volume total est $\approx 5.10^{-27} m^3$(correspond aux nanoparticules de taille égale à 1.7 nm), c'est la taille critique à partir de laquelle l'énergie électronique devient important.

III. Synthèse des clusters d'or en solution

1. Synthèse des nanoparticules d'or

Le principe général de la synthèse des nanoparticules d'or repose sur la réduction d'un sel d'or de degré d'oxydation III dans un milieu aqueux ou biphasique en présence d'un stabilisateur. Une fois les ions d'or III réduits en Au(0) par un agent de réduction, les ions réduits vont s'agréger pour former des nanoparticules. En absence du ligand efficace dans le milieu, cette agrégation continue jusqu'à précipitation d'or métallique. La taille et la forme finale de nanoparticule sont sensibles à de nombreux paramètres : la quantité et les propriétés d'agent de réduction, la nature et la quantité de ligand, la température de la réaction, la vitesse d'agitation…

1.1. Méthode de Turkevich

Cette méthode de synthèse a été découverte par John Turkevich en 1951 [(9)]. Elle produit généralement des nanoparticules d'or relativement monodisperses avec un diamètre de l'ordre de 10 à 20 nm. La synthèse consiste à mélanger une solution aqueuse de 100 ml d'acide chlorhydrique HCl contenant 50 mg de complexe d'or $HAuCl_4$ avec 50 ml d'une solution à 1% de citrate de soduim. Il faut ensuite chauffer jusqu'à ébullition pendant au moins 30 minutes. Les ions citrate en solution s'adsorbent à la surface des nanoparticules pour créer une couche chargée négativement (figure 1.6). Ceci va introduire une répulsion électrostatique entre ces nanoparticules empêchant leur agrégation.

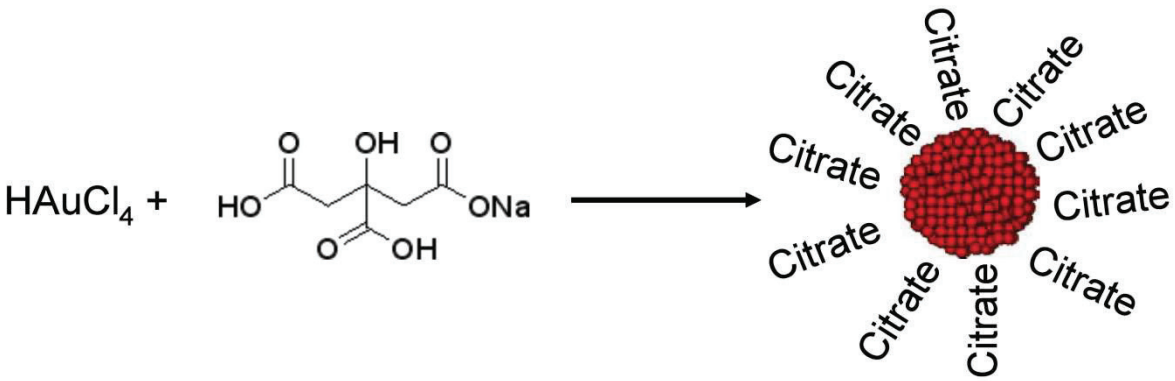
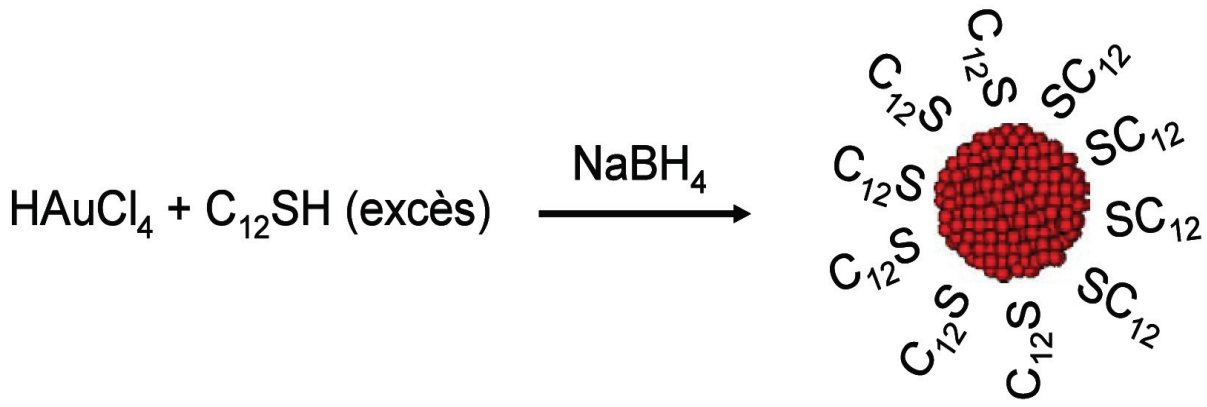


Figure 1.6 : Principe de la formation et de la stabilisation des nanoparticules d'or par la méthode de Turkevich

1.2. Méthode de Brust

Inspiré par les travaux réalisés dans les années 80 sur l'interaction entre le thiol et réseau cristallin d'or [10,11], Brust a développé une méthode pour synthétiser une solution colloïdale de nanoparticules d'or non pas en milieu aqueux mais en milieu organique [12-14]. Une solution aqueuse d'acide chloraurique $HAuCl_4$ (30 mL, 30 mmol/L) est ajouté à une solution de bromure de tétraoctylammonium dans du toluène (80 mL, 50 mmol/L). Le système biphasique est agité vigoureusement jusqu'à ce que les ions $AuCl_4^-$ soient transférés en phase organique. Ensuite, 170 mg de dodécanethiol ($C_{12}SH$) sont ajoutés, avant qu'une solution aqueuse de borohydrure de sodium $NaBH_4$ (25 mL, 0.4 mol/L) soit versée goutte à goutte. Dès l'addition de cet agent de réduction, la phase organique change de couleur en passant de l'orange au brun foncé, indiquant la formation de nanoparticules d'or (figure 1.7 (A)). Le précipité obtenu est récupéré puis lavé plusieurs fois avec l'éthanol, avant d'être redispersé dans le toluène ou le chloroforme. L'analyse par TEM montre que les nanoparticules ont un diamètre de 6 ± 2 nm (figure 1.7 (B)).

(A)



(B)

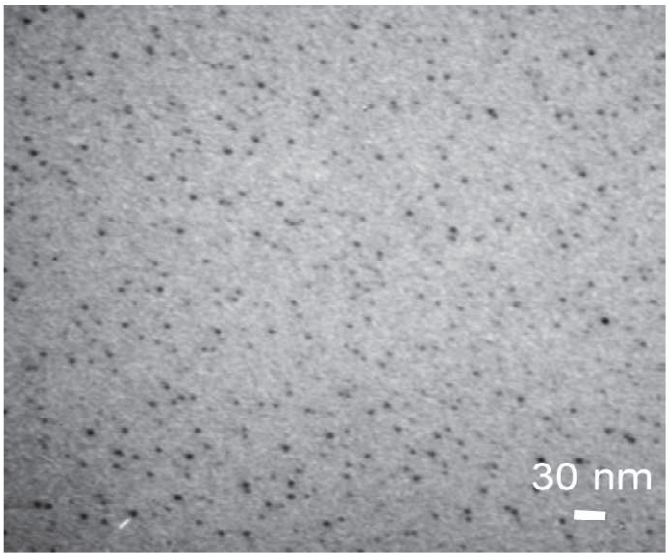


Figure 1.7 : Principe de la formation et de la stabilisation des nanoparticules d'or par la méthode de Brust (A) et une image de MET des nanoparticules d'or stabilisées par le dodécanethiol (B)

1.3. La transition de nanoparticules vers les clusters

Des modifications importantes ont été réalisées sur la synthèse de Brust pour réduire la taille de nanoparticules notamment dans les étapes de préparation [7,15,16]. L'optimisation des conditions de préparation de la solution, l'augmentation du rapport molaire entre le sel d'or et le ligand [Au/RS] à [2/1] et l'utilisation d'une grande quantité d'agent de réduction (principalement la borohydrure de sodium) ont favorisé la formation de petits nanoparticules d'or stabilisées par les thiols de taille inférieure à 2 nm [7]. Lorsque la taille de nanoparticules diminue, les spectres d'absorption montrent une évolution systématique [7] (i) la large bande d'absorption qui correspond à la résonance plasmon de surface disparaît complètement (ii) l'apparition d'une bande d'absorption à faible énergie attribuée à une transition intrabande ($sp \rightarrow sp$) (iii) l'apparition de faibles bandes d'absorption qui sont attribuées aux transitions intrabande ($sp \rightarrow sp$)et interbande ($d \rightarrow sp$). Les nanoparticules formées dans ces synthèses sont polydisperses dont la taille est variée entre 2 et 1 nm. Des tentatives de séparation de clusters par des méthodes chimique, surtout la précipitation par de solvants, sont faites mais la solution obtenue reste polydisperse. Quelques années plus tard, R.L.Whetten a utilisé un ligand spécifique, le glutathion ($SG = \gamma - Glu - Cys - Glu$), pour stabiliser des clusters d'or. Ce ligand possède une faible masse moléculaire et deux groupes acides carboxyliques ce qui permet d'avoir de clusters chargés négativement et détectables par le spectromètre de masse.

La synthèse consiste à mélanger une solution aqueuse du glutathion (80 mL, 5 Mm) avec une solution méthanolique d'acide chloraurique $HAuCl_4$ (120 mL, 1.1 Mm). Le mélange est agité 15 minutes à température ambiante. On ajoute alors rapidement une solution aqueuse de borohydrure de sodium (10 mL, 0.6 Mm) et on laisse le mélange réagir sous agitation pendant 30 minutes. Le précipité obtenu est récupéré puis lavé plusieurs fois par des cycles centrifugation/dispersion avec du méthanol avant d'être séché. La poudre obtenue est un mélange polydisperse de clusters $Au_x(SG)_y$. Le gel d'électrophorèse a permis de séparer les clusters en fonction de leurs tailles.

IV. Quelques résultats marquants

1. Clusters d'or et d'argent stabilisés par des ligands

1.1. Clusters d'or

L'introduction de deux techniques d'ionisation douce : Ionisation par Electrospray (ESI) et Désorption/Ionisation Laser Assistée par Matrice (MALDI) [17-19] a révolutionné le domaine de la spectrométrie de masse et rendu véritablement accessible l'étude des protéines et de peptides par ce type de technique. En 2002, leurs concepteurs J.Fenn et K.Tanaka ont été récompensés par le prix Nobel en chimie. Parallèlement aux techniques d'ionisation, la spectrométrie de masse à temps de vol (TOF), quadripôle ou trappe ionique ont été développés pour atteindre une meilleure résolution et une large gamme de masse. Ces deux techniques d'ionisation sont très concurrentielles en terme de performances (production des ions chargés). Pour les échantillons fragiles comme les clusters synthétisés en solution, le choix est souvent l'ionisation par electrospray. Cette technique permet de produire des ions sans fragmentation contrairement à la source MALDI où la fragmentation de l'échantillon produit par le faisceau laser est souvent observée.

En 1996, la source MALDI-MS a été pour la première fois utilisée pour la caractérisation des nanoclusters d'or stabilisés par des ligands thiolés (RS : SCH3) [7,15,20,21]. Différents clusters ont été identifiés mais les formules associées restent approximatives. En 1998, l'équipe de R.L.Whetten a utilisé la source électrospray pour la caractérisation des clusters d'or stabilisés par les glutathions. L'optimisation de différents paramètres de la source (température du capillaire, tension et pression du gaz) était cruciale pour la détection de clusters sans fragmentation. Pour la première fois, un cluster magique a été identifié $Au_{26}(SG)_{16}$. L'identification des autres bandes par le spectromètre de masse n'a pas été réalisée due à la faible quantité obtenue après séparation sur le gel d'électrophorèse et à la limite de résolution de l'appareil utilisé. Après ces travaux, l'équipe de Tsukuda a identifié les clusters de différentes bandes [22] par un spectromètre de masse $Au_{18}(SG)_{14}$, $Au_{21}(SG)_{12}$, $Au_{25}(SG)_{14}$, $Au_{28}(SG)_{16}$, $Au_{32}(SG)_{18}$ et $Au_{39}(SG)_{22}$.

Pour optimiser l'élaboration des clusters d'or stabilisés par les glutathions et obtenir une large gamme, Tsukuda a modifié les paramètres de synthèse comme la température de la réaction et la vitesse d'agitateur. La séparation sur le gel d'électrophorèse et la caractérisation par un spectromètre de masse ont montré la présence de plusieurs clusters $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$,

$Au_{12}(SG)_{12}$, $Au_{15}(SG)_{13}$, $Au_{18}(SG)_{14}$, $Au_{22}(SG)_{16}$, $Au_{22}(SG)_{17}$, $Au_{25}(SG)_{18}$, $Au_{29}(SG)_{20}$, $Au_{33}(SG)_{22}$,$Au_{38}(SG)_{24}$. Ces avancés dans la synthèse ont motivé des expérimentateurs et des théoriciens afin d'explorer les propriétés structurelles et électroniques des clusters. En 2007, l'équipe de Kornberg a déterminé la structure du cluster Au_{102}(p-MBA)$_{44}$ par diffraction de rayon X [23] ; ce cluster est constitué d'un cœur de 49 atomes d'or stabilisé par le reste des atomes d'or et des ligands, cette structure a montré que le cœur n'est pas stabilisé par l'ensemble des ligands par la formation des bandes Au-S, mais il s'agit d'un cœur d'or stabilisé par monomères, dimères et trimères $[Au\text{-}SR]_n$.

De la même manière, la structure du cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ a été déterminée par l'expérience de diffraction de rayon X ; la structure du cluster est constituée d'un cœur icosaèdre (13 atomes) stabilisé par six dimères $Au_2(SR)_3$ [24-26]. Des expériences de mobilité ionique couplée à une spectrométrie de masse sur le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ ont montré la présence d'une seule structure en accord avec l'expérience de diffraction de rayon X [27]. L'effet de l'état de charge et des ligands sur les propriétés électroniques a été aussi étudié. Deux clusters $[Au_{25}(SR)_{18}]^{1+}$ et $[Au_{25}(SR)_{18}]^{1-}$ ont été élaborés par oxydation ou réduction du cluster $[Au_{25}(SR)_{18}]^0$ [28,29]. La similarité entre les spectres d'absorption de ces clusters et le spectre d'absorption du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ montre que les ligands ont une faible influence sur la structure et les propriétés électroniques de cœur.

Ces dernières années des efforts remarquables ont été réalisés afin de stabiliser les clusters d'or par des protéines, peptides… Le BSA (albumine de sérum bovin) a été utilisé comme un agent de réduction et de stabilisation afin de former des clusters d'or [30]. L'équipe de Schneidar a étudié l'influence du pH de la solution sur la taille de clusters, la géométrie de ligands et l'état d'oxydation [31]. À pH élevé, ces clusters sont formés et stabilisés par le BSA. La caractérisation par MALDI-MS a montré la formation des clusters entre Au_{22} et Au_{25}. D'autres clusters d'or piégés dans un dendrimère PAMAM ont été synthétisés par l'équipe de Dickson [32].

1.2. Clusters d'argent

Malgré la similarité entre l'or et l'argent, les méthodes de synthèse utilisées pour stabiliser des clusters d'or par des ligands thiolés ne sont pas adaptées pour synthétiser des clusters d'argent. Cela est essentiellement dû au problème d'oxydation des clusters d'argent qui favorise la formation des cristaux d'argent dont la taille supérieure à 2 nm. Néanmoins, quelques méthodes de synthèse ont été développées ces dernières années.

En 2002, l'équipe de Dickson a réussi la synthèse des nanoclusters d'argent stabilisés par le PAMAM [33]. La caractérisation de la solution par différentes méthodes d'analyse a montré la formation de petits clusters d'argent. La même équipe a développé une méthode de synthèse afin de passiver des clusters d'argents par le DNA [34].

De protéines et des peptides ont été utilisés afin de former des nanoclusters d'argents comme BSA[35] . Pradeep a développé deux méthodes de synthèse permettant l'élaboration de petits clusters d'argents, la première méthode permet la formation de petits clusters $[Ag_7(H2MSA)_7]$, $[Ag_8(H_2MSA)_8]$ [36] par échange des ligands et la deuxième permet la formation du cluster $[Ag_9(H2MSA)_7]$ [37] dans l'état solide.

L'équipe de Jin a développé une méthode de synthèse pour former des clusters d'argent stabilisés par DMSA sans séparation sur gel d'électrophorèse, le spectre d'absorption illustre une bande d'absorption à 500 nm et la caractérisation par ESI-MS indique la formation de $Ag_7(DMSA)_4$[38]. En 2010,l'équipe Bigioni a pu élaborer et séparer plusieurs clusters d'argents stabilisés par le glutathions [8]. Parmi les différentes bandes, la bande 6 est la plus stable. Un effort particulier a été réalisé en 2011 entre notre équipe et l'équipe de Bigioni afin de caractériser les différentes bandes par spectrométrie de masse et surtout la bande 2 et la bande 6. De notre côté, nous avons développé deux méthodes de synthèse permettant l'élaboration des clusters d'argent stabilisés par les glutathions dans une solution presque monodisperse. Nous détaillerons l'ensemble de ces résultats dans le chapitre 3 et le chapitre 4.

V. Bibliographie

(1) Faraday, M. *Philosophical Transactions of the Royal society* **1857**, *147*, 145.

(2) Mie, G. *Annals of Physics* **1908**, *330*.

(3) Kreibig, U.; Vollmer, M. *Springer* **1995**, *25*.

(4) Blanc, J.; Bonacic-koutecky, V.; Broyer, M.; Chevaleyre, J.; Dugourd, P.; Koutecky, J.; Scheuch, C.; Wolf, J. P.; Woste, L. *Journal of Chemical Physics* **1992**, *96*, 1793.

(5) Cottancin, E.; Celep, G.; Lermé, J.; Pellarin, M.; Huntzinger, J. R.; Vialle, J. L.; Broyer, M. *Theoretical Chemistry Accounts* **2006**, *116*, 514.

(6) Taylor, k. J.; Pettiette-Hall, C. L.; Cheshnovsky, O.; Smalley, R. E. *The Journal of Chemical Physics* **1992**, *96*, 3319.

(7) Schaaff, T. G.; Shafigullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 10643.

(8) Kumar, S.; Bolan, M. D.; Bigioni, T. P. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 13141.

(9) Enustun, B. V.; Turkevitch. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 3317.

(10) Bain, C. D.; Whitesides, G. *Angewandte Chimie* **1989**, *28*, 506.

(11) Dubois, L. H.; Nuzzo, R. G. *Annual Review of Physical Chemistry* **1992**, *43*, 437.

(12) Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. W. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1994**, 0, 801.

(13) Brust, M.; Schiffrin, D. J.; Bethell, D.; Kiely, C. J. *Advanced Materials* **1995**, *7*, 795.

(14) Brust, M.; Fink , J.; Bethell , D.; Schiffrin, D. J.; Kiely, C. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication* **1995**, *0,1655*.

(15) Schaaff, T. G.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1999**, *103*, 9394.

(16) Whetten, R. L.; Shafigullin, M. N.; Khoury, J. T.; Schaaff, T. G.; Vezmar, I.; Alvarez, M. M.; Wilkinson, A. *Accounts of Chemical Research* **1999**, *32*, 397.

(17) karas, M.; Bachmann, D.; Bahr, U.; Hillenkamp, F. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1987**, *78*, 53.

(18) karas, M.; Hillenkamp, F. *Angewandte Chimie* **1988**, *28*, 760.

(19) Tanaka, K.; Waki, H.; Ido, Y.; Akida, S.; Yoshida, Y.; Yoshida, T. *Rapid communications in Mass Spectrometry* **1988**, *2*, 151.

(20) Mulvaney, P. *Langmuir* **1996**, *12*, 788.

(21) Alvarez, M. M.; Khoury, J. T.; Schaaff, T. G.; Shafigullin, M. N.; Vezmar, I.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, *101*, 3706.

(22) Negishi, Y.; Takasugi, Y.; Sato, S.; Yao, H.; Kimura, K.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 6518.

(23) Jadzinsky, P. D.; Calero, G.; Ackerson, C. G.; Bushnell, D. A.; Kornberg, R. D. *Science* **2007**, *318*, 430.

(24) Akola, J.; Walter, M.; Whetten, R. L.; Häkkinen, H.; Grönbeck, H. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 3756.

(25) Heaven, M. W.; Dass, A.; White, P. S.; Holt, K. M.; Murray, R. W. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 3754.

(26) Zhu, M.; Aikens, C. M.; Hollander, F. J.; Schatz, G. C.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 5883.

(27) Angel, L. A.; Majors, L. T.; Dharmaratne, A. C.; Dass, A. *ACS Nano* **2010**, *4*, 4691.

(28) Zhu, M.; Eckenhoff, W. T.; Pintauer, T.; Jin, R. *The Journal of Physical Chemistry C Letters* **2008**, *112*, 14221.

(29) Negishi, Y.; Chaki, N. k.; Shichibu, Y.; Whetten, R. L.; Tsukuda, T. *Journal of Physical Chemistry Letters* **2007**, *129*, 11322.

(30) Xia, J.; Zheng, Y.; Ying, J. Y. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 888.

(31) Le Guevel, X.; Hotzer, B.; Jung, G.; Hollemeyer, K.; Trouillet, V.; Schneider, M. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 10955.

(32) Zheng, J.; Petty, J. T.; Dickson, R. M. *Journal of the American Chemical Society* **2003**, *125*, 7780.

(33) Zheng, J.; Dickson, R. M. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 13982.

(34) Petty, J. T.; Zheng, J.; Hud, N. V.; Dickson, R. M. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 5207.

(35) Mathew, A.; Sajanlal, P. R.; Pradeep, T. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21*, 11205.

(36) Rao, T. U. B.; Pradeep, T. *Angewandte chimie* **2010**, *49*, 3925

(37) Rao, T. U. B.; Nataraju, B.; Pradeep, T. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *132*, 16304.

(38) Wu, Z.; Lanni, E.; Chen, W.; Bier, M. E.; Ly, D.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 16672.

Chapitre 2 : Techniques instrumentales

I. Spectromètre de masse

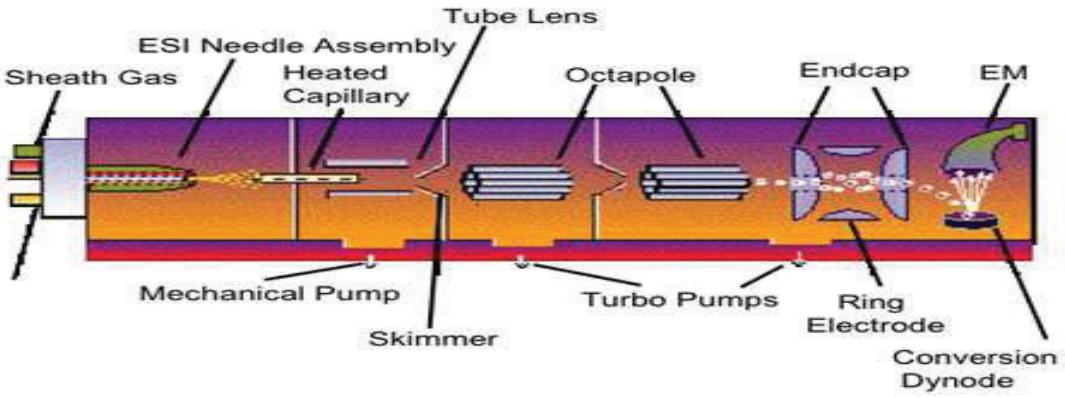
Pour la caractérisation de clusters en phase gazeuse, nous avons utilisé deux spectromètres de masse. Un spectromètre de masse à piège quadripolaire ionique LCQ ^{Duo} (thermo Electron, San Jose, CA, USA) couplée à une source d'ionisation électrospray (figure 2.1 (A)) et un spectromètre de masse à piège quadripolaire linéaire LTQ (Thermo Elecron, San Jose, CA, USA) couplée à une source d'ionisation électrospray (figure 2.1 (B)). Dans cette dernière, la pointe de la source d'ionisation est inclinée d'un angle de 45°C afin de diminuer le bruit chimique. La sensibilité de ces deux spectromètres de masse a permis une caractérisation détaillée de l'échantillon. Ils possèdent aussi l'option CID ce qui permet d'activer par gaz tampon (hélium) un ion sélectionné. Les ions produits par CID peuvent subir une série de sélection et d'activation par le mode MS^n.

La haute résolution (Ultra Zoom Scan) de la spectrométrie à piège quadripolaire nous a permis de déterminer la structure isotopique expérimentale d'un état de charge du cluster. Nous verrons dans le chapitre 3 l'importance du massif isotopique afin sonder des propriétés électroniques.

1. La source d'ionisation douce : ionisation par électrospray

La solution est introduite dans la source par l'intermédiaire d'un capillaire. Les ions se sont formés à pression atmosphérique sous l'application d'un champ électrique entre la pointe du capillaire métallique et une contre électrode. Un gaz coaxial est injecté pour faciliter la désolvatation des ions [(1)].

(A)



(B)

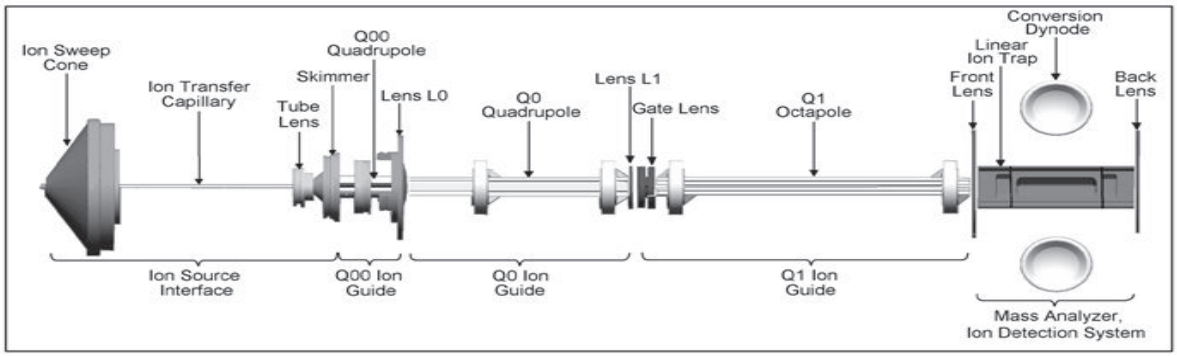


Figure 2.1 : Spectromètre de masse LCQ à piège ionique (A) et spectromètre de masse LTQ à piège quadripolaire linéaire (B)

1.1. La formation de gouttelettes chargées

La source electrospray (thermo finnigan) que nous avons utilisée pour la caractérisation des clusters d'or ou d'argent est composée d'un capillaire en silice fondue d'un diamètre interne de 100 µm. L'extrémité du capillaire est métallisée pour appliquer un potentiel V_1. Sur le cône du spectromètre, on trouve un deuxième capillaire (diamètre externe = 5cm et diamètre interne = 300 µm) sur lequel on applique un potentiel V_2. Ce capillaire est la contre électrode.

En mode d'ionisation positif, les charges s'accumulent à la pointe du capillaire et à la surface de liquide. Des réactions de transfert des électrons (neutralisation des ions négatifs, oxydation) sont susceptibles de se produire à l'interface entre la solution et le capillaire métallique.

L'accumulation des charges à la pointe provoque la déstabilisation de la surface de liquide et la formation d'un cône, appelé cône de Taylor [2,3]. La formation de gouttelettes est assistée par l'injection d'un flux d'azote autour du capillaire 1.

Dans l'étude des nanoclusters d'or ou d'argent, la position de la pointe, la tension appliquée et la température du capillaire de transfert sont souvent optimisées afin d'obtenir un spectre de masse sans fragmentation.

Nous avons utilisé aussi une deuxième configuration de la source dans laquelle la pointe est inclinée d'un angle de 45°. Cette configuration permet aux espèces chargées de migrer facilement vers le capillaire 2.

La figure 2.2 illustre la source electrospray « source off axis » du spectromètre de masse LTQ *Thermofinnigan.*

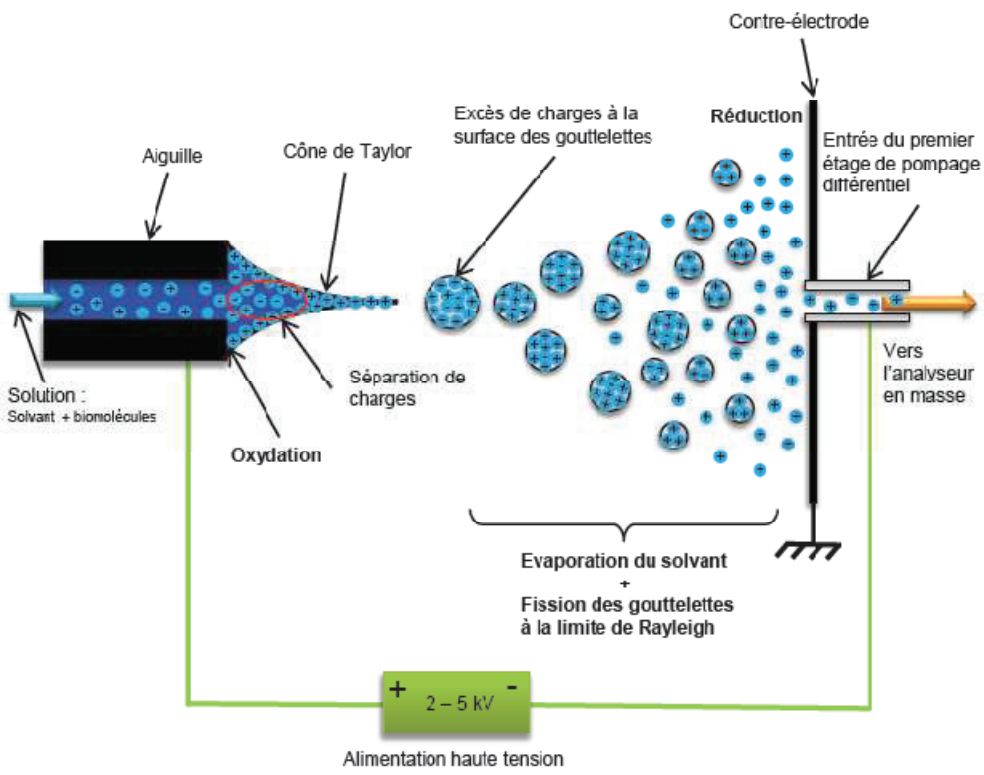




Figure 2.2 : Schéma de principe du fonctionnement d'une source électrospray

1.2. La fission de gouttelettes chargées

L'injection d'un gaz coaxial (N2) dans la source provoque l'évaporation progressive du solvant. Le volume de gouttelettes diminue mais leur charge reste constante. Lorsque les forces des répulsions électrostatiques deviennent trop grandes devant les tensions superficielles de surface (le rayon de la gouttelette atteint la valeur de « rayon de Rayleigh »), la gouttelette explose en gouttelette filles [4,5].

1.3. L'émission des ions en phase gazeuse

Deux modèles ont été proposés pour expliquer l'émission des ions en phase gazeuse.

1.3.1. Le modèle de Dole [6]

La succession des explosions coulombiennes favorise la formation de petites gouttelettes, chaque gouttelette ne possède qu'un seul ion. Ensuite les gouttelettes vont s'évaporer à l'aide du capillaire 2 qui est chauffé jusqu'aux 250°C pour former les ions en phase gazeuse.

1.3.2. Le modèle d'Iribarne et Thomson [7,8]

D'après Iribarne et Thomson, les ions se forment en phase gazeuse avant même que le rayon de la gouttelette n'atteigne la valeur du rayon de Rayleigh. La gouttelette devient assez petite pour que le champ électrique à sa surface soit suffisamment intense et permettre l'extraction des ions en phase gazeuse.

2. Transfert des ions vers le piège

Le spectromètre de masse à piège ionique LCQ est constitué d'un capillaire de transfert, un écorceur et une lentille électrostatique pour focaliser les ions dans la deuxième chambre. Les ions sont injectés dans le piège à l'aide d'une optique de guidage constituée de deux octapôles et une lentille électrostatique.

Dans le spectromètre de masse à piège quadripolaire LTQ, les ions sont focalisés par deux quadripôles et un octapôle. Le dernier quadripôle est coupé en trois parties. La partie centrale est trouée pour détecter les ions.

3. Fonctionnement de piège 3D et piège quadripolaire linéaire

Un quadripôle est constitué de quatre barreaux hyperboliques ou circulaires, les deux barres diamétralement opposés sont portées respectivement à un potentiel électrique Φ_0 et $-\Phi_0$ [9].

Ces potentiels génèrent un champ quadripolaire $\Phi = \frac{\Phi_0}{2r_0^2}(x^2 - y^2)$

Lorsque les ions sont accélérés dans la direction de Z, ils sont soumis à une force linéaire de composantes :

$$F_x = m\frac{d^2x}{dt^2} = -ze\frac{d\Phi}{dx}$$
$$F_y = m\frac{d^2y}{dt^2} = -ze\frac{d\Phi}{dy}$$
$$F_Z = 0$$

Avec m la masse d'un ion

Ces équations différentielles du deuxième ordre peuvent se mettre sous la forme des équations de Mattieu [10] dont les solutions ont été décrites il y a plus d'un siècle.

$$\frac{d^2u}{dt^2} + (a_u - 2q_u \cos 2\xi)u = 0$$

Où u la cordonnée des ions dans la direction x et y. Les changements de variable à introduire sont :

$$\xi = \frac{\Omega t}{2}, a_u = \frac{8zeU}{mr_0^2\Omega^2} \text{ et } q_u = \frac{4zeV}{mr_0^2\Omega^2}$$

Les conditions de stabilité de la trajectoire, déduites des solutions des équations de Mattieu sont imposés par les valeurs des paramètres a et q dans le plan (o.x.y). L'ensemble des solutions sont représentées sous la forme d'un « diagramme de stabilité », avec U est porté en fonction de V (figure 2.3).

En balayant les tensions U et V, mais en maintenant le rapport U/V constant, les ions des différentes masses seront transmis à condition que ce rapport U/V ne dépasse pas le diagramme de stabilité. La pente définie une valeur de résolution et de sensibilité.

En fixant un couple (U_i, V_i), on peut sélectionner un ion du rapport (m/z) donné. Le quadripôle peut être utilisé en mode RF seul pour transmettre les ions vers la sortie d'analyseur.

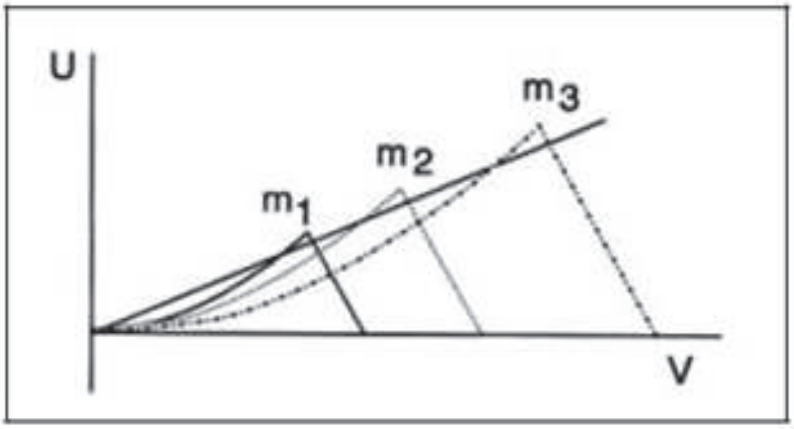


Figure 2.3 : U = f(V) pour les ions de masses $m_1<m_2<m_3$, d'après March 1989 [11]. La droite correspond au balayage des rapports m/z réalisé en faisant varier U et V à U/V constant

Un piège ionique 3D est constitué d'une électode centrale placée entre deux éléctrodes identiques appélées élecrodes chapeaux. Ces trois électrodes sont séparées par deux anneaux en quartz (figure 2.4).



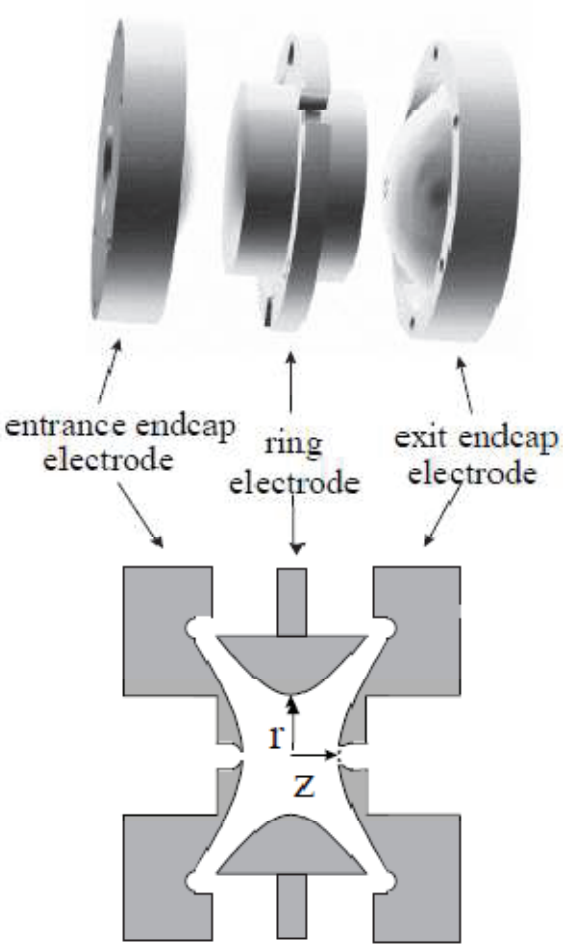


Figure 2.4 : le piège ionique 3D

Sur notre appareil LCQ, un potentiel périodique $\Phi_0 = U + V\cos(\Omega t)$ est appliqué sur l'électrode annulaire pour confiner les ions dans le piège. Pour l'éjection des ions du piège, des potentiels oscillants sont appliqués sur les électrodes chapeau.

Le champ quadripolaire dans le piège est :

$$\Phi_0(r,z,t) = \frac{\Phi_0(t)}{r_0^2}(r^2 - 2z^2) + \frac{\Phi_0}{2}$$

Avec $r^2 = x^2 + y^2$ et $r_0^2 = 2z_0^2$ (les conditions limites aux électrodes)

Le mouvement des ions dans le piège sous l'action d'un champ peut se résoudre par l'équation de Mattieu :

$$\frac{d^2u}{d\xi^2} + (a_u - 2q_u \cos 2\xi)u = 0$$

Avec u les cordonnées dans l'espace z ou r, $\xi = \frac{\Omega}{2}t$

$$a_z = -\frac{16zeU}{m(r_0 + 2z_0)^2\Omega^2} = -2a_r$$

$$q_z = +\frac{8zeV}{m(r_0 + 2z_0)^2\Omega^2} = -2q_r$$

Pour piéger un ion, il faut que leur tajectoire soit stable dans la direction axiale z et dans la direction radiale r et son amplitude de movement ne depasse pas les dimensions critiques (r_0 ,z_0).

La résolution des équations de Mathieu nécessite l'introduction d'un terme complexe

$\mu_u = \alpha_u + i\beta_u$, avec β_u est une fonction de d'a_u et de q_u

Pour que les ions possèdent une trajectoire stable, il faut que μ soit purement complexe

($\alpha_u = 0$) et β_u non entier.

La stabilité de la trajectoire d'un ion dans le piège est déterminée par β_u qui peut être representée par un diagramme de stabilité dans l'éspace (a_u,q_u) décrit sur la figure 2.5 (A). L'éspace (a_u,q_u) est constitué d'une serie de courbes iso-β_u qui correspondent à une série de points [(a_z,q_z),(a_r,q_r)]. Les courbes (iso-β_u = 0) et(iso-β_u = 1) constituent les limites de domaine de stabilité.

En pratique, en balayant V (U = 0), on peut effectuer un balayage de rapports m/z. Une ejection des ions par instabilité au point (a_z = 0, q_z = 0) permet d'obtenir un spectre de masse.

Pour mieux manipuler les ions le piège, il faut connaître leurs trajectoires. La résolution des équations de Mattieu par méthode analytique montre que la trajectiore d'un ion a une forme en « huit », appélée courbe de « Lissajou » (figure 2.5 (B))

(A) (B)

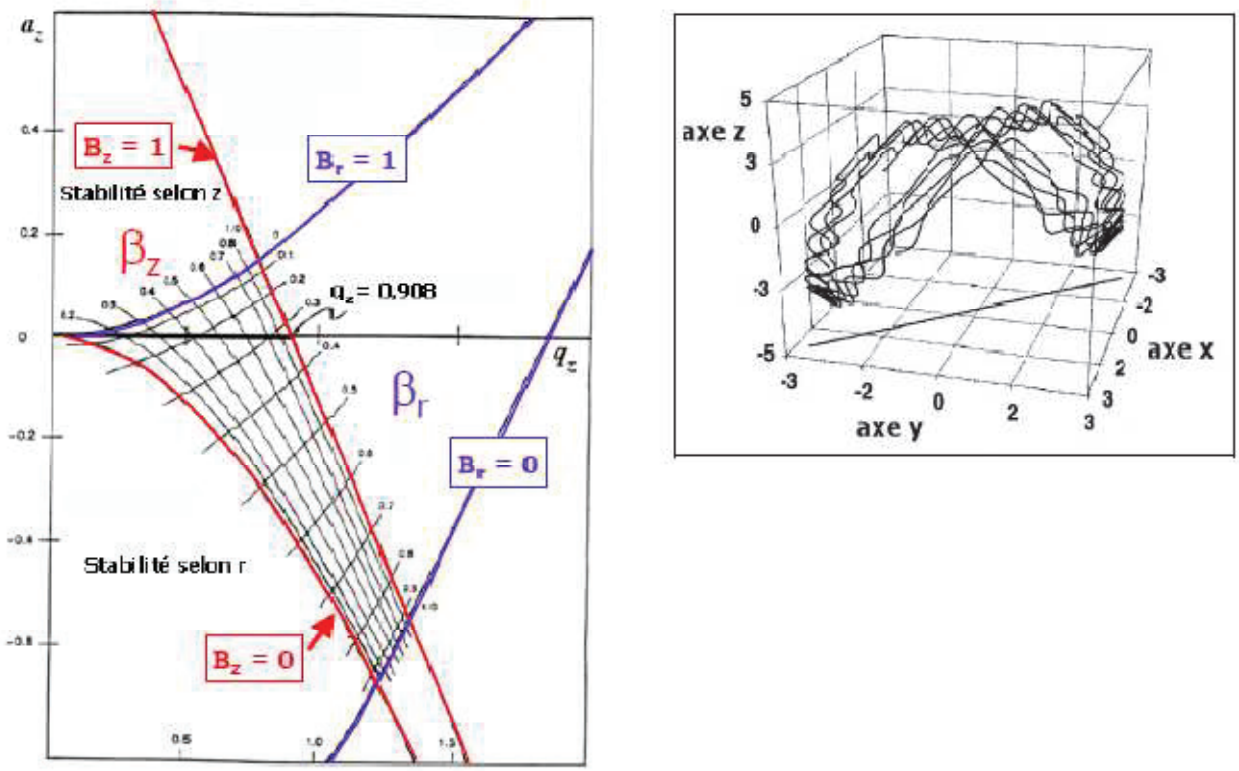


Figure 2.5 : Diagramme de stabilité dans l'espace (a_z, q_z) pour un piège ionique quadripolaire [11], March 1997 (A) et trajectoire des ions dans le piège quadripolaire obtenue par simulation [12] « Nappi » 1997 (B)

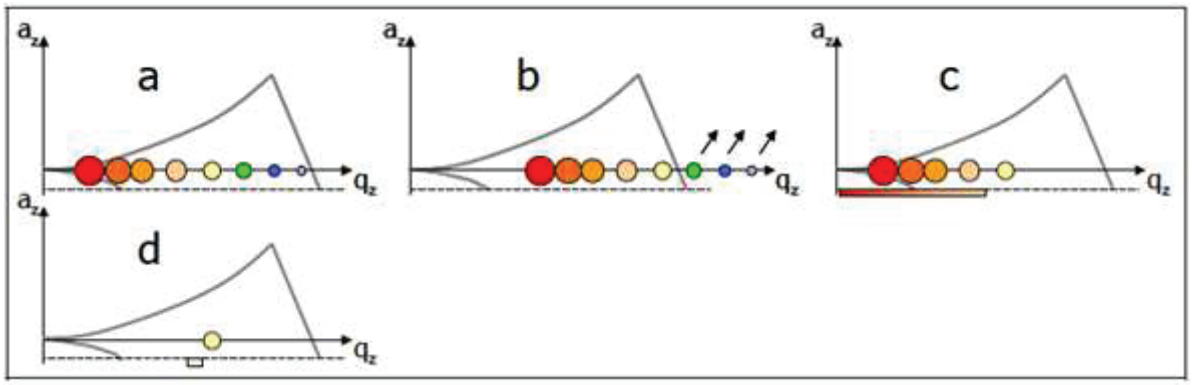
Dans le piège, la pression de gaz (hélium) est réglée à 10^{-3} torr pour déccelérer les ions et réduire leur trajectoire le plus possible. Cele permet aussi d'éviter leur fragmentation par collision. Dans le trappe 3D, la capacité de remplissage est très réduite (en générale ne dépasse pas quelques centeines d'ions). La saturation du piège provoque la dispersion des ions (effet de charge). L'effet de charge s'est traduit par la perte de résolution.

Pour éviter les conséquences de l'effet de charge, le nombre d'ions dans le piège est controlé par un système « Auto Gain Control » dans les trappes Thermofinnigan. Ce système consiste à stopper le remplissage du trappe lorsque la valeur seuil de « Auto Gain Control » est atteinte par modification des tensions de lentilles et des octapôles et permettre à la trappe de passer en mode « scan ».

La tension appliquée sur l'electrode annulaire est augmantée progressivement pour éjecter les ions. Chaque tension correspond à l'éjection d'un m/z particulier. Lorsque la vitesse d'éjection d'ions diminue, la résolution augmente mais la sensibilité diminue « mode haute résolution ».

- Isolation :

Avant l'excitation, l'ion est isolé dans la trappe en éjectant tous les ions. Ensuite, on effectue une rampe de tension pour éjecter les ions de masse inférieure à la masse de l'ion choisi (m_1) et ensuite on éjecte les ions de masse supérieure à m_1 en appliquant une tension résonnante sur l'électrode d'entré.



1. Piégeage d'ions de différents rapports m/z
2. Ejection d'ions de rapports (m/z) inférieurs à (m/z) de l'ion sélectionné
3. Ejection d'ions de rapports (m/z) supérieurs à (m/z) de l'ion sélectionné
4. Piégeage d'ions de différents rapports m/z

Figure 2.6 : les étapes de sélection d'un seul ion (m/z)

- Excitation :

L'ion sélectionné dans la trappe peut subir une série d'activations. Généralement l'activation par collision ou ce qu'on appelle la dissociation induite par collision (collision induced dissociation) est la technique la plus utilisée pour la caractérisation d'un échantillon. La collision de l'ion précurseur avec un gaz provoque leur fragmentation et la formation des ions fils. Cette séquence isolation/fragmentation peut être répétée n fois (expérience MS^N)

Notre étude a montré que les clusters les plus stables comme les clusters d'or stabilisés par les glutathions pourraient être piégés longtemps et leurs dissociations nécessitent une énergie cinétique assez importante. Par contre, les clusters fragiles se dissocient avec une faible énergie cinétique.

La CID constitue une technique potentielle pour la caractérisation des nanoclusters métalliques. Nous verrons dans le chapitre 3 et chapitre 4 que la fragmentation de clusters permet de sonder leurs propriétés structurelles.

II. Couplage spectrométrie de masse-laser

L'activation par laser est une nouvelle technique d'activation utilisée pour étudier les ions en phase gazeuse. L'ion tout d'abord piégé et excité par un faisceau laser. La réponse optique suite à l'excitation permet de sonder certaines propriétés optiques et électroniques.

La longueur d'onde choisie permet d'une manière précise de définir les modes d'excitation de l'ion, par exemple le laser infrarouge excite les modes vibrationnels. Par contre le laser ultraviolet visible permet d'exciter les modes électroniques.

En balayant la longueur d'onde dans une gamme bien définie, on va pouvoir déterminer les spectres d'activation en phase gazeuse (spectre de photodétachement ou spectre de photofragmentation) d'un ion et étudier l'effet de solvants.

1. Laser

Lors de ce travail de thèse, nous avons utilisé deux lasers accordables en longueur d'onde. Ils sont composés d'un oscillateur paramétrique optique (OPO) pompé par un laser Nd^{3+} : YAG (grenat d'yttrium aluminium dopé au néodyme $Y_3Al_5O_{12}$). Le premier laser, couplé avec le spectromètre de masse LCQ^{Duo}, est pompé par un laser PowerLite™ de fréquence 20 Hz. Le

deuxième laser, couplé avec le spectromètre de masse LTQ, est pompé par un laser Surelite II de frèquence 10 Hz.

Chaque laser est constitué par un amplificateur et un oscillateur (figure 2.7). L'oscillateur fournit des impulsions laser à 1064 nm de 5 ns et l'amplificateur permet d'augmenter la puissance. Un doubleur composé d'un cristal BBO (bêta borate de baryum) est monté à la sortie de l'amplificateur permet de doubler le faisceau initial et donne un faisceau à 532 nm et un faisceau à 1064 nm. Ces deux faisceaux passent par un tripleur BBO pour obtenir un faisceau à 355 nm avec une énergie par pulse de 150 mJ (160 mJ pour le deuxième laser) et d'une largeur d'impulsion de 5 ns.

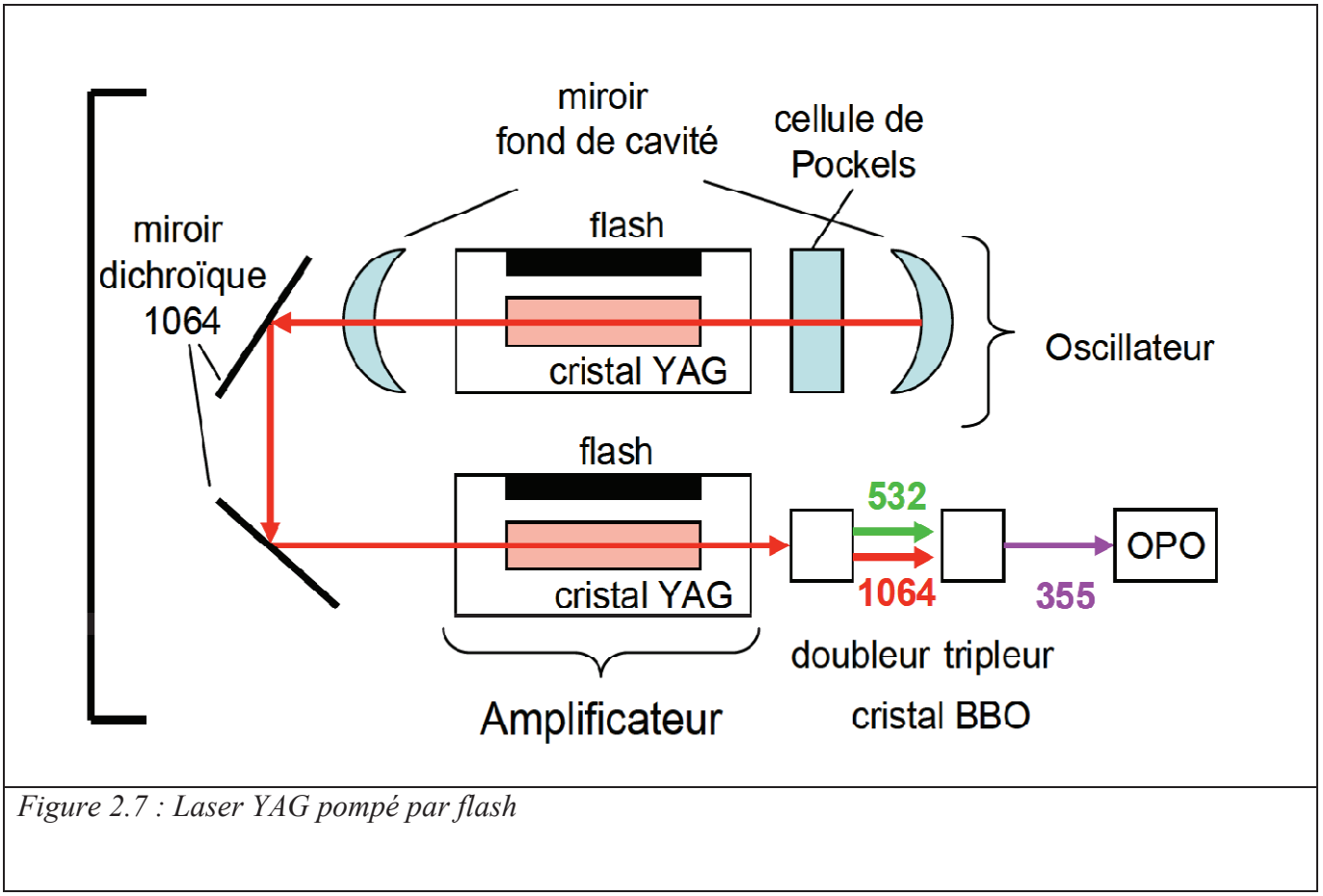


Figure 2.7 : Laser YAG pompé par flash

Le faisceau à 355 nm est injecté dans l'OPO (OPO Panther™ pour le premier laser et OPO Panther™ Ex pour le deuxième laser). L'OPO est constitué d'un cristal BBO, une lame compensatrice, deux cristaux BBO et un prisme.

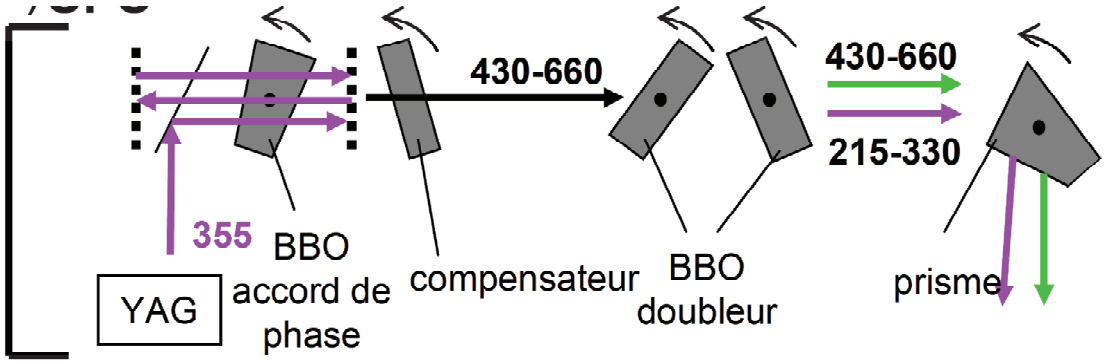
Le premier cristal BBO permet de balayer les longueurs d'onde de 410 nm à 710 nm et de 710 à 2200 nm par la relation d'accord de phase :

$$\lambda_{pompe}^{-1} = \lambda_{signal}^{-1} + \lambda_{idler}^{-1}$$

La lame compensatrice est utilisée pour corriger la déviation due aux multiples passages dans le cristal. Les deux cristaux BBO permettent de doubler la fréquence et d'obtenir les longueurs d'onde de 215 nm à 355 nm et celles de 355 nm à 410 nm. Les longueurs d'onde seront séparées par un prisme.

La figure 2.8 montre la production de faisceau UV-Visible par l'OPO et la courbe d'énergie en fonction de la longueur d'onde.

(A)



(B)

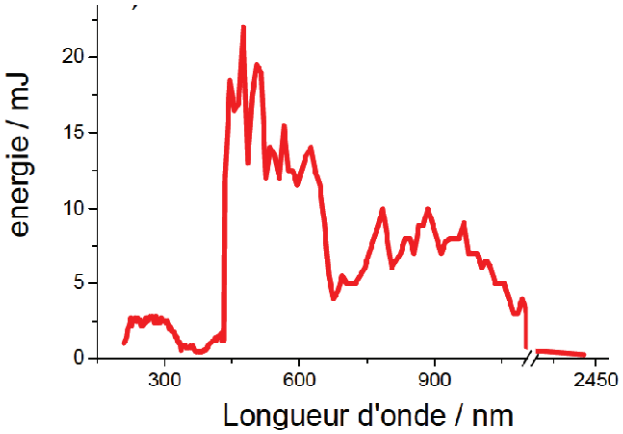


Figure 2.8 : Production de faisceau UV-Visible par OPO (A) et l'énergie en fonction de la longueur d'onde (B)

2. Couplage : piège-laser

2.1. Accès optique aux ions piégés

L'injection de faisceau laser dans la trappe est l'étape la plus difficile puisque les deux spectromètres de masse LCQ et LTQ sont des appareils commerciaux. Il faut donc modifier les deux pièges et trouver un chemin optique pour injecter le faisceau.

- LCQ

Pour le spectromètre de masse à piège ionique LCQ, les modifications ont été réalisées à deux niveaux [13]. L'enceinte principale du spectromètre de masse est percée pour créer une ouverture dans le niveau où se trouve le centre de l'électrode annulaire. Sur le même axe, une deuxième ouverture a été réalisée permettant le passage d'une fibre optique. L'électrode annulaire est percée au centre pour injecter le faisceau. Ces trous ont été réalisés de façon optimale (3mm de diamètre) pour conserver le champ quadripolaire au centre du piège.

Deux fenêtres en saphir sont montées aux ouvertures de l'électrode qui permettent de conserver la pression à l'intérieur du piège. La première fenêtre permet le passage du faisceau laser issu de l'OPO et la deuxième fenêtre située à l'arrière de l'électrode permet le passage d'un laser Hélium/Néon utilisé pour aligner le laser UV/Visible à l'intérieur du piège.

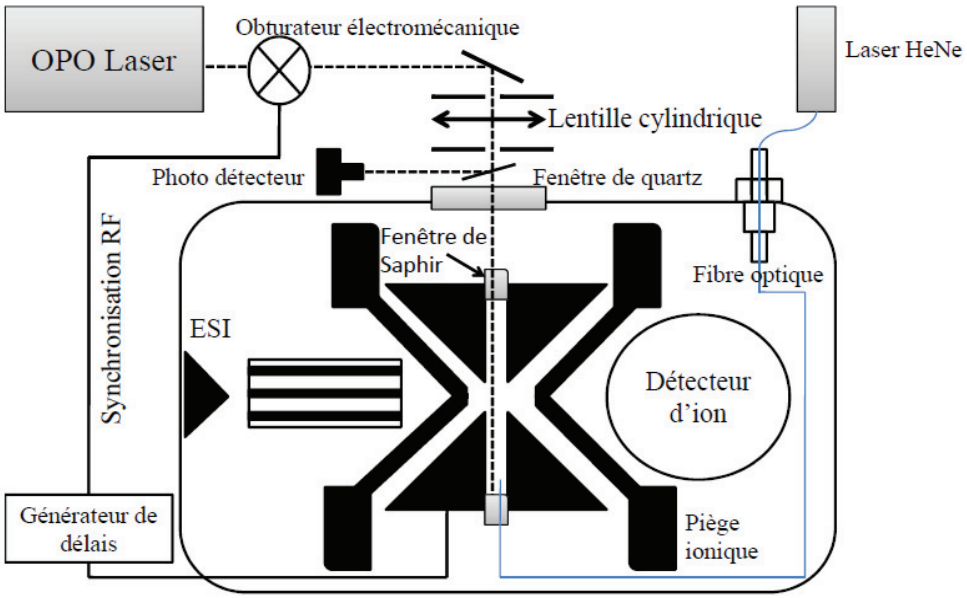
Le faisceau laser issu de l'OPO est focalisé au centre du piège par un système optique constitué d'un miroir, une succession de diaphragmes et une lentille cylindrique convergente de 500 mm de diamètre. Le trou sur l'enceinte extérieur est scellé par une fenêtre en quartz.

- LTQ

L'enceinte extérieure du spectromètre de masse a été percée au niveau de l'axe du piège linéaire pour injecter le laser [14]. Le trou est scellé par une fenêtre de quartz pour conserver les caractéristiques de la spectrométrie. Le faisceau est focalisé par des lentilles et des diaphragmes.

Dans les deux expériences, on dispose une lame demi-onde et un cube polariseur sur le chemin optique pour que la réponse optique soit produite par l'absorption d'un seul photon. Les expériences du taux de photodétachement en fonction de puissance laser sont réalisées en prenant un spectre de masse à chaque valeur de la puissance laser sans changer la longueur d'onde.

(A)



(B)

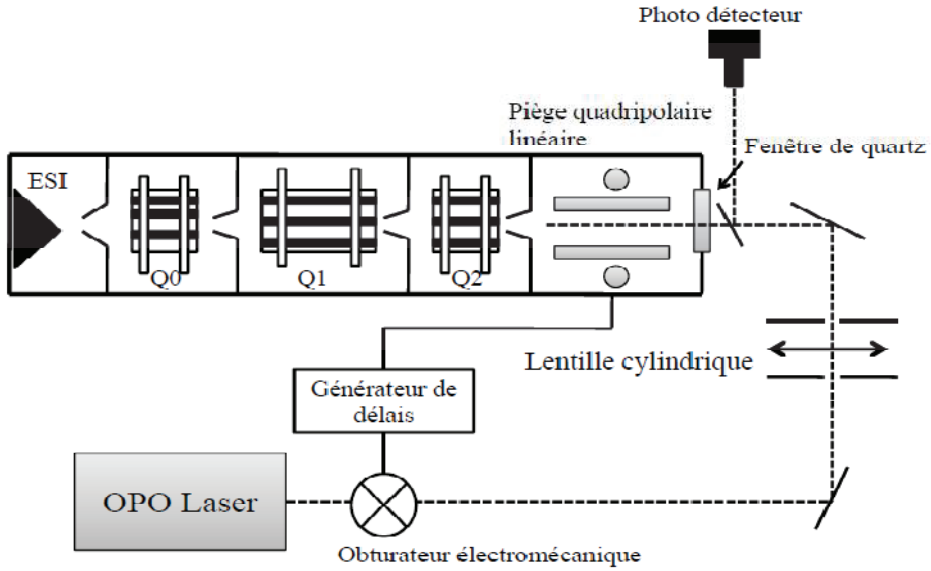


Figure 2.9 : Couplage spectromètres de masse-laser : spectromètre de masse à piège ionique 3D couplé avec un laser OPO [13] (A) et spectromètre de masse à piège linéaire couplé avec un laser OPO [14](B)

2.2. Synchronisation du spectromètre de masse avec laser

Dans le piège, l'ion à étudier est sélectionné avec une largeur (Δm) et une énergie cinétique nulle. Pour synchroniser le faisceau laser avec l'ion, un obturateur électromécanique est placé sur le chemin optique. Il est fourni via un générateur de délai. Le temps d'activation choisi dans le logiciel du spectromètre de masse est égal à la durée d'ouverture de l'obturateur qui correspond au nombre d'impulsion laser.

III. Méthodes de caractérisation

Au cours de ce travail de thèse nous avons utilisé trois techniques de caractérisation pour l'analyse des clusters d'or (ou d'argent) stabilisés par des ligands thiolés : l'électrophorèse sur gel, la spectrophotométrie dans le domaine UV-Visible, la spectrofluorimétrie dans le domaine UV-Visible.

1. Séparation sur gel de polyacrylamide et chromatographie

Malgré les efforts qui ont été réalisés pour synthétiser une solution monodisperse, la majorité des méthodes de synthèse donnent des clusters d'or polydisperses. Pour étudier l'effet de la taille sur les propriétés intrinsèques des clusters, il est nécessaire de séparer les clusters polydisperses formés en solution.

Dans la littérature, les méthodes expérimentales utilisées pour la séparation de clusters sont la cristallisation fractionnée et la purification par différents solvants [15], la chromatographie et la séparation sur gel d'électrophorèse. Par exemple, le cluster $Au_{11}Cl_3(PPh_3)_8$ a été obtenu par cristallisation de DCM-hexanes [16] et le cluster $Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)_{18}$ est extrait de la solution brute par acétonitrile. Différentes méthodes chromatographiques comme la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP), la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et l'électrophorèse capillaire ont été utilisées pour la purification et l'isolation des clusters métalliques [17].

La séparation sur le gel d'électrophorèse a été largement utilisée pour la séparation des clusters métalliques de taille inférieure à 2 nm en les faisant migrer à travers un gel par l'application d'un champ électrique.

Pour la première fois, cette technique a été employée par l'équipe de R.L.Whetten pour séparer les clusters d'or stabilisés par les glutathions synthétisés dans une solution polydisperse. L'optimisation des paramètres de synthèse a permis la formation d'une large

gamme de clusters, comme le montre la séparation sur le gel d'électrophorèse [18]. En plus des clusters d'or, des clusters d'argents stabilisés par les glutathions ont été récemment synthétisés en solution et séparés sur le gel [19].

- **Principe**

La technique d'électrophorèse en gel est basée sur la séparation d'un échantillon polydisperse sous l'effet d'un champ électrique (figure 2.10). Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel : l'échantillon (molécule ou cluster) de plus petite taille se déplace plus rapidement et migrera plus loin que les échantillons de tailles supérieures. Les avantages de l'électrophorèse en gel sont nombreux comme la préparation aisée, les échantillons peuvent être récupérés en vue d'analyses supplémentaires. Cependant l'optimisation des conditions expérimentales sont nécessaires pour bien séparer les échantillons. Par exemple, l'augmentation de la concentration de gel réduit la vitesse de migration et permet dans certains cas la dissociation de l'échantillon. Plus le voltage appliqué est important, plus la vitesse de migration augmente. Toutefois le voltage est limité en intensité, effectivement un fort voltage induit une augmentation de température ce qui peut faire fondre le gel.

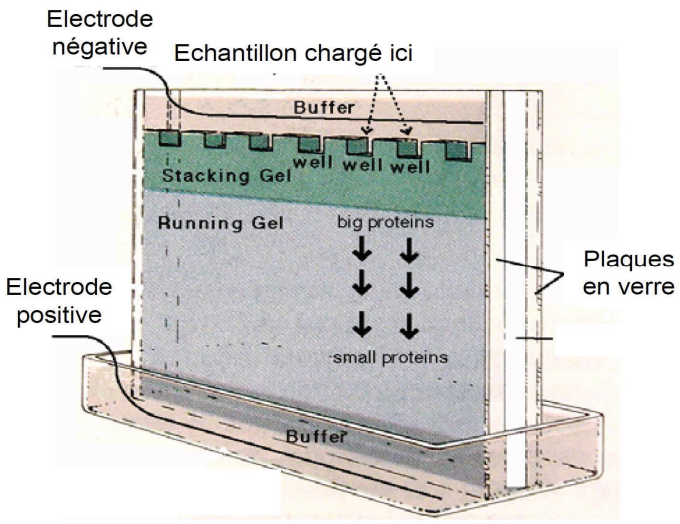


Figure 2.10: Principe de la séparation sur le gel d'électrophorèse

2. Spectroscopie en solution

2.1. Principe général

Lorsqu'une molécule absorbe un photon d'énergie $h\nu_{ex}$, les électrons vont passer de l'état fondamental S_0 à l'état excité S_n. Pour que ce phénomène se réalise, il faut que l'énergie $h\nu_{ex}$ du photon incident soit au moins égale à la différence d'énergie entre le niveau électronique de plus basse énergie des bandes S_0 et S_1.

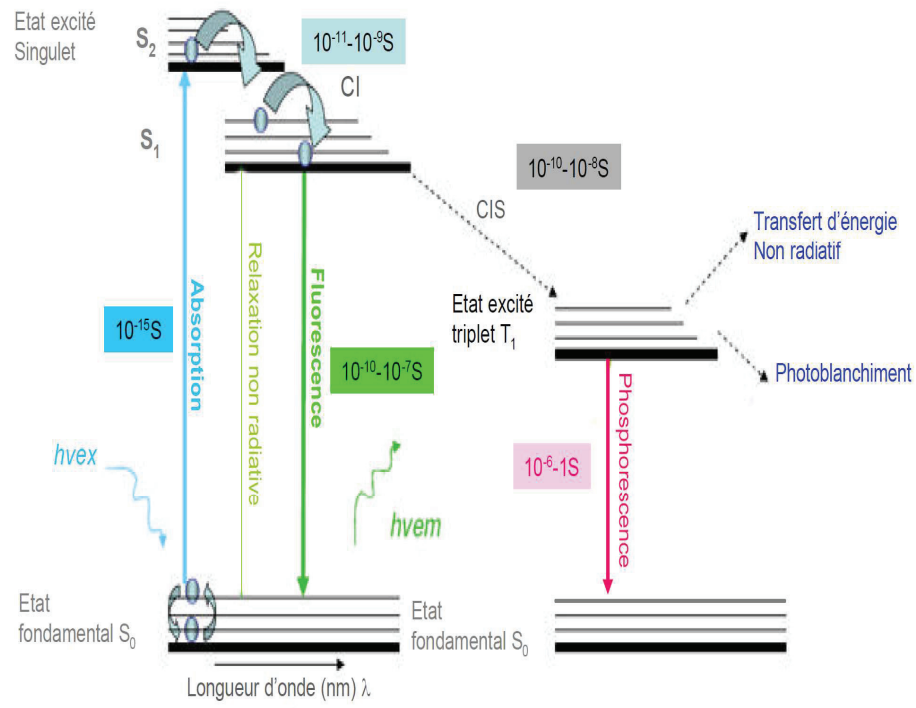


Figure 2.11 : Diagramme de Perrin-Jablonski [20]

Il existe deux voies de désactivation de la molécule excité :

- Les processus non radiatifs : relaxation vibrationnelle, conversion interne, conversion inter-système singulet-triplet, transfert d'électron, séparation de charges, réaction chimique
- Les processus radiatifs : ce sont les transitions des états excités S_1 vers l'état fondamental S_0. Cette transition provoque l'émission d'un photon d'énergie $h\nu_{em}$. En général, les molécules se relaxent vibrationnellement de l'état excité où ils se trouvent après l'absorption de l'énergie $h\nu_{ex}$ vers le bas de l'état du niveau excité.

Des transitions directes de l'état excité vers l'état fondamental sont possibles mais elles ont des probabilités très faibles. Lorsque l'énergie $h\nu_{em}$ est égale à la différence d'énergie entre le niveau vibrationnel le plus bas de la bande S_1 et l'un des niveaux vibrationnels de l'état fondamental S_0, ces transitions constituent la luminescence d'une molécule. Il excite deux types de luminescence : la fluorescence et la phosphorescence. La première, la fluorescence, correspond à une désexcitation radiative d'un électron du niveau singulet vers un niveau singulet fondamental. La phosphorescence quant à elle, correspond à l'émission de lumière entre deux états de multiplicités différentes (triplet T_1 – singulet fondamental S_0).

2.2. Spectrophotomètre dans le domaine UV-Visible

Pour un milieu liquide homogène et isotrope traversé par un faisceau lumineux monochromatique d'intensité I_0, l'absorbance $A(\lambda)$ de ce faisceau par le milieu est définie par la loi de Beer-Lambert comme une entité proportionnelle à la longueur l (cm) du trajet optique suivi par le faisceau et la concentration C (mol/L) des espèces absorbantes en solution :

$$A(\lambda) = -log_{10}\frac{I}{I_0} = \varepsilon_\lambda . l . C$$

avec $\boldsymbol{\frac{I}{I_0}}$ est la transmittance de la solution et $\boldsymbol{\varepsilon_\lambda}$ est le coefficient d'extinction molaire ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$).

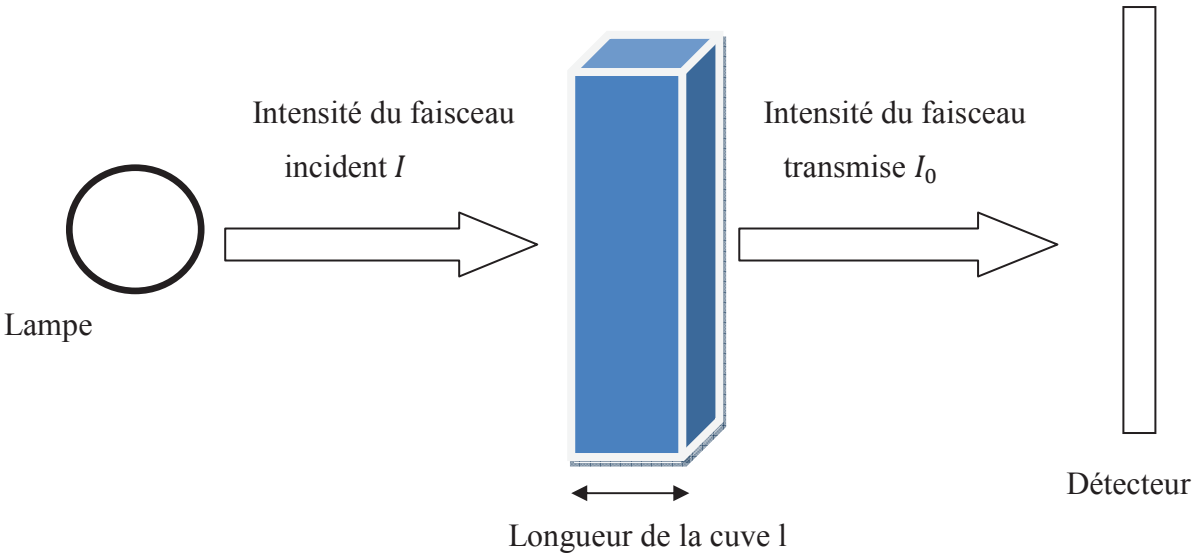


Figure 2.12 : Schéma de l'absorption en solution

➢ **Matériel utilisé**

La spectrophotométrie utilisée pour faire les mesures d'absorbance est une spectrophotométrie UV-Visible à double faisceau de la marque Avantes. Cet appareil permet d'obtenir des spectres de 280 à 800 nm en utilisant des cuves en quartz.

2.3. Spectrofluorimétrie dans le domaine UV-Visible

La spectrofluorimétrie est utilisée pour déterminer les spectres d'émission et d'excitation.

- Le spectre d'émission : il correspond à l'excitation de l'échantillon par une longueur d'onde fixée. Cette longueur d'onde dite d'excitation est choisie grâce à la littérature ou au sein d'une bande forte d'absorption conduisant à une fluorescence ; on pourra choisir $\lambda_{ex.}$ vers un maximum d'absorption. Ensuite, on balaye la longueur d'onde d'émission en mesurant l'intensité de la fluorescence. On obtient un spectre d'émission.
- Le spectre d'excitation : Il correspond à l'excitation de l'échantillon dans une gamme de longueur d'onde choisie par l'utilisateur. On fixe une longueur d'onde d'émission

(vers un maximum d'émission) et on balaye la longueur d'onde d'excitation en mesurant l'intensité de fluorescence.

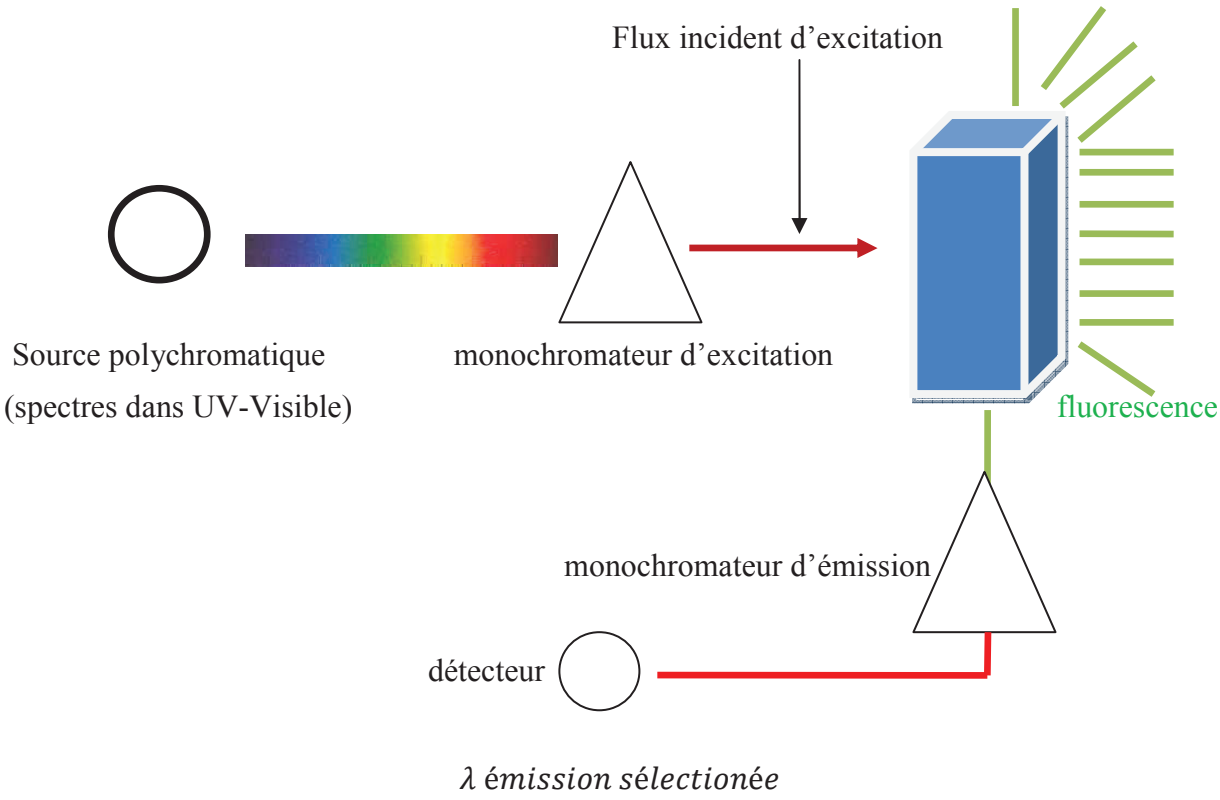


Figure 2.13 : Schéma du principe de la spectrofluorimétrie

- **Matériel utilisé**

Pour mesurer les spectres d'émission et d'excitation, nous avons utilisé une spectrofluorimétrie Fluoromax 4 de la société Horiba Jobin-Yvon. L'appareil permet de réaliser des spectres d'émission entre 200 et 950 nm ainsi que des spectres d'excitation entre 200 et 950 nm.

IV. Bibliographie

(1) Fen, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. *Science* **1989**, *4926*, 64.

(2) Rohner, T. C.; Lion, N.; Girault, N. H. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2004**, *6*, 3056.

(3) Smith, D. P. H. *IEEE Transactions on Industry Applications* **1986**, *22*, 527.

(4) Taflin, D. C.; Ward, T. L.; Davis, E. J. *Langmuir* **1989**, *5*.

(5) Gomez, A.; Tong, K. Q. *Physics of Fluids* **1994**, *6*, 404.

(6) Dole, M.; Mack, L. L.; Hines, R. L.; Mobley, R. C.; Ferguson, L. D.; Alice, M. B. *Journal of Chemical Physics* **1968**, *49*, 2240.

(7) Iribarne, J. V.; Thomson, B. A. *Journal of Chemical Physics* **1976**, *64*, 2287.

(8) Thomson, B. A.; Iribarne, J. V. *Journal of Chemical Physics* **1979**, *71*, 4451.

(9) Paul, W. *Reviews of Modern Physics* **1990**, *62*, 531.

(10) Dawson, P. H. *Elsevier* **1976**.

(11) March, R. E. *Journal of Mass Spectrometry* **1997**, *32*, 351369.

(12) Nappi, M.; Weil, C.; Cleven, C. D.; Horn, A.; Wollnik; Cooks, R. G. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* **1997**, *161*, 77.

(13) Dugourd, P.; Antoine, R.; Broyer, M.; Talbot, F. O. *p. WO 2006/064132 A1* **2006**.

(14) Antoine, R.; Joly, L.; Tabarin, T.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Lemoine, J. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 265.

(15) Alvarez, M. M.; Khoury, J. T.; Schaaff, T. G.; Shafigullin, M. N.; Vezmar, I.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1997**, *101*, 3706.

(16) Yang, Y.; Chen, S. *Nano Letters* **2003**, *3*, 75.

(17) Tsunoyama, H.; Negishi, Y.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 6036.

(18) Negishi, Y.; Nobusada, k.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 5261.

(19) Kumar, S.; Bolan, M. D.; Bigioni, T. P. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 13141.

(20) Petit, A. *Techniques d'analyses* **2002**, 18.

Chapitre 3 : Étude spectroscopique des clusters d'or stabilisés par les glutathions

I. Introduction

Les nanocristaux semi-conducteurs ou les quantum dots sont largement utilisés comme marqueurs optiques dans différents domaines pour leurs propriétés optiques. Cependant leur taille et leur toxicité limite leurs applications surtout en biologie. Les clusters métalliques de taille intermédiaire entre une molécule et un solide massif constituent une alternative prometteuse en raison de leur faible toxicité et leurs propriétés optiques intéressantes comme la fluorescence [1], l'absorption [2,3], le ferromagnétisme [4]…. Ces clusters peuvent également être utilisés dans plusieurs applications comme catalyseurs [5] ou encore pour le développement de nouveaux matériaux [6]…. En effet, les clusters d'or stabilisés par des ligands thiolés (RS) représentent des objets parfaitement adaptés non seulement par leurs propriétés intrinsèques mais aussi par leur gamme de taille qui leur confère une bonne biocompatibilité et biodisponibilité.

Dans la littérature, deux méthodes de synthèses des clusters d'or thiolés ont été développées ; i) synthèse d'une solution contenant de clusters de différentes tailles [2,3,7,8] et ii) synthèse favorise la formation d'un seul cluster [9,10]. La deuxième méthode a été développée récemment afin d'optimiser la quantité obtenue après la synthèse.

La spectroscopie d'absorption et de photoluminescence ainsi que la spectrométrie de masse sont autant de techniques classiques permettent l'analyse de clusters. Le spectrophotomètre permet de déterminer le spectre d'absorption de l'échantillon. Une des caractéristiques du spectre d'absorption est la présence de bandes qui dépendent de la taille et du type de l'espèce étudiée. Pour les nanoparticules de taille supérieure à 2 nm, les bandes observées sont attribuées au phénomène de résonance des plasmons de surface (l'excitation de nanoparticules par la lumière provoque l'oscillation des électrons de valence). Lorsque la taille de nanoparticules diminue en dessous de 2 nm et devient comparable à la longueur d'onde de Broglie, la densité d'état se divise sous l'effet du confinement. Il en résulte des propriétés optiques ressemblant aux propriétés d'une molécule ou d'un atome. Les spectres d'absorption des clusters métalliques de taille inférieure à 2 nm sont caractérisés par de faibles bandes attribuées aux transitions électroniques entre l'orbitale haute occupé (HOMO) et l'orbitale basse vacante (LUMO). Ces bandes dépendent de la nature du cluster, sa taille et du type de

ligand utilisé. À titre d'exemple, plusieurs clusters d'or stabilisés par les glutathions (SG) ont été synthétisés en solution, séparés sur le gel d'électrophorèse et caractérisés par différentes méthodes d'analyses [2]. Les spectres d'absorption de clusters ont montré l'effet de taille sur l'absorption (la bande la plus intense) ; lorsque la taille augmente (nombre d'atomes d'or et nombre des ligands), la bande d'absorption se déplace vers le rouge. Bien que la taille soit un paramètre primordial affectant les propriétés optiques, les ligands peuvent y contribuer, principalement dans la fluorescence. Récemment une étude menée par l'équipe de R. Jin a montré la contribution de ligands dans la fluorescence du cluster Au_{25}[11].

Pour étudier l'effet de la taille sur les propriétés optiques de clusters, il est important de déterminer le nombre d'atomes d'or et le nombre de ligands $Au_x(SG)_y$. Le spectromètre de masse couplé à une source d'ionisation douce est une technique très utilisée pour déterminer la stœchiométrie exacte du cluster.

Dans ce chapitre, nous allons présenter les résultats obtenus sur les clusters d'or stabilisés par les glutathions. Ce sont les premières études spectroscopiques réalisées sur des clusters métalliques stabilisés par des ligands thiolés. Dans une première partie, je présenterai les expériences CID (collision induced dissociation) et LID (Laser induced Dissociation) réalisées sur le cluster le plus stable $Au_{25}(SG)_{18}$. L'objectif de nos recherches est de sonder quelques propriétés structurelles, optiques et électroniques ; nous verrons que la CID fragmente les liaisons peptidiques de ligands et l'excitation laser détache un électron. L'effet du solvant sur les propriétés intrinsèques du cluster a été aussi étudié en comparant le spectre du taux de détachement électronique obtenu par les expériences de photodétachement au spectre d'absorption de la solution.

Dans une deuxième partie, nous allons nous intéresser aux petits clusters d'or stabilisés par les glutathions. D'abord, je présenterai les expériences CID réalisés sur ces clusters afin de sonder quelques propriétés structurelles. Ensuite, nous nous focaliserons sur l'étude de leurs propriétés électroniques via le dépouillement des structures isotopiques expérimentales.

II. Caractérisation et étude spectroscopique du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

Après le fameux article de R.L.Whetten sur la synthèse et la caractérisation des clusters d'or stabilisés par les glutathions en 1998 [3], Tsukuda a entrepris une étude de caractérisation sur les différentes bandes séparées sur le gel d'électrophorèse, en particulier celles qui n'ont pas été identifiées [8]. L'analyse par un spectromètre de masse a montré que chaque bande possède plusieurs clusters de différentes tailles. Un an plus tard, la séparation de clusters sur le gel d'électrophorèse a été réalisée et leurs formules exactes $Au_x(SG)_y$ ont été identifiées [2]. Parmi ces clusters, l'$Au_{25}(SG)_{18}$ est considéré comme le plus stable. Tsukuda a synthétisé ce cluster par échange de ligands entre le cluster $Au_{11}PPh_3$ et les glutathions [12]. Pradeep a développé une synthèse pour synthétiser l'$Au_{25}(SG)_{18}$ avec une grande quantité [9]. Par échange de ligands entre les nanoparticules d'or de taille supérieure à 2 nm stabilisés par l'acide dimercaptosuccinique DMSA et le glutathion, Pradeep a pu synthétiser deux types des clusters dont l'$Au_{25}(SG)_{18}$ est l'espèce majoritaire [13]. En 2009, R. Jin a développé une méthode de synthèse sans séparation sur gel pour synthétiser l'$Au_{25}(SG)_{18}$[10].

La stabilité du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ en solution nous a motivée pour étudier ses propriétés optiques en phase gazeuse. La dissociation induite par collision (CID) et l'activation laser (LID) sont les deux expériences que nous avons réalisées sur ce cluster.

Après un paragraphe sur la synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$, nous discuterons les résultats obtenus sur ce cluster.

1. Synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

1.1. Choix du ligand

La formation des clusters d'or stabilisés par des ligands thiolés en solution suit en général le protocole suivant ; le sel d'or (Au^{3+}) est d'abord réduit par les thiols pour former des complexes $Au_x(SG)_y$. Ces ions sont de nouveau réduits par un agent réducteur (généralement borohydrure de sodium), provoquant la formation d'un cœur métallique stabilisé par les atomes de soufre. La taille et la forme finale de clusters sont sensibles à de nombreux paramètres comme la quantité utilisée de sel d'or et du ligand (rapport Au/SR), la force de l'agent de réduction, la température de la réaction, la vitesse de l'agitation….Par comparaison avec la glycine et l'acide mercaptosuccinique [7], le glutathion permet de former une large

gamme de clusters [2]. Cela est principalement dû à la structure du glutathion qui peut se replier sur les atomes condensés (cœur) pour former plusieurs clusters.

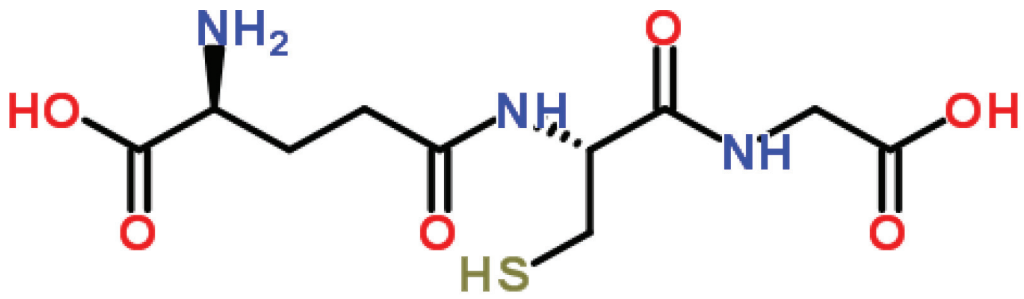


Figure 3.1 : La structure chimique du glutathion

Le glutathion est un tri-peptide ($GSH = \gamma - Glu - Cys - Gly$) qui possède deux groupes acides carboxyliques (COOH) et un groupe amine primaire (NH_2) (figure3.1) ce qui permet d'avoir de clusters globalement chargés négativement à pH neutre. En spectrométrie de masse, le mode d'ionisation négative est donc privilégié pour leurs détections.

1.2. La méthode de synthèse

La méthode de préparation utilisée dans ce travail de thèse pour la synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ a été développée en 2008 par E.S. Shibu et son équipe [9]. Ce procédé permet d'obtenir une grande quantité du cluster relativement pur (rendement supérieur à 50%), sans avoir besoin de séparation par gel d'électrophorèse.

Cette synthèse se fait en deux étapes. Tout d'abord une solution polydisperse des clusters est préparée. Pour cela, 1 mmol du glutathion (GSH) est ajouté à une solution méthanolique d'acide chloraurique $HAuCl_4$ (50 mL , 0.25 mmol). Le mélange est agité 30 minutes à 0 °C dans un bain de glace. On ajoute alors rapidement une solution aqueuse de borohydrure de sodium (0.2 mmol de $NaBH_4$, 12.5 mL) refroidie à 0 °C et on laisse le mélange réagir sous agitation pendant une heure. Le précipité obtenu est récupéré puis lavé plusieurs fois par des cycles centrifugation/dispersion avec du méthanol avant d'être séché. La poudre obtenue est

un mélange polydisperse des clusters $Au_x(SG)_y$. La séparation par gel d'électrophorèse montre la présence de plusieurs clusters parfaitement définis [2].

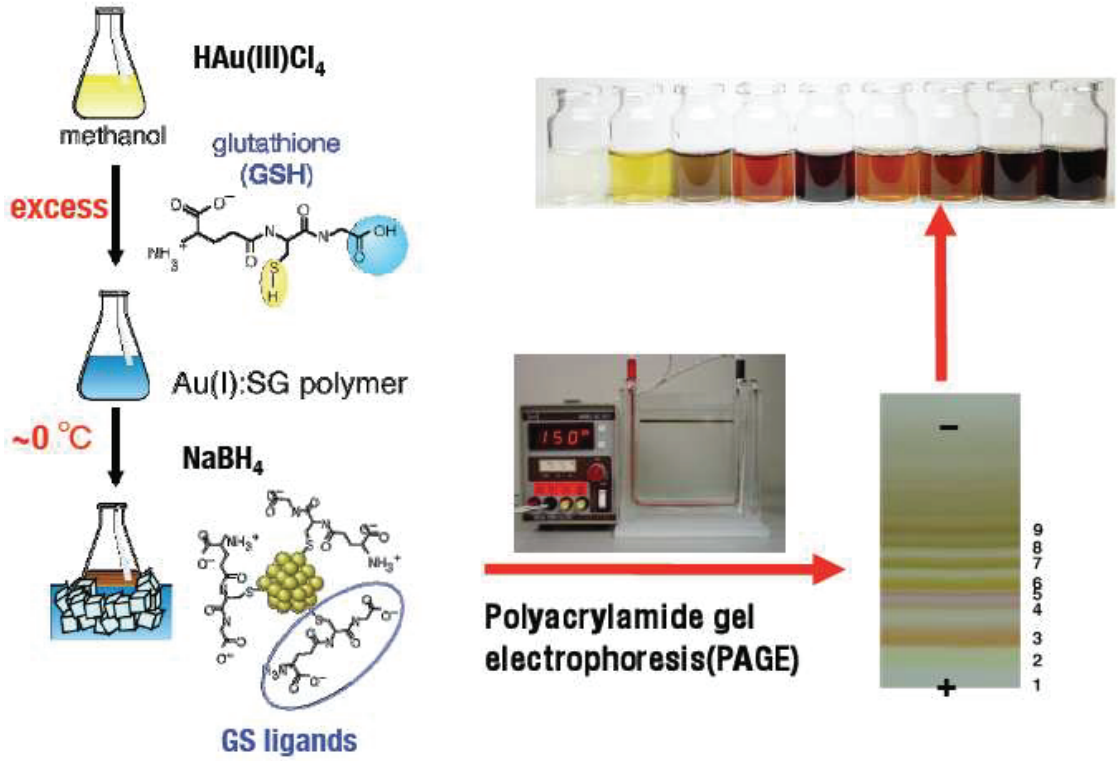
La deuxième étape consiste à utiliser la stabilité particulière du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. La poudre précédemment obtenue est dissoute dans une solution aqueuse du glutathion (50 ml, 1 mmol du GSH) et chauffée à 55 °C sous agitation pendant 12 heures. Le précipité alors formé est éliminé de la solution par centrifugation, puis l'addition du méthanol au surnageant conduit à la précipitation du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. La poudre obtenue est lavée plusieurs fois avec du méthanol avant d'être séchée sous vide. La poudre est conservée dans un réfrigérateur à -18 °C afin d'éviter la décomposition du cluster.

La figure 3.2 montre les étapes de synthèse d'une solution polydisperse $Au_x(SG)_y$ et la synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ à partir de cette solution.

1.3. Préparation de l'échantillon

Les conditions de préparation des solutions pour étudier les clusters $Au_x(SG)_y$ par spectrométrie de masse sont importantes. Typiquement seul l'eau permet une bonne solubilisation de ces clusters. On peut y ajouter une quantité du méthanol afin d'obtenir un spray plus stable, mais si l'on dépasse 50% en volume, la stabilité est compromise et l'on assiste à une précipitation lente des clusters. Dans nos expériences, les solutions préparées sont des solutions uniquement aqueuses d'environs 1 mg du cluster pour 4 ml d'eau. Le pH peut être modulé en ajoutant une solution d'ammoniaque ou d'acide acétique en fonction du nombre de charge que l'on désire observer en spectrométrie de masse. Ces solutions aqueuses peuvent être gardées plusieurs mois au congélateur sans dégradation observable.

(A)



(B)

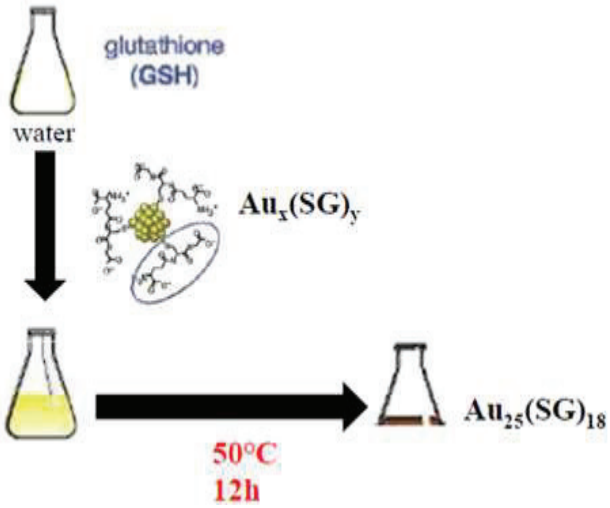


Figure 3.2 : Les étapes de synthèse d'une solution polydisperse $Au_x(SG)_y$ [2](A) et la méthode synthèse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ [9](B).

2. Optimisation des paramètres de la source pour la détection des clusters

Dans le cadre de ce travail expérimental et pour mieux caractériser les clusters, trois types de spectromètres de masse ont été utilisés ; spectromètre de masse à triple quadripôle (TQ), spectromètre de masse à piège linéaire (LTQ) et spectromètre de masse à piège ionique (LCQ). Les premiers tests de caractérisation des clusters d'or ont été effectués sur le triple quadripôle couplé à une source d'ionisation douce ESI. Cette dernière ne possède pas de capillaire de transfert chauffé qui facilite la désolvatation de clusters. L'absence de cette option a des conséquences négatives sur le fonctionnement de la source, en particulier des problèmes de bouchage qui nécessitent des changements fréquents du capillaire.

Après l'optimisation des paramètres de la source et surtout la tension du cône (Declustering potentiel), on a pu détecter les différents états de charge du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. La limite de la résolution du spectromètre de masse n'a pas permis d'identifier les différents fragments. Nous avons donc utilisé deux spectromètres de masse à haute résolution LCQ et LTQ (thermo finnigan). Ces deux dispositifs sont bien adaptés pour l'analyse des ions par (CID) ou par laser (LID) comme l'ADN [14], les peptides [15-18], ou de petits clusters d'or et d'argents [19].

Pour détecter les différents états de charge du cluster, plusieurs paramètres de la source sont optimisés. Citons par exemple la température du capillaire, les tensions des lentilles de transfert... Il faut également mentionner que les réglages doivent être optimisés pour chaque cluster.

La plupart des études ont été réalisées en mode d'ionisation négatif puisque le détachement d'électron sous excitation laser n'est pas observé en mode positif. Pour avoir cet événement, il faut produire des ions chargés négativement. Les clusters d'or stabilisés par les glutathions sont dissous dans des solutions aqueuses et avec lesquelles la production d'ions négatifs multichargés est possible.

Pour éviter toute erreur sur la détermination de la masse, la calibration du spectromètre est assurée par une protéine de grande taille (Ubiquitine). Les structures isotopiques expérimentales de protéine (C^{6-} et C^{7-}) sont parfaitement en accord avec les structures isotopiques théoriques sans aucune correction (figure 3.3). Avec cette résolution, on va pouvoir déterminer la structure isotopique d'un état de charge du cluster et déduire le nombre de charges portées dans le cœur métallique.

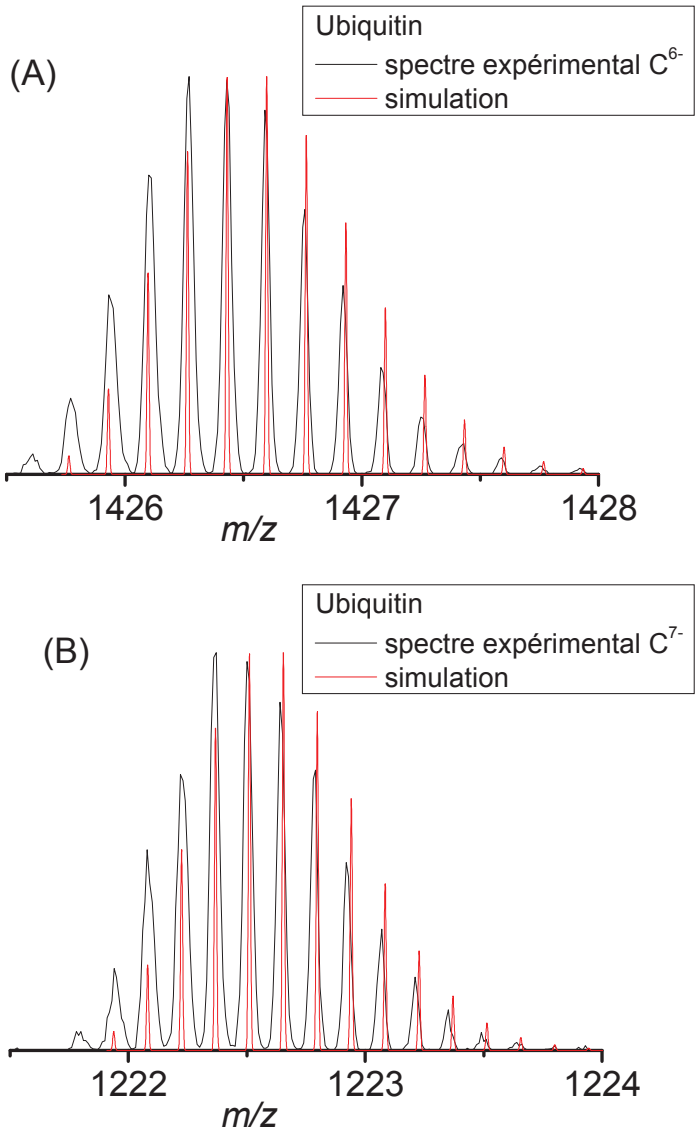


Figure 3.3 : La structure isotopique expérimentale C^{6-} de la protéine ubiquitine comparée à la simulation (A) et la structure isotopique expérimentale C^{7-} de la protéine ubiquitine comparée à la simulation (B).

Les clusters métalliques sont très fragiles et pour leur détection, des réglages spécifiques sont nécessaires. En mode d'ionisation négative, la tension appliquée sur le capillaire est de l'ordre de -3 kV et la position de la pointe est reculée afin de baisser le bruit électronique. Durant notre étude sur les clusters d'or, nous avons constaté que la température du capillaire est un paramètre très critique pour la stabilité de clusters ; lorsque la température du capillaire est de l'ordre de 250 °C, les clusters se dissocient complètement et on ne détecte que des fragments comme $[AuSG-H]^-$,$[Au_2SG-H]^-$, $[Au_2(SG)_2-H]^-$, $[Au_4(SG)_4-H]^-$ et$[Au_4(SG)_4-2H]^{2-}$. Une baisse de la température du capillaire conduit à une évolution graduelle du spectre de masse et l'apparition de différents états de charge du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}-nH]^{q-}$. D'autres paramètres de la source sont également à régler spécifiquement pour l'optimisation du signal du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$.

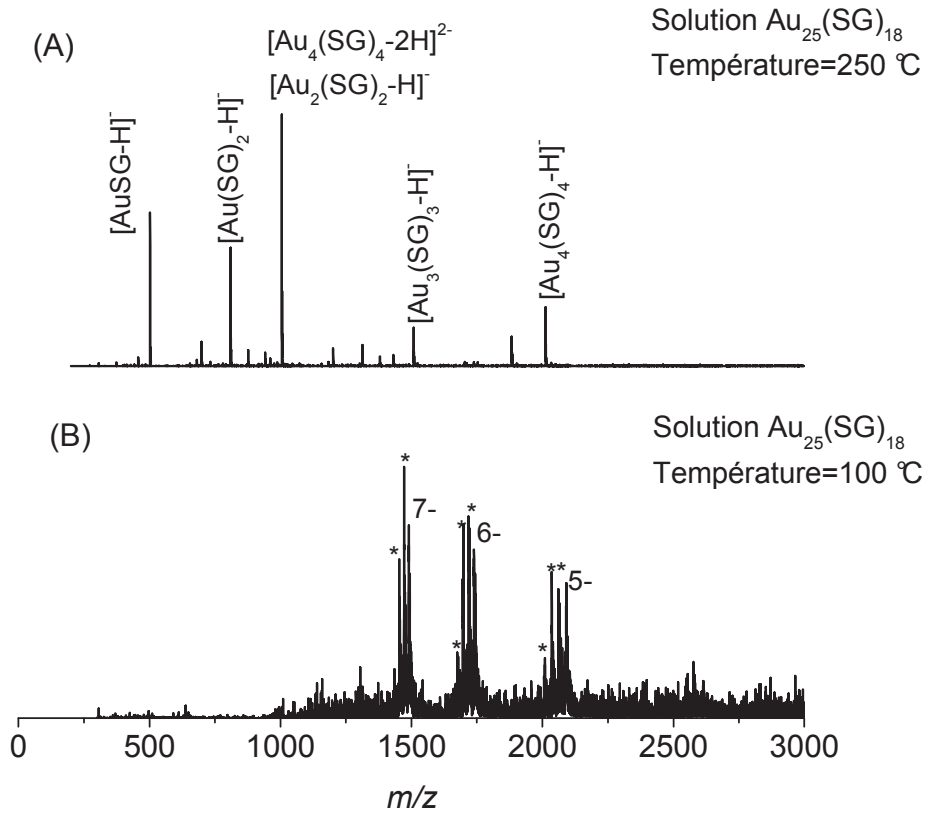


Figure 3.4 : Spectre de masse de la solution $Au_{25}(SG)_{18}$ obtenu sans optimisation (A) et avec optimisation des paramètres de la source (B). Les pics marqués par (*) correspondent à la perte de l'acide pyroglutamique des glutathions.

Le tableau 3.1 donne les paramètres instrumentaux utilisés lors de nos mesures. La température optimale pour la détection de différents états de charge du cluster sans fragmentation est 100 °C.

Paramètres instrumentales	Meilleures conditions	Valeurs standards
Tension de la source (V)	4	5
Gaz 1(Sheath gas) (U.A)	25	10
Gaz 2(Aux. gas) (U.A)	0	5
Tension du capillaire (U.A)	0	0
Température du capillaire (°C)	100	250
Tension de lentille L1	-120	32

Tableau 3.1 : Les valeurs optimales de tensions, de flux de gaz et de température pour la détection du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

3. Spectre de masse et obtention de la structure isotopique

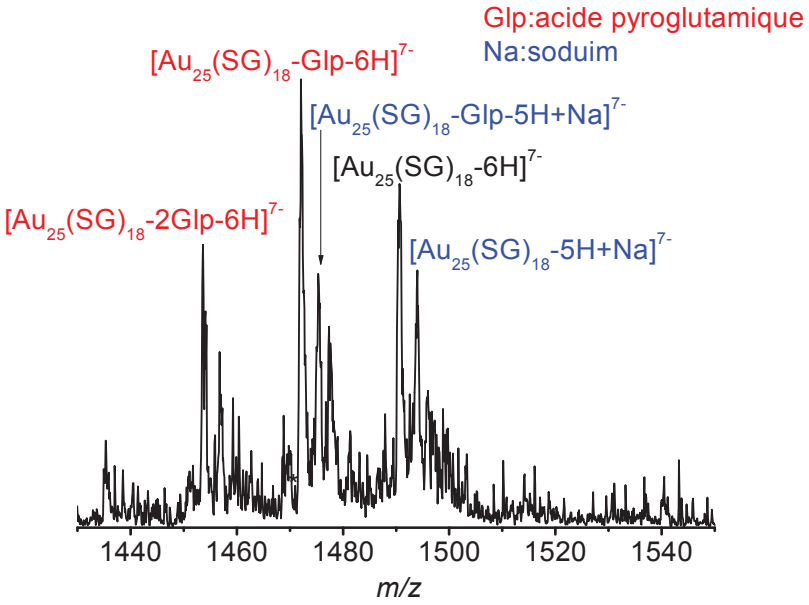
3.1. Spectre de masse

Le processus d'ionisation ESI a pour caractéristique de générer des ions multichargés. Les spectres de masse ESI-MS présentent donc une distribution statistique de pics multichargés (m/z), où deux pics consécutifs différent d'un état de charge. Cette propriété particulière a donné accès à l'analyse des clusters (ou biomolécules) de haut poids moléculaires dont les rapports m/z sont compatibles avec la gamme de masse du spectromètre.

La figure 3.4 (B) montre le spectre de masse de la solution $Au_{25}(SG)_{18}$ obtenu après l'optimisation des paramètres de la source et des lentilles de transmission. Les pics multichargés observés sur le spectre de masse sont assez large. Pour les identifier, nous avons utilisé dans premier temps le mode normal scan. Nous prenons la distribution (7-) pour illustrer la démarche. La figure 3.5 représente le spectre "normal scan" enregistré. Il est composé de plusieurs pics fins. Le pic à m/z =1490 désigne l'état de charge du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$. Sur le spectre de masse on observe aussi une série de pics correspondant

aux fragments du cluster (perte acide pyroglutamique). Le signal de l'état de charge du cluster est très perturbé par d'adduits de sodium. Ces adduits sont formés dans la synthèse du cluster dès qu'on ajoute la solution aqueuse de borohydrure de sodium ($NaBH_4$) et sont détectés à des différences de masse de +22 Da par rapport à l'ion parent.

(A)



(B)

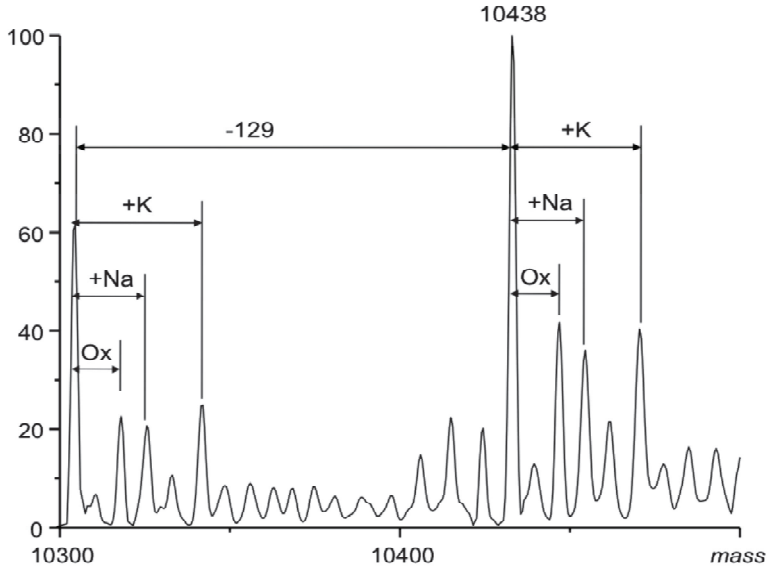


Figure 3.5 : Un « Zoom scan » de la distribution C^{7-} du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (A) et le spectre de masse déconvolué du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (B) (129 : acide pyroglutamique, Na : sodium, K : potassium et Ox : inconnu)

Le glutathion est formé par la condensation de trois peptides ; acide glutamique, glycine et cystéine (figure 3.6). Lorsqu'il s'attache à la surface du cœur métallique par le groupe thiol (R-SH), les deux peptides $\gamma - glu$ et $-gly$ possédant les groupes acides carboxyliques et le groupe acide aminé sont les plus accessibles.

La fragmentation des liaisons peptidiques se produit principalement en phase gazeuse lorsque les paramètres de la source ne sont pas optimaux. Dans notre cas, on a observé deux fragments : la fragmentation de la liaison $\gamma - glu$ et la fragmentation de la liaison $-gly$.

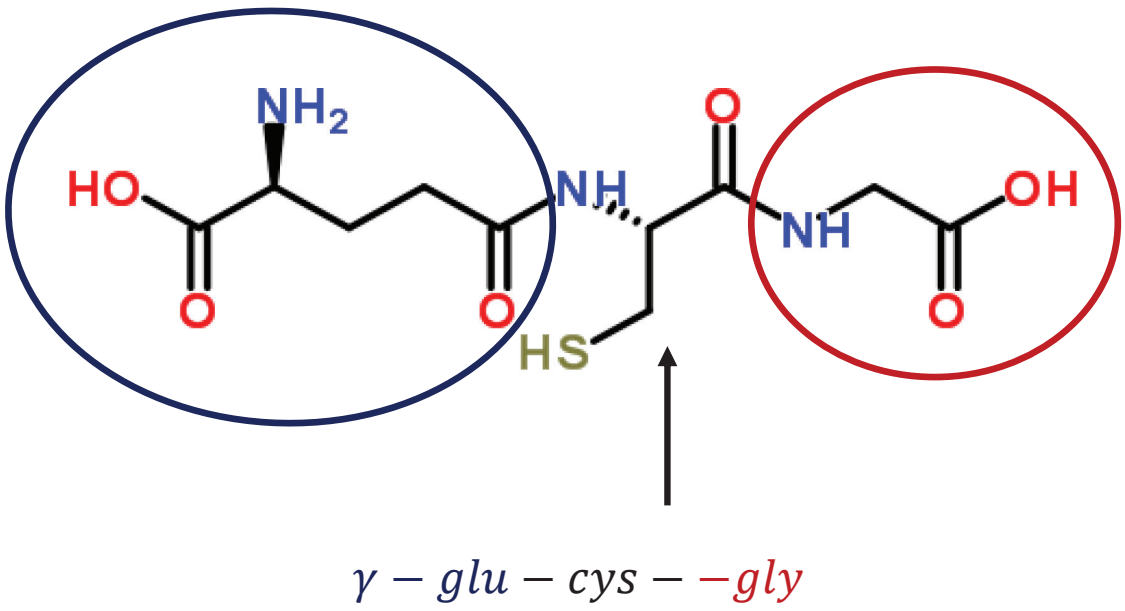


Figure 3.6 : Les trois peptides qui forment le glutathion. $\gamma - glu$: acide pyroglutamique, $-cys -$: Cystéine "Cysteine residue" et $-gly$: glycine.

3.2. Charge du cœur du cluster

Parmi les différents clusters d'or synthétisés, le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ (R= GS, SCH_2CH_2-PH,…) est le plus étudié. Récemment, sa structure cristallographique a été déterminée par les expériences de diffraction de rayon X [23-24]: le cluster est constitué d'un cœur icosaèdre Au_{13} stabilisé par les motifs $[Au_2(SR)_3]_6$. Les caractérisations optiques réalisées sur ce cluster, en particulier les spectres d'absorption en solution, ont montré que les ligands ont une faible

influence sur la structure géométrique et les propriétés électroniques du cluster [9]. Selon la méthode de préparation (oxydation ou réduction), le cœur métallique peut être neutre ou porter une charge négative [22, 23].

Dans la littérature, la fragmentation de clusters est la seule méthode utilisée pour déterminer l'état d'oxydation du cœur [20]. Ces types d'expériences sont très difficiles, elles nécessitent un échantillon pur et de paramètres des fragmentations optimales. Notre équipe ne dispose pas d'un dispositif MALDI-MS qui permet de réaliser des expériences de ce type mais nous pouvons faire des expériences de fragmentation CID à l'aide de spectromètre de masse à piège ionique ou spectromètre de masse à piège linéaire. Dans un premier temps, nous avons piégé et fragmenté un seul état de charge du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ afin de déterminer l'état d'oxydation à partir des fragments obtenus. Les spectres des fragmentations obtenus à différentes valeurs d'énergie de collision, ont montré soit la rupture des liaisons peptidiques des glutathions (perte de 129 Da), soit la dissociation complète du cluster. Dans un second temps, nous avons réalisé une étude de caractérisation détaillée par le spectromètre de masse à haute résolution pour avoir accès à l'état d'oxydation du cœur. Notre attention s'est portée sur la structure isotopique expérimentale. Nous verrons que cette étude permet de déterminer le nombre de charges portées par le cœur.

Lorsque le nombre de charges est dû aux déprotonations de groupement acide carboxylique, les deux structures isotopiques (expérimentale et théorique) se superposent sans aucune correction. Il peut arriver que la structure isotopique expérimentale soit décalée par rapport à la structure isotopique théorique. Dans ce cas, l'écart correspond exactement au nombre de charges localisés dans le cœur. Par exemple, pour le cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}nH]^{7-}$: si les 7 charges étaient portées par les groupements COOH, n serait égale 7 et on aurait un signal à (10426/7 = 1489.28 Da). Or, on observe un écart de mesure $\Delta_m = 0.14$ Da qui correspond à $0.14 \times 7 \approx 1$ unité de masse atomique. Cela signifie qu'une des charges ne correspond pas à la déprotonation d'un acide carboxylique, mais qu'il y a une charge en plus sur le cœur métallique. La formule de l'état de charge est donc : $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ (figure 3.7).

C'est la première fois que le nombre de charge porté par le cœur est déterminé par la structure isotopique d'un état de charge du cluster. Ce résultat sur l'état d'oxydation du cœur du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$, obtenu par l'analyse de la structure isotopique, est en accord avec le résultat obtenu par fragmentation du cluster. Il faut mentionner que cette méthode d'analyse par spectromètre de masse à haute résolution va être utilisée dans le cadre de ce travail de thèse afin d'avoir accès à quelques propriétés électroniques des clusters.

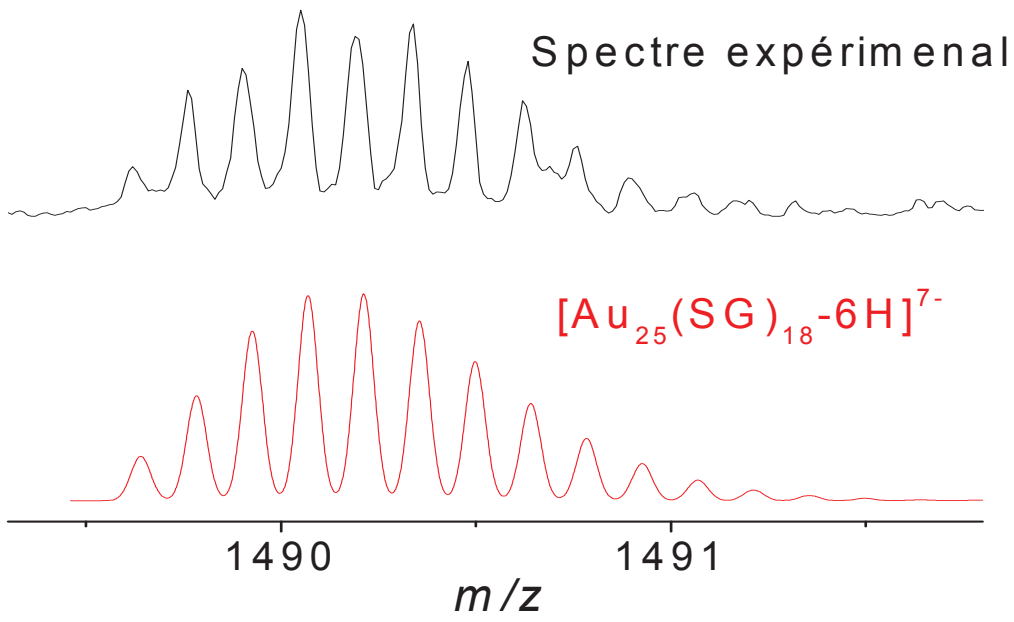


Figure 3.7 : La structure isotopique expérimentale C^{7-} du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ comparée à la structure isotopique théorique du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$.

4. Étude du cluster par CID

La dissociation induite par collision est devenu ces dernières années une méthode d'analyse performante permettant de sonder les propriétés structurelles de l'échantillon. Cette méthode est largement utilisée pour la caractérisation de protéines.

Dans le domaine des clusters métalliques, l'utilisation de cette méthode est très limitée. Récemment, l'équipe d'A.Dass a réalisé des expériences de fragmentation par CID sur le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ [21]. Ces expériences ont montré la dissociation du cluster en plusieurs fragments. Néanmoins aucune corrélation n'a été trouvée entre la structure et les fragments.

De notre côté, nous avons réalisé des expériences de fragmentation sur le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ à faible énergie de fragmentation (Ec = 10 u.a) par un spectromètre de masse à haute résolution afin d'explorer leurs propriétés structurelles. Avant de présenter le résultat obtenu, il nous

parait important de décrire les étapes nécessaires pour pouvoir réaliser ces expériences. Dans un premier temps on sélectionne une masse qui correspond à l'état de charge du cluster, ensuite on accélère cet ion dans le piège par l'application d'une tension radio fréquence. Après une série de collisions, l'ion acquiert suffisamment d'énergie interne pour se fragmenter.

Le spectre CID du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}5H]^{6-}$ (figure 3.8 (C)) présente deux types de fragments :

- fragments polychargés : correspondent à la fragmentation de la liaison peptidique $\gamma - glu$ du glutathion du cluster activé ou des clusters protonés.
- fragments monochargés : $[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$ et $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$. Ces fragments sont formés par dissociation complète du cluster. Le fragment $[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$ est probablement produit par dissociation de la structure $Au_2(SG)_3$ stabilisant le cœur Au_{13} par contre les fragments $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$ sont formés dans la source par réarrangement de complexes. Les fragments du cœur Au_{13} n'ont pas été observés et cela peut être dû à la dissociation du cœur en petits clusters ou à la présence du cœur neutre qu'on ne pourrait pas détecter avec le mode de détection de notre spectromètre de masse.

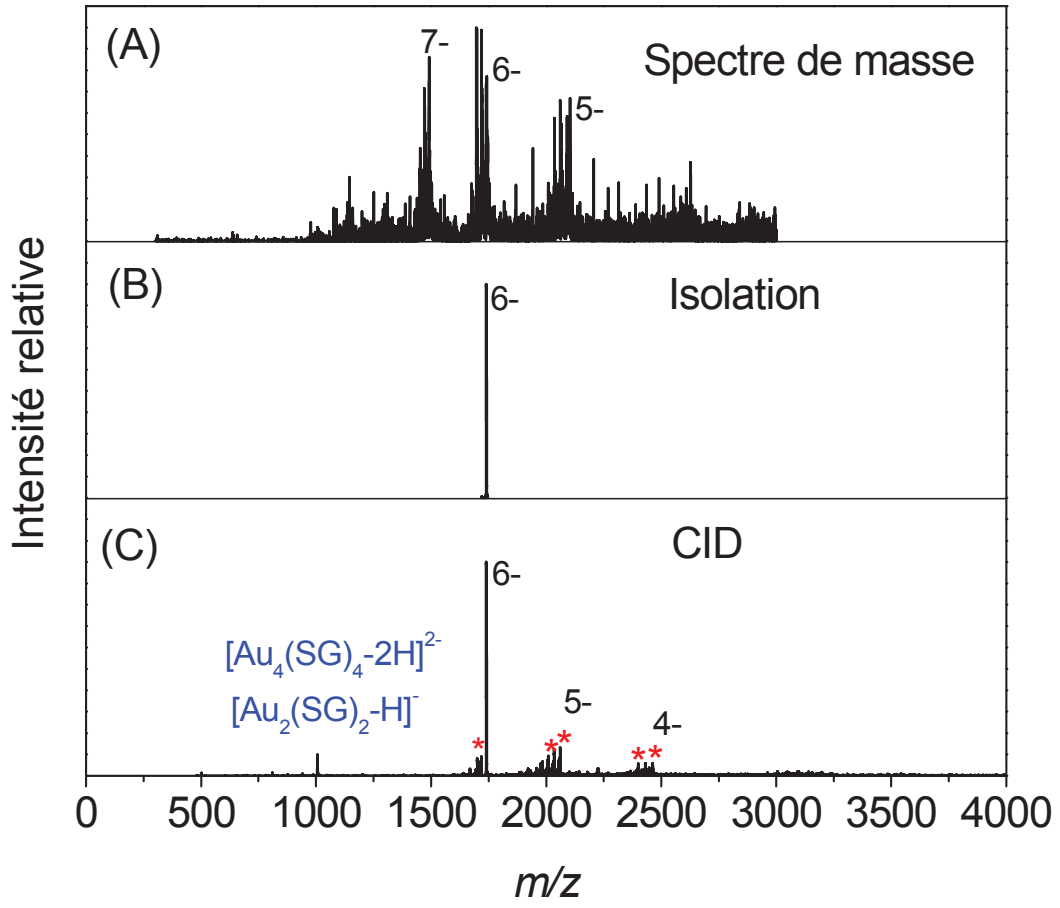


Figure 3.8 : Spectre de masse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (A), isolation d'un seul état de charge (B) et activation du $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}5H]^{6-}$ par CID (C). Les pics marqués par (*) correspondent à la fragmentation de la liaison peptidique $\gamma - glu$ du glutathion.

5. Propriétés optiques du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

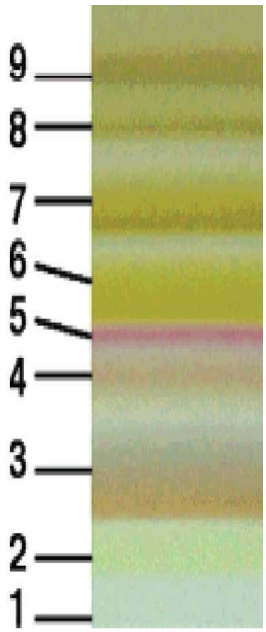
Les clusters métalliques de taille inférieure à 2 nm possèdent des propriétés optiques marquées comme l'absorption de la lumière et la fluorescence. Ces propriétés dépendent de la nature du métal et du ligand utilisé pour stabiliser le cœur métallique. Les clusters absorbent la lumière en solution ou en phase gazeuse. Cette propriété se manifeste par des bandes d'absorption dans le spectre d'absorption ultraviolet/visible. Il faut bien mentionner que ces bandes sont définies comme une série de transition entre l'orbitale haute occupé (HOMO) et l'orbitale basse vacante (LUMO) et différentes des bandes de résonance de plasmon de surface observées dans les spectres d'absorption de nanoparticules de tailles supérieures à 2 nm. En solution, les bandes d'absorption observées dépendent du nombre d'atomes d'or et du nombre des ligands : lorsque la taille du cluster augmente, la bande d'absorption se déplace d'une zone de haute énergie vers une zone de faible énergie (figure 3.9).

Le retour des électrons se trouvant dans le niveau d'énergie excité vers le niveau d'énergie fondamental produit la luminescence. Si l'émission se réalise entre deux états de même multiplicité, le phénomène est appelé fluorescence.

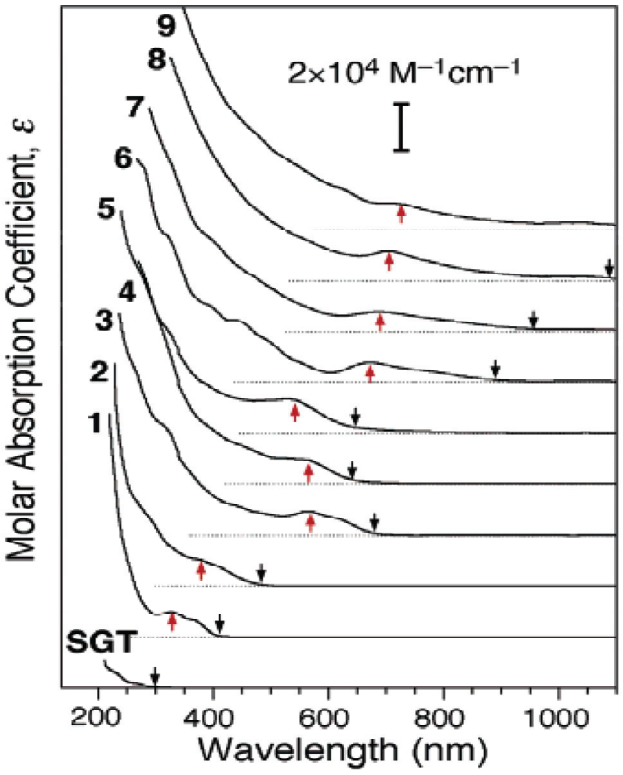
Généralement, la fluorescence est attribuée à l'effet de confinement dans le cœur métallique. Néanmoins, récemment, des études de fluorescence effectuées sur les clusters d'or, ont montré l'influence de type du ligand sur la fluorescence du cluster [11]. Dans le cas des clusters d'or stabilisés par le thiol (RS), un transfert de charge peut se produire entre le ligand et le cœur provoquant une augmentation de la fluorescence [11].

Pour comprendre l'origine de bandes d'absorption et de photoluminescence, nous nous appuyons sur des calculs théoriques réalisés sur cluster $Au_{25}(SH)_{18}^-$ par C. Aikens [24].

(A)



(B)



(C)

fraction	formula
1	$Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$, $Au_{12}(SG)_{12}$
2	$Au_{15}(SG)_{13}$
3	$Au_{18}(SG)_{14}$
4	$Au_{22}(SG)_{16}$
5	$Au_{22}(SG)_{17}$
6	$Au_{25}(SG)_{18}$
7	$Au_{29}(SG)_{20}$
8	$Au_{33}(SG)_{22}$, $Au_{35}(SG)_{22}$
9	$Au_{38}(SG)_{24}$, $Au_{39}(SG)_{24}$

Figure 3.9 : Les différents clusters séparés sur le gel d'électrophorèse (A), les spectres d'absorption de ces clusters (B) et la stœchiométrie de chaque cluster (C) [2].

5.1. Spectroscopie ultraviolet visible

Pour le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$, le spectre d'absorption de la solution est caractérisé par une bande d'absorption dans le visible centrée à 680 nm et deux bandes dans le visible entre 360 nm et 450 nm [2,3].

La figure 3.10 montre le spectre d'absorption de la solution $Au_{25}(SG)_{18}$ que nous avons synthétisée. Ce spectre présente une forte décroissance jusqu'à 600 nm suivi d'une bande d'absorption centrée à 680 nm. Comme nous avons mentionnée, la méthode de synthèse utilisée favorise la formation du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ mais la solution n'est pas monodisperse. L'absence de bandes dans UV est due à l'absorption d'autres clusters dans cette gamme de longueur d'onde et la décroissance d'absorbance observée est la somme de l'absorption de plusieurs clusters. Dans la suite nous allons déterminer l'origine de ces bandes en appuyant sur le spectre théorique du cluster $[A_{25}(SH)_{18}]^-$.

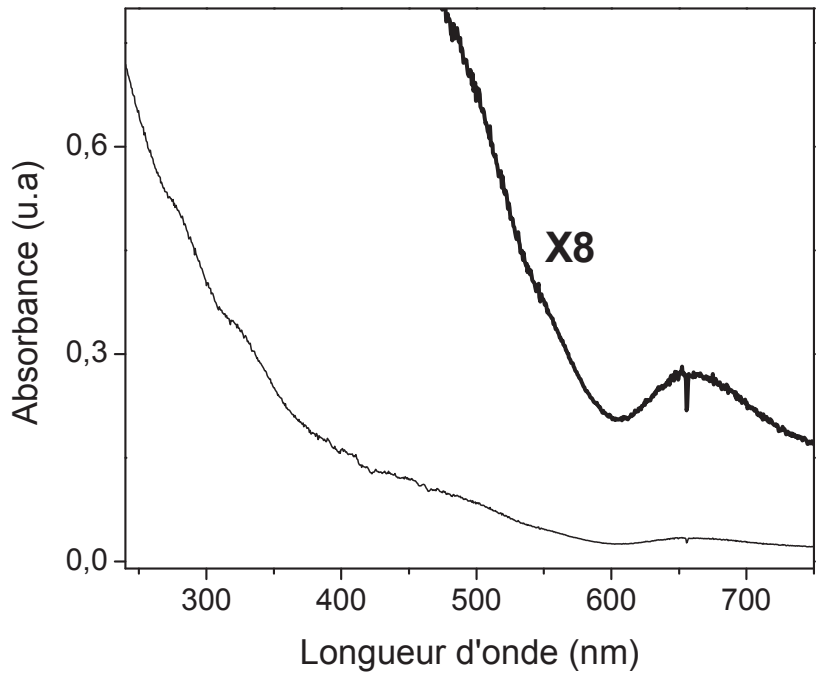


Figure 3.10 : Le spectre d'absorption de la solution $Au_{25}(SG)_{18}$

5.2. Spectroscopie de fluorescence

La figure 3.11 montre les spectres d'absorption, d'excitation et d'émission du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. En comparant le spectre d'absorption et le spectre d'excitation, on observe un décalage entre la bande d'absorption et la bande d'excitation ; le maximum d'excitation est à 580 nm par contre le maximum d'absorption est à 685 nm. Ce décalage indique que la fluorescence à 800 nm est probablement due à la transition interbande ($sp \rightarrow d$), en considérant que la bande d'absorption du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ à 685 nm correspond à la transition intrabande ($sp \rightarrow sp$). Parmi les différents clusters d'or stabilisés par les glutathions, l'$Au_{25}(SG)_{18}$ est le seul cluster présentant cette différence entre l'absorption et l'excitation.

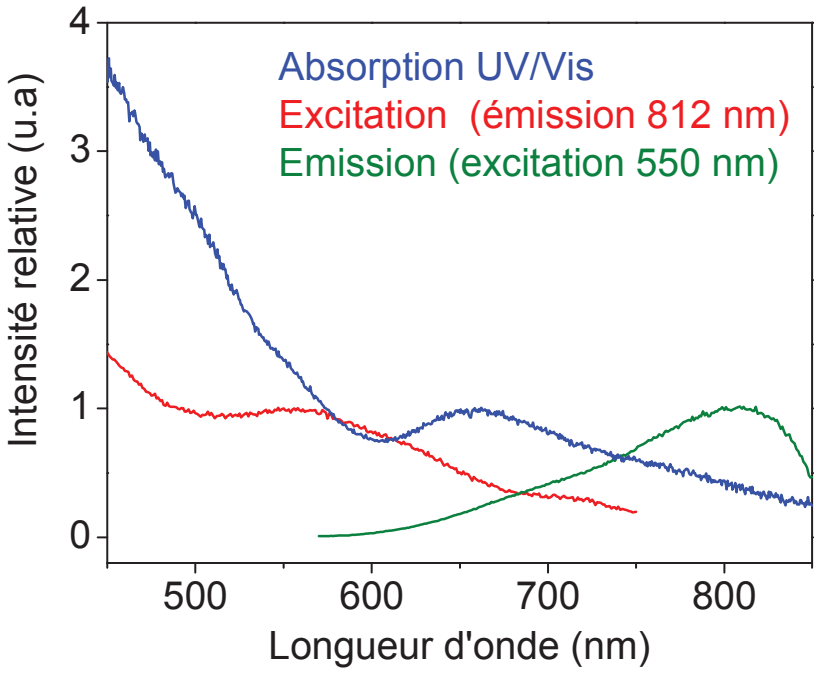


Figure 3.11 : Les spectres d'absorption (bleu), d'excitation (rouge) et d'émission (vert) du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$.

5.3. Propriétés électroniques du cluster

Les transitions électroniques se produisent lorsque les électrons localisés sur le faible niveau d'énergie sont excités vers un niveau plus élevé. L'écart d'énergie associé à la transition fournit des informations sur l'origine de nombreuses propriétés moléculaires.

Pour les composés organiques, les transitions électroniques peuvent être déterminées par la spectroscopie ultraviolet visible. Selon la nature de composé, différentes transitions peuvent se produire. Par exemple, les électrons de l'orbitale haute occupée (HOMO) d'une liaison sigma peuvent être excités vers l'orbitale basse vacante (LUMO) de cette liaison. Ce processus est appelé la transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .De même, il existe la transition $\pi \rightarrow \pi*$, la transition $n \rightarrow \sigma* \ldots$

La configuration électronique d'un atome d'or est caractérisée par une orbitale d pleine et un seul électron sur l'orbitale s ($1s^2 2s^2 2p^6\ 3s^2\ 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^{10} 4f^{14} 5s^2 5p^6 \mathbf{5d^{10} 6s^1}$).
La différence d'énergie entre l'orbitale 5d et l'orbitale 6s est 3.695 eV. Après la prise en compte des effets relativistes, cette différence d'énergie est égale 1.190 eV.

Les niveaux d'énergie des orbitales Kohn-sham des clusters d'or stabilisés par les thiols peut être classé en quatre groupes : la bande Au 6sp, les orbitales Au (5d)-S (3p), la bande Au 5d et les orbitales des thiols.

La théorie de la fonctionnelle de la densité indépendante du temps (DT-DFT) est la méthode la plus utilisée dans les calculs quantiques de la structure électronique de la matière (atomes, molécules, solides). Récemment, Nobusada [(22)], Gronbeck [(23)] et Aikens [(24)] ont développé des méthodes des calculs basées sur la DTDFT pour déterminer les propriétés optiques du cluster $Au_{25}(SR)_{18}$. Quelques structures proposées par les calculs ont été corrigées par les expériences de diffraction de rayon X. La structure la plus stable proposée par Nobusada [(22)] pour le cation $[Au_{25}(SCH_3)_{18}]^+$ est constituée d'un cœur Au_7 stabilisé par les complexes $Au_{12}(SCH_3)_{12}$ et $Au_3(SCH_3)_3$; le cœur Au_7 est piégé dans le complexe $Au_{12}(SCH_3)_{12}$ et le sous-système Au_7-$Au_{12}(SCH_3)_{12}$ est stabilisé par deux trimères $Au_3(SCH_3)_3$. Le spectre d'absorption théorique est en accord avec le spectre d'absorption de la solution. Les bandes d'absorption à 689 nm et 534 nm sont attribuées aux transitions électroniques du cœur Au_7. La seule différence entre les deux spectres se révèle dans la gamme de haute énergie dans laquelle le spectre théorique ne présente aucune bande d'absorption.

Cette structure a été corrigée par de nouveaux calculs théoriques (DT-DFT) en parallèle avec des expériences de diffraction de rayon X. La structure la plus stable du cluster $[Au_{25}(SR)_{18}]^-$ proposée par Aikens [24] et Gronbeck [23] est constituée d'un cœur icosaèdre Au_{13} stabilisé par les motifs $[Au_2(SR)_3]_6$.

	Ligand	Méthode de calcul	Cœur	Ligand1	Ligand 2
$[Au_{25}(SCH_3)_{18}]^+$ *Bandes d'absorption : 789 nm et 534 nm* Nobusada[22]	SCH_3	TDDFT	Au_7	$Au_{12}(SCH_3)_{12}$	$2[Au_3(SCH_3)_3]$
$[Au_{25}(MeS)_{18}]^-$ Grönbeck[23]	MeS	TDDFT	Au_{13}	$6[Au_2(MeS)_3]$	
$[Au_{25}(SH)_{18}]^-$ *Bandes d'absorption : 815 nm, 470 nm et 425 nm* Aikens[24]	SH	TDDFT	Au_{13}	$6[Au_2(SH)_3]$	

Tableau 3.2 : Les différentes structures calculées pour le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ (R=SCH, MeS et SH)

La structure électronique du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ est caractérisée par une bande pleine (d) qui se chevauche légèrement avec un groupe d'orbitales hybrides (6sp) :

- Les orbitales (6sp) comportent l'orbitale haute occupée (HOMO) et les orbitales vacantes (LUMO).
- Les orbitales occupées $5d^{10}$ (HUMO-1) jusqu'à (HUMO-5) constituent la bande d.

La figure 3.12 montre le spectre d'absorption théorique et le diagramme d'énergie du cluster $[Au_{25}(SH)_{18}]^-$. Les différentes bandes observées dans ultraviolet visible ont été expliquées comme une série de transitions entre les orbitales (HOMO) → (LUMO) :

- ❖ La bande à 815 nm correspond à la transition intrabande (**sp → sp**)
- ❖ La bande à 470 nm correspond aux transitions mixtes : transition intrabande (**sp → sp**) et transition interbande (**sp → d**)
- ❖ La bande à 425 correspond à la transition interbande (**sp → d**)

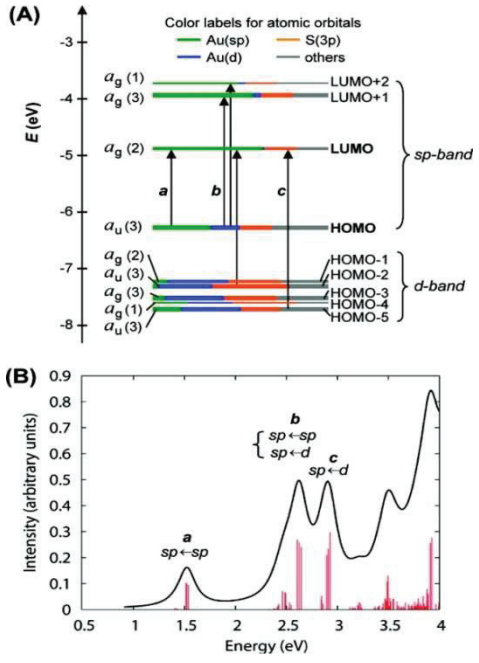


Figure 3.12 : Le spectre d'absorption théorique du cluster $[Au_{25}(SH)_{18}]^-$ [24] (A) et le digramme de niveau d'énergie des orbitales Kohn-Sham [24] (B).

6. Activation par laser LID et spectre d'absorption en phase gazeuse du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

Le couplage spectromètre de masse/spectroscopie laser, montage décrit dans le chapitre précédent, a été utilisé durant ma thèse pour étudier les clusters chargés négativement. Lorsqu'un ion (correspondant à un état de charge du cluster) est irradié avec un laser, cela entraine le détachement d'un électron ou la fragmentation.

L'objectif du travail est de sonder quelques propriétés intrinsèques du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. Pour cela nous nous intéresserons à l'espèce produite par détachement d'électron à différentes longueurs d'ondes. Nous discuterons aussi les mécanismes donnant lieu à ce détachement d'électron. L'effet de solvants sur les propriétés du cluster sera évoqué en comparent le spectre d'absorption de la solution au spectre optique de photodétachement obtenu en phase gazeuse.

6.1. Isolation et activation par laser

Le photodétachement est un mode de fragmentation particulier aux molécules chargées négativement. Ce processus est observé avec toutes les biomolécules polyanioniques : peptides, protéines, ADN. Par exemple, dans un peptide, l'amine (NH_2) du côté N-terminal peut se charger positivement et l'acide (COOH) du côté C-terminal négativement. Les vingt acides aminés naturels ont des chaines latérales possédant différents groupes fonctionnels qui peuvent aussi se protonner ou se déprotonner. Donc les sites préférentiels pour la position des charges peuvent être déterminés.

Dans la littérature, aucune étude n'a été réalisée sur de clusters isolés en phase gazeuse. Nous avons entrepris des études spectroscopiques sur le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ afin d'avoir accès à leurs propriétés optiques et électroniques.

Suite à l'absorption d'un photon, l'ion $[M]^{n-}$ détache un ou plusieurs électrons, l'apparition de pics dans le spectre de masse correspondant aux espèces $[M]^{(n+1)-}$, $[M]^{(n+2)-}$ permet de vérifier la production de ce phénomène. Généralement l'apport d'énergie est suivi d'une désexcitation. Plusieurs voies sont possibles : la fluorescence, la conversion interne, la redistribution interne de l'énergie vibrationnelle et la fragmentation. Nous ne disposons pas dans notre expérience de mesure de fluorescence, par contre le spectromètre de masse permet d'étudier la fragmentation résultant de l'irradiation laser.

Nous avons entrepris une étude détaillée sur l'effet laser sur les ions $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}nH]^{m-}$ (n : nombre de charges portées par les groupes carboxyliques et m : nombre total de charges)

Parmi les différents états de charge détectés, $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ est le plus intense. Nous avons donc réalisé des expériences LID sur cet ion. L'ion est piégé pendant un temps τ et excité par un faisceau laser accordable en longueur d'onde. Les spectres de masse sont accumulés et enregistrés avec et sans laser. La figure 3.13 montre le spectre de masse du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ après une irradiation laser à 250 nm pendant 100 ms et le spectre de masse de la même espèce après une irradiation laser à 500 nm pendant 500 ms. L'irradiation laser de l'espèce $[M\text{-}6H]^{7-}$ génère l'espèce $[M\text{-}5H]^{6-}$ par détachement d'un électron.

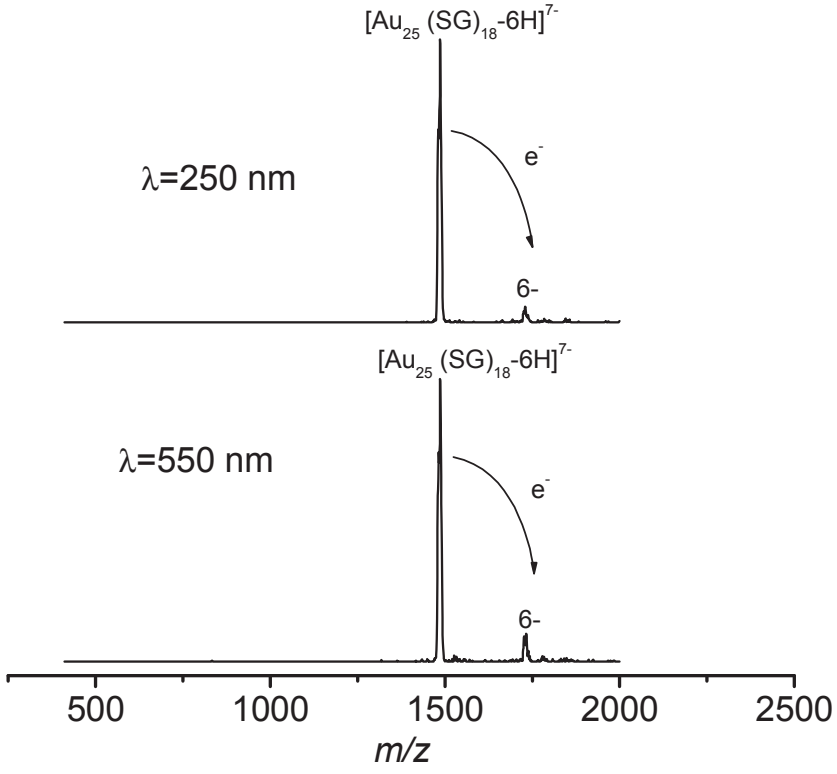


Figure 3.13 : Spectre de détachement d'électron du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ à deux longueurs d'ondes

6.2. Mesure de la courbe du taux de détachement électronique

Pour avoir une idée sur la réponse optique de ces systèmes en phase gazeuse, nous avons opté pour une étude systématique du taux de détachement électronique en fonction de la longueur d'onde et de sa puissance.

La loi de Beer Lambert, qui s'applique aux molécules diluée est :

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\sigma.\phi}$$

Avec I l'intensité de l'ion parent et I_0 la somme de l'intensité de l'ion parent et l'ion produit.

La section efficace peut être donnée sous la forme :

$$\sigma = \frac{1}{\phi} \ln \frac{I_0}{I}$$

Avec ϕ le flux laser qui peut s'écrire sous la forme :

$$\phi = \frac{P_1}{\upsilon_1} \times \frac{1}{Eh\nu} = \frac{P_1}{\upsilon_1} \times \frac{\lambda_1}{hc}$$

Avec P_1, la puissance laser, υ_1, la fréquence du laser et λ_1, la longueur d'onde du laser. La fréquence du laser, h et c sont des constantes donc :

$$\phi \propto P_1 \times \lambda_1$$

L'expression de la section efficace de fragmentation devient :

$$\sigma = \frac{\ln\left[\frac{I_0}{I}\right]}{P_1 \times \lambda_1} = \frac{\ln[\frac{I_{parent} + \sum I_{produit}}{I_{parent}}]}{P_1 \times \lambda_1}$$

6.3. Influence de la puissance laser

Nous avons étudié l'influence de la puissance laser sur l'efficacité de détachement d'électron. Pour cela, on fait varier la puissance laser à un nombre d'impulsions constantes.

La figure 3.14 montre l'influence de la puissance laser sur l'efficacité de détachement d'électron pour l'état de charge $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ à 250 nm et 550 nm. Pour les deux longueurs d'ondes, l'efficacité de détachement d'électron évolue linéairement lorsque la puissance laser augmente. Ce résultat montre que le photodétachement est un processus monophotonique.

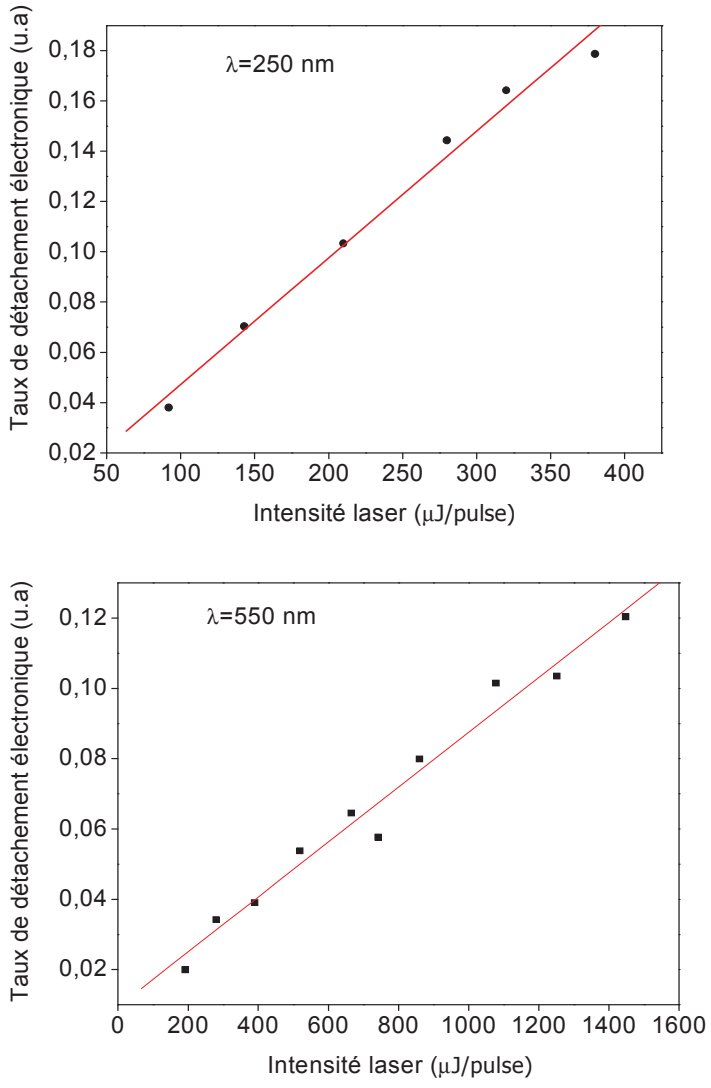


Figure 3.14 : Taux de détachement électronique du cluster $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ en fonction de l'intensité laser à 250 nm et 550 nm.

6.4. Courbe du taux de détachement électronique du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$

La courbe du taux de détachement électronique en phase gazeuse de l'ion $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ est obtenue sur la gamme 220-300 nm et 430-670 nm (figure 3.15). Le choix de cette gamme de longueur d'onde est imposé par le type de laser utilisé. En effet, entre 300 et 430 et au-delà de 670 nm nous n'avons pas assez de puissance.

Le détachement d'électron est observé sur toute la gamme de longueur d'onde. On observe une décroissance importante de taux de détachement lorsque la longueur d'onde augmente. Dans UV, le spectre optique en phase gazeuse ne présente aucune bande d'absorption par contre dans le visible on observe l'apparition d'un début de bande centrée autour de 670 nm présentée dans le spectre de la solution. Nous sommes à la limite de fonctionnement de l'OPO et nous n'avons pas déterminé le taux de détachement au-delà de 670 nm. Ce résultat, en parallèle avec le calcul théorique réalisé sur le cluster $Au_{25}(SH)_{18}^{-}$ [24] montre que les solvants ont une faible influence sur les propriétés intrinsèques du cluster.

Comme nous l'avons mentionné, le nombre total de charges du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ n'est pas porté par les groupes acides carboxyliques mais il y a une charge accommodée dans le cœur. L'électron se détache soit du cœur Au_{13}^{-} soit du groupe acide carboxylique $HCOO^{-}$ tout en prenant en compte l'énergie de liaison de tels systèmes.

La spectroscopie de photoélectron a permis de déterminer les énergies de liaison de l'anion A_{13}^{-} et du COO^{-} : les valeurs obtenues sont respectivement égales à 4 eV [25] et 3.498 ± 0.015 eV [26].

À 250 nm, l'énergie d'un photon ($E = 4.96\ eV$) est suffisante pour détacher un électron de groupe acide carboxylique ou du cœur Au_{13}^{-}. Par contre, à 550 nm, l'énergie d'un photon ($E = 2.26\ eV$) est inférieure à l'affinité électronique de $HCOO^{-}$ et Au_{13}. Néanmoins, le photodétachement est observé expérimentalement.

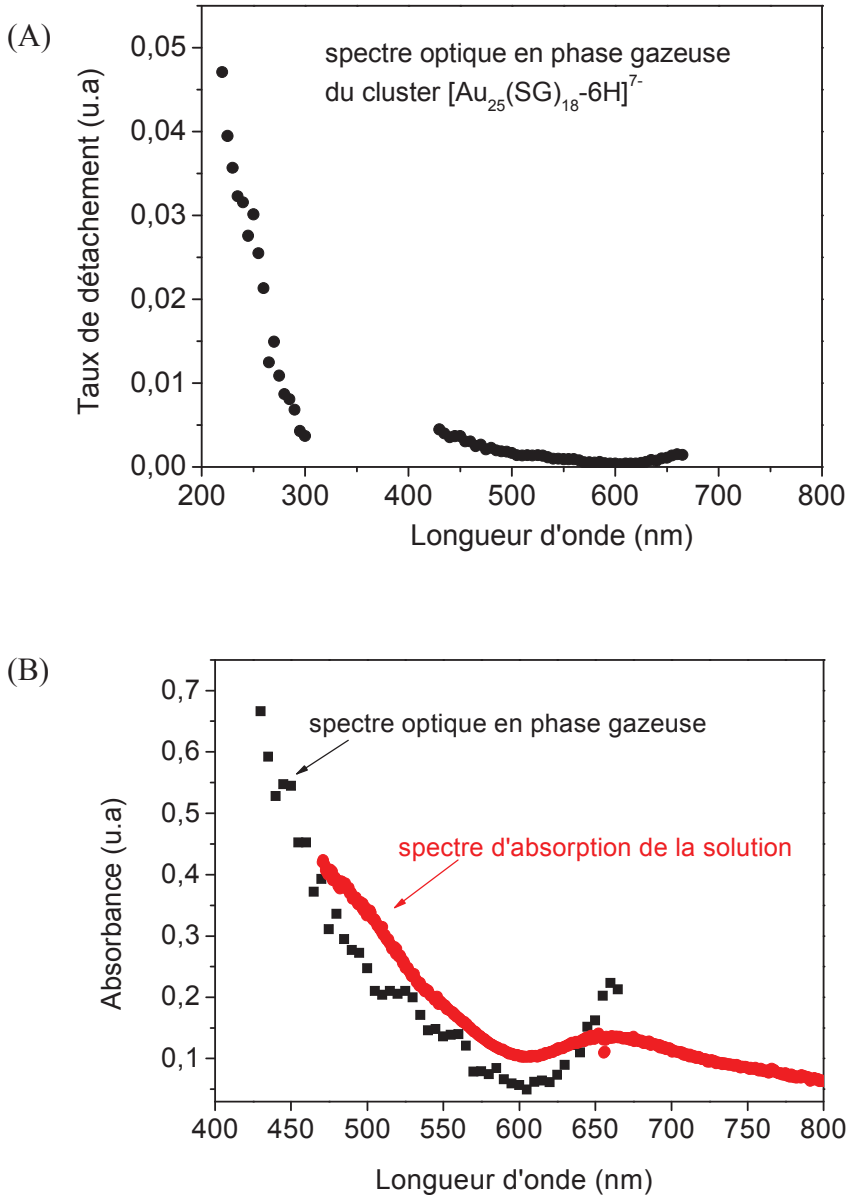


Figure 3.15: Spectre optique en phase gazeuse du cluster [$Au_{25}(SG)_{18}$-6H]$^{7-}$ (A) et comparaison des spectres optiques en phase gazeuse (point noir) et en solution (trait rouge) du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (B).

Dans le cas d'un multianion, l'interaction répulsive entre les charges va réduire l'énergie de liaison des électrons [27]. Le détachement d'électron observé dans la partie visible du spectre optique en phase gazeuse pourrait se produire par effet tunnel. L'équipe de Wang a réalisé une étude systématique par la spectroscopie de photoélectron sur des dicarboxylates de type : $^{-}OOC\text{-}(CH)_2\text{-}COO^{-}$ avec n = 3-6. Ils ont obtenu les spectres de photoélectron à 2.3 *eV*, 3.4 *eV* et 4.6 *eV* et remarqués un décalage par rapport à la valeur de la barrière de répulsion colombienne pour les spectres mesurés à 2.3 *eV*. ils ont mis en évidence que le détachement à cette longueur d'onde sur ces systèmes se produit par effet tunnel au travers la barrière de la répulsion colombienne [27]. La figure 3.16 présente le modèle proposé par Wang et al. illustrant le détachement d'un électron par effet tunnel au travers de la barrière de répulsion colombienne.

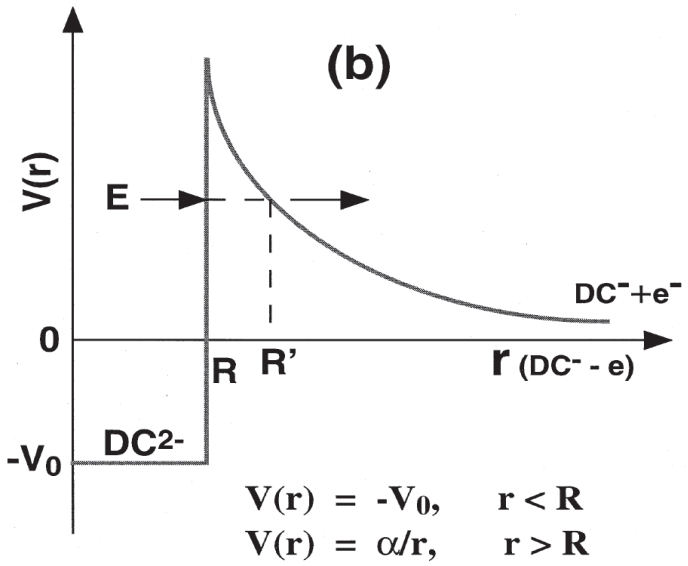


Figure 3.16 : Modèle proposé par Wang et al.[27] illustrant le détachement d'électron au travers de la barrière de répulsion colombienne

DC^{2-} : l'ion parent, DC^{-} : l'ion produit après détachement d'un électron, V_0 : l'énergie de liaison de l'électron détaché, E : l'énergie cinétique de l'électron détaché, R : la distance inter-charge à l'équilibre, α : constant égale à 16.8 eV et RR' : la largeur de la barrière de répulsion colombienne à l'énergie E.

III. Caractérisation de petits cluster d'or stabilisés par les glutathions

Après l'étude du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$, nous nous sommes intéressés aux petits clusters d'or stabilisés par les glutathions de moins de 25 atomes d'or. Ces petits clusters possèdent des propriétés optiques intéressantes comme l'absorption de la lumière, la fluorescence… et peuvent être utilisés dans plusieurs domaines notamment en nanobiologie pour marquer certaines cellules. Le calcul théorique sur ces systèmes pourrait s'effectuer facilement grâce à la présence d'un nombre réduit d'atomes métalliques.

Récemment, dans notre équipe, de petits clusters d'or et d'argent stabilisés par les glutathions ont été étudiés par spectrométrie de masse et spectroscopie laser [19]. Le calcul théorique en conjonction avec la spectroscopie laser ont permis d'avoir accès à quelques propriétés des clusters $[AgSG\text{-}H]^-$, $[AuSG\text{-}H]^-$ et $[Ag_2(SGH)_3\text{-}4H]^{4-}$. Rongchao Jin a développé une méthode de synthèse pour élaborer une solution monodisperse du cluster $Au_{20}(SR)_{18}$ [28] (R : C_8H_9S) et a montré que ce cluster est particulièrement stable par rapport aux clusters d'or stabilisés par les glutathions. Pradeep a développé une méthode de synthèse pour élaborer une solution quasi monodisperse du cluster $Au_{18}(SG)_{14}$ [29]. Le spectre d'absorption de la solution présente de bandes caractéristiques du cluster $Au_{18}(SG)_{14}$. En parallèle, les calculs théoriques sont en cours afin d'explorer la structure la plus stable [28,30].

De notre côté, nous avons développé une méthode de synthèse permettant la formation de petits clusters d'or stabilisés par les glutathions. Les clusters polydisperse ont été séparés sur le gel d'électrophorèse et comparés aux clusters synthétisés précédemment par d'autres équipes. Synthèses que nous appellerons, synthèse A [2] et synthèse B [9]. Cependant l'extraction des clusters de gel d'électrophorèse n'a pas été réalisée en raison de chevauchement de bandes. Donc, nous ne présenterons pas de mesure optique des solutions (absorption, excitation, fluorescence).

Afin d'identifier les espèces, nous avons caractérisé la solution polydisperse par un spectromètre de masse à haute résolution. Une étude détaillée a été réalisée sur les différents clusters via l'analyse de structures isotopiques expérimentales et de spectres de fragmentation CID pour explorer afin d'explorer leurs propriétés structurelles.

1. Synthèse et séparation des clusters sur gel d'électrophorèse

1.1. Synthèse des clusters

- **Synthèse C**

Dans cette synthèse, nous avons suivi la méthode de synthèse développée par Tsukuda. À la différence près durant la réaction, la température est diminuée à -16 °C. Par comparaison avec les autres méthodes de synthèse, cette méthode favorise la formation de petits clusters $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$ et $Au_{12}(SG)_{12}$.

- **Synthèse D**

Nous avons développé une méthode de synthèse qui permet d'obtenir uniquement de clusters de moins de 25 atomes d'or.

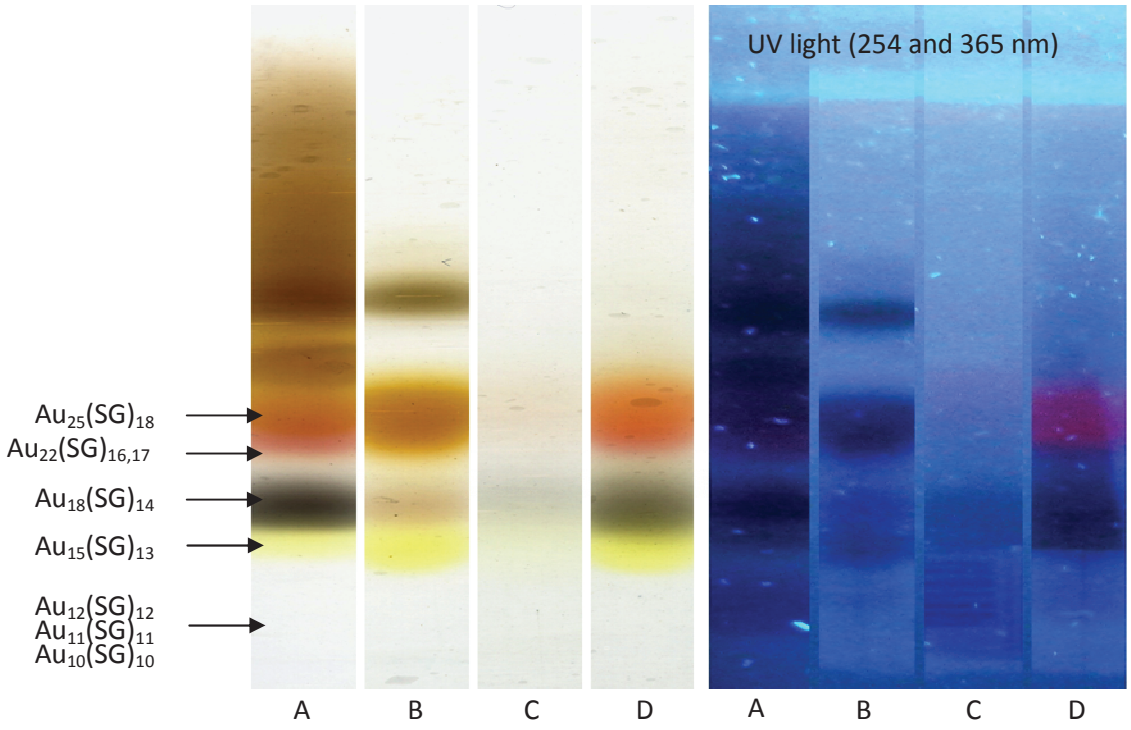
152 mg du glutathion est ajouté à une solution méthanolique d'acide chloraurique $HAuCl_4$ (50 mg, 40 ml). La solution est conservée sous agitation pendant 30 min à 12 °C. Après, 12 mg de borohydrure de tétraméthylammonium ($(CH_3)_4NBH_4$) est rapidement ajouté à la solution. 3 gouttes d'acide trifluoroacétique (TFA) sont injectées pour dissoudre le précipité apparu. Après 30 minutes d'agitation, 24 mg et 40 mg de ($(CH_3)_4NBH_4$) sont ajoutés dans un intervalle d'une heure. Après la réaction, la précipitation est lavée plusieurs fois par le méthanol. La poudre est évaporée et est conservée dans un réfrigérateur.

Au bout d'une heure, le précipité obtenu est récupéré par centrifugation. On ajoute 5 ml d'eau et l'on ajuste le pH à 6 avec une solution d'ammoniaque 1% Afin de redissoudre correctement les clusters. L'addition de méthanol les refait précipiter. On les récupère par centrifugation et ce cycle est répété deux fois avant de les sécher sous vide et les conserver au congélateur.

1.2. Séparation des clusters sur le gel d'électrophorèse

La séparation de clusters polydisperses est réalisée par un gel électrophorèse vertical (0.2×20×20 cm). Le gel est une polymérisation d'un mélange acrylamide/bis-(acrylamide) = 94:6 (35 g de mélange acrylamide pour 100 ml de solution tampon). Le tampon est constitué de glycine (192 mM) et de tris (25 mM). Les clusters sont dissous dans 15% glycerol/eau (6 mg dans 100 µl) et injectés dans le gel. Après 9 heures de migration à tension constante (150 V), différentes bandes ont été obtenues. Chaque bande correspond à un cluster de taille bien définie.

La figure 3.17 montre une photo des clusters séparés sur le gel d'électrophorèse sous excitation visible (gauche) et UV (droite). L'excitation UV permet de révéler les bandes fluorescentes.



A : Synthèse de Tsukuda

B : Synthèse de Pradeep

Figure 3.17 : Séparation des clusters synthétisés dans une solution sur le gel d'électrophorèse

2. Spectre de masse, isolation et études des clusters par CID

2.1. Spectre de masse

Les clusters obtenus par les synthèses « C » et « D » sont dissous dans l'eau sans séparation sur gel électrophorèse, 3% d'ammoniac est ajouté afin de décaler la distribution en état de charge. La solution est injectée dans la source d'ionisation avec le même réglage du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (température du capillaire de transfert est baissée à 100 °C).

- **Synthèse « C »**

Le spectre de masse de la solution « C » présente les différents états de charge des clusters $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$, $Au_{12}(SG)_{12}$, $Au_{15}(SG)_{13}$ et $Au_{16}(SG)_{14}$ (figure 3.18). Parmi ces clusters, l'$Au_{10}(SG)_{10}$ est l'espèce majoritaire.

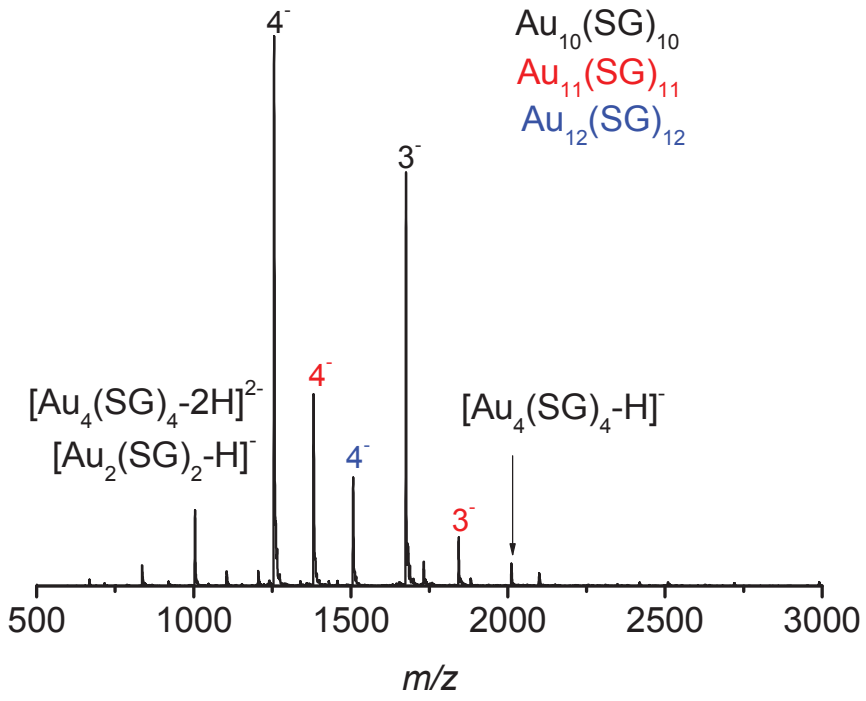


Figure 3.18 : Le spectre de masse de la solution « C »

- **Synthèse « D »**

Le spectre de masse de la solution « D » présente une distribution gaussienne composée de plusieurs pics (figure 3.19). Chaque pic correspond à un état de charge du cluster. Par comparaison avec la synthèse de Tsukuda, cette synthèse permet la formation de petits clusters comme $Au_{16}(SG)_{14}$, $Au_{20}(SG)_{16}$ et $Au_{23}(SG)_{17}$. Le tableau 3.3 résume les clusters obtenus par les synthèses « B », « C » et « D ».

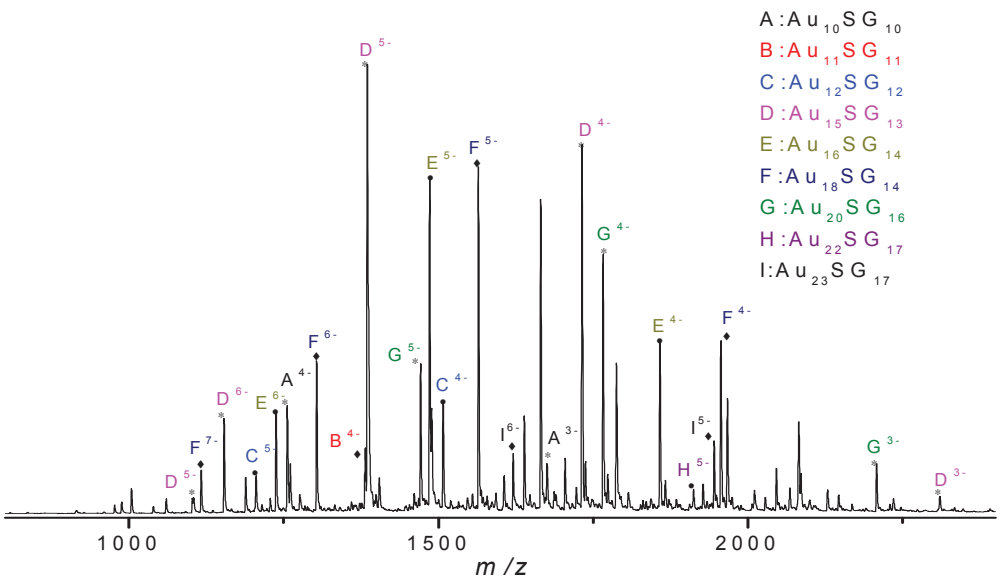


Figure 3.19 : Le spectre de masse de la solution « D »

Synthesis B	$Au_{25}(SG)_{18}$, $Au15(SG)_{13}$,$Au_{18}(SG)_{14}$,$Au_{20}(SG)_{16}$
Synthesis C	$Au_4(SG)_4$,$Au_8(SG)_8$,$Au_{10}(SG)_{10}$,$Au_{11}(SG)_{11}$,$Au_{12}(SG)_{12}$,$Au_{16}(SG)_{14}$,$Au_{15}(SG)_{13}$
Synthesis D	$Au_{10}(SG)_{10}$,$Au_{11}(SG)_{11}$,$Au_{12}(SG)_{12}$,$Au_{15}(SG)_{13}$, $Au_{16}(SG)_{14}$,$Au_{18}(SG)_{14}$,$Au_{20}(SG)_{16}$,$Au_{22}(SG)_{17}$, $Au_{23}(SG)_{17}$

Tableau 3.3 : Les différents clusters obtenus par les synthèses « B », « C » et « D ».

2.2. Isolation et étude des clusters par CID

L'objectif des expériences de fragmentation de clusters est d'avoir accès à quelques propriétés structurelles en comparant leurs structures (déterminé par les expériences de diffraction de rayon X) avec les fragments obtenus.

Dans la section précédente, nous avons présenté le spectre CID du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. Deux types des fragments ont été observés :

- Fragment multichargés **:** Ces fragments correspondent à la perte d'acide pyroglutamique des glutathions.
- Fragment monochargés **:** Ces fragments sont essentiellement $[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$, $[Au(SG)\text{-}H]^-$, $[Au_2(SG)\text{-}H]^-$ et $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$. Afin de corréler ces fragments avec la structure du cluster ($Au_{13} + 6[Au_2(SG)_3]$ [24]), nous supposons que les fragments $[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$, $[Au(SG)\text{-}H]^-$, $[Au_2(SG)\text{-}H]^-$ sont formés par dissociation du complexe $Au_2(SG)_3$ et le complexe $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$est formé par réarrangement de petits fragments dans la source.

Récemment, des expériences de fragmentation ont été réalisées sur le cluster $[Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)_{18}]^-$ par mobilité ionique couplé à un spectromètre de masse [21]. Parmi les fragments observés, le complexe $Au_4(SR)_4$ est le fragment le plus intense. Les différentes bandes observées par mobilité sont attribuées à la fragmentation du cœur Au_{13}. Des expériences MALDI-MS réalisées sur le cluster $Au_{25}(SR)_{18}$ ont montré également que le fragment le plus intense observé est $Au_4(SR)_4$ [31]. Ces expériences ont montré que la perte du complexe $Au_4(SR)_4$ est une caractéristique de fragmentation du cluster $Au_{25}(SR)_{18}$.

Après l'analyse du spectre de masse de la solution « C », nous avons réalisé des expériences CID sur les différents clusters. Les figures 3.20 et 3.21 montrent les spectres CID de différents clusters obtenus avec une énergie de collision $E_c = 12$ (u.a).

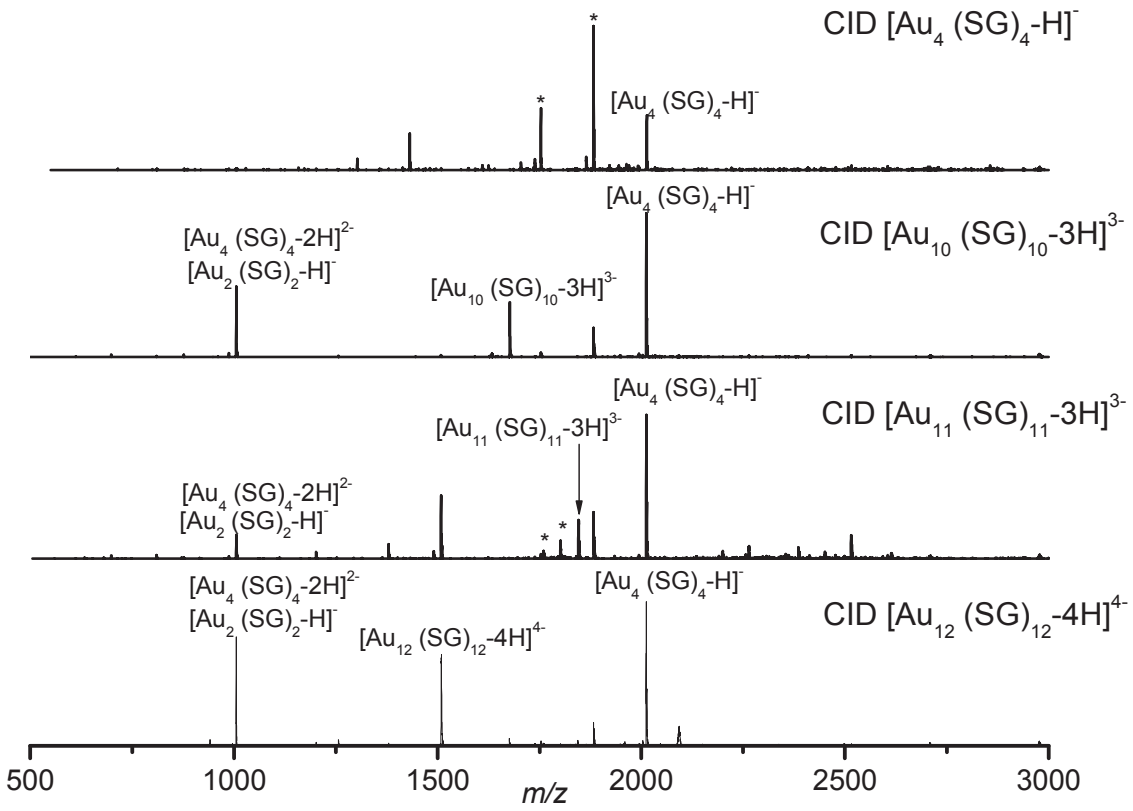


Figure 3.20 : Les spectres CID des clusters $[Au_4 (SG)_4-H]^-$, $[Au_{10}(SG)_{10}-3H]^{3-}$, $[Au_{11} (SG)_{11}-3H]^{3-}$ et $[Au_{12} (SG)_{12}-4H]^{4-}$. Les pics marqués par (*) correspondent à la perte de l'acide pyroglutamique des glutathions.

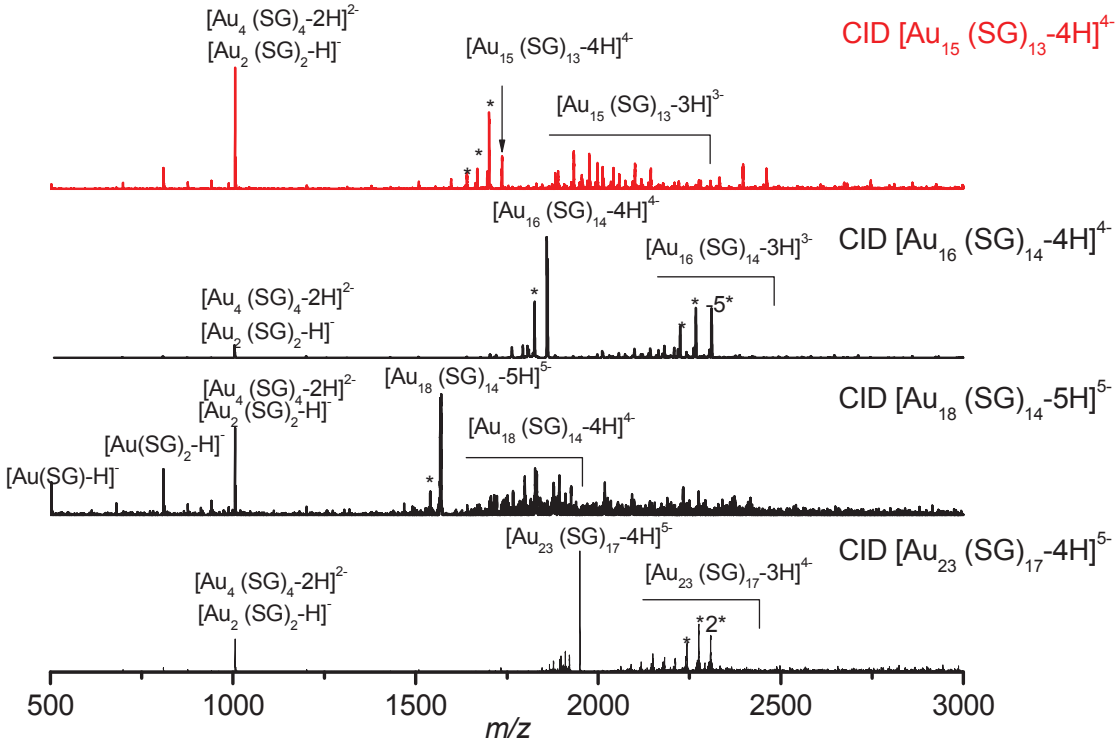


Figure 3.21 : Les spectres CID des clusters $[Au_{15}(SG)_{13}\text{-}4H]^{4-}$, $[Au_{16}(SG)_{14}\text{-}4H]^{4-}$,$[Au_{18}(SG)_{14}\text{-}5H]^{5-}$ et $[Au_{23}(SG)_{17}\text{-}4H]^{5-}$. Les pics marqués par (*) correspondent à la perte de l'acide pyroglutamique des glutathions

Les spectres de fragmentation des clusters $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$et $Au_{12}(SG)_{12}$ sont caractérisés par la présence de différents fragments. Pour les identifier, nous avons réalisés des expériences MS^n : dans un premier temps l'ion parent ($[Au_{10}(SG)_{10}\text{-}3H]^{3-}$, $[Au_{11}(SG)_{11}\text{-}3H]^{3-}$, $[Au_{12}(SG)_{12}\text{-}4H]^{4-}$) est isolé et fragmenté, ensuite on isole un seul fragment avec un faible temps d'injection afin de déterminer sa structure isotopique.
La structure isotopique a montré que la distribution centrée à m/z = 2010 Da correspond au complexe $[Au_4(SG)_4\text{-}H]^-$ et la distribution centrée à m/z = 1005 Da correspond aux complexes ($[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$ et $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$). Parmi ces fragments, $Au_4(SG)_4$ est le plus intense.

À partir du cluster $Au_{15}(SG)_{13}$, les spectres CID deviennent complexes. Ils présentent deux types de fragments :

- Fragments polychargés : correspondent à la perte d'acide glutamique de l'ion parent ou l'ion protoné.
- Fragments monochargés : $[Au(SG)-H]^-$, $[Au(SG)_2-H]^-$, $[Au_2(SG)_2-H]^-$ et $[Au_4(SG)_4-2H]^{2-}$.

Les fragments $[Au_2(SG)_2-H]^-$ et $[Au_4(SG)_4-2H]^{2-}$ représente un intérêt particulier, c'est un fragment observé dans tous les spectres CID des clusters, néanmoins leur intensité varie d'un cluster à un autre comme on le voit sur la figure 3.21. Pour le cluster $Au_{15}(SG)_{13}$, ces fragments sont très intenses, par contre à partir du cluster $Au_{16}(SG)_{14}$, ils sont très faibles. Ces observations suggèrent que le cœur du cluster $Au_{15}(SG)_{13}$ est stabilisé par les complexes $Au_4(SG)_4$.

En se basant sur le spectre de fragmentation du cluster $Au_{15}(SG)_{13}$, on propose une structure constitué d'un cœur Au_3 stabilisé par $[Au_4(SG)_4]_4$ et un glutathion (figure 3.22). D'autres structures pour ce cluster sont possibles comme par exemple un cœur Au_5 stabilisé par $Au_4(SG)_4$ et $[Au_2(SG)_3]_3$.

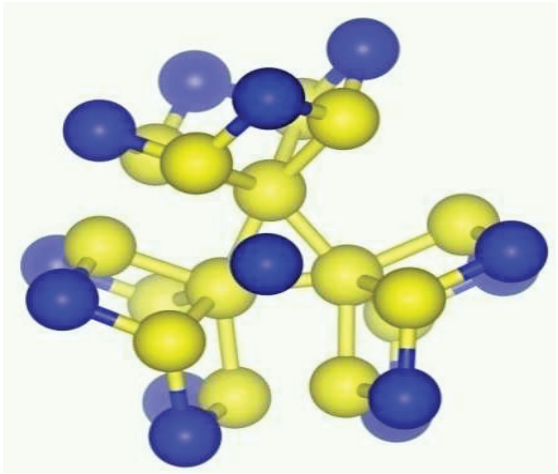


Figure 3.22 : La structure proposée pour le cluster $Au_{15}(SG)_{13}$

3. État d'oxydation du cœur

Généralement, la stabilité des clusters métalliques stabilisés par de ligands est corrélée au nombre total d'électrons et à leurs structures. Le nombre total d'électrons est déterminé par la formule suivante :

$$n = N - M - Z \quad (32)$$

Avec N : le nombre d'électrons de valence, M : le nombre de ligands et Z : la charge accommodée dans le cœur

Dans le modèle du super atome, les clusters ayant un nombre d'électrons n = 2, 8, 34, 58, 92, 138… sont considérés comme les plus stables.

Pour calculer le nombre total d'électron dans les clusters métalliques stabilisés par des ligands, il faut d'abord déterminer l'état d'oxydation du cœur (Z). Ce dernier pourrait être déterminé par la fragmentation du cluster ou par l'analyse du massif isotopique. Comme je l'ai précédemment expliqué, la première méthode se réalise avec des conditions de fragmentation très particulières pour fragmenter les ligands et conserver le cœur. Dans notre étude, les spectres de fragmentation de différents clusters ne nous permettent pas de connaître le nombre de charges portées dans le cœur. Nous allons donc nous baser sur l'analyse de structures isotopiques expérimentales.

Les figures 3.23, 3.24 et 3.25 montrent les structures isotopiques expérimentales de différents clusters comparées aux structures isotopiques théoriques. On remarque que pour les clusters de taille inférieure à $Au_{22}(SG)_{17}$, le nombre total de charge est porté par les groupes acides carboxyliques. Par contre, à partir du cluster $Au_{22}(SG)_{17}$, il y a une charge accommodée dans le cœur. Le tableau 3.4 donne l'état d'oxydation de cœur de différents clusters $Au_x(SG)_y$ et le nombre total de charges.

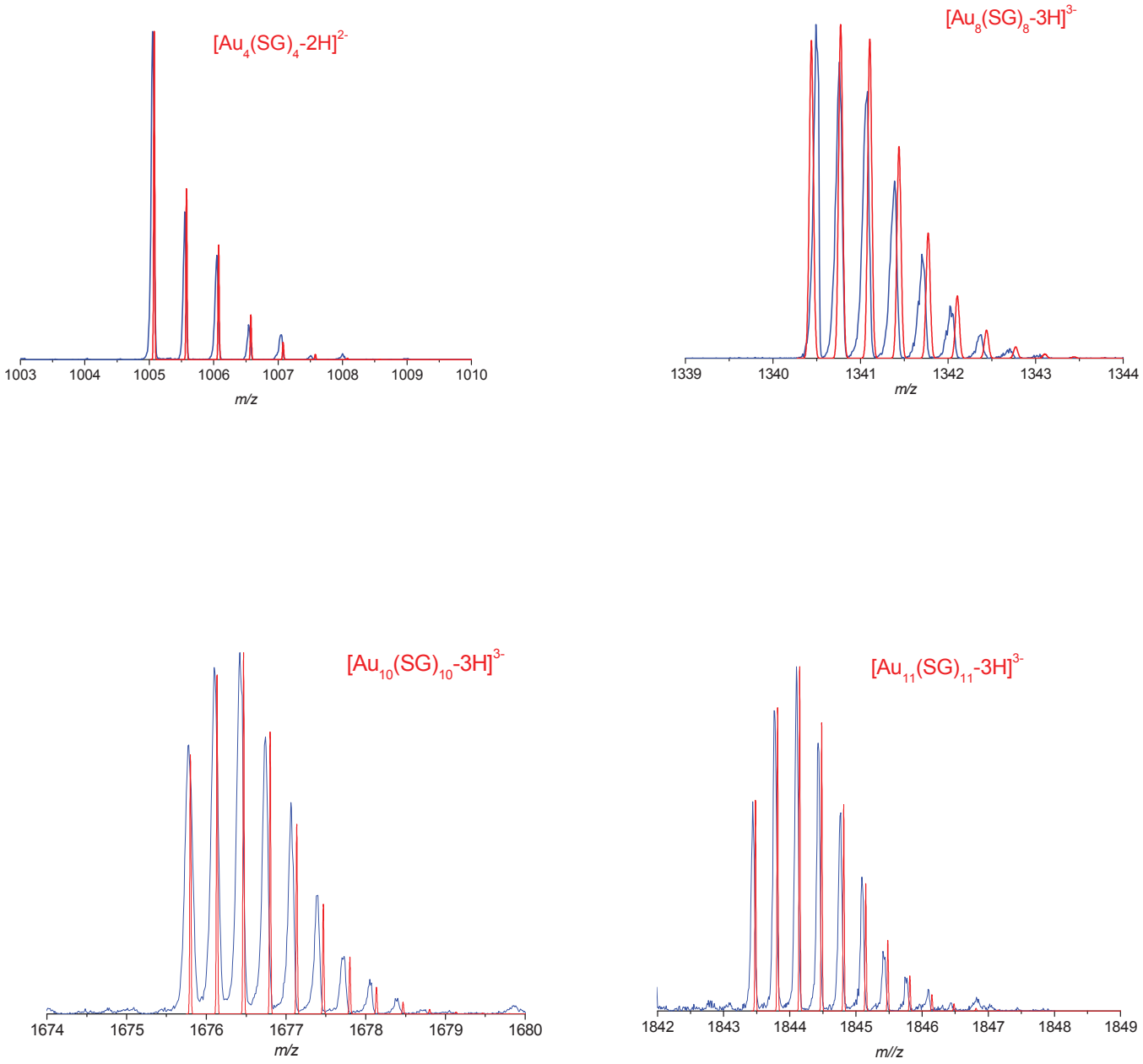


Figure 3.23 : Les structures isotopiques expérimentales des clusters $Au_x(SG)_y$ (bleu) comparées aux structures isotopiques théoriques (rouge).

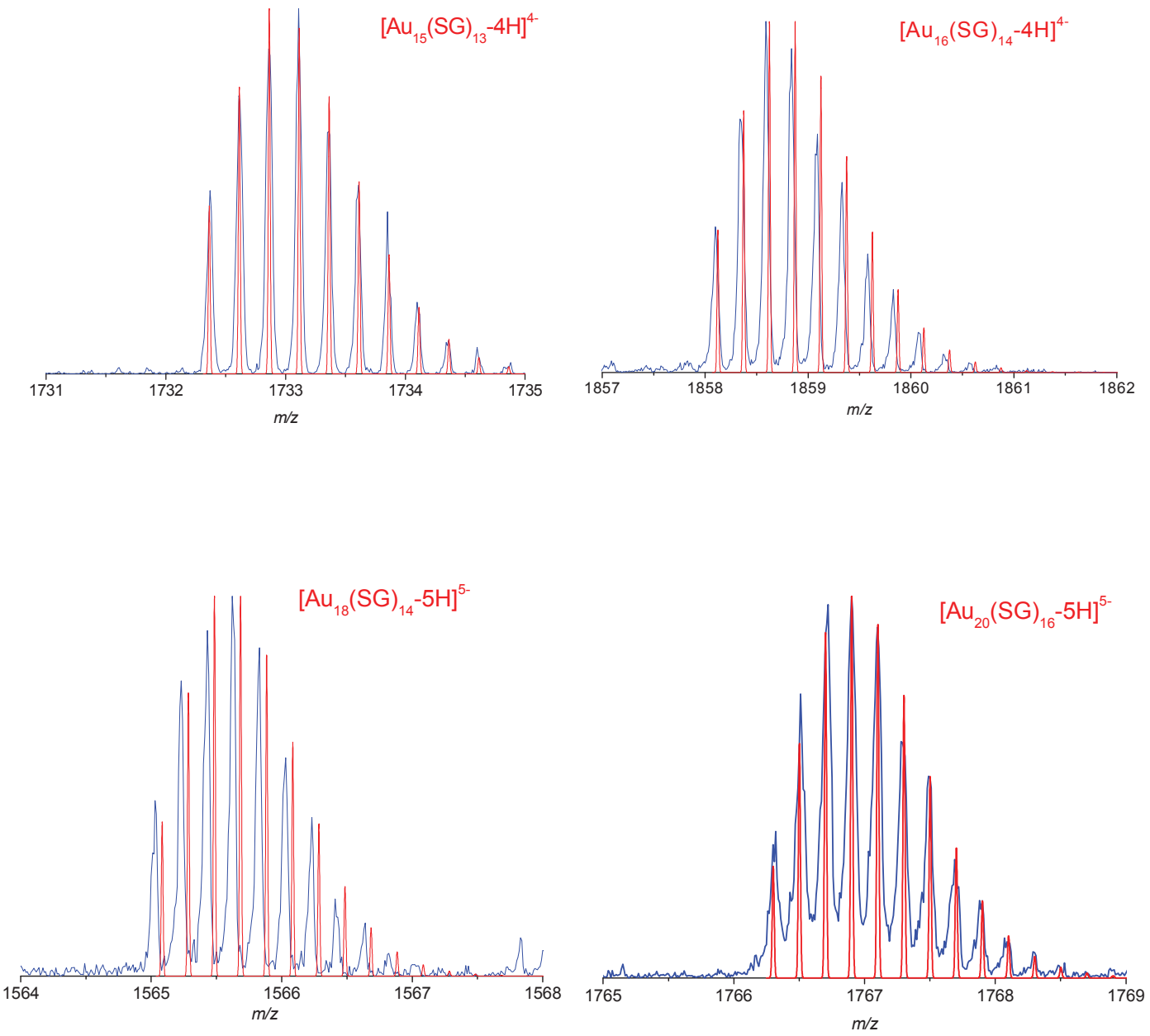


Figure 3.24 : Les structures isotopiques expérimentales des clusters $Au_x(SG)_y$ (bleu) comparées aux structures isotopiques théoriques (rouge).

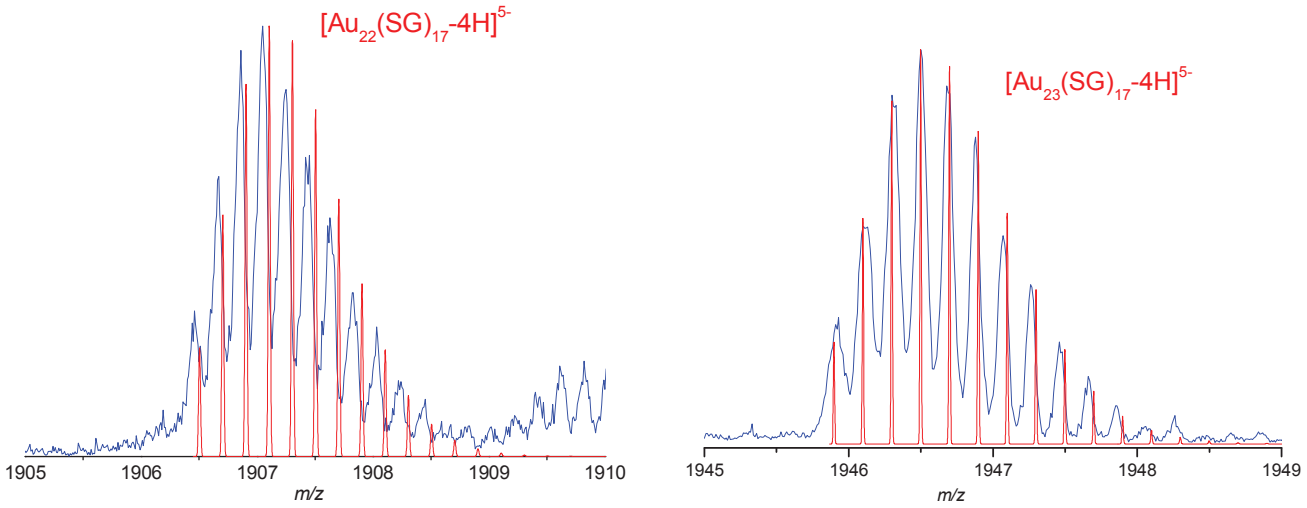


Figure 3.25 : Les structures isotopiques expérimentales des clusters $Au_x(SG)_y$ (bleu) comparées aux structures isotopiques théoriques (rouge).

Cluster	**Z**	**N**
$Au_4(SG)_4$	0	0
$Au_8(SG)_8$	0	0
$Au_{10}(SG)_{10}$	0	0
$Au_{11}(SG)_{11}$	0	0
$Au_{12}(SG)_{12}$	0	0
$Au_{15}(SG)_{13}$	0	2
$Au_{16}(SG)_{14}$	0	2
$Au_{18}(SG)_{14}$	0	4
$Au_{20}(SG)_{16}$	0	4
$Au_{22}(SG)_{17}$	-1	6
$Au_{23}(SG)_{17}$	-1	7
$Au_{25}(SG)_{18}$	-1	8

Tableau 3.4 : L'état d'oxydation de cœur et le nombre total d'électrons des clusters $Au_x(SG)_y$.

IV. Conclusion et perspectives :

Dans ce chapitre, nous avons utilisé des spectromètres de masse à haute résolution pour étudier les clusters d'or stabilisés par les glutathions en phase gazeuse. Nous avons vu que ces clusters sont très fragiles et leur détection nécessite l'optimisation de différents paramètres de la source d'ionisation et des lentilles de transmission.

Nous nous sommes intéressés aux propriétés structurelles, optiques et électroniques de ces clusters. Pour cela, nous avons réalisé des expériences d'activation par collision et des expériences spectroscopique sur les clusters piégés en phase gazeuse. Pour le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$, nous avons montré les mécanismes mises en jeu pour le détachement d'électron. Nous avons également montré que les expériences CID permettent d'avoir accès à quelques propriétés structurelles. À l'aide du spectromètre de masse à haute résolution, nous avons développé une méthode qui permet de déterminer l'état d'oxydation de cœur.

Nous avons développé une nouvelle méthode de synthèse qui permet d'élaborer de petits clusters d'or stabilisés par les glutathions ($Au_n(SG)_m < Au_{25}(SG)_{18}$). La caractérisation de ces clusters par spectrométrie de masse (MS, CID) a permis d'explorer leurs propriétés structurelles et électroniques ; le cluster $Au_{15}(SG)_{13}$ est la première taille qui possède un cœur métallique et le cluster $Au_{22}(SG)_{17}$ est la première taille qui accommode une charge dans le cœur. Nous avons également proposé, pour la première fois, une structure pour le cluster $Au_{15}(SG)_{13}$(taille de transition) à l'aide de fragmentation du cluster. Cette structure n'est pas définitive et reste à confirmer par les expériences de diffraction de rayon X en conjonction avec les calculs théoriques.

En perspective, des expériences de synthèse sont en cours afin d'élaborer une solution monodisperse du cluster $Au_{15}(SG)_{13}$. Nous avons également essayé de greffer une protéine sur ce cluster pour construire un système hybride et étudier leurs propriétés optiques. Les résultats préliminaires sont encourageants et sont en cours d'amélioration.

.

V. Bibliographie:

(1) Bigioni, T. P.; Whetten, R. L.; Dag, Ö. *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 6983.

(2) Negishi, Y.; Nobusada, k.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 5261.

(3) Schaaff, T. G.; G, K.; Shafigullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 10643.

(4) Crespo, P.; Litran, R.; Rojas, T. C.; Multigner, M.; de la Fuente, J. M.; Sanchez-Lopez, J. C.; Garcýa, M. A.; Hernando, A.; Penades, S.; Fernandez, A. *Physical Reviews Letters* **2004**, *93*, 087204.

(5) Tsunoyama, H.; Sakurai, H.; Ichikuni, N.; Negishi, Y.; Tsukuda, T. *Langmuir* **2004**, *20*, 11293.

(6) Chen, S.; Ingram, R. S.; Hostetler, M. J.; Pietron, J. J.; Murray, R. W.; Schaaff, T. G.; JKhoury, J. T.; Alvarez, M. M.; Whetten, R. L. *Science* **1998**, *280*, 2098.

(7) Negishi, Y.; Takasugi, Y.; Sato, S.; Yao, H.; Kimura, K.; Tsukuda, T. *The Journal of Physical Chemistry B Letters* **2006**, *110*, 12218.

(8) Negishi, Y.; Takasugi, Y.; Sato, S.; Yao, H.; Kimura, K.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 6518.

(9) Shibu, E. S.; Habeeb Muhammed, M. A.; Tsukuda, T.; Pradeep, T. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *112*, 12168.

(10) Wu, Z.; Suhan, J.; Jin, R. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2009**, *4*, 4222.

(11) Wu, Z.; Jin, R. *ACS Nano* **2010**, *10*, 2568.

(12) Shichibu, Y.; Negishi, Y.; Tsukuda, T.; Teranishi, T. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 13464.

(13) Habeeb Muhammed, M. A.; Ramesh, S.; Sinha, S. S.; Pal, S. K.; Pradeep, T. *Nano Research* **2008**, *1*, 333.

(14) Gabelica, V.; Rosu, F.; Tabarin, T.; Kinet, C.; Antoine, R.; Broyer, M.; Pauw, E. D.; Dugourd, P. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 4706.

(15) Joly, L.; Antoine, R.; Allouche, A.; Dugourd, P. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 13832.

(16) Matheis, K.; Joly, L.; Antoine, R.; Lépine, F.; Bordas, C.; Ehrler, O. T.; Allouche, A.; Kappes, M. M.; Dugourd, P. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 15903.

(17) Joly, L.; Antoine, R.; Broyer, M.; Lemoine, J.; Dugourd, P. *The Journal of Physical Chemistry A* **2008**, *112*, 898.

(18) Antoine, R.; Joly, L.; Tabarin, T.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Lemoine, J. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 265.

(19) Bellina, B.; Compagnon, I.; Bertorelle, F.; Broyer, M.; Antoine, R.; Dugourd, P.; Gell, L.; Kulesza, A.; Mitric, R.; Koutecky, V. B. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 24549.

(20) Wu, Z.; Gayathri, C.; Gil, R. R.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 6535.

(21) Angel, L. A.; Majors, L. T.; Dharmaratne, A. C.; Dass, A. *ACS Nano* **2010**, *4*, 4691.

(22) Iwasa, T.; Nobusada, K. *The Journal of Physical Chemistry C* **2006**, *111*, 45.

(23) Akola, J.; Walter, M.; Whetten, R. L.; Häkkinen, H.; Grönbeck, H. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 3756.

(24) Zhu, M.; Aikens, C. M.; Hollander, F. J.; Schatz, G. C.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 5883.

(25) Taylor, K. J.; Pettiette-Hall, C. L.; Cheshnovsky, O.; Smalley, R. E. *Journal of Chemical Physics* **1991**, *96*, 3319.

(26) Kim, E. H.; Bradforth, S. E.; Arnold, D. W.; Metz, R. B.; Neumark, D. M. *Journal of Chemical Physics* **1995**, *103*, 7801.

(27) Wang, X. B.; Ding, C. F.; Wang, L. *Chemical Physics Letters* **1999**, *307*, 391.

(28) Pei, Y.; Gao, Y.; Shao, N.; Zeng, X. C. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 13619.

(29) Aghosh, A.; Udayabhaskararao, T.; Pradeep, T. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2012**, *3*, 1997.

(30) Tlahuice, A.; Garzon, I. L. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 3737.

(31) Dass, A.; Stevenson, A.; Dubay, G. R.; Tracy, J. B.; Murray, R. W. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* , 5940.

(32) Walter, M.; Akola, J.; Lopez-Acevedo, O.; Jadzinsky, P. D.; Calero, G.; Ackerson, C. J.; Robert L. Whetten, R. L.; Grönbeck, H.; Häkkinen, H. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, *105*, 9157.

Chapitre 4 : Caractérisation des clusters d'argent stabilisés par des ligands thiolés

I. Introduction :

Le domaine d'élaboration et d'étude de nanoparticules a connu un essor formidable ces dernières années. Ces nanoparticules présentent des propriétés modulables, due à la position du plasmon qui dépend de la taille de la particule [(1)]. Elles peuvent être utilisées dans plusieurs domaines comme le domaine du stockage d'information, le domaine des composants pour l'optique logique [(2,3)].

Généralement, les nanoparticules sont formées en phase gazeuse par vaporisation d'un barreau métallique [(4)] ou en solution par des méthodes chimiques permettant la formation d'un cœur métallique stabilisé par de ligands [(5-10)].

La combinaison de nanoparticules avec de biomolécules conduit à la formation d'un système hybride qui possède des propriétés optiques et électroniques uniques. Ces systèmes sont devenus important ces dernières années non pas seulement pour le développement technologique, mais aussi pour les applications biologiques. Par exemple, des nanoparticules d'argent ont été utilisées comme sondes adaptées à la reconnaissance de biomolécule ou comme fluorophores pour marquer certaines molécules ou cellules [(11)]. Ces applications sont basées sur la remarquable augmentation d'efficacité des processus de photoabsorption et d'émission observés sur des biomolécules au contact de surfaces métalliques ou de petits agrégats. Ce phénomène a été utilisé notamment dans des expériences de fluorescence ou de diffusion raman sur une particule unique [(12)]. Les techniques de détection les plus utilisées sont basées sur SPR (Surface Plasmon Resonace) ou SERS (Surface Enhancement Raman Spectroscopy) qui consistent à réaliser des expériences de spectroscopie sur des biomolécules déposées sur un film d'argent. L'excitation au niveau du plasmon de l'argent provoque l'amplification du champ électronique au niveau de la biomolécule et la possibilité d'enregistrer des spectres sur une biomolécule unique. Dans ce contexte, les clusters des métaux nobles possédant des propriétés optiques intéressantes (absorption, émission) constituent une alternative prometteuse pour remplacer les nanocristaux semi-conducteurs. Récemment, une étude expérimentale en conjonction avec le calcul théorique a montré que l'attachement de petits clusters d'argent $(Ag)_n$ à des peptides augmente la fluorescence des peptides [(13-15)]. Dans les clusters d'argents, l'augmentation d'absorption est due à l'excitation

d'électron s-s (large gap d'énergie s-d), par contre dans les clusters d'or, les effets relativistes sont les responsables du petit gap (s-d) et l'excitation d'électron s-d est le plus favorable. Dans le contexte de la localisation du maximum d'absorption, les clusters d'argent possèdent des propriétés optiques intéressantes par rapport aux clusters d'or [16,17]. Ces caractéristiques ont permis l'utilisation des clusters d'agents dans plusieurs applications en particulier l'imagerie cellulaire [18] et la spectroscopie de molécules uniques [19].

Malgré les nombreux travaux sur les clusters d'or, l'étude des clusters d'argent stabilisés par des ligands thiolés est très limitée et cela dû à la fragilité des liaisons Ag-S et au problème d'oxydation des clusters d'argent. Cependant, Quelques méthodes de synthèse ont été développées ces dernières années.

En 2002, l'équipe de Dickson a présenté pour la première fois une solution aqueuse des clusters d'argent fluorescentes passivés par un dendrimère [20]. Une faible quantité du sel d'argent favorise la formation de petits clusters d'argent pendant la photoréduction. Le même groupe a développé une méthode de synthèse permettant de former des nanoclusters d'argent stabilisés par l'ADN et montré la possibilité d'utiliser ces nano-objets pour l'imagerie cellulaire [21] (figure 4.1).

D'autres produits ont été utilisés pour la synthèse des clusters d'argent, comme par exemple des polymères [22], des acrylates [23] ou des molécules possédant des groupes thiols comme le captopril [24], le glutathion [5] et l'acide lipoique [25]. L'acide mercaptosuccinique (HMSA), lui, a permis via un procédé d'échange des ligands à l'interface organique/aqueux d'obtenir une solution polydisperse des clusters d'argents [7]. Leur séparation sur le gel d'électrophorèse et la caractérisation par ESI-MS ont montré la formation des clusters $(Ag\text{-}H_2MSA)_7$ et $(Ag\text{-}H_2MSA)_8$. Le même produit permet aussi la formation à l'état solide du cluster $Ag_9(H_2MSA)_7$ [8]. Récemment, R. Jin a développé une méthode de synthèse qui permet l'élaboration d'une solution monodisperse du cluster d'argent stabilisé par l'acide dimercaptosuccinique $Ag_7(DMSA)_4$ [6].

Pradeep a présenté une méthode de synthèse pour stabiliser des clusters d'argent par l'albumine de bœuf (BSA) [26] ; la caractérisation par MALDI-MS a montré la présence de plusieurs états de charge du cluster Ag_{15}BSA. Une autre étude a montré l'influence du pH de la solution et de type du réducteur sur la taille et l'état d'oxydation des clusters ; à pH=7 et à faible température (T = 0°C), de petits clusters d'argent peuvent se former par le BSA Ag_8-BSA [9] . Le peptide (CCYRGRKKRRQRRR) a été aussi utilisé pour passiver des

clusters d'argent [10] ; la caractérisation des solutions par différentes méthode d'analyse a montré que la formation des clusters dépend aussi des conditions de préparation de la solution.

En 2010, l'équipe de Bigioni a développé une méthode de synthèse permettant la formation en solution des clusters d'argent stabilisés par des molécules du glutathion [5]. La séparation sur gel d'électrophorèse a montré la présence de plusieurs espèces $Ag_n(SG)_m$ qui ont pu être isolées et étudiées. Leurs spectres d'absorption ultraviolet visible présentent différentes bandes d'absorption qui correspondent aux transitions intrabandes et/ou transitions interbandes. Ces spectres d'absorption sont totalement différents des spectres d'absorption des clusters $Au_x(SG)_y$. Cela est dû à la différence des propriétés physicochimiques entre l'or et l'argent. Comme pour les clusters d'or, le défi reste toujours la détermination du nombre exact des atomes d'argent et de glutathions.

En 2011, la même équipe a mené des expériences de caractérisation sur les différents clusters d'argent stabilisés par les glutathions par ESI-MS. Cependant, la fragmentation de clusters dans la source n'a pas permis de déterminer leurs stœchiométries. Devant les difficultés de caractérisation, l'équipe de Bigioni nous a envoyé des échantillons afin de les caractériser par spectrométrie de masse à haute résolution. Nous verrons dans la suite que ces clusters sont très fragiles et leurs détections par un spectromètre de masse nécessitent une optimisation des paramètres de la source d'ionisation et des lentilles de transmission. Après la caractérisation des échantillons de Bigioni, nous avons entrepris d'élaborer nos propres clusters en essayant d'éviter l'étape de séparation sur gel électrophorèse.

Dans ce chapitre je vais présenter les études menées (spectrométrie de masse, spectrophotométrie et spectroscopie laser) sur des clusters d'argent stabilisés par des ligands thiolés principalement le glutathion mais aussi l'acide lipoique (DHLA). Nous comparerons les résultats obtenus avec les échantillons envoyés par l'équipe de Bigioni à ceux synthétisés dans notre laboratoire.

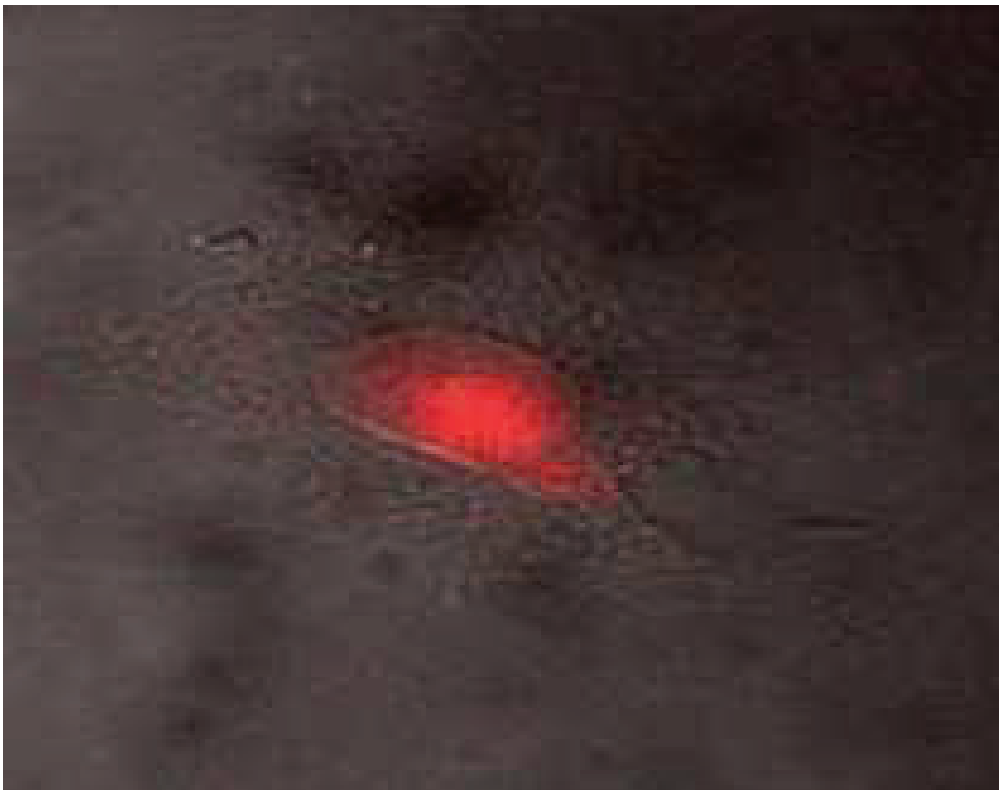


Figure 4.1 : Fluorescence d'une cellule humaine NIH 3T3 après l'injection des nanoclusters d'argent [21].

II. Caractérisation et étude spectroscopique des clusters d'argent stabilisés par les glutathions

L'équipe de Bigioni a réalisé une grande avancée dans la préparation et la caractérisation des clusters Ag-GSH. Cependant, la méthode de synthèse utilisée conduit à la formation d'un mélange important d'espèces. Dans un premier temps, nous avons reproduit leur méthode afin d'acquérir le savoir faire, optimiser et comparer les résultats entre nos échantillons et les leurs. Ensuite, nous avons optimisé et développé notre méthode d'élaboration, en essayant d'abord de réduire la polydispersité des échantillons obtenus afin de s'affranchir de l'étape de purification sur gel d'électrophorèse mais aussi en essayant d'aller vers de taille du cluster plus petit.

Nous commencerons par décrire dans une première partie les différentes synthèses utilisées avant de caractériser les clusters par spectrométrie de masse. Nous finirons par étudier leurs propriétés optiques en solution et en phase gazeuse.

1. Synthèse des clusters d'argent stabilisés par les glutathions

1.1. Synthèse A : préparation et séparation sur gel d'électrophorèse (méthode Bigioni)[5]

- **Synthèse**

Les clusters Ag:SG sont synthétisés en solution aqueuse par réduction des ions d'argent. En bref, 42.4 mg (0.25 mmol) de sel d'argent $AgNO_3$ est dissous dans 50 ml d'eau. 307 mg (1 mmol) du glutathion est ensuite rajouté à la solution. La solution est agitée dans un bain de glace pendant 30 mn. Une solution aqueuse de borohydrure de sodium ($NaBH_4$) (0.2 mmol, 12.5 mL) refroidit à 0 °C est rapidement ajoutée à la solution. Au bout d'une heure, elle prend une couleur Brun-noir.

La solution est alors concentrée par évaporation sous vide jusqu'à ≈ 5 ml. On ajoute alors 20 ml de méthanol afin de faire précipiter les clusters. Le précipité est récupéré par centrifugation, puis lavé trois fois au méthanol (sonication-centrifugation) afin d'éliminer les produits n'ayant pas réagi. La poudre obtenue est séchée sous vide.

- **Séparation sur gel d'électrophorèse**

La séparation de clusters polydisperses est réalisée par un gel électrophorèse vertical (20cm×20cm×1.5 mm). Le gel est préparé par polymérisation d'acrylamide (avec 30 et 4wt% (acrylamide/bis-(acrylamide), respectivement). Le tampon est constitué de glycine (192 mM) et de trishydroxyméthylaminométhane (25 mM). Les clusters sont dissous dans 15% glycerol/eau (6 mg dans 100 µl) et injectés dans le gel. Après 7 heures de manipulation à tension constante (200 V), différentes bandes électrophorétiques ont été obtenues. Chaque bande correspond à un cluster de taille bien déterminée.

Pour récupérer les clusters, les différentes bandes obtenues sur le gel ont été coupées et placées dans l'eau distillé (2 mL) pendant 2 heures à 2 °C. Les morceaux du gel sont enlevés par un filtre de 0.2 µm de diamètre. La solution est concentrée et les clusters Au:SG sont précipités par méthanol.

1.2. Synthèse de clusters sans séparation : synthèse B

Cette synthèse s'inspire des travaux réalisés par Kitaev [24].

- **Synthèse**

On dissout dans un ballon de 100 ml plongé dans un bain de glace, 200 mg du glutathion (GSH) dans 35 ml d'eau. On y ajoute sous agitation, 550 µl d'une solution de nitrate d'argent ($AgNO_3$) à 100 mg/ml. Un précipité blanc laiteux apparait. On ajoute alors environ 800 µl de NaOH 1 M (jusqu'à dissolution du précipité, pH ≈ 6). Une fois la solution limpide, on y ajoute 1 ml d'une solution de $NaBH_4$ à 36 mg/ml et on laisse agiter 1h30. La solution est alors brun foncé. On ajoute 300 µl d'eau oxygénée H_2O_2 33% et on agite 45 mn. On ajoute alors dans l'ordre : 138 µl de solution d'$AgNO_3$ à 100 mg/l, 50 mg de GSH puis une fois celui-ci dissout, 500 µl d'une solution de $NaBH_4$ à 20 mg/ml. Après 1h30 d'agitation la solution est de couleur rouge brique.

- **Purification :**

La solution est concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à environs 5 ml. On transfère cette solution dans un tube à centrifuger et l'on ajoute 15 ml de méthanol qui provoque la précipitation des clusters. Le précipité est centrifugé 5 min à 11000 tr/min et l'on jette le surnageant. On redisperse les clusters dans 20 ml d'eau auquel on ajoute 50 µl d'acide acétique. Le pH doit être proche de 4. On laisse la solution qui se trouble légèrement au bout

d'une heure. Cette étape a pour but de faire précipiter/dégrader les clusters les moins stables. On centrifuge alors (13000 tr/min) pendant 30 minutes, et on récupère le surnageant (le précipité blanc isolé est jeté). Comme précédemment on concentre et on isole les clusters par précipitation au méthanol avant de sécher la poudre obtenue sous vide.

1.3. Synthèse de petits clusters sans séparation : Synthèse C

On dissout dans un ballon de 100 ml plongé dans un bain de glace, 90 mg de glutathion (GSH) dans 40 ml de méthanol en ajoutant 1 ml de triéthylamine. On y ajoute sous agitation, 0.5 ml d'une solution de trifluoroacétate d'argent (CF_3COOAg) à 64 mg/ml. Sous irradiation UV (lampe grand public de type « lumière noire » de 25W) et sous agitation, on ajoute 40 mg de borohydrure de tétraméthylammonium ($((CH_3)_4N(BH_4))$). Au bout d'une heure la solution est devenue jaune toute en présentant une fluorescence rouge sous irradiation. On concentre alors le mélange jusqu'à 5 ml qui est transféré dans un tube à centrifuger. Les clusters sont alors précipités par ajout de 20 ml d'éther. Le précipité est centrifugé 5 min à 11000 tr/min et l'on jette le surnageant. On dissout les clusters dans 2 ml d'eau basique (+200 µl de NH_4OH 28%) et on les fait précipiter une nouvelle fois par ajout de méthanol/éthanol 50/50 avant de les centrifuger. L'opération est répétée 2 fois en remplaçant le mélange méthanol/éthanol par du méthanol pur. La poudre obtenue est alors séchée sous vide.

2. Caractérisation

2.1. Caractérisation des clusters par électrophorèse

La figure 4.2 montre la séparation sur gel d'électrophorèse de trois synthèses des clusters d'argent comparés aux clusters d'or précédemment étudiés.

La séparation et la visualisation obtenu sur gel d'électrophorèse dépend des trois facteurs principaux : la force de gel (% en acrylamide), la tension appliquée mais aussi de la quantité et la nature des produits analysés. Un échantillon trop concentré conduit à des bandes mal séparées, des trainées, alors que trop peu empêche une bonne détection. Pour bien comparer les résultats des synthèses entre elles, il est préférable de les réaliser sur le même gel. De plus, il ne faut pas oublier que les clusters sont des espèces fragiles et donc ils peuvent évoluer et se dégrader lors de la migration qui dure entre 7 et 9 heures.

Bigioni et son équipe ont utilisé cette méthode pour comparer les résultats de leur synthèse à ceux obtenus par Tsukuda pour les clusters d'or. Cette comparaison du temps de migration ne

permet pas de faire de correspondance entre les structures des clusters mais elle permet de donner raisonnablement un ordre de grandeur sur le nombre d'atomes métalliques correspondant à chaque bande. Ceci est une information très importante pour la spectrométrie de masse lors de la phase de réglage et d'optimisation du signal.

Par exemple, les clusters d'argent de la bande 2 (figure 4.2) sont les plus mobiles sur le gel et se retrouvent au même niveau de la bande $Au_{15}(SG)_{13}$. On peut donc penser que la bande 2 correspond à un ou des clusters de l'ordre de la dizaine d'atomes d'argents.

Cette technique de séparation permet aussi de juger rapidement de la polydispersité du produit analysé. La synthèse de Bigioni présente plus de 20 bandes différentes alors que l'on voit que nos deux synthèses ont un nombre de bandes beaucoup plus réduit. La synthèse B présente une large bande équivalente en position à la bande 6. Cette largeur importante (aussi observée dans la synthèse C) peut s'expliquer par la présence de clusters de tailles très proches, ou à cause d'une trop forte concentration qui a conduit à l'apparition d'une trainée. Il est aussi possible qu'un peu de dégradation soit à l'origine de ce phénomène.

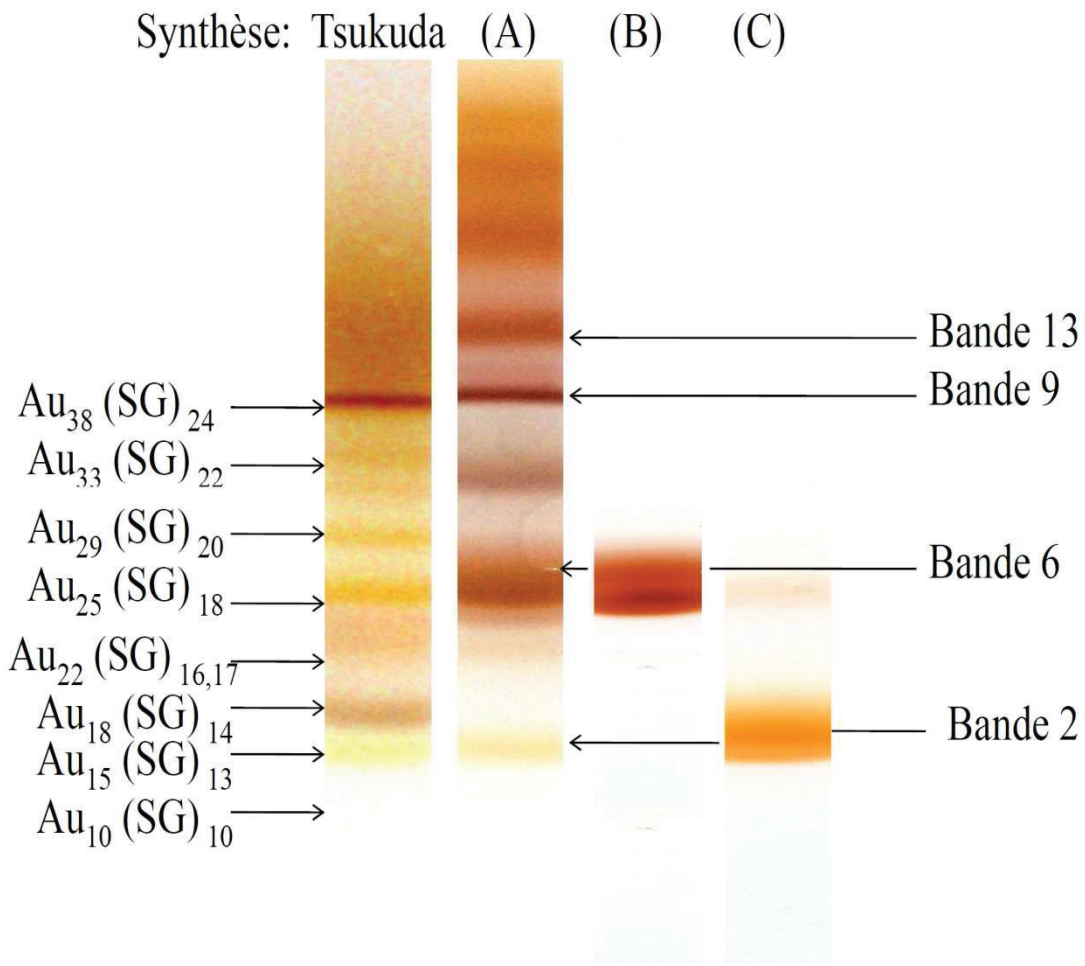


Figure 4.2 : Comparaison entre les bandes des clusters d'argent stabilisés par les glutathions (synthétisés par différentes méthodes) aux bandes des clusters d'or stabilisés par les glutathions (synthétisés par la méthode de Tsukuda).

2.2. Caractérisation des clusters par spectrométrie da masse

Pour déterminer la stœchiométrie des clusters d'argent $Ag_x(SG)_y$, nous avons utilisé un spectromètre de masse à haute résolution (LTQ) couplé à une source d'ionisation ESI.
Dans un premier temps, nous avons caractérisé le cluster de la bande 6 fourni par Bigioni avec le réglage utilisé pour le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. Le spectre de masse obtenu montre la présence des fragments monochargés ($[Ag(SG)-H]^-$, $[Ag_2SG-H]^-$ et $[Ag_3(SG)_2-H]^-$) et des fragments polychargés. Parmi ces fragments, $[Ag_3(SG)_2-H]^-$ est le plus intense. Le fait d'obtenir des fragments avec le même réglage de l'or nous permet de dire que les clusters d'argents sont moins stables.

Après l'optimisation des paramètres de la source et des lentilles de transmission, nous avons pu détecter les états de charge (5-, 6-, 7-) du cluster $Ag_{32}(SG)_{19}$ (figure 4.3 B). Le tableau 4.1 donne les paramètres optimaux utilisés pour détecter les clusters d'argent et les clusters d'or.

La structure isotopique de ce cluster a été déterminée par Bigioni ce qui confirme la stœchiométrie exacte du cluster [27]. Nous avons utilisé ce réglage pour caractériser nos solutions (synthèse B et synthèse C). Nous verrons dans la suite que les deux synthèses (bande 6 et synthèse B) ne donnent pas la même espèce.

Paramètres instrumentales	$Au_n(SG)_m$	$Ag_n(SG)_m$
Tension de la source (V)	4	5
Gaz 1(Sheath gas) (U.A)	25	40
Gaz 2(Aux gas) (U.A)	0	0
Tension du capillaire (V)	-25	-140
Température du capillaire (°C)	100	100
Tension de lentille L1	-120	-255

Tableau 4.1 : Les paramètres optimaux utilisés pour détecter les clusters d'argent

- **Synthèse B (équivalent bande 6)**

Comme nous avons mentionné, la séparation de la solution (synthèse B) sur le gel d'électrophorèse a donné une bande majoritaire alignée avec la bande 6. Le problème posé par ces résultats est de savoir l'espèce correspondant à cette bande majoritaire de la solution (B) et s'agit-t-il du cluster $Ag_{32}(SG)_{19}$?

Pour pouvoir répondre à cette question, nous avons isolé les produits contenus dans cette bande de la même manière de la bande 6, puis caractérisé par ESI-MS avec le même réglage permettant la détection du cluster $Ag_{32}(SG)_{19}$. Il s'est avéré que la solution non purifiée par électrophorèse donne les mêmes résultats en spectre de masse. Le spectre de masse obtenu est représenté sur la figure 4.3 (C). Il est caractérisé par la présence de plusieurs états de charge décalés par rapport aux états de charge du cluster $Ag_{32}(SG)_{19}$. À l'aide du spectre de masse déconvolué (figure 4.4 (A)), nous avons pu déterminer la masse et la stœchiométrie du cluster. Les différents pics observés dans le spectre de masse correspondent aux états de charge $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}4H]^{4-}$, $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}5H]^{5-}$ et $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}6H]^{6-}$. Dans un second temps, nous avons piégé un seul ion dans la trappe avec faible temps d'injection afin de déterminer sa structure isotopique et confirmer la formule attribuée au cluster. Nous prenons l'ion $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}6H]^{6-}$ pour illustrer la démarche. Sur la figure 4.4 (B), nous avons le spectre "zoom scan" enregistré, il est en accord avec la structure isotopique théorique du cluster $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}6H]^{6-}$. Il est important de noter que ne sommes pas dans le cas d'une substitution de n atomes d'hydrogène par n atomes d'argents car il y a plus d'atomes métalliques que de ligands. En revanche, on voit la perte de 6 atomes d'hydrogène correspondant aux déprotonations des groupes acides carboxyliques. Ces mesure nous permettent de conclure que le cœur du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ est neutre (Z = 0) et le nombre total de charge est porté par les groupes acides carboxyliques.

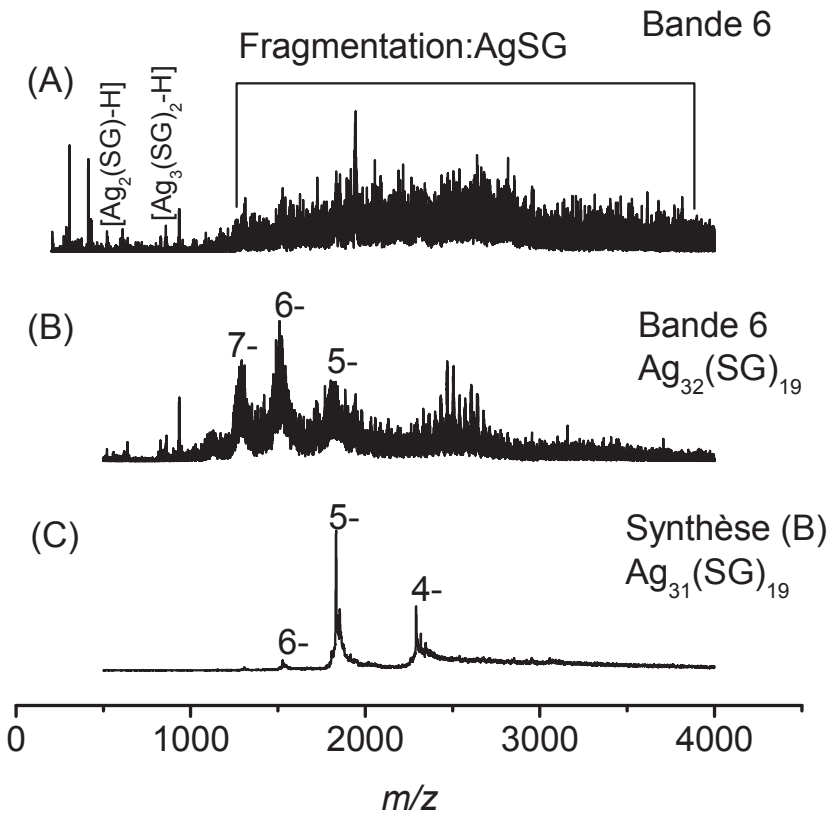


Figure 4.3 : Les spectres de masse des solutions : bande 6 avec le réglage du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ (A), bande 6 avec optimisation (B) et la synthèse « B » avec optimisation (C).

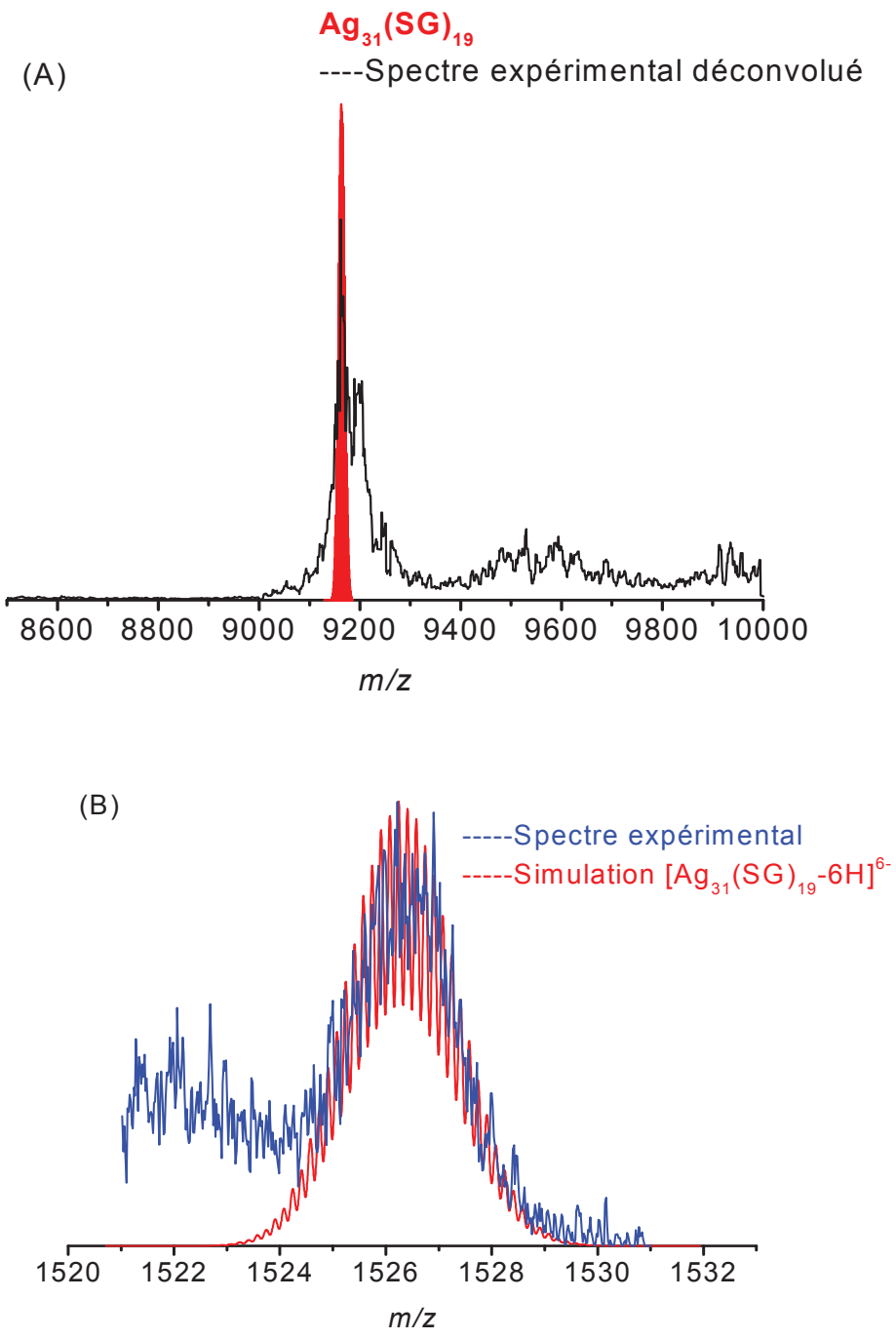


Figure 4.4 : Le spectre de masse expérimental déconvolué issu de la solution « B » comparé au spectre de masse théorique du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ (A). La structure isotopique expérimentale C^{6-} comparée à la structure isotopique théorique $[Ag_{31}(SG)_{19}-6H]^{6-}$ (B).

➢ **Synthèse C (équivalent bande 2)**

Nous avons entrepris d'étudier les clusters de la bande 2 en utilisant des échantillons envoyés par Bigioni et son équipe. Mais face à la faible quantité disponible et devant la difficulté des réglages, nous n'avons pas réussi à avoir du spectre de masse exploitable.

Devant la difficulté à extraire les clusters de la bande 2 en quantité suffisante, nous avons développé une méthode de synthèse Ag(SG) encourageante comme le laisse penser les résultats obtenus par électrophorèse. Nous avons donc commencé à caractériser cet échantillon par spectrométrie de masse. Les résultats sont présentés sur la figure 4.5. Le spectre de masse présente plusieurs pics qui correspondent aux états de charge de différents clusters. Parmi eux, on trouve deux états de charge (C^{3-}, C^{4-}) du cluster $Au_{15}(SG)_{13}$. Les autres pics correspondant aux clusters $Au_{10}(SG)_6$, $Au_{13}(SG)_9$, $Au_{14}(SG)_9$, $Au_{14}(SG)_{10}$, $Au_{15}(SG)_{10}$ et $Au_{16}(SG)_{11}$ sont probablement produits par fragmentation d'un ou plusieurs clusters parent dans la source.

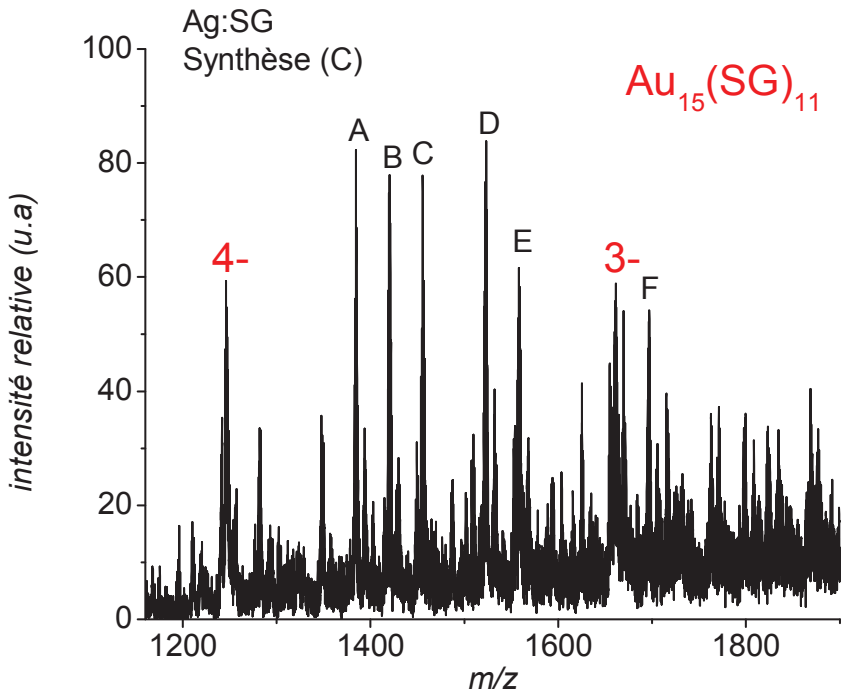


Figure 4.5 : Spectre de masse issu de la solution « C ». Les pics marqués par les lettres A, B, C, D, E et F correspondent respectivement aux clusters $[Au_{13}(SG)_9\text{-}3H]^{3-}$, $[Au_{14}(SG)_9\text{-}3H]^{3-}$, $[Au_{10}(SG)_6\text{-}2H]^{2-}$, $[Au_{14}(SG)_{10}\text{-}3H]^{3-}$, $[Au_{15}(SG)_{10}\text{-}3H]^{3-}$ et $[Au_{16}(SG)_{11}\text{-}3H]^{3-}$

3. Propriétés optiques des clusters en solution

Dans le cas des clusters d'or stabilisés par les glutathions, on a vu que la séparation sur le gel d'électrophorèse a pu être réalisée avec précision. Par exemple les clusters $Au_{22}(SG)_{16}$ et $Au_{22}(SG)_{17}$, bien que de tailles très proches, ont été isolés et on a pu montrer une différence de leurs spectres d'absorption [28]. Récemment, Bigioni a isolé plusieurs clusters d'argent sur le gel et déterminé les spectres d'absorption des clusters les plus stables. En effet, malgré la présence de plus que 20 bandes sur le gel, leurs fragilités rend leurs extractions impossibles pour la plupart. Seules les bandes 2, 6, 9 et 13 présentent une stabilité suffisante. Une des caractéristiques de ces spectres obtenus est la présence de bandes d'absorption dont l'intensité et la position dépendent de la taille du cluster ; lorsque la taille augmente, la bande d'absorption se déplace vers le rouge.

La figure 4.6 présente les résultats obtenus pour les différents clusters d'argent (synthèses « B » et « C »). On remarque que le cluster $Ag_{32}(SG)_{19}$ (échantillon bande 6 de Bigioni) et le cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ (synthèse B) ont des spectres d'absorption quasi identiques caractérisés par une bande d'absorption à 490 nm (figure 4.6 A). Pour ces tailles, la présence d'un atome d'argent sur le cluster n'a donc pas d'influence sur le spectre d'absorption.

La figure 4.6 B compare le spectre UV-Visible de la bande 2 (échantillon fourni par Bigioni) à notre synthèse sans et avec séparation sur le gel d'électrophorèse. On remarque que la séparation sur le gel ne modifié pas le spectre d'absorption. On peut en conclure que la synthèse « C » est relativement monodisperse et conduit à la formation d'un ou plusieurs clusters de tailles proches migrant dans une bande proche de la bande 2. Cependant, le spectre UV/Visible différent avec l'échantillon de Bigioni, ainsi qu'une fluorescence plus importante laisse penser que notre synthèse « C » conduit à la formation des clusters différents.

Le spectre d'absorption UV/Visible de la solution « C » présente une forte décroissance dans l'ultra-violet jusqu'à 350 nm, suivi d'un plateau jusqu'à 500 nm et une décroissance. Il est possible que ce spectre soit la somme de plusieurs espèces absorbantes, mais il faut noter que le spectre d'émission de fluorescence (figure 4.7) est identique quelle que soit la longueur d'onde d'excitation. Cela laisse penser qu'il n'y a qu'une seule espèce fluorescente dans la solution. Par contre le spectre d'excitation est très proche du spectre d'absorption obtenu par Bigioni pour son échantillon (bande 2). Cela laisse penser que notre échantillon est un mélange d'espèces non absorbantes avec un cluster fortement fluorescent.

À l'aide de calculs théoriques, les différentes bandes observées dans le spectre d'absorption du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ ont été identifiées et attribuées aux transitions intrebandes et/ou transitions intrabandes. Malgré la similarité entre l'or et l'argent, on ne peut pas s'appuyer sur le spectre théorique du cluster $Au_{25}(SH)_{18}^{-}$ pour définir les différentes transitions dans les spectres d'absorption des clusters d'argent parce qu'il ne s'agit pas du même système. Par exemple, le spectre d'absorption du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ présente une seule bande d'absorption à 490 nm (figure 4.6 (A)) par contre le spectre d'absorption du cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ présente trois bandes d'absorption. En absence d'une structure cristallographique pour nos clusters, on ne peut pas attribuer les bandes d'absorption à des transitions électroniques particulaires. Néanmoins, on peut proposer une explication qualitative de l'origine de l'absorption. Pour les clusters d'argent, les orbitales moléculaires sont formées des orbitales atomiques (OMs) du cœur Ag (5sp), Ag (4d) et d'orbital atomique des ligands S (3p). Les orbitales moléculaires formés des orbitales sp constituent la bande sp et les orbitales moléculaires formés des orbitales d constituent la bande d. La contribution de l'orbital des ligands (3p) indique que le spectre d'absorption est une combinaison des contributions du cœur et des ligands. Récemment, Aikens a présenté le spectre d'absorption théorique du cluster $Ag_{25}(SH)_{18}^{-}$ [29]. Comme pour le cluster $Au_{25}(SH)_{18}$, la structure du cluster $Ag_{25}(SH)_{18}$ est constituée d'un cœur icosaèdre Ag_{13} stabilisé par les motifs $6\times[Ag_2S_3]$. Le spectre d'absorption théorique du cluster $Ag_{25}(SH)_{18}^{-}$ est complètement différent au spectre théorique du cluster $Au_{25}(SH)_{18}$. Le diagramme d'énergie des orbitales moléculaires (OM) a dévoilé les transitions électroniques observées dans le spectre d'absorption. L'orbitale haute occupé (HOMO-1) est dominée par les ligands soufrés avec une faible contribution de la bande d. À faible énergie, les transitions électroniques sont dues aux transitions intrabandes ($sp \rightarrow sp$), par contre à haute énergie, les transitions sont dominées par les transitions interbandes (ligands/bande $d \rightarrow$ bande sp).

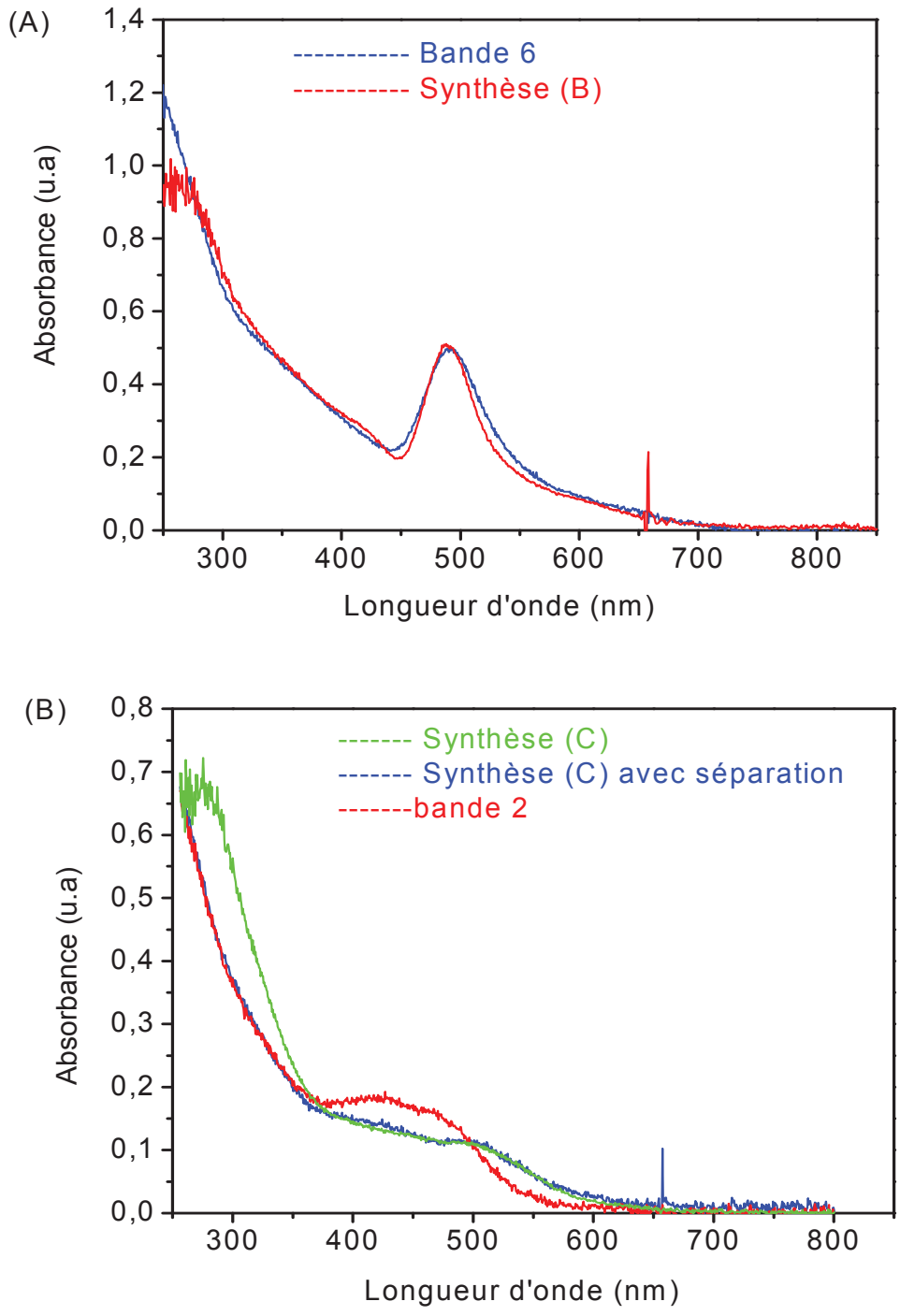


Figure 4.6 : Le spectre d'absorption de la solution « B » comparé au spectre d'absorption de la solution « bande 6 » (A). Le spectre d'absorption de la solution « C » (vert) comparé au spectre d'absorption de la solution « bande 2 » (rouge) et au spectre d'absorption de la solution « C » après séparation sur le gel d'électrophorèse (bleu) (B).

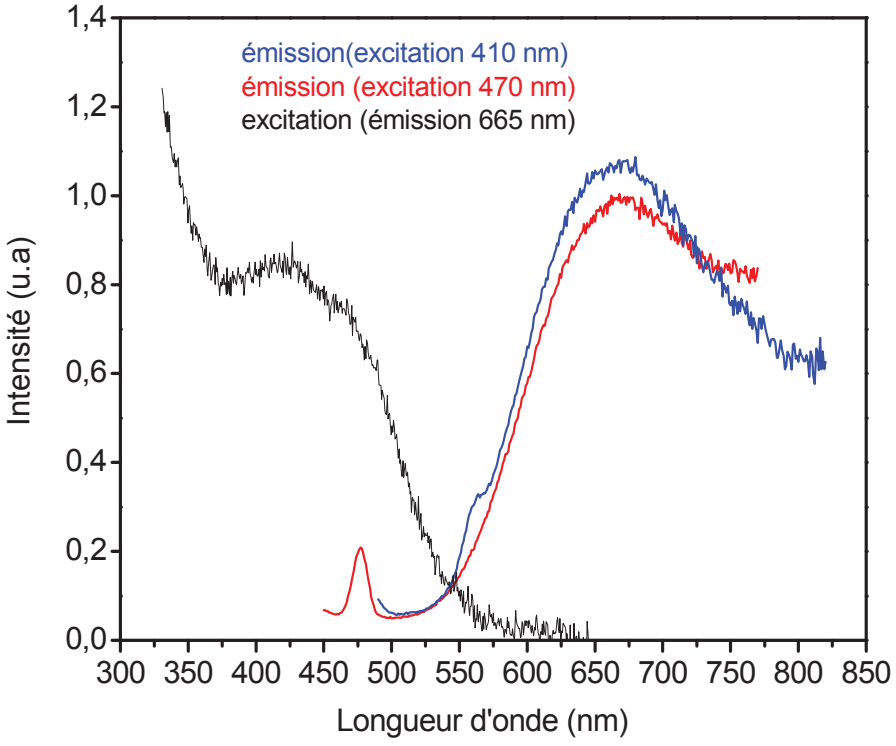


Figure 4.7 : Les spectres d'émission et d'excitation de la solution « C »

4. Activation par laser et spectre optique en phase gazeuse du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$

Dans le chapitre 3, nous avons présenté une étude spectroscopique réalisée sur le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ par un spectromètre de masse couplé à un laser accordable en longueur d'onde UV/Visible. Les résultats obtenus nous ont motivés pour étudier un autre cluster dont les propriétés intrinsèques sont très proches des propriétés des clusters d'or ; il s'agit des clusters d'argent stabilisés par les glutathions.

Après la synthèse et la caractérisation du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$, nous avons réalisé des expériences d'activation par laser (LID) sur ce cluster.

La figure 4.8 montre les spectres d'activation par laser sur les différents états de charge du cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$. Cette expérience a été réalisée à 250 nm pendant 100 ms.

Sur les différents spectres obtenus, on observe l'effet laser ; l'irradiation laser de l'espèce $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}nH]^{n-}$ détache un électron et génère l'espèce $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}(n\text{-}1)\ H]^{(n-1)}$

En plus du détachement d'électron, on observe des fragments comme $[Ag(SG)-H]^-$, $[Ag_2(SG)_2-H]^-$ et $[Ag_3(SG)_2-H]^-$. Ce phénomène de photofragmentation n'a pas été observé avec le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$. Cela montre que les clusters d'argent sont très fragiles.

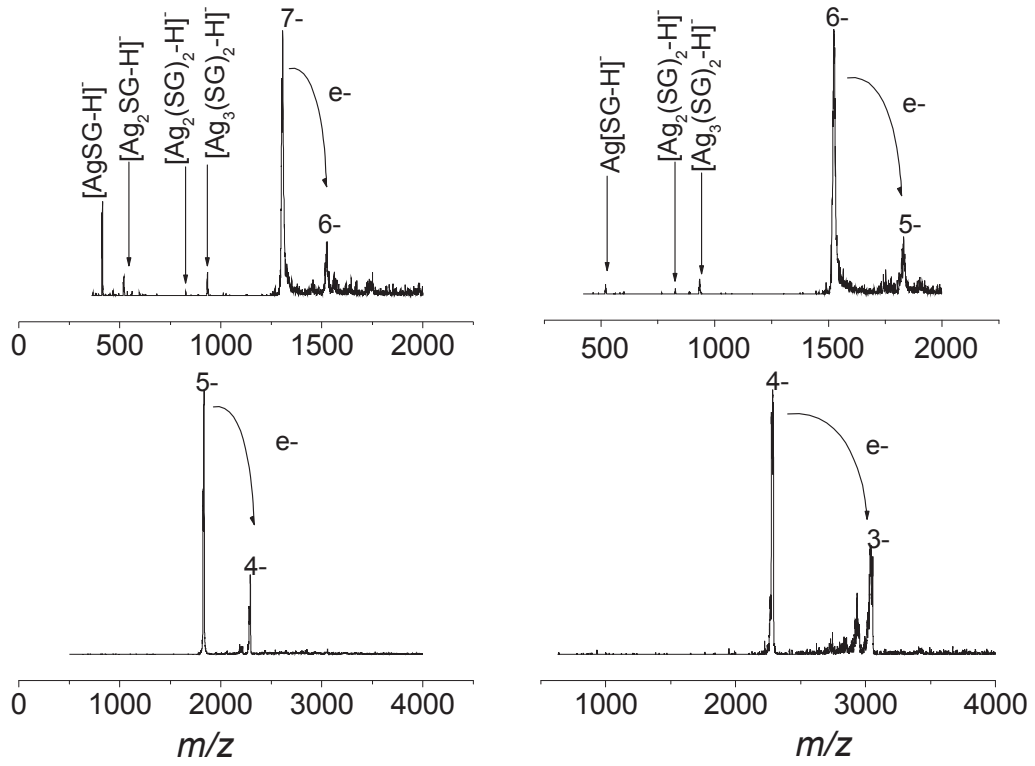


Figure 4.8: Les spectres de masse de différents états de charge de cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ après une irradiation laser à 250 nm pendant 100 ms.

Ces résultats obtenus sur les clusters Ag(SG) a mené une collaboration avec le groupe de chimie théorique dirigée par le Professeur Bonacic-Koutecky pour déterminer les structures des clusters et définir les transitions électroniques observées dans le spectre d'absorption, en particulier, la structure du cluster $Ag_{31}(SR)_{19}$ ($R = SCH_3$).

Les résultats obtenus par la théorie fonctionnelle de la densité (TDF) montrent que la structure la plus stable du cluster $Ag_{31}(SR)_{19}$ est constituée d'un cœur Ag_{21} stabilisé par $8\times[AgS_2]$ et $1\times[Ag_2S_3]$.

La figure 4.9 présente le spectre d'absorption théorique du cluster $Ag_{31}(SR)_{19}$ (noir), le spectre d'absorption de la solution « B » (rouge) et le spectre de photofragmentation en phase gazeuse de l'ion $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}5H]^{5-}$ (bleu). Le spectre théorique est en accord avec le spectre d'absorption de la solution. Cependant, la bande d'absorption est décalée de 30 nm. Comme nous avons mentionné, les transitions électroniques dans les clusters sont considérées comme la contribution des atomes du cœur et des ligands. Dans notre cas, si on change le glutathion ($C_{10}H_{17}O_6N_3S$) par le ligand SCH_3 le spectre d'absorption se décale légèrement. Ce décalage pourrait s'expliquer par l'effet des ligands (adsorbés sur la surface) sur les transitions électroniques du cluster. Dans ce cluster $Ag_{31}(SR)_{19}$, le cœur métallique Ag_{21} possède 12 électrons occupant les orbitales S, P, D. Les orbitales S et P sont remplies et l'orbital D possède 4 électrons. La bande d'absorption présentée dans le spectre théorique à 510 nm résulte de l'excitation d'électrons occupant l'orbitale D vers l'orbitale F.

La courbe de photofragmentation de l'ion $[Ag_{31}(SG)_{19}\text{-}5H]^{5-}$ a été obtenue par la formule suivante :

$$\sigma_f = \frac{\ln\left(\frac{I_{Parent}+\sum I_{Fragments}}{I_{Parent}}\right)}{P.\lambda}$$

Avec σ_f : la section efficace de photofragmentation

I_{Parent} : l'intensité de l'ion parent

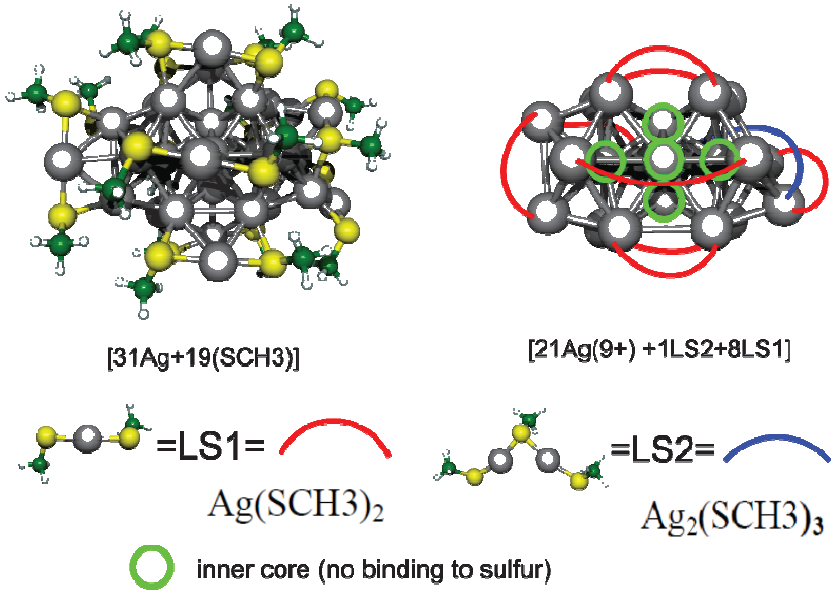
$\sum I_{Fragments}$: l'intensité des fragments

P : la puissance laser

λ : la longueur d'onde laser

Une photodissociation est observée pour les longueurs d'onde inférieures à 500 nm avec une bande centrée autour de 430 nm. Pour la partie faible énergie, les résultats expérimentaux et théoriques sont en accord. Lorsque la longueur d'onde augmente, l'intensité du taux de photofragmentation diminue sans l'apparition d'une bande à 490 nm. Il est difficile d'aller plus loin dans une quelconque interprétation à cause de la différence entre le spectre d'absorption de la solution qui présente des transitions électroniques et le spectre du taux de photofragmentation en fonction de la longueur d'onde.

(A)



(B)

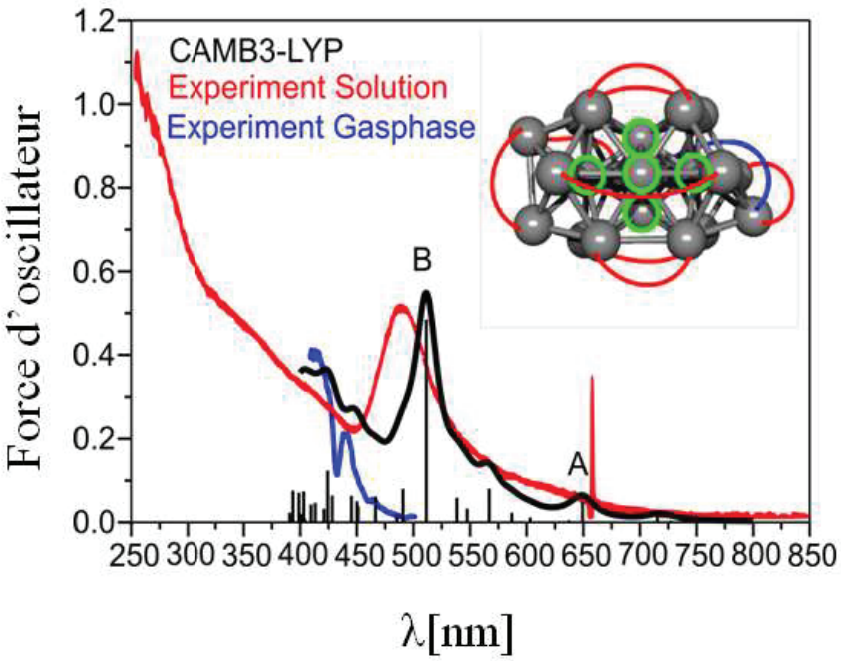


Figure 4.9 : La structure du cluster $Ag_{31}(SCH_3)_{19}$ proposée par Bonacic-Koutecky et al. (A). comparaison entre le spectre d'absorption de la solution « B » (rouge), le spectre théorique (noir) et le spectre de photofragmentation (bleu) (B).

5. Structure et propriétés électroniques du cluster $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$

La figure 4.10 montre la structure et le spectre d'absorption théorique du cluster $Ag_{15}(SR)_{11}$ (R : SCH_3) réalisés par Bonacic-Koutecky et son équipe. La structure la plus stable de ce cluster est constituée d'un cœur Ag_8 stabilisé par les motifs 2×(CH_3S-Ag-CH_3S), (CH_3S-Ag-CH_3S-Ag-CH_3S) et (CH_3S-Ag-CH_3S-Ag-CH_3S-Ag-CH_3S). Le spectre d'absorption théorique est caractérisé par une bande intense à 410 nm due à l'excitation d'électrons occupant l'orbitale P vers l'orbitale D. Une deuxième bande présente dans le spectre théorique à 572 nm. Comme nous avons mentionné, le spectre d'absorption de la solution « C » présente une forte décroissance dans UV jusqu'à 350 nm, suivi d'un plateau jusqu'à 500 nm et une décroissance. Il est possible que ce spectre soit la somme des espèces absorbantes observées dans le spectre de masse (entre $Ag_{10}(SG)_6$ et $Ag_{16}(SG)_{11}$)

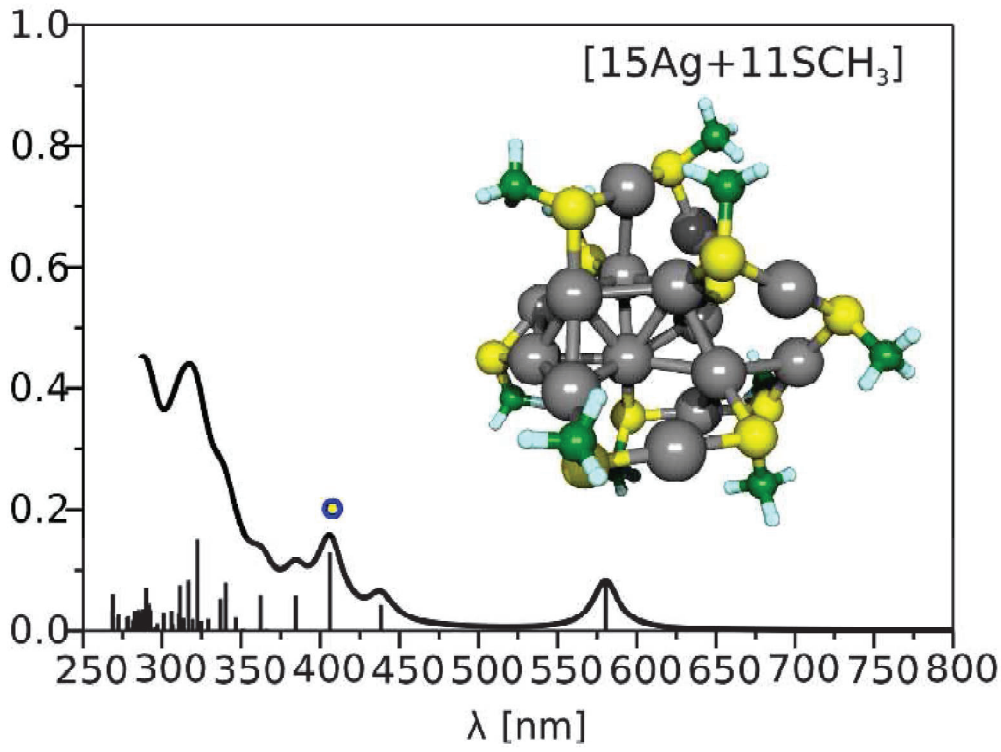


Figure 4.10 : La structure et le spectre d'absorption théorique du cluster $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$.

III. Caractérisation des clusters d'argent stabilisés par l'acide dihydrolipoique :

La méthode d'élaboration des clusters d'argent stabilisés par l'acide dihydrolipoique a été développée par Banerjee [25]. Leur produit de synthèse a été caractérisé par différentes méthodes d'analyse mais la stœchiométrie des clusters n'a pas été déterminée.

Dans un premier temps, nous avons réalisé des expériences de séparation par gel d'électrophorèse, cependant les clusters se dissocient sur le gel et nous n'avons pas réussi à les extraire. Dans un second temps, nous avons caractérisé la solution (sans séparation) par un spectromètre de masse. Bien évidemment, on ne peut pas s'appuyer sur la caractérisation par ESI-MS pour confirmer la monodispersité de la solution puisqu'il s'agit des réglages des paramètres de la source qui pourraient sélectionner un seul cluster dans une solution polydisperse.

1. Synthèse du cluster

Dans un ballon de 100 ml, on dissout 100 mg d'acide lipoïque dans 5 ml de méthanol. On ajoute 10 ml d'eau puis 2 équivalents de borohydrure de sodium ($NaBH_4$: 36 mg) afin de réduire l'acide lipoïque. On laisse agiter 30 minutes et on met le ballon 1 heure sous ultrasons afin d'éliminer l'excès de réducteur. On ajoute ensuite sous agitation 41 mg de nitrate d'argent dissous dans 15 ml d'eau, puis 1 ml de solution de soude 1M. La solution est portée à 50 °C puis on ajoute 2 équivalents de $NaBH_4$ (36 mg) et l'on agite pendant une heure. La solution devient orange vif. On ajoute alors 1 équivalent de $NaBH_4$ (18 mg) et on agite encore 1 heure.

On évapore alors le contenu du ballon à l'aide d'un évaporateur rotatif. On dissout alors la poudre obtenue dans 1 ml d'eau que l'on transvase dans un tube à centrifuger. On ajoute 5 ml de méthanol et l'on centrifuge 20 min à 11000 tr/min. Le surnageant est récupéré dans un autre tube à centrifuger, dans lequel on ajoute 20 ml d'éther afin de faire précipiter les clusters. Cette étape est répétée 2 fois, puis la poudre obtenue est séchée dans un dessiccateur sous vide. Afin d'obtenir des spectres de masse sans adduits de sodium on peut remplacer $NaBH_4$ par du borohydrure de tétraméthylammonium ($((CH_3)_4N(BH_4))$ et NaOH par NH_4OH).

2. Spectre de masse, isolation et études du cluster par CID

Pour détecter les clusters sans fragmentation, nous avons utilisé le réglage des clusters d'argent stabilisés par les glutathions (Ag:SG). Le spectre de masse de la solution présente les différents états de charge du cluster $Ag_{29}(DHLA)_{12}$ avec quelques fragments qui correspondent aux pertes des $2\times(C_3H_5O_2)$ et $(C_2H_2O_2)$ (figure 4.11 (A)). Pour confirmer la stœchiométrie attribuée au cluster, nous avons déterminé la structure isotopique d'un état de charge. La figure 4.11 (B) présente la structure isotopique expérimentale C^{3-} du cluster obtenue en mode ultra « zoom scan ». Elle est en accord avec la structure isotopique théorique du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$.

Dans un second temps, nous avons réalisé des expériences d'activation par collision sur ce cluster. La figure 4.12 (A) montre le spectre d'activation par collision (CID) du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$.

Le spectre CID est caractérisé par la présence de deux types de fragments :

- Fragments polychargés : correspondent à la perte $N\times [2(C_3H_5O_2) +(C_2H_2O_2)]$ (N = 1,2) du cluster parent.
- Fragments monochargés : Ag_nDHLA_m ($3\leq n\leq 6$ et $2\leq m\leq 3$).

Comme pour les clusters d'or stabilisés par les glutathions, l'activation par collision fragmente les liaisons peptidiques des ligands et les motifs ($Ag_n(SR)_m$) qui stabilisent le cœur métallique.

Les différents fragments produits par CID du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ sont :

$$[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-} \rightarrow [Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H\text{-}N\times [2(C_3H_5O_2) +(C_2H_2O_2)]]^{3-} + Ag_n(DHLA)_m \ (3\leq n\leq 6 \text{ et } 2\leq m\leq 3) \ ; \ (N=1,2)$$

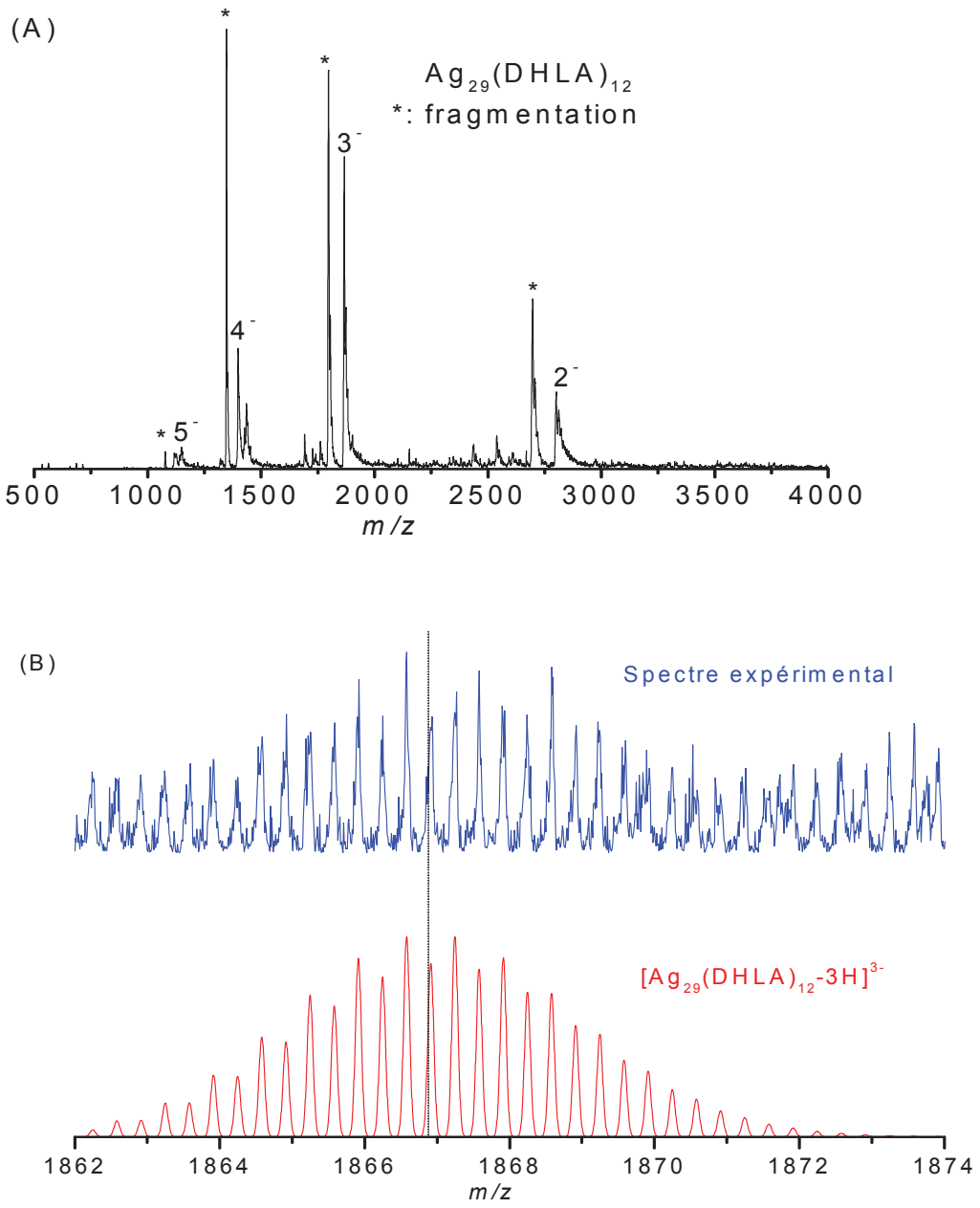


Figure 4.11 : Le spectre de masse issu de la solution (Ag:DHLA) (A) et la structure isotopique expérimentale C^{3-} comparée à la structure isotopique théorique $[Ag_{29}(DHLA)_{12}-3H]^{3-}$ (B).Les pics marqués par (*) correspondent à la perte de $F = 2(C_3H_5O_2) + (C_2H_2O_2)$ des glutathions.

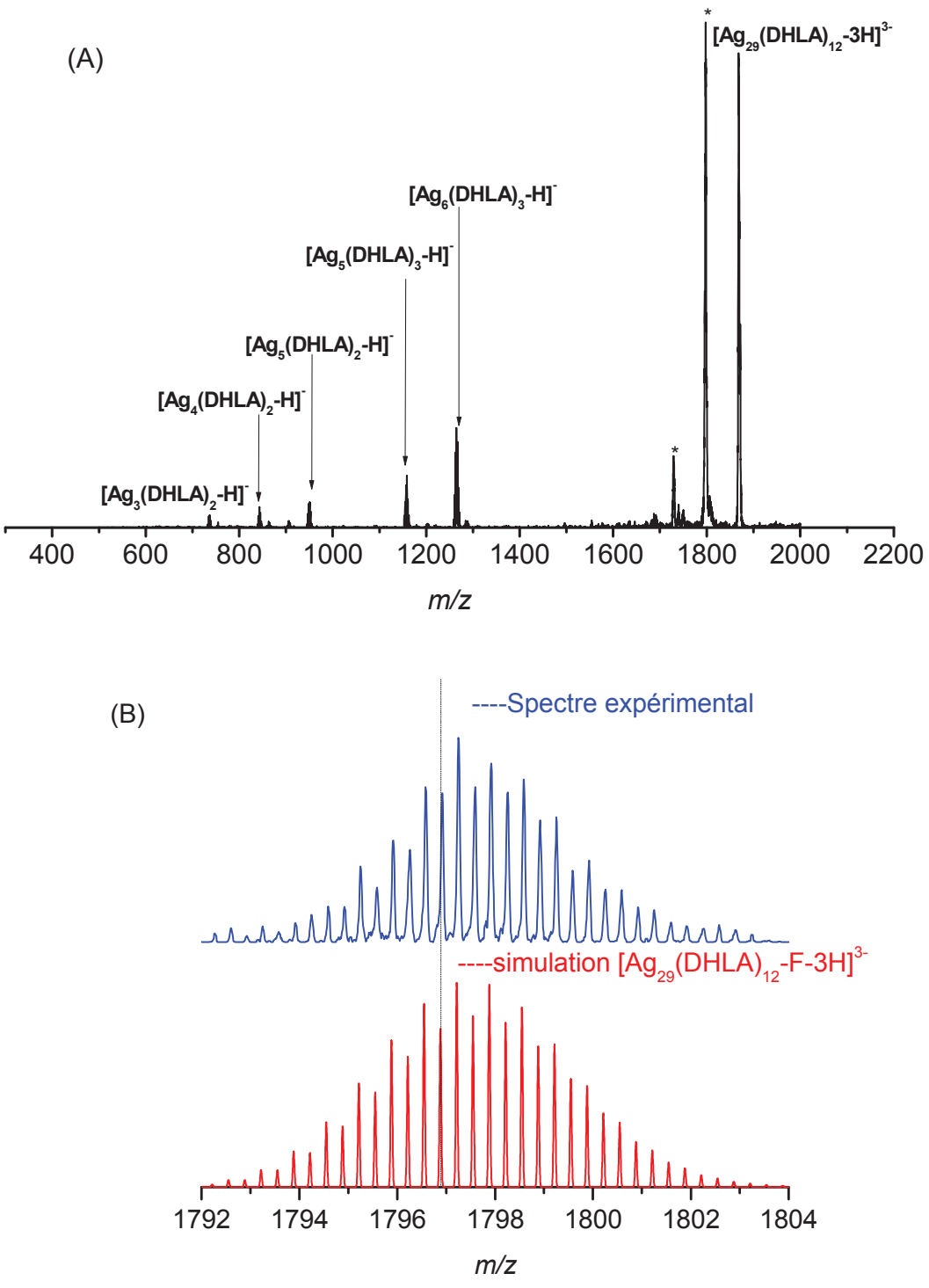


Figure 4.12 : Le spectre CID du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ (A) et la structure isotopique expérimentale d'un fragment comparée à la structure isotopique théorique $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}F\text{-}3H]^{3-}$, $F=2(C_3H_5O_2) + (C_2H_2O_2)$ (B). Les pics marqués par (*) correspondent à la perte de $F = 2(C_3H_5O_2) + (C_2H_2O_2)$ des glutathions.

3. Propriétés optiques du cluster $Ag_{29}(DHLA)_{12}$

Banerjee a déterminé le spectre d'absorption de la solution pendant la formation des clusters d'argent stabilisés par l'acide hydrolipoique [25]. Après l'addition du borohydrure de sodium ($NaBH_4$) à la solution contenant l'acide hydrolipoique et le nitrate d'argent, le spectre d'absorption montre une large bande d'absorption à 460 nm. Durant la réaction, l'intensité de cette bande d'absorption diminue et trois bandes apparaissent dans le spectre d'absorption (325 nm, 435 nm et 500 nm) (figure 4.13 (A)).

Précédemment, Dikson et son équipe a montré que le spectre d'absorption des clusters d'argent Ag_1-Ag_4 est caractérisé par deux bandes d'absorption à 357 nm et 440 nm [30].

Dans l'absence d'une structure cristallographique pour le cluster $Ag_{29}(DHLA)_{12}$, on ne peut pas définir les différents bandes d'absorption, mais nous nous appuyons sur le diagramme d'énergie théorique du cluster $Ag_{25}(SH)_{18}^-$ afin de supposer que les transitions à faible énergie (500 nm) sont dues aux transitions intrabandes ($sp \rightarrow sp$) et les transitions à haute énergie (325 nm et 435 nm) sont dominées par les transitions interbandes ($d \rightarrow sp$).

Le spectre de fluorescence (figure 4.13 (B)) montre un maximum d'émission à 670 nm sous excitation à 426 nm. L'excitation à différentes longueurs d'onde (426 nm ou 500 nm) donne un maximum d'émission à 670 nm. Le maximum d'émission de fluorescence est indépendant de la longueur d'onde d'excitation utilisée. Cela laisse penser qu'il n'y a qu'une seule espèce fluorescente dans la solution. Le spectre d'excitation (émission à 670 nm) est très similaire au spectre d'absorption UV/Visible avec deux bandes d'absorption (500 nm et 435 nm).

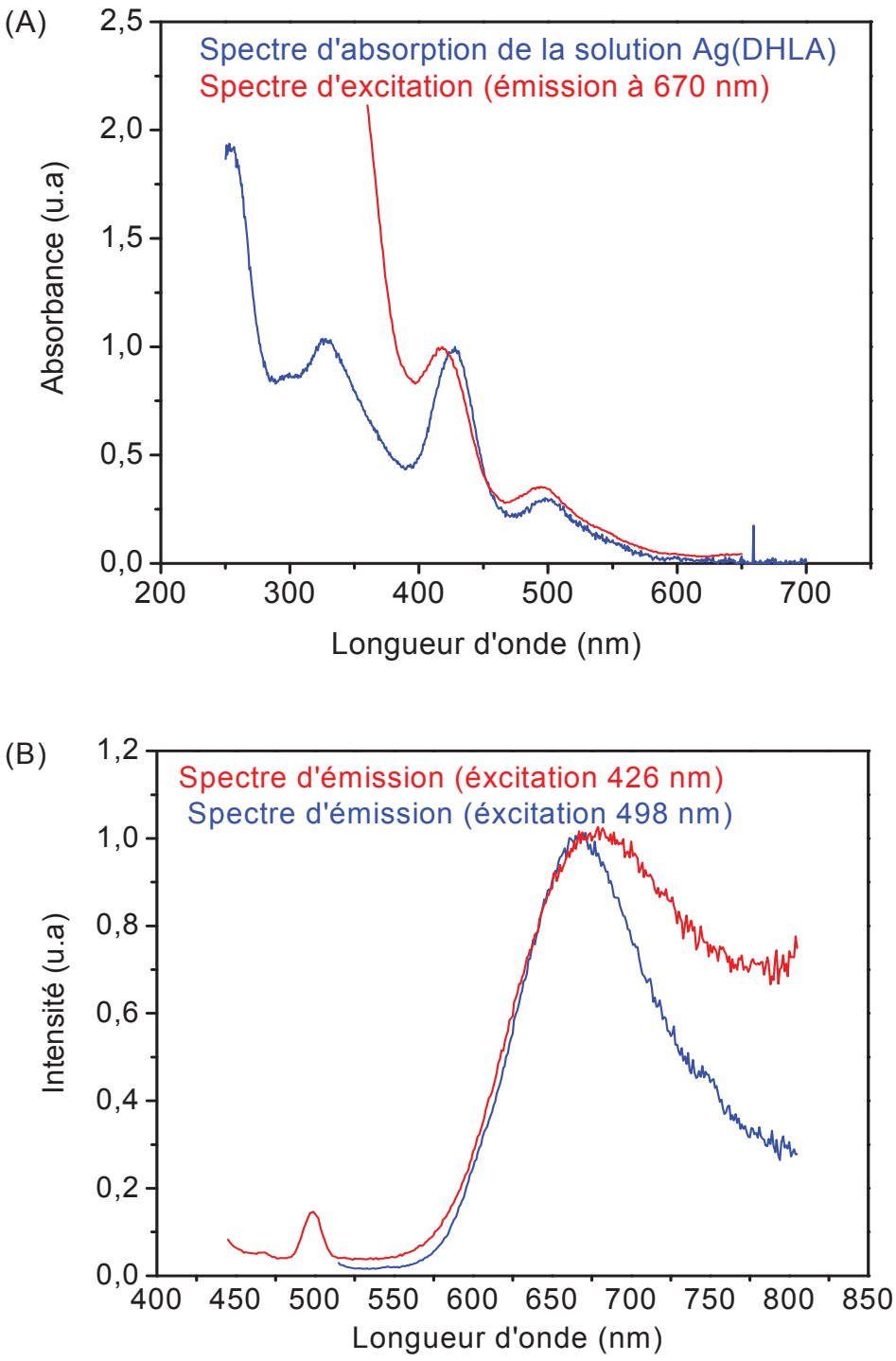


Figure 4.13 : Les spectres d'absorption (bleu) et d'excitation (rouge) de la solution Ag(DHLA) (A) et les spectres d'émission de la solution Ag(DHLA) (B).

4. Activation laser et la courbe du taux de détachement électronique en fonction de longueur d'onde

La figure 4.14 (A) montre le spectre de masse du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ après une irradiation laser à 250 nm pendant 100 ms. L'excitation du cluster $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ par laser détache un électron et fragmente les ligands stabilisant le cluster (perte $[2\times(C_3H_5O_2) + (C_2H_2O_2)]$ du l'acide dihydrolipoique).

La figure 4.14 (B) présente le spectre de photofragmentation de l'ion $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ et le spectre d'absorption de la solution. Sur le spectre de photofragmentation on observe une photodissociation pour les longueurs d'onde inférieures à 500 nm avec l'apparition d'une bande centrée à 445 nm. Pour les longueurs d'onde entre 420 nm et 480 nm, le spectre optique est en accord avec le spectre d'absorption de la solution. Lorsque la longueur d'onde augmente, le taux de photofragmentation diminue sans l'apparition de la bande à 500 nm.

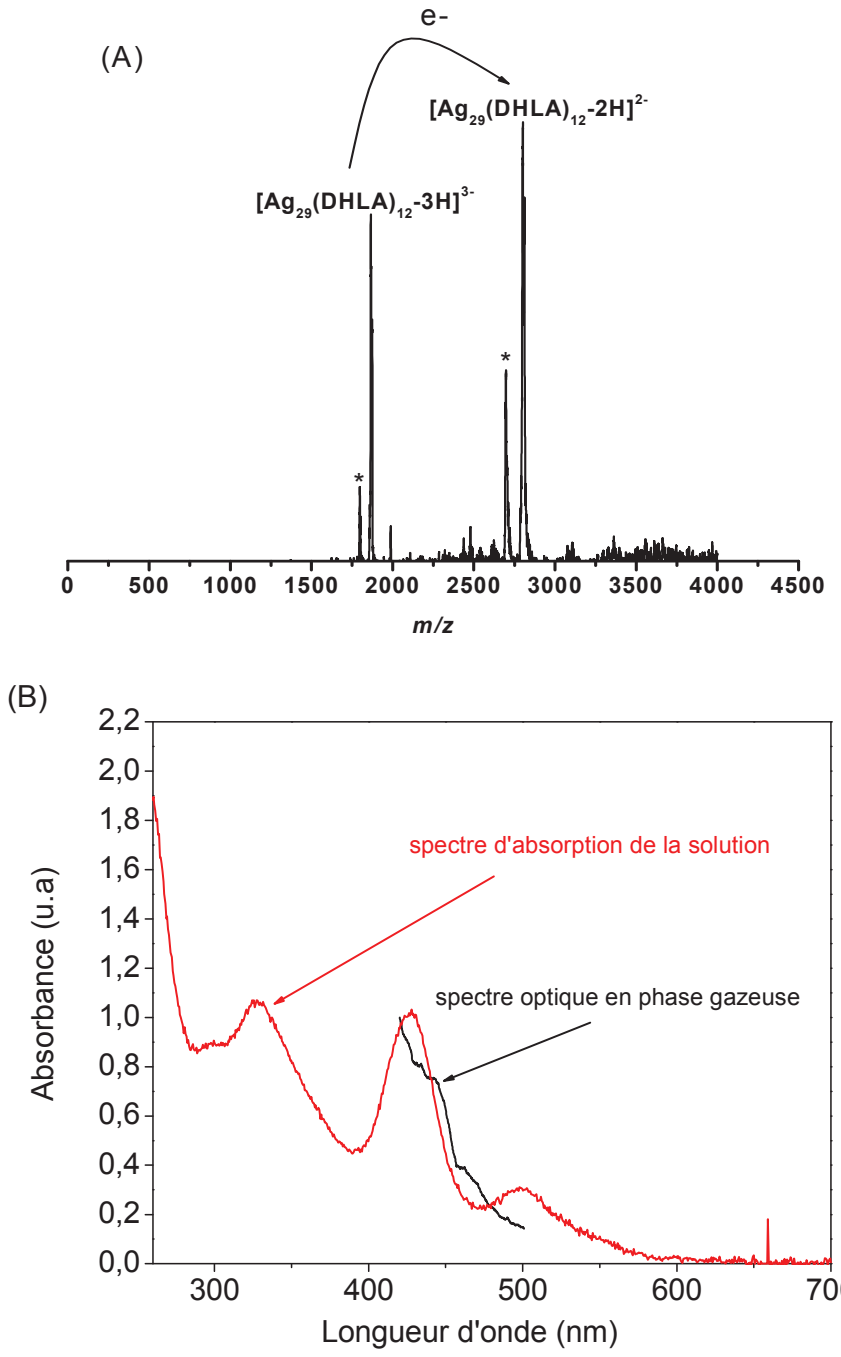


Figure 4.14 : Le spectre d'activation par laser de l'ion $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ (A) et le spectre de photofragmentation de l'ion $[Ag_{29}(DHLA)_{12}\text{-}3H]^{3-}$ comparé au spectre d'absorption de la solution Ag(DHLA) (B).

IV. Conclusion et perspectives :

Dans ce chapitre, nous avons présenté deux méthodes de synthèse permettant l'élaboration des clusters $Ag_x(SG)_y$ dans une solution quasi monodisperse. Ces clusters ont été caractérisés notamment par le gel d'électrophorèse et la spectrométrie de masse à haute résolution afin de déterminer leurs stœchiométries.

Pour vérifier la monodispersité des solutions synthétisées (solution « B » et solution « C »), nous avons utilisé le gel d'électrophorèse et comparé les résultats obtenus sur les clusters $Ag_x(SG)_y$ par l'équipe de bigioni à ceux synthétisés dans notre laboratoire. Après séparation sur le gel d'électrophorèse, chaque solution (solution « B » et solution « C ») donne une seule bande dont la position correspond respectivement à la bande 6 et à la bande 2 (synthèse Bigioni). Dans un second temps nous avons caractérisé les solutions par spectrophotométrie UV-Visible, spectrofluorimétrie UV-Visible et spectrométrie de masse. Les spectres d'absorption des solutions « B » et « C » ont été comparés aux spectres de la bande 6 et la bande 2 (synthèse Bigioni) afin de donner raisonnablement un ordre de grandeur sur le nombre d'atomes métalliques. Bien que les spectres d'absorption de la solution « B » et la bande 6 sont identiques, les spectres de masse obtenus sont différents. En optimisant les paramètres de la source, nous avons pu identifier, pour la première fois, les clusters de la solution « C ».

Nous avons également réalisé des expériences d'activation par collision et spectroscopie laser afin de sonder quelques propriétés structurelles et électroniques.

Les calculs théoriques réalisés sur les clusters $Ag_{31}(SG)_{19}$ et $Ag_{15}(SG)_{11}$ ont permis de déterminer les structures les stables et définir les différentes transitions électroniques.

Pour déterminer la structure exacte de ces clusters, il faudrait réussir à obtenir des cristaux afin de les analysés par les expériences de rayon X. D'une autre coté, des travaux de simulation peuvent apporter des réponses satisfaites à ce sujet.

V. Bibliographie :

(1) Kreibig, U.; Vollmer, M. *Springer* **1995**.

(2) Peyser-Capadone, L.; Zheng, J.; Gonzalez, J. I.; Lee, T. H.; Patel, S. A.; Dickson, R. M. *Physical Review Letters* **2005**, *94*, 0583301.

(3) Gleitsmann, T.; Stegemann, B.; Bernhardt, T. M. *Applied Physics Letters* **2004**, *84*, 4050.

(4) Lecoultre, S.; Rydlo, A.; Buttet, J.; Félix, C.; Gilb, S.; Harbichc, W. *Journal of Chemical Physics* **2009**, *134*, 184504.

(5) Kumar, S.; Bolan, M. D.; Bigioni, T. P. *Journal of the American Chemical Society* **2010**, *132*, 13141.

(6) Wu, Z.; Lanni, E.; Chen, W.; Bier, M. E.; Ly, D.; Jin, R. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *46*, 16672.

(7) Rao, T. U. B.; Pradeep, T. *Angewandte chimie* **2010**, *49*, 3925

(8) Rao, T. U. B.; Nataraju, B.; Pradeep, T. *Journal of Materials Chemistry* **2010**, *132*, 16304.

(9) Le Guével, X.; Hotzer, B.; Jung, G.; Hollemeyer, K.; Trouillet, V.; Schneider, M. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *115*, 10955.

(10) Cui, Y.; Liu, R.; Sun, Z.; Wei, Y.; Zhao, Y.; Gao, X. *ACS Nano* **2011**, *5*, 8684.

(11) Dubertret, B.; Skourides, P.; Norris, D. J.; Noireaux, V.; Brivanlou, A. H.; Libchaber, A. *Science* **2002**, *298*, 1759.

(12) Yokota, H.; Saito, K.; Yanagida, T. *Physical Review Letters* **1998**, *80*, 4606.

(13) Tabarin, T.; Kulesza, A.; Antoine, R.; Mitric, R.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Bonacic-Koutecky, V. *Physical Review Letters* **2008**, *101*, 213001.

(14) Mitric, R.; Petersen, J.; Kulesza, A.; Bonacic-Koutecký, V.; Tabarin, T.; Compagnon, I.; Antoine, R.; Broyer, M.; Dugourd, P. *The Journal of Chemical Physics* **2007**, *127*, 134301.

(15) Compagnon, I.; Tabarin, T.; Antoine, R.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Mitric, R.; Petersen, J.; Bonacic-Koutecký, V. *The Journal of Chemical Physics* **2006**, *125*, 164326.

(16) Lecoultre, S.; Rydlo, A.; Buttet, J.; Félix, C.; Gilb, S.; Harbich, W. *The Journal of Chemical Physics* **2011**, *134*, 184504.

(17) Lecoultre, S.; Rydlo, A.; Félix, C.; Buttet, J.; Gilb, S.; Harbich, W. *The Journal of Chemical Physics* **2011**, *134*, 74302.

(18) Yu, J.; Choi, S.; Dickson, R. M. *Angewandte chimie* **2009**, *46*, 2028.

(19) Kneipp, K.; Kneipp, H.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. *Chemical Physics* **1999**, *247*, 155.

(20) Zheng, J.; Dickson, R. M. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124*, 13982.

(21) Yu, J.; Choi, S.; Richards, C. I.; Antoku, Y.; Dickson, R. M. *Photochemistry and Photobiology* **2008**, *84, 1435*.

(22) Shen, Z.; Duan, H.; Frey, H. *Advanced Materials* **2007**, *19*, 349.

(23) Ershov, B. G.; Henglein, A. The *Journal of Physical Chemistry B* **1998**, *102*, 10667.

(24) Cathcart, N.; Kitaev, V. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, 16010.

(25) Adhikari, B.; Banerjee, A. *Chemistry of Materials* **2010**, *22*, 4364.

(26) Mathew, A.; Sajanlal, P. R.; Pradeep, T. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21*, 11205.

(27) Guo, J.; Santosh Kumar, S.; Bolan , M.; Desireddy , A.; Bigioni , T. P.; Griffith, W. P. *Analytical Chemistry* **2012**, *84*, 5304.

(28) Negishi, Y.; Nobusada, k.; Tsukuda, T. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 5261.

(29) Aikens, C. M. *The Journal of Physical Chemistry C Letters* **2008**, *112*, 19797.

(30) Petty , J. T.; Zheng , J.; Hud , N. V.; Dickson, R. M. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 5207.

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail de thèse, tel que nous l'avions défini dans l'introduction, était la synthèse et la caractérisation des clusters métallique (Au, Ag) stabilisés par des ligands thiolés. Pour cela nous avons caractérisé ces clusters par différentes méthodes (séparation sur gel d'électrophorèse, spectrométrie de masse, spectrophotométrie). L'originalité de ce travail vient aussi de l'exploitation d'une plateforme expérimentale couplant un spectromètre de masse avec un laser accordable en longueur d'onde UV/Visible pour étudier les clusters en phase gazeuse. Cette étude nous a permis d'explorer quelques propriétés structurelles et électroniques de ces clusters.

Une partie de ce travail a été consacrée à la synthèse des clusters métalliques (Au, Ag) stabilisés par des ligands thiolés en solution. Dans un premier temps nous avons utilisé des méthodes de synthèse qui ont été développées récemment pour élaborer les clusters les plus stables $Au_{25}(SG)_{18}$ et $Ag_{32}(SG)_{19}$. Dans un second temps, nous avons développé des méthodes de synthèse permettant l'élaboration des clusters monodisperses sans séparation sur le gel d'électrophorèse.

La spectrométrie de masse à haute résolution nous a permis de déterminer les structures isotopiques des différents clusters et de réaliser des expériences de fragmentation CID. Nous avons abordé ces études sur le cluster $Au_{25}(SG)_{18}$ où leur structure cristallographique a été déterminée. À l'aide de la structure isotopique du cluster, nous avons pu déterminer l'état d'oxydation du cœur. C'est le premier résultat permettant de déterminer le nombre de la charge localisée dans le cœur par la structure isotopique. Des études spectroscopiques réalisées sur ce cluster ont permis d'explorer leurs propriétés électroniques et d'étudier l'effet de l'environnement.

Dans un second temps, nous avons étudié les petits clusters d'or stabilisé par les glutathions. À l'aide des spectres de fragmentation et les structures isotopiques expérimentales, nous avons montré que le cluster $Au_{15}(SG)_{13}$ est la première taille qui possède un cœur métallique et le cluster $Au_{22}(SG)_{17}$est la première taille qui accommode une charge dans le cœur.

Dans une deuxième partie, nous avons présenté les études réalisées sur les clusters d'argents stabilisés par des ligands thiolés. Ces clusters ont été synthétisés dans une solution quasi monodisperse et caractérisés par le spectromètre de masse, le spectrophotomètre et spectroscopie laser. La difficulté rencontrée lors de l'analyse de ces clusters provient de leur

fragilité. En utilisant un régalage spécifique, nous avons pu déterminer les stœchiométries de ces clusters synthétisés dans deux solutions différentes. Pour la première solution (synthèse B), la caractérisation par un spectromètre de masse à haute résolution a montré la présence d'un seul cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$. Par contre pour la deuxième solution (synthèse C), le spectre de masse montre la présence de plusieurs clusters dont $Ag_{15}(SG)_{11}$ est l'espèce majoritaire. Ces clusters pourraient être formés dans la solution ou dans la source d'ionisation ESI par fragmentation d'un seul cluster. Des expériences d'optimisation de synthèse et de séparation sur le gel d'électrophorèse sont en cours afin d'obtenir un échantillon très pur.

Une étude théorique réalisée par le professeur Bonacic-Koutecky a permis de déterminer les structures les plus stables des clusters $Ag_{31}(SG)_{19}$ et $Ag_{15}(SG)_{11}$.

Dans un second temps, nous avons entrepris une étude spectroscopique sur le cluster $Ag_{31}(SG)_{19}$ et $Ag_{29}(DHLA)_{12}$. Les spectres de photofragmentation du cluster sont en accord avec les spectres d'absorption des solutions.

Des expériences d'activation par laser pourraient être réalisées prochainement sur les petits clusters d'argent stabilisés par les glutathions. Ces expériences permettraient d'étudier l'effet de la taille sur les propriétés optiques.

Une autre perspective de ce travail consistera à greffer des protéines sur ces clusters afin d'obtenir un système hybride qui pourrait être utilisé comme un marqueur pour marquer certaines cellules.

Annexes

Article 1: Electron Emission of Gas-Phase $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ Gold Cluster and Its Action Spectroscopy

THE JOURNAL OF PHYSICAL CHEMISTRY Letters

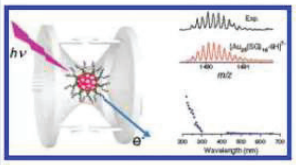
pubs.acs.org/JPCL

Electron Emission of Gas-Phase $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ Gold Cluster and Its Action Spectroscopy

Ramzi Hamouda, Bruno Bellina, Franck Bertorelle, Isabelle Compagnon, Rodolphe Antoine, Michel Broyer, Driss Rayane,* and Philippe Dugourd

Université de Lyon, Lyon, France, F-69622, and Université Lyon 1, CNRS, LASIM UMR 5579, F-69622, Villeurbanne, France

ABSTRACT A colloidal solution of $Au_{25}(SG)_{18}$-protected metal gold clusters was electrosprayed. $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ was selected, stored in a quadrupole ion trap, and irradiated with a UV−vis tunable laser. The excess charges are due to the deprotonation of six COOH moieties and a net charge of −1 on the Au core. Photoexcitation of this species results in electron detachment. The action spectrum obtained by recording the electron detachment yield as a function of the laser wavelength displays a strong decrease as the photon energy decreases and the onset of a band at around 650 nm. This spectrum is compared with the absorption spectrum recorded for $Au_{25}(SG)_{18}$ in solution. We also show that electron detachment is a one-photon process and likely involves, at low photon energy, ionization by tunneling through a repulsive coulomb barrier.



SECTION Nanoparticles and Nanostructures

Metal nanoparticles (NPs) may be synthesized from a wide range of materials and display fascinating electronic and optical properties as a consequence of their dimension. Their adaptative properties make them particularly promising for the development of new functional materials.[1] Although the main mechanisms to synthesize and isolate NPs were discovered more than 10 years ago, producing NPs and controlling their properties is still an extremely active field of research. The NPs are usually prepared by "wet chemistry" procedures, in which clusters of metal atoms are formed in the presence of a surface-capping ligand.[2−4] This capping ligand bound to the metal cluster prevents aggregation of the particles into bulk material and controls the final dimensions of the NPs. Association of molecular units to the NPs introduces chemical functionalities that enable the assembly of 2D and 3D NP architectures on surfaces[5] and provide recognition or affinity interactions with biomolecular units.[1] The case of ligand-protected NPs based on gold nanoclusters is particularly relevant because of applications in nanoelectronics, microscopy, and laboratory diagnosis.[6−8] Besides chemical stability associated with gold, the ultrasmall size of these nanoclusters (~1 nm core diameter) induces a quantum confinement, which results in a discrete electronic structure and molecular-like properties, such as discrete electronic transitions, size-specific catalytic properties, enhanced visible luminescence, and intrinsic magnetism.[9−12] Typical examples of these gold nanosystems are glutathione-protected gold clusters (glutathione (GSH) is a γ-Glu-Cys-Gly tripeptide), generally referred to as $Au_n(SG)_m$, where n and m are the number of metal atoms and thiolate ligands.

Since the pioneer works of Whetten and coworkers,[13−15] many progresses have been made in the synthesis of protected gold clusters, the Grail being the chemical synthesis of clusters with precise atomic control of their size and shape. This atomic level of control is necessary because of the sensitivity of the clusters' properties to the number of atoms. Various strategies have been developed using sulfur-containing ligands that enable the synthesis of monodisperse ligand-protected metal clusters without the need for postsynthetic separation.[11,16−22] Coupling of matrix-assisted ionization sources and electrospray ionization sources to mass spectrometry has allowed us to observe various magic sizes for protected gold clusters such as Au_{10}, Au_{15}, Au_{18}, Au_{22}, Au_{25}, Au_{29}, Au_{33}, and Au_{39}.[16] Among them, $Au_{25}(SG)_{18}$ is established to be particularly thermodynamically and chemically stable, and large-scale synthesis of $Au_{25}(SG)_{18}$ has been reported.[11,23]

Synthesis of monodisperse solutions allows one to record optical spectrum of size-selected sample and to study size effects. Whereas spherical gold nanocrystals (>2 nm core diameter) show a collective electron excitation mode (surface plasmon resonance) at ~520 nm,[24] the optical absorption of thiolated small gold clusters in aqueous solution reveals that they are of molecular nature and their photophysical properties are highly dependent on the core size and the number of thiolates.[10,16,21] The nature of the ligand also influences optical properties, for both absorption[25] and emission.[26] This is due, in particular, to the presence of excitations attributed to metal−ligand mixed transitions and to the length of the ligand chain that influences the metal−solvent interaction.[11] The oxidation state of the system in solution may also induce changes in the optical properties.[23] In direct relation to

Received Date: September 14, 2010
Accepted Date: October 14, 2010
Published on Web Date: October 21, 2010

© 2010 American Chemical Society

DOI: 10.1021/jz101287m | J. Phys. Chem. Lett. 2010, 1, 3189–3194

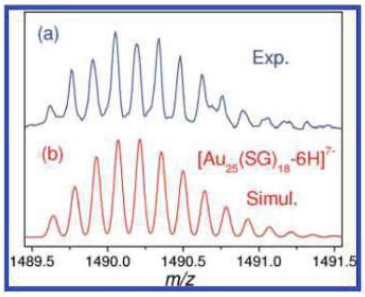


Figure 1. (a) Experimental isotopic distribution of the seven negatively charged-protected metal gold clusters. (b) Calculated isotopic distribution for $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$.

potential applications, light emission was characterized. $Au_{25}(SG)_{18}$ shows a characteristic emission centered at 670 nm, close to the one observed for the solid state.[11]

Although tremendous efforts focused on the development of new chemical routes and separation strategies to produce monodisperse size-selected ligand-protected NPs, environmental factors in solution affect their optical properties. Knowing the intrinsic properties of protected nanoclusters is crucial for accurate forecast and understanding of the evolution of their properties in any environment and for comparison with theoretical predictions. In this Letter, we present the first gas-phase experimental study of the optical properties of protected metal nanoclusters. A solution of $Au_{25}(SG)_{18}$ was electrosprayed. $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ was isolated, stored in a quadrupole ion trap, and irradiated with a UV−vis tunable laser. The controlled environment of the ion trap offers several advantages. It allows the measurement of optical spectra in the absence of solvent. This bench-mark spectrum is needed to assess the intrinsic optical properties of the particle and to rationalize solvatochromic and counterion effects. It also offers the opportunity to isolate one unique mass-to-charge species, thereby eliminating uncertainty on the number of charges on the complex and the possible dispersion of the number of ligands. We show that in the gas phase, after UV excitation, these polyanions relax by electron emission. The measurement of the electron photodetachment yield as a function of the wavelength allowed us to record gas-phase action spectra, which are compared with solution absorption spectra.

The full mass spectrum (not shown) obtained by electrospraying the $Au_{25}(SG)_{18}$ sample, in negative mode, is very similar to the one obtained by Whetten et al.[14,15] Three peak distributions are observed corresponding to charge states 8−, 7−, and 6−. For each charge state, several peaks are observed that correspond to the intact $Au_{25}(SG)_{18}$ NP and to particles with a partial cleavage of one or several GS ligand (loss of $n \times 129$, $n = 1, ..., 4$). The isotopic distribution for the seven negatively charged $Au_{25}(SG)_{18}$ NPs is given in Figure 1 and shows that the exact formula for this ion is $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$. This suggests that the excess charge is due to the deprotonation of six COOH moieties and a net charge of −1 on the Au core, in agreement with optical profiles recorded in solution.[27,28] Experiments were performed on this ion.

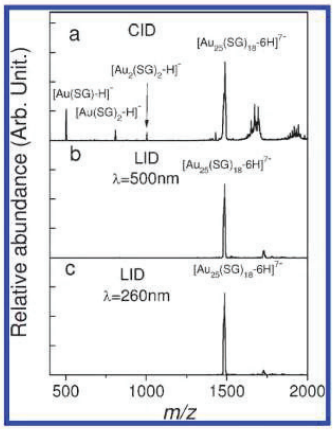


Figure 2. MS/MS spectra of $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ ($m/z = 1490 \pm 15$) under different activation conditions: (a) CID experiment with activation time of 50 ms and amplitude activation of 11 %. (b) LID at $\lambda = 500$ nm, irradiation time = 500 ms. (c) LID at $\lambda = 260$ nm, irradiation time = 100 ms.

Figure 2a shows the mass spectrum obtained after collisional activation of $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ (m/z 1490 ± 15). Three peaks (m/z 502, 803, and 1005) are observed in the low mass/charge region of the spectrum. These peaks correspond to singly charged small gold−SG complexes: $[Au(SG)\text{-}H]^-$, $[Au(SG)_2\text{-}H]^-$, and $[Au_2(SG)_2\text{-}H]^-$. (Isotopic distribution analysis shows that a part of the peak at m/z 1005 is due to $[Au_4(SG)_4\text{-}2H]^{2-}$). These peaks are also directly observed in the full mass spectrum obtained after electrospraying GS ligand-capped gold cluster solutions.[10,16,21] They result here from a fragmentation of the complex. The distributions centered at m/z 1694 and 1944 correspond to species with charge states equal to 6− and 5−, respectively. The spacing between the different peaks is equal to 129 ± 1 uma. This loss corresponds to the cleavage of the GSH peptide bond between the Glu and Cys residue. Therefore, these peaks result from a partial fragmentation of the initial cluster accompanied by a charge reduction. (Note that neither intact $[Au_{25}(SG)_{18}]^{6-}$ nor intact $[Au_{25}(SG)_{18}]^{5-}$ is observed in Figure 2a.)

Two examples of laser-induced dissociation (LID) spectra ($\lambda = 260$ and 500 nm) for $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ are shown in Figure 2b,c. The spectra are dominated by a single fragment peak, which corresponds to $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{6-}$. These ions result from an electron detachment from the initial cluster. Contrary to collision-induced dissociation (CID), neither singly charged fragment corresponding to small complexes nor GSH cleavage is observed, and thus UV and visible irradiation of GS ligand-protected gold clusters leads to electron emission without noticeable fragmentation.

The electron detachment yield for $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ was recorded as a function of the laser wavelength (220−300 and 430−650 nm ranges) and normalized to the laser fluence

$$Y = \ln\left[\frac{I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}} + I_{[Au_{25}SG_{18}]^{6-}}}{I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}}}\right]\frac{1}{P\lambda} \qquad (1)$$

© 2010 American Chemical Society

DOI: 10.1021/jz101287m | J. Phys. Chem. Lett. 2010, 1, 3189–3194

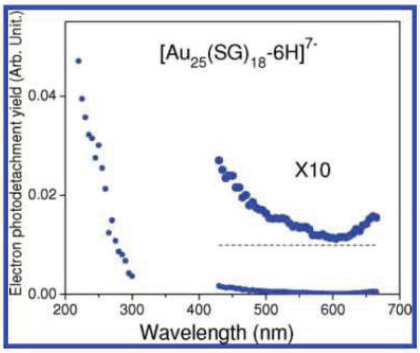


Figure 3. Electron photodetachment yield (eq 1) measured as a function of the laser wavelength for $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$.

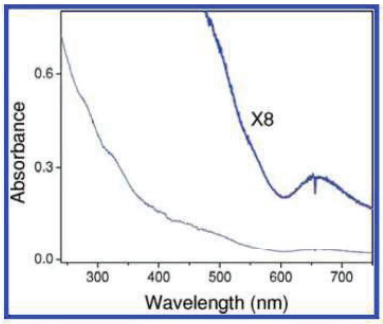


Figure 4. UV−vis absorption spectrum of $Au_{25}(SG)_{18}$ in water (concentration ~ 4 μmol·L^{-1}).

where $I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}}$ is the intensity of $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ after irradiation, $I_{[Au_{25}SG_{18}]^{6-}}$ is the intensity of $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{6-}$, and P and λ are the laser power and laser wavelength, respectively. This results in the action spectrum plotted in Figure 3. Electron detachment is observed in the whole spectroscopic range that has been investigated. The main features of the spectrum are a strong decrease in the electron detachment yield as the laser wavelength increases and a broad band on the red side of the spectrum (~650 nm). For comparison, Figure 4 shows the optical absorption spectrum of aqueous solutions of $Au_{25}(SG)_{18}$ recorded at ambient temperature. The two spectra are very similar and display the two features described above. The absorption band on the red side of the spectrum is due to the intraband transition (HOMO−LUMO) derived from sp orbitals of Au[18,29]and is systematically observed for protected Au_{25} clusters.[10,11,16,21] The absorption in the blue part of the spectrum may arise from mixed intraband (sp ← sp) and interband (sp ← d) transitions, similarly to what is calculated for $Au_{25}SR_{18}$.[18]

Similarity of gas-phase electron detachment yield action spectra and solution absorption spectra was already observed for peptides,[30,31] proteins,[32] and DNA[33] and is rationalized by a two-step electron detachment mechanism. The first step is a resonant electronic excitation of the precursor ion, and the second step is an autoionization from the excited ion. (See eq 2a.) The yield of electron detachment is mainly driven by the first step, that is, by the optical absorption of the precursor ion.

$$A^{n-} + h\nu \rightarrow A^{n-*} \rightarrow A^{(n-1)-} + e^- \quad (2a)$$

$$A^{n-} + h\nu \rightarrow A^{(n-1)-} + e^- \quad (2b)$$

Christine M. Aikens has recently investigated the effect of solvent on the TDDFT optical absorption spectrum of the thiolate-protected Au_{25} NP.[25] Calculations showed that the solvent does not greatly affect the absorption spectrum. The similarity of gas-phase and solution results may be explained by considering that the highest occupied and lowest unoccupied Kohn−Sham orbitals are composed primarily of atomic orbital contributions from the gold core,[18] which are weakly affected by the nature of the solvent or the absence of solvent. This is consistent with the X-ray crystallographic data for thiol-protected Au_{25} that reveals a Au_{13} core icosahedral kernel capped by six $[Au_2(SG)_3]$ complexes.[18,34] The main difference between the optical spectra reported in Figures 3 and 4 is the steeper increase in the UV part of the spectrum for the gas-phase spectrum. Three explanations are possible: (i) the occurrence, as the laser energy increases, of direct electron detachment superimposed to the mechanisms described above (eq 2b), (ii) a modification in the absorption spectrum of the gas-phase species as compared with solution, or (iii) a change in the yield of autoionization after resonant electronic excitation (right-hand side of eq 2a). Whereas the two first hypotheses cannot be eliminated, the third one is the most probable. Indeed, electron detachment may only occur if the energy deposited in the system is superior to the binding energy of the less bound electron. $Au_{25}(SG)_{18}$ contains 36 COOH acidic sites; 6 of them are deprotonated in the gas phase $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$. (Note that additional proton transfers may occur between COOH and NH_2 groups.) The adiabatic affinity of a carboxylate group is 3.498 eV,[35] whereas the adiabatic affinity of Au_{13}^- is slightly higher.[36] This latter value may be influenced by the rest of the gold atoms and the ligands, and we cannot definitively conclude the location of the less bound electron.

Figure 5 shows the evolution of the electron detachment yield $\ln[(I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}} + I_{[Au_{25}SG_{18}]^{6-}})/(I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}})]$ as a function of the laser energy per pulse at two laser wavelengths (250 and 550 nm). A linear increase in the detachment yield is observed at both wavelengths, which shows that the electron photodetachment is a one-photon process. The first important result deduced from this Figure is that the action spectrum shown in Figure 3 is due to a linear excitation of the precursor ion and does not involve multiphoton excitation. At λ = 250 nm, the photon energy (4.96 eV) is sufficient to detach an electron from one of the six carboxylate groups or from the negatively charged Au core. The energy at 550 nm (2.26 eV) is below the adiabatic affinity of $HCOO^-$ and of Au_{13}^-. In a multiply negatively charged molecule, the coulomb repulsion between the excess charges reduces electron binding energies as compared with the values observed for a singly charged species.[37] The observation of a monophotonic process in Figure 5 shows

© 2010 American Chemical Society

DOI: 10.1021/jz101287m | J. Phys. Chem. Lett. 2010, 1, 3189–3194

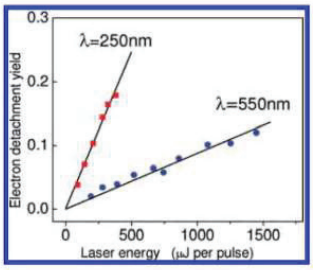


Figure 5. Electron photodetachment yields $\ln[(I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}} + I_{[Au_{25}SG_{18}]^{6-}})/I_{[Au_{25}SG_{18}]^{7-}}]$ measured as a function of the laser power at λ = 250 nm, irradiation time 100 ms and λ = 550 nm, irradiation time: 500 ms.

that this repulsion is sufficient to lower the adiabatic affinity of $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ below 2.26 eV. The electron detachment at this energy would then occur by tunneling through the coulomb repulsive barrier that arises from the interaction of the departing electron with the other charges.[37,38] The detachment yield is the product of the absorption of the cluster and of the autoionization process efficiency (eq 2a). The tunneling process is likely to reduce the efficiency of autoionization (as compared with autoionization occurring above the barrier) and thus the observed photodetachment yield in the red part of the spectrum. The steep increase in the UV part of the action spectrum (Figure 3) would then result both from an increase in the absorption (as observed in solution, Figure 4) and from an increase in the autoionization efficiency.

In conclusion, electrospraying a colloidal $Au_{25}(SG)_{18}$-protected gold clusters enabled us to isolate $[Au_{25}(SG)_{18}\text{-}6H]^{7-}$ ions in a quadrupole ion trap. Photoexcitation of this species results in electron detachment. We showed that electron detachment is a one-photon process and likely involves, at low photon energy, ionization by tunneling through a repulsive coulomb barrier. The action spectrum obtained by recording the electron detachment yield as a function of the laser wavelength allowed us to obtain the first gas-phase optical action spectrum on such species. The recorded gas-phase spectrum is similar to the one obtained in solution with sp ← sp intraband and sp ← d interband transitions. This work demonstrates the possibility to study the optical properties of isolated clusters synthesized by wet chemistry. Future work may, in particular, involve the investigation of the effect of environment on optical absorption of these species.

EXPERIMENTAL SECTION

The experimental setup consists of a LCQ Duo quadrupole ion trap mass spectrometer[39](ThermoFinnigan, San Jose, CA, with a mass range of 50−2000) equipped with an ESI source and coupled to a Panther OPO laser pumped by a 355 nm Nd/YAG PowerLite 8000 (5 ns pulse width, 20 Hz repetition rate). The vacuum chamber and the central ring electrode were adapted to allow the injection of the laser beam at the center of the ion trap. The laser irradiation is synchronized with the presence of the ions in the trap by using an electromechanical shutter triggered on the RF signal of the ion trap. The maximum laser energy in the trap in the UV and visible ranges is 500 μJ/pulse and 3 mJ/pulse, respectively. The laser power was adjusted using a half-wave plate and a polarizer. The reflection on the chamber quartz window is used to monitor continuously the laser power. Precursor ions are first mass-selected and stored in the ion trap. Then, they are activated by collision or by laser irradiation, and the resulting mass spectrum is recorded. For LID experiments, ions were irradiated for 100 ms in the UV range (two laser pulses) and 500 ms in the visible range (10 laser pulses). For CID experiments, helium was used as collision gas. The *m/z* isolation window (for CID and LID) was ±15 Th. Isotopic distributions of negatively charged protected gold clusters were recorded using the ultrazoom scan mode of an LTQ quadrupole ion trap mass spectrometer (ThermoFinnigan, San Jose, CA).

Sample Preparation and ESI Conditions. $Au_{25}(SG)_{18}$ was synthesized in two steps, as reported by Shibu et al.[11] In brief, 0.25 mmol of $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ and 1 mmol of GSH were added to 50 mL of ice-cold methanol. Then, 12.5 mL of an aqueous solution of $NaBH_4$ (0.2M) was rapidly injected under vigorous stirring during 1 h. The precipitate was collected and washed two times with methanol through centrifugal precipitation. Then, the powder was dissolved in 50 mL of a 1 mM GSH water solution and heated under stirring at 55 °C for ∼12 h. The solid material formed was centrifuged out, and $Au_{25}(SG)_{18}$ was precipitated from the solution by the addition of methanol. After two washes with methanol, $Au_{25}(SG)_{18}$ was dried under vacuum and stored under refrigerated conditions. The $Au_{25}(SG)_{18}$ sample was prepared by solubilization of the dry sample in distilled water. The sample concentration was ∼4 μmol·L^{-1} (gold concentration). To obtain $Au_{25}(SG)_{18}$ mass spectra in negative mode, we found the capillary temperature to be critical and optimal around 60 °C; source gas flow rate: 48 (arb unit); spray voltage: 4.5 kV; capillary voltage: −4 V; first octapole: 6 V; second octapole: 7 V; lens voltage: 20 V; injection time: 600 ms and Syringe flow rate: 50 μL/min.

UV−vis spectra in solution were recorded using an AvaSpec-2048 fiber optic spectrometer and an AvaLight-DH-S deuterium halogen light source.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author:

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: rayane@lasim.univ-lyon1.fr. Tel: 33 4 72 44 82 26.

ACKNOWLEDGMENT We acknowledge the financial support from the Région Rhône-Alpes (CIBLE 01 015576 02).

REFERENCES

(1) Katz, E.; Willner, I. Integrated Nanoparticle-Biomolecule Hybrid Systems: Synthesis, Properties, and Applications. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004,** *43*, 6042–6108.
(2) Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. Synthesis of Thiol-Derivatised Gold Nanoparticles in a Two-Phase Liquid−Liquid System. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994,** 801–802.
(3) Yao, H.; Momozawa, O.; Hamatani, T.; Kimura, K. Stepwise Size-Selective Extraction of Carboxylate-Modified Gold

© 2010 American Chemical Society

Nanoparticles from an Aqueous Suspension into Toluene with Tetraoctylammonium Cations. *Chem. Mater.* **2001,** *13*, 4692–4697.
(4) Templeton, A. C.; Wuelfing, M. P.; Murray, R. W. Monolayer Protected Cluster Molecules. *Acc. Chem. Res.* **2000,** *33*, 27–36.
(5) Shipway, A. N.; Katz, E.; Willner, I. Nanoparticle Arrays on Surfaces for Electronic, Optical, and Sensor Applications. *ChemPhysChem* **2000,** *1*, 18–52.
(6) Bowman, M. C.; Ballard, T. E.; Ackerson, C. J.; Feldheim, D. L.; Margolis, D. M.; Melander, C. Inhibition of HIV Fusion with Multivalent Gold Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2008,** *130*, 6896–6897.
(7) El-Sayed, I. H.; Huang, X. H.; El-Sayed, M. A. Surface Plasmon Resonance Scattering and Absorption of Anti-EGFR Antibody Conjugated Gold Nanoparticles in Cancer Diagnostics: Applications in Oral Cancer. *Nano Lett.* **2005,** *5*, 829–834.
(8) Link, S.; El-Sayed, M. A. Shape and Size Dependence of Radiative, Non-Radiative and Photothermal Properties of Gold Nanocrystals. *Int. Rev. Phys. Chem.* **2000,** *19*, 409–453.
(9) Daniel, M.-C.; Astruc, D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications Toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. *Chem. Rev.* **2004,** *104*, 293–346.
(10) Tsunoyama, H.; Sakurai, H.; Negishi, Y.; Tsukuda, T. Size-Specific Catalytic Activity of Polymer-Stabilized Gold Nanoclusters for Aerobic Alcohol Oxidation in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2005,** *127*, 9374–9375.
(11) Shibu, E. S.; Muhammed, M. A. H.; Tsukuda, T.; Pradeep, T. Ligand Exchange of $Au_{25}SG_{18}$ Leading to Functionalized Gold Clusters: Spectroscopy, Kinetics, and Luminescence. *J. Phys. Chem. C* **2008,** *112*, 12168–12176.
(12) Zheng, J.; Nicovich, P. R.; Dickson, R. M. Highly Fluorescent Noble-Metal Quantum Dots. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007,** *58*, 409–431.
(13) Whetten, R. L.; Khoury, J. T.; Alvarez, M. M.; Murthy, S.; Vezmar, I.; Wang, Z. L.; Stephens, P. W.; Cleveland, C. L.; Luedtke, W. D.; Landman, U. Nanocrystal Gold Molecules. *Adv. Mater.* **1996,** *8*, 428–433.
(14) Schaaff, T. G.; Knight, G.; Shafigullin, M. N.; Borkman, R. F.; Whetten, R. L. Isolation and Selected Properties of a 10.4 kDa Gold: Glutathione Cluster Compound. *J. Phys. Chem. B* **1998,** *102*, 10643–10646.
(15) Schaaff, T. G.; Whetten, R. L. Giant Gold-Glutathione Cluster Compounds: Intense Optical Activity in Metal-Based Transitions. *J. Phys. Chem. B* **2000,** *104*, 2630–2641.
(16) Negishi, Y.; Nobusada, K.; Tsukuda, T. Glutathione-Protected Gold Clusters Revisited: Bridging the Gap between Gold(I)-Thiolate Complexes and Thiolate-Protected Gold Nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **2005,** *127*, 5261–5270.
(17) Parker, J. F.; Weaver, J. E. F.; McCallum, F.; Fields-Zinna, C. A.; Murray, R. W. Synthesis of Monodisperse $[Oct_4N^+][Au_{25}(SR)_{18}^-]$ Nanoparticles, with Some Mechanistic Observations. *Langmuir* **2010,** *26*, 13650–13654.
(18) Zhu, M.; Aikens, C. M.; Hollander, F. J.; Schatz, G. C.; Jin, R. Correlating the Crystal Structure of a Thiol-Protected Au_{25} Cluster and Optical Properties. *J. Am. Chem. Soc.* **2008,** *130*, 5883–5885.
(19) Qian, H. F.; Eckenhoff, W. T.; Zhu, Y.; Pintauer, T.; Jin, R. C. Total Structure Determination of Thiolate-Protected Au_{38} Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2010,** *132*, 8280–8281.
(20) Wu, Z.; Suhan, J.; Jin, R. C. One-Pot Synthesis of Atomically Monodisperse, Thiol-Functionalized Au_{25} Nanoclusters. *J. Mater. Chem.* **2009,** *19*, 622–626.
(21) Shichibu, Y.; Negishi, Y.; Tsukuda, T.; Teranishi, T. Large-Scale Synthesis of Thiolated Au_{25} Clusters via Ligand Exchange Reactions of Phosphine-Stabilized Au_{11} Clusters. *J. Am. Chem. Soc.* **2005,** *127*, 13464–13465.
(22) Qian, H.; Jin, R. Controlling Nanoparticles with Atomic Precision: The Case of $Au_{144}(SCH_2CH_2Ph)_{60}$. *Nano Lett.* **2009,** *9*, 4083–4087.
(23) Ikeda, K.; Kobayashi, Y.; Negishi, Y.; Seto, M.; Iwasa, T.; Nobusada, K.; Tsukuda, T.; Kojima, N. Thiolate-Induced Structural Reconstruction of Gold Clusters Probed by ^{197}Au Mossbauer Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **2007,** *129*, 7230–7231.
(24) Ingram, R. S.; Hostetler, M. J.; Murray, R. W.; Schaaff, T. G.; Khoury, J. T.; Whetten, R. L.; Bigioni, T. P.; Guthrie, D. K.; First, P. N. 28 kDa Alkanethiolate-Protected Au Clusters Give Analogous Solution Electrochemistry and STM Coulomb Staircases. *J. Am. Chem. Soc.* **1997,** *119*, 9279–9280.
(25) Aikens, C. M. Effects of Core Distances, Solvent, Ligand, and Level of Theory on the TDDFT Optical Absorption Spectrum of the Thiolate-Protected Au_{25} Nanoparticle. *J. Phys. Chem. A* **2009,** *113*, 10811–10817.
(26) Wu, Z.; Jin, R. On the Ligand's Role in the Fluorescence of Gold Nanoclusters. *Nano Lett.* **2010,** *10*, 2568–2573.
(27) Zhu, M.; Aikens, C. M.; Hendrich, M. P.; Gupta, R.; Qian, H.; Schatz, G. C.; Jin, R. Reversible Switching of Magnetism in Thiolate-Protected Au_{25} Superatoms. *J. Am. Chem. Soc.* **2009,** *131*, 2490–2492.
(28) Wu, Z.; Gayathri, C.; Gil, R. R.; Jin, R. Probing the Structure and Charge State of Glutathione-Capped $Au_{25}(SG)_{18}$ Clusters by NMR and Mass Spectrometry. *J. Am. Chem. Soc.* **2009,** *131*, 6535–6542.
(29) Akola, J.; Walter, M.; Whetten, R. L.; Hakkinen, H.; Gronbeck, H. On the Structure of Thiolate-Protected Au_{25}. *J. Am. Chem. Soc.* **2008,** *130*, 3756–3757.
(30) Joly, L.; Antoine, R.; Broyer, M.; Lemoine, J.; Dugourd, P. Electron Photodetachment From Gas Phase Peptide Dianions. Relation with Optical Absorption Properties. *J. Phys. Chem. A* **2008,** *112*, 898–903.
(31) Matheis, K.; Joly, L.; Antoine, R.; Lépine, F.; Bordas, C.; Ehrler, O. T.; Allouche, A.-R.; Kappes, M. M.; Dugourd, P. Photoelectron Spectroscopy of Gramicidin Polyanions: Competition between Delayed and Direct Emission. *J. Am. Chem. Soc.* **2008,** *130*, 15903–15906.
(32) Joly, L.; Antoine, R.; Allouche, A. R.; Broyer, M.; Lemoine, J.; Dugourd, P. Ultraviolet Spectroscopy of Peptide and Protein Polyanions in Vacuo: Signature of the Ionization State of Tyrosine. *J. Am. Chem. Soc.* **2007,** *129*, 8428–8729.
(33) Gabelica, V.; Rosu, F.; Tabarin, T.; Kinet, C.; Antoine, R.; Broyer, M.; De Pauw, E.; Dugourd, P. Base-Dependent Electron Photodetachment from Negatively Charged DNA Strands upon 260-nm Laser Irradiation. *J. Am. Chem. Soc.* **2007,** *129*, 4706–4713.
(34) Heaven, M. W.; Dass, A.; White, P. S.; Holt, K. M.; Murray, R. W. Crystal Structure of the Gold Nanoparticle $N(C_8H_{17})_4Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)_{18}$. *J. Am. Chem. Soc.* **2008,** *130*, 3754–3755.
(35) Kim, E. H.; Bradforth, S. E.; Arnold, D. W.; Metz, R. B.; Neumark, D. M. Study of HCO_2 and DCO_2 by Negative Ion Photoelectron Spectroscopy. *J. Chem. Phys.* **1995,** *103*, 7801–7814.
(36) Taylor, K. J.; Pettiettehall, C. L.; Cheshnovsky, O.; Smalley, R. E. Ultraviolet Photoelectron-Spectra of Coinage Metal-Clusters. *J. Chem. Phys.* **1992,** *96*, 3319–3329.
(37) Wang, X.-B.; Ding, C.-F.; Wang, L.-S. Electron Tunneling through the Repulsive Coulomb Barrier in Photodetachment of Multiply Charged Anions. *Chem. Phys. Lett.* **1999,** *307*, 391–396.

© 2010 American Chemical Society

DOI: 10.1021/jz101287m | *J. Phys. Chem. Lett.* **2010,** *1*, 3189–3194

(38) Ehrler, O. T.; Yang, J.-P.; Sugiharto, A. B.; Unterreiner, A. N.; Kappes, M. M. Excited State Dynamics of Metastable Phthalocyanine-Tetrasulfonate Tetra-Anions Probed by Pump/Probe Photoelectron Spectroscopy. *J. Chem. Phys.* **2007,** *127*, 184301.
(39) Talbot, F. O.; Tabarin, T.; Antoine, R.; Broyer, M.; Dugourd, P. Photo-Dissociation Spectroscopy of Trapped Protonated Tryptophan. *J. Chem. Phys.* **2005,** *122*, 074310.

© 2010 American Chemical Society

DOI: 10.1021/jz101287m | *J. Phys. Chem. Lett.* **2010,** *1*, 3189–3194

Article 2: Glutathione capped gold $Au_N(SG)_M$ clusters studied by isotope-resolved mass spectrometry

International Journal of Mass Spectrometry 335 (2013) 1–6

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

International Journal of Mass Spectrometry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijms

Glutathione capped gold $Au_N(SG)_M$ clusters studied by isotope-resolved mass spectrometry

Ramzi Hamouda[a,b], Franck Bertorelle[a,b], Driss Rayane[a,b,*], Rodolphe Antoine[a,b], Michel Broyer[a,b], Philippe Dugourd[a,b]

[a] Université de Lyon, F-69622 Lyon, France
[b] CNRS, UMR5579, LASIM, Université Lyon 1, F-69622 Villeurbanne, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 7 June 2012
Received in revised form 9 October 2012
Accepted 11 October 2012
Available online 23 October 2012

Keywords:
Mass spectrometry
Clusters
Liganded gold clusters
Charge state
Fragmentation
PAGE gel

ABSTRACT

In this manuscript, we report the synthesis and mass spectrometry study of small gold liganded clusters ranging from $Au_4(SG)_4$ to $Au_{25}(SG)_{18}$ (SG = glutathione peptide). Collision induced dissociation pathways of liganded clusters involve formation of $Au_4(SG)_4$ cluster ion products and, successive losses of pyroglutamic acid coming from a cleavage and reorganization of the glutamic acid side chain. We used isotope-resolved mass spectrometry to determine the charge state of the clusters and eventually the number of electrons in the core. $Au_{15}(SG)_{13}$ is the first size for which electron count and fragmentation spectra suggest the formation of a gold core. A geometry built around a trimeric gold core with $Au_4(SG)_4$ staple as the nanoparticle's protecting structure is proposed. Clusters with sizes superior to $Au_{22}(SG)_{17}$ are negatively charged showing that, in this case, the gold core is sufficiently large to accommodate one excess electron.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The synthesis of small, monodisperse nanoparticles is a major challenge in nanotechnology research with applications in catalysis, electronic miniaturization, biology such as drug delivery and sensors [1–4]. Since the pioneering work by Brust et al. in 1994 [5], nanoparticles provided through the chemical bonding between gold and thiols have gained much attention. Murray and coworkers [6] and Whetten et al. [7] made a major breakthrough by showing the possibility to produce gold nanoparticles with enhanced stability for certain sizes. In particular, they were able to separate mixtures, and using mass spectrometry (MS) to determine the composition and abundance of the gold clusters [8,9]. Well-defined nanoclusters with a specific number of gold atoms that exhibit good stability are now accessible by various convenient synthetic pathways [10,11]. Small Au(I)–thiolate complexes binary systems form homoleptic 1:1 $(AuL)_N$ ligands that exhibits chain, cyclic and helical structures as observed and predicted by various authors [12–17]. Preparation of species with stacked core is based on the chemical reduction of Au ions in the presence of thiols leading to clusters containing a symmetric Au core protected by linear —L—Au—L— and V-shaped —L—Au—L—Au—L-staple motifs. A major advance in structural characterization of such protected gold nanoclusters came from crystallization and the total structure determination of thiolated gold nanoclusters [18–20]. In particular, for $Au_{25}L_{18}$, there is a core composed of a Au_{13} icosahedron capped by six Au_2L_3 staple-like elements [18,20,21]. The spatial confinement of free electrons in the metal core results in discrete and electronic transitions, leading to molecular like properties such as luminescence and unique charging properties [12,22]. In its native form, $Au_{25}L_{18}$ bears a negative charge [18,23,24]. The high stability of this cluster is obtained by structural robustness and for the anion an electronic eight-electron shell of delocalized Au(6s) electrons. In a superatom model [25–27], electrons are confined in a spherically symmetric potential, the electron progressively filling the degenerate electronic levels. Electron shell structure arises due to symmetry of the system [28]. The electron count is determined as $n = N - M - q$ where N is the number of valence orbitals contributed by the metal atoms, M the number of ligands that withdraw one electron (total number of ligands = M + number of Lewis base type ligand) and q the net charge of the complex [27]. If n corresponds to a magic number ($n = 8$ for negatively charged $Au_{25}L_{18}$), the superatom complex may be particularly stable. $Au_{25}L_{18}$ can be oxidized and reduced to different charge states resulting in structural distortions and changes in electronic properties [24,29–31]. Theoretical structures

* Corresponding author at: Laboratoire de Spectrometrie Ionique et Moleculaire, C.N.R.S. et Universite Lyon I, Bat. A. Kastler, 43 bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France. Tel.: +33 4 72 44 82 26; fax: +33 4 72 43 15 07.
E-mail addresses: driss.rayane@univ-lyon1.fr (D. Rayane), philippe.dugourd@univ-lyon1.fr (P. Dugourd).

1387-3806/$ – see front matter © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2012.10.008

with tetrahedron and octahedron cores have been proposed for the smallest thiolated gold superatom complexes ($n = 2$) [32,33]. Establishing the actual charge state of gold clusters is a key step toward the identification of this superatom cluster. More generally, charge state determination is important for a profound understanding of thiolated gold clusters growth mechanism, of the physical reasons for the observed "magic" core sizes and of their physicochemical and optical properties. In addition to stoichiometric determination, gas phase experiments can provide insights into the structure, stability and charge state of nanoclusters [23,24,34–36]. In medium size regime (~10 to ~20 gold atoms), there is a mixing of Au(I)—SR polymers and small nanoclusters. The polymeric chains collapse (due to addition of reducing agents), and Au—Au bonds begin to form, leading to nucleation of a gold core. In this manuscript we report, isotope-resolved and fragmentation mass spectra of small gold glutathione clusters, which have been produced with a continuous growth from $Au_4(SG)_4$ to $Au_{25}(SG)_{18}$ using different synthesis methods [37–39]. A systematic determination of the net charge of the cluster is obtained.

2. Materials and methods

2.1. Materials

All the chemicals were commercially available and were used without purification. $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$, trifluoroacetic acid (TFA), methanol (HPLC grade), acrylamide (98%), bis-acrylamide (98%), glycine, tris(hydroxymethylamine) and GSH (γ-Glu-Cys-Gly, MW 307) were purchased from Carl Roth. Sodium borohydride ($NaBH_4$) and tetramethylammonium borohydride ($(CH_3)_4BH_4$) were purchased from Sigma Aldrich. MilliQ water with a resistivity of 18.2 MΩ cm was used for all experiments.

2.2. Preparation of Au(SG) cluster

Four different syntheses were done (A–D). First one (A) is the reproduction of the synthesis proposed by Tsukuda and coworkers [37]. Briefly, to a cooled methanol solution (50 ml at 0 °C) of $HAuCl_4$ (0.25 mmol) was added 1.0 mmol of glutathione. After 30 min stirring, an aqueous solution of $NaBH_4$ (0.2 M, 12.5 ml), cooled at 0 °C, was injected rapidly into this mixture under vigorous stirring during 1 h. The resulting precipitate was collected, washed with methanol through centrifugal precipitation and dry to give a dark powder.

Second synthesis (B) was developed by Pradeep and coworkers [39] starting from the powder obtained following synthesis A. It was dissolved in 50 ml of 1.0 mM SG (in water) and heated at 55 °C under agitation for about 7 h. This time permits to obtain $Au_{25}(SG)_{18}$ and a consequent quantity of smaller clusters ($Au_{15}(SG)_{13}$ and $Au_{18}(SG)_{14}$). The solid material formed was centrifuged out from the solution; clusters were precipitated by the addition of methanol. The powder was then repeatedly washed with methanol and finally with ethanol.

The third method was the same as the first one except that the temperature of methanol was lowered to −16 °C during all the reaction.

For the last synthesis, 152 mg of glutathione was added to a solution of 50 mg $HAuCl_4$ dissolved in 40 ml of methanol (at 12 °C) under agitation during 30 min. Then, 12 mg of tetramethylammonium borohydride ($(CH_3)_4NBH_4$) was quickly added. To dissolve the precipitate that appeared, trifluoroacetic acid (TFA) was added drop by drop until the solution became clear (3–4 droplets). The solution was left under agitation 30 min; then 24 mg and 40 mg of $(CH_3)_4NBH_4$ were added at an interval of 1 h. The precipitate was collected by centrifugation and washed with methanol before being solubilized in water (5 ml + ≈3 ml of a 1% NH_4OH solution, final pH between 6 and 7). The powder (D) is collected and dried after precipitation by adding methanol and centrifugation (twice).

Synthesis A was used as a reference for polyacrylamide gel electrophoresis. We used the three other syntheses in order to produce a wide range of cluster sizes.

2.3. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)

PAGE separation was carried out by using a vertical gel electrophoresis unit with a size of 0.2 cm × 20 cm × 20 cm. The separating and stacking gels were prepared by acrylamide monomers with the total contents of 35 and 7 wt% (acrylamide/bis-(acrylamide) 94:6), respectively. The eluting buffer consisted of 192 mM glycine and 25 mM tris(hydroxymethylamine). The as-prepared Au(SG) clusters were dissolved in a 15% (v/v) glycerol/water solution (6 mg in 100 μl). The samples solutions were loaded onto the stacking gel (10 μl per well) and eluted for 14 h at a constant voltage mode (150 V) to achieve sufficient separation.

2.4. Mass spectrometry

Solutions were diluted without gel separation at a concentration of ~1 mg/mL in H_2O, electrosprayed at a flow rate of 10 μL/min and analyzed in negative mode with a linear quadruple ion trap mass spectrometer (LTQ, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) with a spray voltage of −3 kV and a capillary temperature of 100 °C. Other instrument settings were adjusted for each species to optimize the distribution of charge states observed in the mass spectrum. Isotope-resolved mass spectrum were recorded using the ultra zoom scan mode of the instrument (mass resolution ~30 000, mass accuracy 0.2 Th). Collision-induced dissociation (CID) was performed using helium gas at a normalized collision energy of 12% for 30 ms.

3. Results and discussion

Fig. 1 shows PAGE gels obtained for the four different syntheses. The gel obtained with synthesis A is similar to the one obtained by Tsukuda and coworkers [37] and, as already mentioned, was used as a reference for gel interpretations. Synthesis B provides a high yield of $Au_{25}(SG)_{18}$ as well as cluster sizes containing 15–20 gold atoms. $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$ and $Au_{12}(SG)_{12}$ were the major products formed using the low temperature synthesis as can be seen by gel electrophoresis under UV light (C). Finally, the advantage of synthesis D is to provide a wide range of clusters in a single synthesis with a yield on small sizes (number of gold atoms < 25) much higher than with synthesis A. $Au_{25}(SG)_{18}$ is not observed with this last synthesis. The band observed at a position similar to $Au_{25}(SG)_{18}$ in the gel is due to another species which has a strong red fluorescence, while the emission band for $Au_{25}(SG)_{18}$ is reported at 1.5 eV (~825 nm) [37]. Isolation and characterization of this cluster are in progress.

The negative-ion ESI mass spectra obtained after electrospraying the different solutions consist in series of peaks associated to multiply charged cluster anions. Each peak can be directly assigned to a cluster size and a charge state based on its m/z value. Each molecule appears generally in the mass spectrum at several charge states. For example for synthesis D, we observed $Au_{16}(SG)_{14}$, with charge states 4–, 5– and 6–. Individual $Au_N(SG)_M$ clusters were then selected and stored in the trap to record mass spectrum distributions using the high resolution zoom scan mode. The cluster distributions that we were able to isolate in the ion trap from the different syntheses are summarized in Table 1. Most of the sizes are observed for at least two different syntheses. We carefully checked that the isotope distributions that are discussed below as well as fragmentation spectra do not depend on the synthetic route.

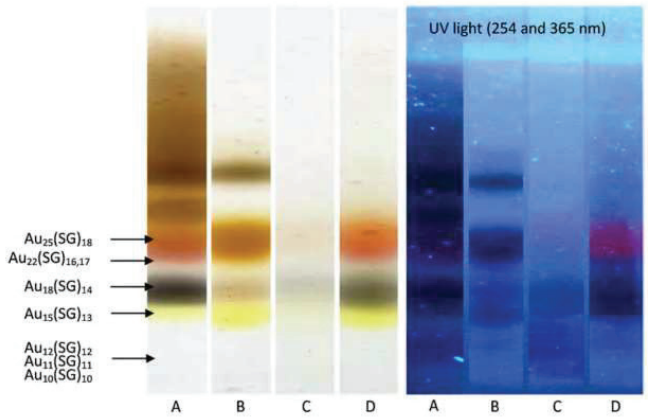


Fig. 1. Au(SG) bands from the same PAGE gel, under visible light (left) and UV light (right). Size cluster attribution of the bands A was made in comparison with Ref. [37]. Use of UV light has permitted to reveal the smallest Au(SG) (10,11,12) clusters and a strong red luminescent band in sample D (red band).

Table 1
Cluster sizes isolated in mass spectrometry for the different syntheses.

Synthesis B	$Au_{15}(SG)_{13}$, $Au_{18}(SG)_{14}$, $Au_{20}(SG)_{16}$, $Au_{25}(SG)_{18}$
Synthesis C	$Au_4(SG)_4$, $Au_8(SG)_8$, $Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$, $Au_{12}(SG)_{12}$, $Au_{15}(SG)_{13}$, $Au_{16}(SG)_{14}$
Synthesis D	$Au_{10}(SG)_{10}$, $Au_{11}(SG)_{11}$, $Au_{12}(SG)_{12}$, $Au_{15}(SG)_{13}$, $Au_{16}(SG)_{14}$, $Au_{18}(SG)_{14}$, $Au_{20}(SG)_{16}$, $Au_{22}(SG)_{17}$, $Au_{23}(SG)_{17}$

Fig. 2 shows the experimental isotopic distribution for the negatively charged $Au_{15}(SG)_{13}$. The distribution is mainly due to carbon and sulfur isotopes. The spacing of 0.20 between each peak confirms that charge state of the cluster is −5. The 5 charges are due to deprotonation of the glutathione sides chains and possibly to the net charge of the gold cluster. We considered p charges due to deprotonation of glutathione side chains and compare experimental and theoretical isotopic distribution for $[Au_{15}(SG)_{13}—pH]^{5-}$. Fig. 2 shows the calculated distributions for $[Au_{15}(SG)_{13}—pH]^{5-}$, where $p=4$ and $p=5$. The comparison with the experimental data establishes $[Au_{15}(SG)_{13}—5H]^{5-}$ as the exact species that is observed here. Examples of experimental and calculated isotopic distributions for four other clusters are displayed in Fig. 3. The observed charge z of a gold–glutathione complex in the mass spectrum is the sum of the net charge q of the complex plus the charge due to deprotonation of glutathione side chains. The observed charge of the complex and the number of deprotonation are both determined from the isotope-resolved mass spectrum resulting in a direct determination of the net charge q. Results are summarized in Table 2. Isotope resolved mass spectra were recorded for the different charge states observed for each molecule. Examples of experimental and calculated distributions for charge states 4- and 5- of $Au_{16}(SG)_{14}$ are shown in Fig. 4. Both analyses lead to a net charge q equal to 0. We systematically observed that the net charge borne by the cluster does not depend on the observed charge state

Table 2
Net charge (q) of the cluster and assigned number of electrons to the core (n).

Cluster	q	n
$Au_4(SG)_4$	0	0
$Au_8(SG)_8$	0	0
$Au_{10}(SG)_{10}$	0	0
$Au_{11}(SG)_{11}$	0	0
$Au_{12}(SG)_{12}$	0	0
$Au_{15}(SG)_{13}$	0	2
$Au_{16}(SG)_{14}$	0	2
$Au_{18}(SG)_{14}$	0	4
$Au_{20}(SG)_{16}$	0	4
$Au_{22}(SG)_{17}$	−1	6
$Au_{23}(SG)_{17}$	−1	7
$Au_{25}(SG)_{18}$	−1	8

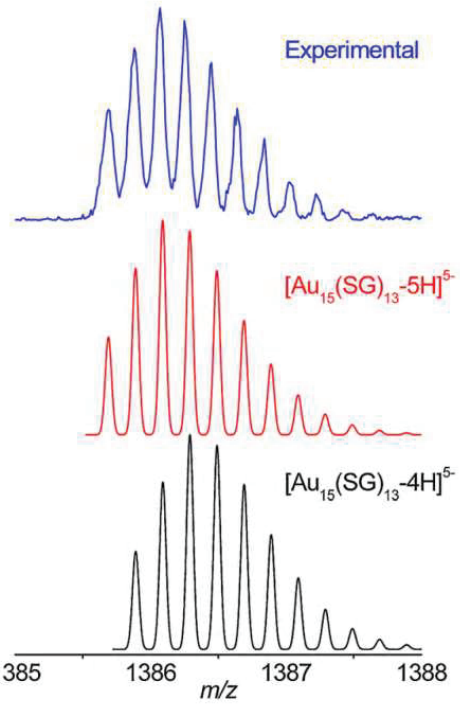


Fig. 2. Experimental isotopic distribution recorded for charge state 5− of $Au_{15}(SG)_{13}$. Two simulated distributions that differ by an H atom are shown. They establish $[Au_{15}(SG)_{13}—5H]^{5-}$ as the exact observed species.

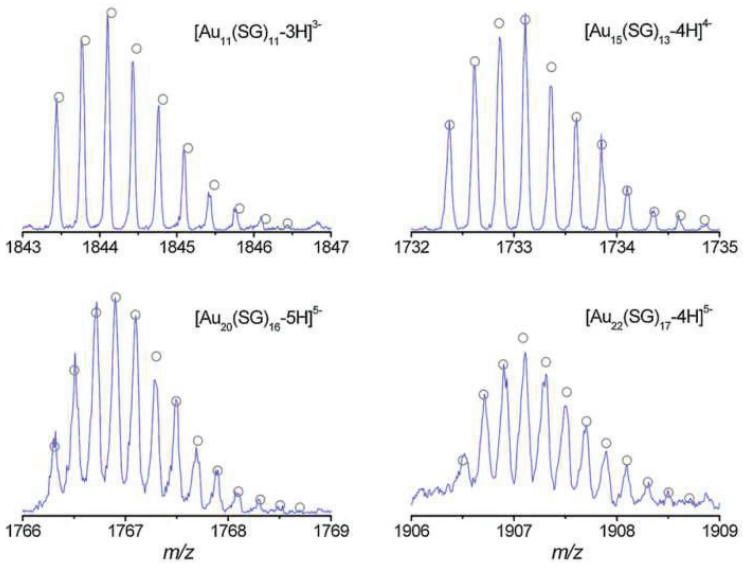


Fig. 3. Experimental isotopic distribution recorded for $Au_{11}(SG)_{11}$ (charge state 3−), $Au_{16}(SG)_{14}$ (charge state 4−), $Au_{20}(SG)_{16}$ (charge state 5−) and $Au_{22}(SG)_{17}$ (charge state 5−). Circles show the theoretical isotopic distributions calculated for $[Au_{11}(SG)_{11}{-}3H]^{3-}$, $[Au_{16}(SG)_{14}{-}4H]^{4-}$, $[Au_{20}(SG)_{16}{-}5H]^{5-}$, and $[Au_{22}(SG)_{17}{-}4H]^{5-}$.

in the mass spectrum (neither on the synthesis) but is an intrinsic property of the cluster.

For the ring and crownlike structures predicted for homoleptic Au thiolate complexes [13], s electrons of gold atoms are involved on Au–S bonding leading to no net charge on the cluster and an electron count of zero in a superatom model. This is in agreement with experimental findings for the small sizes. Fig. 5 shows collision induced dissociation (CID) spectra recorded for 4 different sizes. The main product ions observed after collisional activation of $Au_{10}(SG)_{10}$ and $Au_{11}(SG)_{11}$ correspond to singly deprotonated $Au_4(SG)_4$ clusters. The strong predominance of this fragment

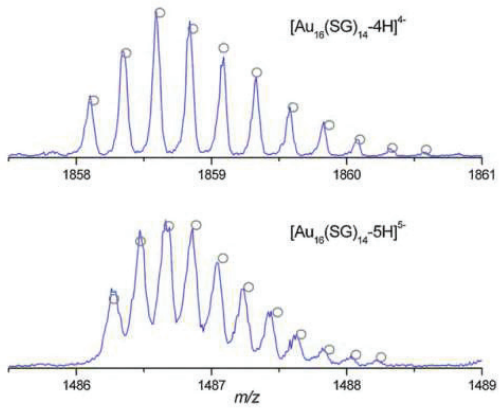


Fig. 4. Experimental isotopic distribution recorded for charge states 4− and 5− of $Au_{16}(SG)_{14}$. Circles show the theoretical isotopic distributions for $[Au_{16}(SG)_{14}{-}4H]^{4-}$ and $[Au_{16}(SG)_{14}{-}5H]^{5-}$.

suggests that the structures for these sizes are based on ring $Au_4(SG)_4$ motifs [17]. Same results are obtained for $Au_{12}(SG)_{12}$.

A transition is observed for the larger sizes that were produced with our synthesis. When there is formation of a core, the electron count in the gold core is determined from the charge q of the cluster and the number of ligands withdrawing one electron. $Au_{15}(SG)_{13}$ is the first size with a stoechiometry different from 1:1 and the electron count in this case leads to 2 electrons in the core. The collision induced dissociation pathways involve successive losses of pyroglutamic acid coming from a cleavage and reorganization of the glutamic acid side chain. Singly deprotonated $Au_2(SG)_2$ and doubly deprotonated $Au_4(SG)_4$ cluster ions are also observed (species were identified using ultra zoom scan on product ions). The observation of $[Au_4(SG)_4{-}2H]^{2-}$ product ion may result from an intermolecular rearrangement of the staples to form Au_4L_4 before fragmentation. Neutral loss of Au_4L_4 was for example observed after collisional excitation of $Au_{25}L_{18}$ clusters and attributed to such a rearrangement [40]. Here, we also observe the formation of $[Au_4(SG)_4{-}2H]^{2-}$ for larger sizes (see Fig. 5 for $Au_{16}(SG)_{14}$) but, as compared with CID spectra for clusters up to $Au_{15}(SG)_{13}$, the relative intensity of this fragment is weak. The observation of $Au_4(SG)_4$ as one of the most intense ion in the fragmentation spectrum of $Au_{15}(SG)_{13}$ suggests strongly bound $Au_4(SG)_4$ staple as this nanoparticle's protecting structure. Below, we propose a structure based on this hypothesis. Tetrahedral and octahedral gold core with 2 electrons were predicted and observed for Au_8L_6 and $Au_{12}L_9$ with SCH_3 ligands [33,41]. An octahedral Au_6 core protected by 3 trimer motifs was also recently proposed for $[Au_{15}(SCH_3)_{12}]^+$ [42]. These sizes that are built on dimer and trimer V-shapes motifs are not observed here. For $Au_{15}(SG)_{13}$, we propose a gold trimeric core surrounded by three cyclic $Au_4(SG)_4$ and an additional glutathione ligand capping one face of the gold trimer resulting to 2 electrons in the core. An example of such a structure is tentatively drawn in Scheme 1. The formation of a gold core is supported both by the electron count and the fragmentation spectrum. The latter shows that the cohesion of the core is stronger than bonds in Glutathione

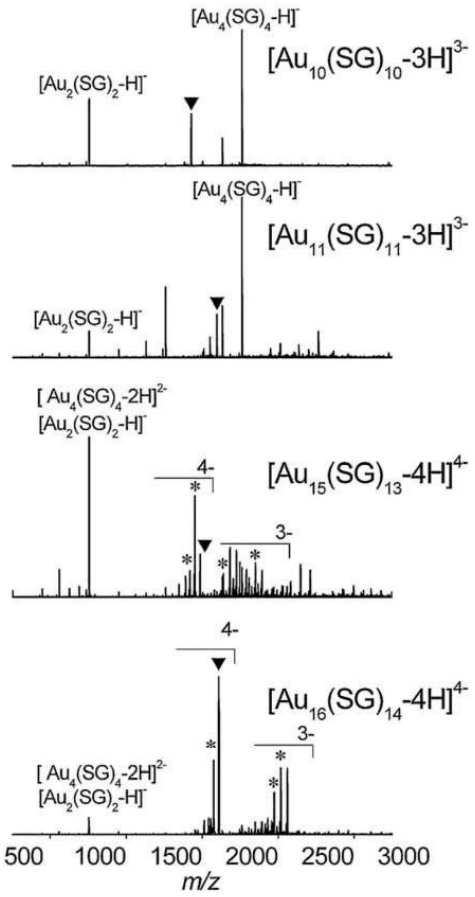
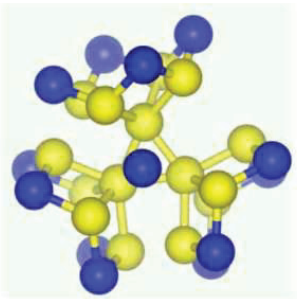


Fig. 5. Collision induced dissociation spectra recorded for $[Au_{10}(SG)_{10}—3H]^{3-}$, $[Au_{11}(SG)_{11}—3H]^{3-}$, $[Au_{15}(SG)_{13}—4H]^{4-}$ and $[Au_{16}(SG)_{14}—4H]^{4-}$ clusters. The black triangles mark the precursor ions. The peaks labeled with a star correspond to successive losses of 129 Da (losses of pyroglutamic acid). For $[Au_{15}(SG)_{13}—4H]^{4-}$ and $[Au_{16}(SG)_{14}—4H]^{4-}$, side chain fragmentation is eventually accompanied by a charge loss leading to triply negatively charged clusters.



Scheme 1. Possible C_{3v} structure for $Au_{15}(SG)_{13}$. The drawn structure consists of a gold trimeric core surrounded by three cyclic $Au_4(SG)_4$. An additional glutathione ligand is capping one face of the gold core.

peptide. When comparing SG ligand with SCH_3 ligand, an obvious difference is that SG contains several electron rich groups that can possibly interact with gold atoms or gold cluster surface resulting in different structures. The nature of the ligand may favor, for gold glutathione clusters, an initial growth pattern based on ring $Au_4(SG)_4$ motifs. The structural assignment is not definitive, for example an alternative structure could be a pentameric gold core surrounded by three $Au_2(SG)_3$ staple units and one $Au_4(SG)_4$ ring. We hope that these findings will motivate the need for first principle calculations to confirm the structure of this cluster.

For $Au_{18}(SG)_{14}$ and $Au_{20}(SG)_{16}$, structures with a core of 8 gold atoms surrounding by 4 and 8 staples respectively have been proposed [43,44]. For these structures, each ligand withdraws one electron and the count with a net charge of zero leads to 4 electrons in the core. The net charge for the three largest clusters that we have explored here is −1. For these three clusters, the gold core is sufficiently large to accommodate one excess electron. $Au_{22}(SG)_{17}$ and $Au_{23}(SG)_{17}$ have a 6 and 7 electrons core. Finally, the $n = -1$ net charge on $Au_{25}(SG)_{18}$ leads to the magic number of 8 electrons. These results show that, excepted $Au_{23}(SG)_{17}$, all the complexes that have been observed contain an even number of electrons in the core, which reflect the higher stability of metal clusters with an even number of electrons in the metal core as compared with systems with an odd number [28]. $Au_{15}(SG)_{13}$ and $Au_{25}(SG)_{18}$ correspond to magic sizes in the superatom model. Sizes with shells partially filled are also observed which, as discussed in the introduction, may imply a nonspherical core geometry. Optical properties for different systems that are observed here were reported by Tsukuda and coworkers [45]. A redshift in the absorption spectrum is globally observed as the size of the cluster and the number of electrons in the metal core increase. The first band in the absorption spectra shifts from ∼3.5 eV to ∼3 eV from $Au_{10}(SG)_{10}$ (core of 0 electron) to $Au_{15}(SG)_{13}$ (2 electrons). The spectra for $Au_{18}(SG)_{14}$ and $Au_{22}(SG)_{16}$ which contains respectively 4 and 6 electrons in the core are very similar with an onset in absorption at ∼2.2 eV. Finally, when the core reaches 8 electrons the first absorption band is observed at around 1.75 eV.

4. Conclusion

In conclusion our results support cyclic structures for small stoechiometric $Au_N(SG)_N$ clusters. $Au_{15}(SG)_{13}$, is the first size for which electron count and fragmentation spectra suggest the formation of a gold core. We propose a trimeric gold core surrounded by tetrameric motifs structure. For larger sizes, the isotope distribution allowed to determine the number of electron in the core as well as the charge of the cluster. Clusters with sizes superior to $Au_{22}(SG)_{17}$ are negatively charged showing that, in this case, the gold core is sufficiently large to accommodate an excess electron in agreement with the increase in electron affinity of gold cluster as their size increases [46,47].

Acknowledgment

RH thanks Région Rhône-Alpes (programme CIBLE) for financial support.

References

[1] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M.A. El-Sayed, Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes, Chemical Reviews 105 (2005) 1025–1102.
[2] M.C. Daniel, D. Astruc, Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology, Chemical Reviews 104 (2004) 293–346.
[3] C.J. Murphy, A.M. Gole, S.E. Hunyadi, C.J. Orendorff, One-dimensional colloidal gold and silver nanostructures, Inorganic Chemistry 45 (2006) 7544–7554.

[4] Y. Xia, P. Yang, Y. Sun, Y. Wu, B. Mayers, B. Gates, Y. Yin, F. Kim, H. Yan, One-dimensional nanostructures: synthesis, characterization, and applications, Advanced Materials 15 (2003) 353–389.
[5] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R. Whyman, Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid–liquid system, Chemical Communications (1994) 801–802.
[6] A.C. Templeton, W.P. Wuelfing, R.W. Murray, Monolayer-protected cluster molecules, Accounts of Chemical Research 33 (2000) 27–36.
[7] R.L. Whetten, M.N. Shafigullin, J.T. Khoury, T.G. Schaaff, I. Vezmar, M.M. Alvarez, A. Wilkinson, Crystal structures of molecular gold nanocrystal arrays, Accounts of Chemical Research 32 (1999) 397–406.
[8] J.F. Parker, C.A. Fields-Zinna, R.W. Murray, The story of a monodisperse gold nanoparticle: $Au_{25}L_{18}$, Accounts of Chemical Research 43 (2010) 1289–1296.
[9] T.G. Schaaff, G. Knight, M.N. Shafigullin, R.F. Borkman, R.L. Whetten, Isolation and selected properties of a 10.4 kDa gold: glutathione cluster compound, Journal of Physical Chemistry B 102 (1998) 10643–10646.
[10] R. Jin, Quantum sized, thiolate-protected gold nanoclusters, Nanoscale 2 (2010) 343–362.
[11] P.L. Xavier, K. Chaudhari, A. Baksi, T. Pradeep, Protein-protected luminescent noble metal quantum clusters: an emerging trend in atomic cluster nanoscience, Nano Reviews 3 (2012) 14767.
[12] B.M. Barngrover, C.M. Aikens, Electron and hydride addition to gold(I) thiolate oligomers: implications for gold–thiolate nanoparticle growth mechanisms, The Journal of Physical Chemistry Letters 2 (2011) 990–994.
[13] H. Grönbeck, M. Walter, H. Häkkinen, Theoretical characterization of cyclic thiolated gold clusters, Journal of the American Chemical Society 128 (2006) 10268–10275.
[14] H.E. Howard-Lock, Structures of gold(I) and silver(I) thiolate complexes of medicinal interest: a review and recent results, Metal-Based Drugs 6 (1999) 201–209.
[15] D.J. LeBlanc, R.W. Smith, Z. Wang, H.E. Howard-Lock, C.J.L. Lock, Thiomalate complexes of gold(I): preparation,characterization and crystal structures of 1:2 gold to thiomalate complexes, Dalton Transactions (1997) 3263–3267.
[16] M.R. Wiseman, P.A. Marsh, P.T. Bishop, B.J. Brisdon, M.F. Mahon, Homoleptic gold thiolate catenanes, Journal of the American Chemical Society 122 (2000) 12598–12599.
[17] R. Bau, Crystal structure of the antiarthritic drug gold thiomalate (myochrysine): a double-helical geometry in the solid state, Journal of the American Chemical Society 120 (1998) 9380–9381.
[18] M.W. Heaven, A. Dass, P.S. White, K.M. Holt, R.W. Murray, Crystal structure of the gold nanoparticle $[N(C_8H_{17})_4][Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)_{18}]$, Journal of the American Chemical Society 130 (2008) 3754–3755.
[19] P.D. Jadzinsky, G. Calero, C.G. Ackerson, D.A. Bushnell, R.D. Kornberg, Structure of a thiol monolayer-protected gold nanoparticle at 1.1 Å resolution, Science 318 (2007) 430–433.
[20] M. Zhu, C.M. Aikens, F.J. Hollander, G.C. Schatz, R. Jin, Correlating the crystal structure of a thiol-protected Au_{25} cluster and optical properties, Journal of the American Chemical Society 130 (2008) 5883–5885.
[21] M. Zhu, W.T. Eckenhoff, T. Pintauer, R. Jin, Conversion of anionic $[Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)18]^-$ cluster to charge neutral cluster via air oxidation, The Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 14221–14224.
[22] J. Zheng, P.R. Nicovich, R.M. Dickson, Highly fluorescent noble-metal quantum dots, Annual Review of Physical Chemistry 58 (2007) 409–431.
[23] R. Hamouda, B. Bellina, F. Bertorelle, I. Compagnon, R. Antoine, M. Broyer, D. Rayane, P. Dugourd, Electron emission of gas-phase $[Au_{25}(SG)_{18}—6H]^{7-}$ gold cluster and its action spectroscopy, The Journal of Physical Chemistry Letters 1 (2010) 3189–3194.
[24] Z. Wu, C. Gayathri, R.R. Gil, R. Jin, Probing the structure and charge state of glutathione-capped $Au_{25}(SG)_{18}$ clusters by NMR and mass spectrometry, Journal of the American Chemical Society 131 (2009) 6535–6542.
[25] H. Häkkinen, M. Walter, H. Grönbeck, Divide and protect: capping gold nanoclusters with molecular gold–thiolate rings, Journal of Physical Chemistry B 110 (2006) 9927–9931.
[26] S.N. Khanna, P. Jena, Assembling crystals from clusters, Physical Review Letters 69 (1992) 1664–1667.
[27] M. Walter, J. Akola, O. Lopez-Acevedo, P.D. Jadzinsky, G. Calero, C.J. Ackerson, R.L. Whetten, H. Grönbeck, H. Häkkinen, A unified view of ligand-protected gold clusters as superatom complexes, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105 (2008) 9157–9162.
[28] W.A. de Heer, The physics of simple metal clusters: experimental aspects and simple models, Reviews of Modern Physics 65 (1993) 611–676.
[29] Y. Negishi, N.K. Chaki, Y. Shichibu, R.L. Whetten, T. Tsukuda, Origin of magic stability of thiolated gold clusters: a case study on $Au_{25}(SC_6H_{13})_{18}$, Journal of the American Chemical Society 129 (2007) 11322–11323.
[30] J.F. Parker, J.-P. Choi, W. Wang, R.W. Murray, Electron self-exchange dynamics of the nanoparticle couple $[Au_{25}(SC_2Ph)_{18}]0/1$-by nuclear magnetic resonance line-broadening, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 13976–13981.
[31] M. Zhu, C.M. Aikens, M.P. Hendrich, R. Gupta, H. Qian, G.C. Schatz, R. Jin, Reversible switching of magnetism in thiolate-protected Au_{25} superatoms, Journal of the American Chemical Society 131 (2009) 2490–2492.
[32] D.-E. Jiang, W. Chen, R.L. Whetten, Z. Chen, What protects the core when the thiolated Au cluster is extremely small? Journal of Physical Chemistry C 113 (2009) 16983–16987.
[33] D.-E. Jiang, R.L. Whetten, W. Luo, S. Dai, The smallest thiolated gold superatom complexes, Journal of Physical Chemistry C 113 (2009) 17291–17295.
[34] K.M. Harkness, D.E. Cliffel, J.A. McLean., Characterization of thiolate-protected gold nanoparticles by mass spectrometry, Analyst 135 (2010) 868–874.
[35] J.B. Tracy, M.C. Crowe, J.F. Parker, O. Hampe, C.A. Fields-Zinna, A. Dass, R.W. Murray, Electrospray ionization mass spectrometry of uniform and mixed monolayer nanoparticles: $Au_{25}[S(CH_2)_2Ph]_{18}$ and $Au_{25}[S(CH_2)_2Ph]_{18} - x(SR)_x$, Journal of the American Chemical Society 129 (2007) 16209–16215.
[36] V. Bonacic-Koutecky, A. Kulesza, L. Gell, R. Mitric, R. Antoine, F. Bertorelle, R. Hamouda, D. Rayane, M. Broyer, T. Tabarin, P. Dugourd, Silver cluster–biomolecule hybrids: from basics towards sensors, Physical Chemistry Chemical Physics 14 (2012) 9282–9290.
[37] Y. Negishi, k. Nobusada, T. Tsukuda, Glutathione-protected gold clusters revisited: bridging the gap between gold(I)-thiolate complexes and thiolate-protected gold nanocrystals, Journal of the American Chemical Society 127 (2005) 5261–5270.
[38] Y. Negishi, Y. Takasugi, S. Sato, H. Yao, K. Kimura, T. Tsukuda, Magic-numbered Aun clusters protected by glutathione monolayers (n = 18, 21, 25, 28, 32, 39): isolation and spectroscopic characterization, Journal of the American Chemical Society 126 (2004) 6518–6519.
[39] E.S. Shibu, M.A. Habeeb Muhammed, T. Tsukuda, T. Pradeep, Ligand exchange of $Au_{25}SG_{18}$ leading to functionalized gold clusters: spectroscopy, kinetics, and luminescence, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 12168–12176.
[40] L.A. Angel, L.T. Majors, A.C. Dharmaratne, A. Dass, Ion mobility mass spectrometry of $Au_{25}(SCH_2CH_2Ph)_{18}$ nanoclusters, ACS Nano 4 (2010) 4691–4700.
[41] Y. Zhang, S. Shuang, C. Dong, C.K. Lo, M.C. Paau, M.M.F. Choi, Application of HPLC and MALDI-TOF MS for studying as-synthesized ligand-protected gold nanoclusters products, Analytical Chemistry 81 (2009) 1676–1685.
[42] A. Tlahuice, I.L. Garzon, Structural, electronic, optical, and chiroptical properties of small thiolated gold clusters: the case of Au_6 and Au_8 cores protected with dimer $[Au_2(SR)_3]$ and trimer $[Au_3(SR)_4]$ motifs, Physical Chemistry Chemical Physics 14 (2012) 7321–7329.
[43] Y. Pei, Y. Gao, N. Shao, X.C. Zeng, Thiolate-protected $Au_{20}(SR)_{16}$ cluster: prolate Au_8 core with new $[Au_3(SR)_4]$ staple motif, Journal of the American Chemical Society 131 (2009) 13619–13621.
[44] A. Tlahuice, I.L. Garzón, On the structure of the $Au_{18}(SR)_{14}$ cluster, Physical Chemistry Chemical Physics 14 (2012) 3737–3740.
[45] Y. Shichibu, Y. Negishi, H. Tsunoyama, M. Kanehara, T. Teranishi, T. Tsukuda, Extremely high stability of glutathionate-protected Au_{25} clusters against core etching, Small 3 (2007) 835–839.
[46] K.J. Taylor, C.L. Pettiette-Hall, O. Cheshnovsky, R. Smalley, Ultraviolet photoelectron spectra of coinage metal clusters, Journal of Chemical Physics 96 (1992) 3319–3330.
[47] H. Häkkinen, B. Yoon, U. Landman, X. Li, H.-J. Zhai, L.-S. Wang, On the electronic and atomic structures of small AuN— (N = 4–14) clusters: a photoelectron spectroscopy and density-functional study, Journal of Physical Chemistry A 107 (2003) 6168–6175.

Article 3: Silver cluster-biomolecule hybrids: from basics towards sensors

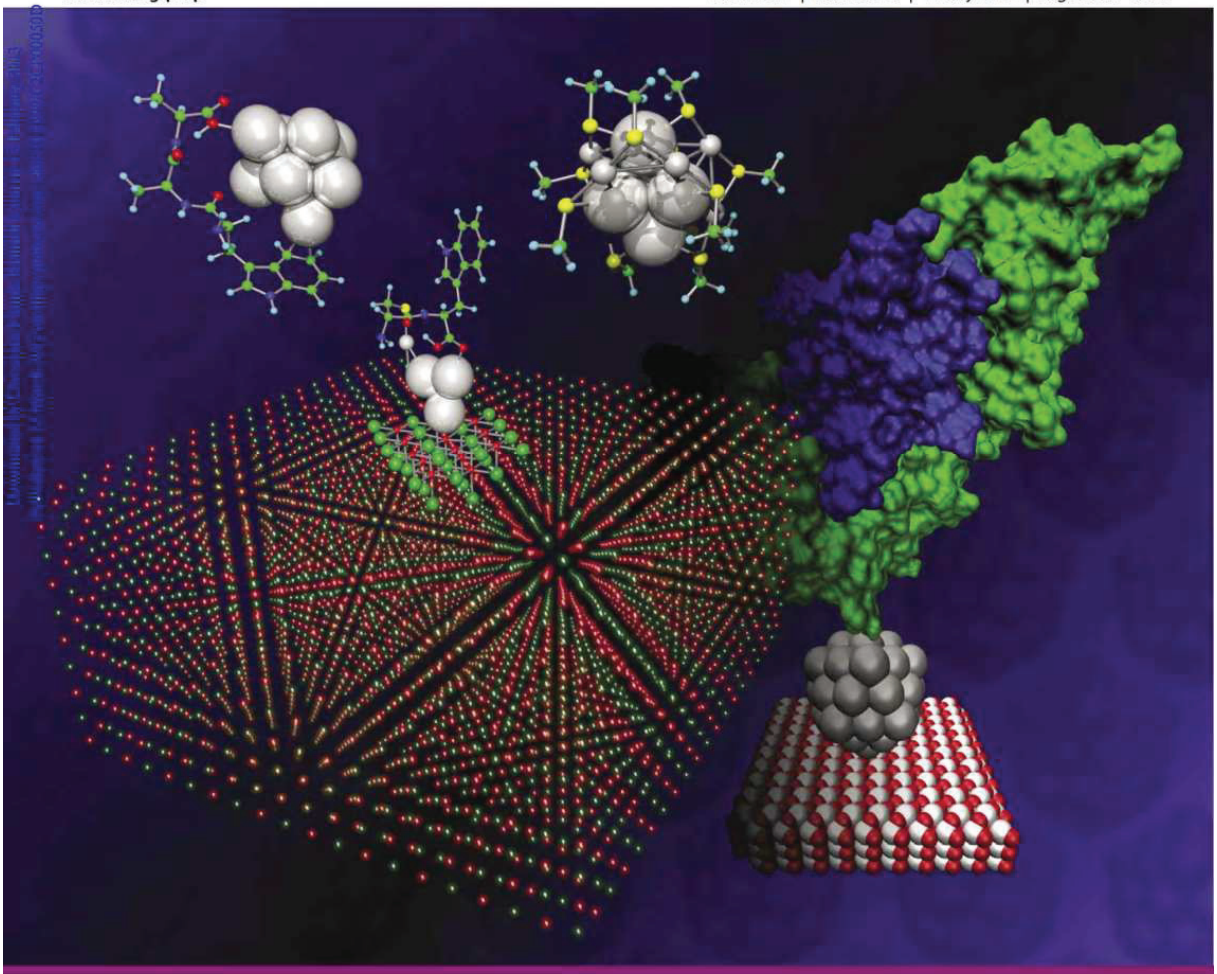
View Article Online / Journal Homepage / Table of Contents for this issue

PCCP

Physical Chemistry Chemical Physics

www.rsc.org/pccp

Volume 14 | Number 26 | 14 July 2012 | Pages 9237–9522



Includes a collection of articles on the theme of structure and reactivity of small particles

ISSN 1463-9076

COVER ARTICLE
Bonačić-Koutecký *et al.*
Silver cluster–biomolecule hybrids: from basics towards sensors

PCCP

Dynamic Article Links
View Article Online

Cite this: *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 9282–9290

www.rsc.org/pccp

PERSPECTIVE

Silver cluster–biomolecule hybrids: from basics towards sensors

Vlasta Bonačić-Koutecký,*[ab] Alexander Kulesza,[c] Lars Gell,[a] Roland Mitrić,[c] Rodolphe Antoine,[de] Franck Bertorelle,[de] Ramzi Hamouda,[de] Driss Rayane,[de] Michel Broyer,[de] Thibault Tabarin[de] and Philippe Dugourd[de]

Received 7th January 2012, Accepted 17th February 2012
DOI: 10.1039/c2cp00050d

Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D
Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013

We focus on the functional role of small silver clusters in model hybrid systems involving peptides in the context of a new generation of nanostructured materials for biosensing. The optical properties of hybrids in the gas phase and at support will be addressed with the aim to bridge fundamental and application aspects. We show that extension and enhancement of absorption of peptides can be achieved by small silver clusters due to the interaction of intense intracluster excitations with the π–π^* excitations of chromophoric aminoacids. Moreover, we demonstrate that the binding of a peptide to a supported silver cluster can be detected by the optical fingerprint. This illustrates that supported silver clusters can serve as building blocks for biosensing materials. Moreover, the clusters can be used simultaneously to immobilize biomolecules and to increase the sensitivity of detection, thus replacing the standard use of organic dyes and providing label-free detection. Complementary to that, we show that protected silver clusters containing a cluster core and a shell liganded by thiolates exhibit absorption properties with intense transitions in the visible regime which are also suitable for biosensing applications.

[a] *Department of Chemistry, Humboldt-Universität zu Berlin, Brook-Taylor-Str. 2, 12489 Berlin, Germany. E-mail: vbk@chemie.hu-berlin.de; Fax: +49 (0)30 2093-5573; Tel: +49 (0)30 2093-5579*
[b] *Interdisciplinary Center for Advanced Sciences and Technology (ICAST), University of Split, Meštrovićevo šetalište 45, HR-2100 Split, Republic of Croatia*
[c] *Department of Physics, Free University Berlin, Arnimallee 14, 14195 Berlin, Germany. E-mail: mitric@zedat.fu-berlin.de*
[d] *Université de Lyon, F-69622, Lyon, France*
[e] *Université Lyon 1, Villeurbanne, CNRS, UMR5579, LASIM, France. E-mail: dugourd@lasim.univ-lyon1.fr*

1 Introduction

Unique electronic and optical properties of metallic nanoparticles combined with the functionality of biomolecules led to the development of novel hybrid materials which became an important part of nanobiotechnology.[1–4] The metallic nanoparticles are responsible for significant enhancement of photoabsorption and emission of chromophores.[5,6] Since fluorescence labelling is a widely used technology in biosensing,[7–9] the role of



Vlasta Bonačić-Koutecký

Vlasta Bonačić-Koutecký is professor of physical and theoretical chemistry at the Humboldt Universität zu Berlin and director and founder of the Interdisciplinary center for advanced science and technology (ICAST) at the University of Split (Croatia). She studied physics at the University of Zagreb, received PhD in theoretical chemistry at the Johns Hopkins University (USA) and habilitation at the Freie Universität Berlin (Germany). Her research fields presently include theoretical photochemistry and its control by laser fields, metal clusters and their hybrids with biomolecules, simulation of time-resolved phenomena and development of cluster-based optical, biosensing and catalytic materials. She has published over 250 papers.



Roland Mitrić

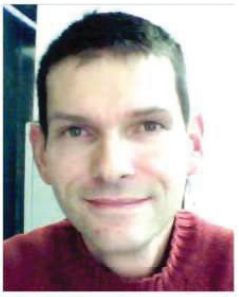
Roland Mitrić has obtained PhD in theoretical chemistry from the Humboldt-Universität zu Berlin in 2003. Since 2009 he is an Emmy-Noether fellow at the Physics Department of the Freie Universität Berlin leading a junior research group. His research field includes the development and application of methods for the simulation and control of ultrafast dynamics in complex systems and cluster chemistry and physics. He is author of more than 90 publications.

This journal is © the Owner Societies 2012

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

metal particles gained significant importance due to their enhancement of fluorescence in hybrids. Usually, extrinsic organic fluorophores that can specifically label biomolecules have been used for detection.[10,11] Therefore, the idea of label-free detection by metallic nanoparticles that can replace such labeling compounds and increase the sensitivity of detection[12,13] became very attractive in the context of numerous applications.[14] The most widely used label-free detection technique is based on surface plasmon resonance (SPR) using thin metal films of gold[15] and silver.[16] However, optical detection and sensitivity is strongly dependent on the size and shape of nanoparticles[17,18] as well as on their intrinsic metallic properties. The strong localized enhancement of optical absorption and emission[19] as well as biocompatibility[20–22] are important factors that have to be fulfilled. In this context, small noble metal clusters in the nonscalable size regime with discrete electronic states exhibiting unique structure-dependent strong absorption and emission in the visible and UV range[23–26] are good candidates for replacing organic dyes such as chromophores. In fact, small silver clusters forming hybrids with peptides substantially extend and enhance optical absorption of pure peptides as shown in theoretical and experimental studies in the gas phase.[27–32] Moreover, due to the large s–d energy gap in silver, the localization of enhanced absorption in hybrid systems is significant due to s-electron excitations within the silver subunit. In contrast, in the case of gold clusters, the relativistic effects responsible for the small s–d gap permit excitations of d electrons. This leads to optical transitions of similar intensities spread over a large energy interval.[32] Therefore, in the context of localization of strong absorption in a narrow wavelength regime, silver clusters have preferable optical properties. Also a number of successful applications of silver clusters in cell imaging[20–22] and single molecule spectroscopy[33–35] have been reported. Concerning the investigation of metallic biomolecule hybrid systems in the condensed phase, the systems involving gold clusters have been considerably more extensively studied than those with silver clusters. The gold clusters have been successfully used to immobilize proteins at surfaces allowing to build ordered arrays[4] that were used in the production of biochips, in which only standard organic dyes have been employed for detection.[36] Also liganded gold clusters have been produced more than a decade ago and further intensively experimentally and theoretically investigated.[37–52] Their fluorescence properties with different ligands were also reported.[53] In contrast, the successful preparation of liganded silver clusters has been achieved only recently[54–57] and their fluorescence properties with different ligands were investigated.[58,59]

In this perspective feature contribution we focus on the role of silver clusters in hybrid systems following the concept from basics towards sensors. First, the gas-phase investigation of structural and optical properties of silver cluster–peptide hybrid systems will be addressed. It provides fundamental insight into the binding between metal clusters and peptides and into the mechanism of coupling of electronic excitations in hybrid systems. The joint theoretical and experimental work in the gas phase serves as an important prerequisite for proposing



Rodolphe Antoine

Rodolphe Antoine is a senior scientist at the French National Center for Scientific Research (CNRS) and the University of Lyon I. He graduated in atomic and molecular physics and received the PhD in molecular physics at the University of Lyon I. His current interests focus on complex systems in the gas phase. He pioneered molecular beam deflection experiments to measure electric dipoles of biomolecules, laser-induced dissociation of trapped molecules and electron photodetachment dissociation for structural characterization of proteins. Presently, he is developing innovative couplings between mass spectrometry and laser spectroscopy for nanoobjects.



Michel Broyer

Michel Broyer studied Physics at Ecole Normale Supérieure de Paris and obtained a PhD at Laboratoire Kastler Brossel in Paris. In 1980, he became Professor in physics at University Lyon-1 where he developed research on molecular physics, metallic clusters, nanophysics and clusters/biomolecules complexes and spectroscopy of single nanoparticles. His awards include the Langevin prize of the French Academy of Sciences, the French German Gentner Kastler prize and the Humboldt Gay-Lussac Award. He has published about 300 papers. He is a senior member of the Institut Universitaire de France (IUF).



Philippe Dugourd

Philippe Dugourd is a senior scientist at the French National Center for Scientific Research (CNRS) and the University of Lyon. He graduated from the Ecole Normale Supérieure of Paris in Quantum Chemistry, and received PhD in molecular physics from the University of Lyon. His research is centred on determining the structure and dynamics of complex systems in the gas phase by using mass spectrometry, laser spectroscopy and ion mobility methods. His current interests focus on the conformation of proteins and on optical properties of metal–protein nanohybrids. He also develops new mass spectrometry methods and applications with the analytical chemistry department.

Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D
Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013

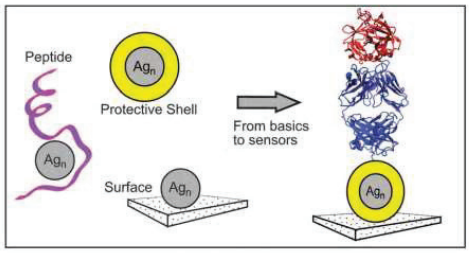


Fig. 1 Schematic representation of silver clusters interacting with different surroundings following the concept from basics (left) to sensors (right).

suitable building blocks for biomarkers. In order to proceed towards applications, the hybrid systems studied in the gas phase have to be stabilized or protected (*cf.* Fig. 1). This can be achieved by investigating the optical properties of hybrids at surfaces and of liganded clusters, respectively. In this context the silver–peptide hybrids at support can be considered as models towards the realization of label-free biosensing. For this purpose, the silver clusters should have double role, to immobilize biomolecules giving rise to ordered arrays and simultaneously to be used for detection due to their strong absorption and fluorescence. In addition, the silver clusters protected by thiolate ligands represent an alternative route for bioanalytical applications, since their easy surface functionalization and tuneable optical properties can be used for sensing in living cells. The small size of the clusters associated with an appropriate peptide sequence could greatly improve the penetration through the cell membrane.

Following the above outlined concept, we present first results on optical properties of silver cluster–peptide hybrid systems in the gas phase showing absorption enhancement of peptides by small silver clusters. Furthermore, we address optical properties of a silver cluster–dipeptide hybrid system at defect centers of MgO in order to illustrate that the comparison with the spectrum of the supported cluster allows us to identify the spectroscopic fingerprint of the peptide. Finally, the optical properties of a prototype for thiolate-liganded silver clusters that contain a silver cluster core with confined electrons will be presented. The choice of these model systems serves to outline and propose perspective features.

2 Computational and experimental

The structural and optical properties of the gas phase hybrid systems as well as of liganded clusters have been determined using density functional theory (DFT) and its time-dependent version (TDDFT).

For the silver atoms the 19-e$^-$ relativistic effective core potential (19-e$^-$ RECP) from the Stuttgart group[60] taking into account scalar relativistic effects has been employed. For all atoms triple zeta plus polarization atomic basis sets (TZVP) have been used.[60,61] Becke's three-parameter non-local exchange functional together with the Lee–Yang–Parr gradient-corrected correlation functional (B3LYP[62–65]) and its Coulomb-attenuated version (CAM-B3LYP[66]) have been employed to determine structural and optical properties of gas-phase hybrids and liganded clusters, respectively.

An extensive search for structures of the silver hybrid systems was performed using the simulated annealing method coupled to molecular dynamics simulations in the frame of the semiempirical AM1 method.[67] The found structures were then reoptimized in the frame of the DFT method using the functionals and AO basis sets as described above. The vibrational frequencies have been computed in order to find true minima on the potential energy surfaces.

The ionic MgO support was modelled by an embedded cluster approach in which a quantum mechanically (QM) described MgO cluster is embedded into a classical polarizable environment of point charges.[68] The QM part consists of a diamond-shaped $Mg_{13}O_{13}$ section of the MgO (100) surface. Mg^{2+} cations are introduced at the boundary of the QM model in order to avoid strong polarization by neighboring positive point charges, finally resulting in a $Mg_{13}O_{13}(Mg^{2+})_{16}$ QM subunit. Removing the central five-fold coordinated surface O atom leads to the creation of an F_S center defect (F_{5c}). The boundary Mg^{2+} cations have been described by effective core potentials from Hay and Wadt,[69] replacing the 1s, 2s and 2p electrons, while the valence 3s electrons are described by a single s-AO basis function contracted from two s-type primitive functions. For details describing the embedding of the QM subunit in an array of point charges as well as for determination of the structural properties of the supported clusters and supported hybrid systems compare ref. 70 in this issue and ref. 71. The optical properties for optimized structures of supported systems have been also calculated with the TDDFT method as those of free hybrid systems and liganded clusters.

Gas phase experiments were performed using a quadrupole ion trap mass spectrometer, coupled to an electrospray ion source and an UV-Vis optical parametric oscillator tunable laser.[72,73] The laser is injected at the center of the ion trap. The complexes were obtained from an electrolyte solution that was prepared by mixing a solution of silver salt and a peptide solution.[74] Electrospraying this solution leads to the formation of metal–peptide complexes. Specific complex (*i.e.* Trp-GlyAg_3^+) ions were then obtained by collisional activation of precursor complexes, isolated and irradiated in the quadrupole ion trap. The yield of fragmentation (Y) is given by $Y = \ln((parent + \sum frag)/parent)/F$, where F is the laser fluence, *parent* is the intensity of the precursor peak and $\sum frag$ represents the total intensity of the photofragment peaks.

Protected silver clusters were synthesized by reducing silver thiolates with $NaBH_4$ in the presence of excess glutathione (GSH) as reported by Bigioni and co-workers.[55] The raw product was separated using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Absorption spectra of different sizes of clusters were recorded using bands within the gel employing an Avantes spectrophotometer.

3 Results and discussion

The gas-phase approach on small prototypes is valuable since it allows the theoretical and experimental study of well defined systems without the influence of the environment. Exploration of optical properties of isolated silver cluster–peptide hybrid

 This journal is © the Owner Societies 2012

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

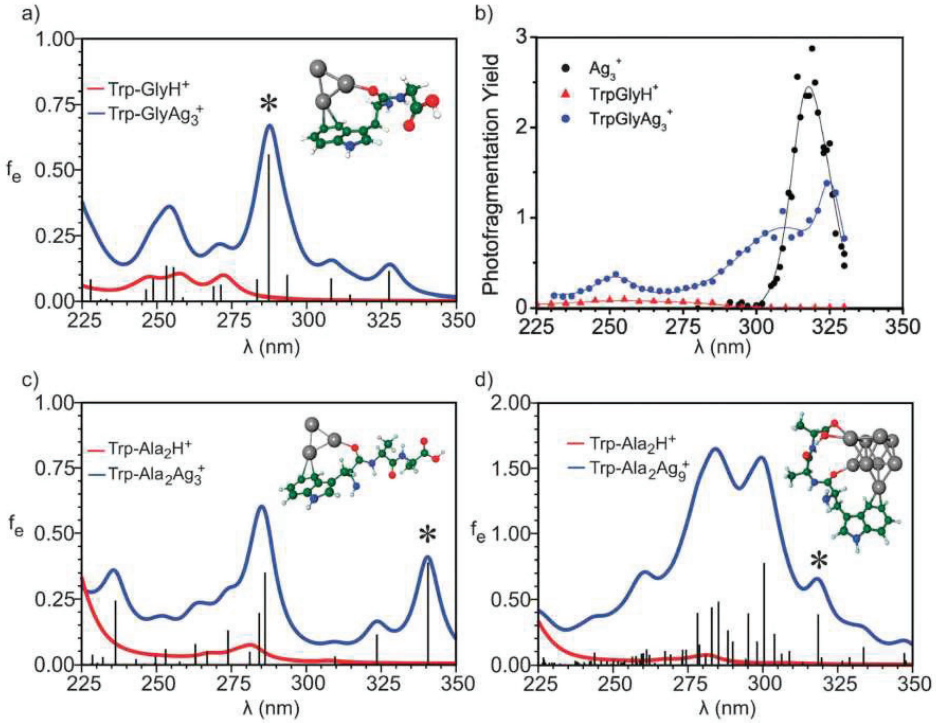


Fig. 2 Comparison of calculated absorption spectrum of the pure protonated dipeptide (Trp-GlyH$^+$) and tripeptide (Trp-Ala$_2$H$^+$) (red lines) with absorption spectra of hybrid systems with Ag_3^+ (a and c) and with Ag_9^+ (d) clusters (blue line). Broadening of the lines is simulated by the Lorentzian function with a half-width of 20 nm. The calculated oscillator strengths (f_e) for hybrid systems are drawn as black sticks. Analysis of transitions labeled by * is given in Fig. 3. (b) Experimental photofragmentation yields for protonated dipeptide (red triangles), bare Ag_3^+ (black dots) and Trp-GlyAg$_3^+$ hybrid (blue dots) as a function of wavelength. The solid lines serve to guide the eye.

systems at the molecular level was performed in order to rationalize the enhancement of absorption that is induced by metallic particles. For this purpose, we compare absorption spectra of pure peptides with those obtained for cluster–peptide hybrids as shown in Fig. 2. We consider cationic hybrids since the charged systems are experimentally accessible.[28–31] The chosen prototype examples contain Trp-Gly dipeptide and Trp-Ala$_2$ tripeptide with two cluster sizes Ag_3^+ and Ag_9^+. The purpose is to identify the structures and to show that enhancement of absorption is present for systems with both cluster sizes, independent of the peptide length. Moreover, Fig. 2b displays also experimental fragmentation yields of the Trp-GlyAg$_3^+$ hybrid system and two isolated subunits. This allows comparison with theoretical results of Fig. 2a and provides the proof of principle. Since the spectroscopic pattern is strongly dependent on the structural properties, the calculated lowest-energy structures are also shown for all three systems in Fig. 2. The presence of the metal cluster reduces significantly the conformational flexibility of the peptides. Structures are of "charge-solvated" nature in which positively charged silver clusters are bound to free electron pairs of oxygen atoms and to the π-system of the indole ring, thus allowing the interaction of excitations within the cluster and within the indole ring. The absorption spectrum calculated for the lowest-energy isomer of Trp-GlyAg$_3^+$ shown in Fig. 2a exhibits two pronounced bands centered around 250 and 290 nm. The intense band at 290 nm is due to a series of electronic transitions resulting from the coupling of S → $P_{x,y}$ cluster-type of excitations within the Ag_3^+ subunit with charge transfer excitations between Ag_3^+ and indole subunits. The electron density difference between the electronic ground and excited state at 288 nm presented in Fig. 3a shows that the major charge redistribution after excitation takes place within Ag_3^+. The considerably less intense band centered at 250 nm is due to the coupling of the S → P_z excitation of Ag_3^+ (which is located around 215 nm in pure Ag_3^+) with the charge transfer excitation involving the indole subunit and the peptide bond. In summary, the strong optical absorption of the hybrid system, which originates mainly from the contribution of the Ag_3^+ cluster, thus, significantly extends and enhances the absorption of the peptide from the range of 250 nm into the near UV regime. Complementary to the theoretical investigation Fig. 2b displays experimental fragmentation yields of the protonated dipeptide (Trp-GlyH$^+$), the free Ag_3^+ cluster and

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

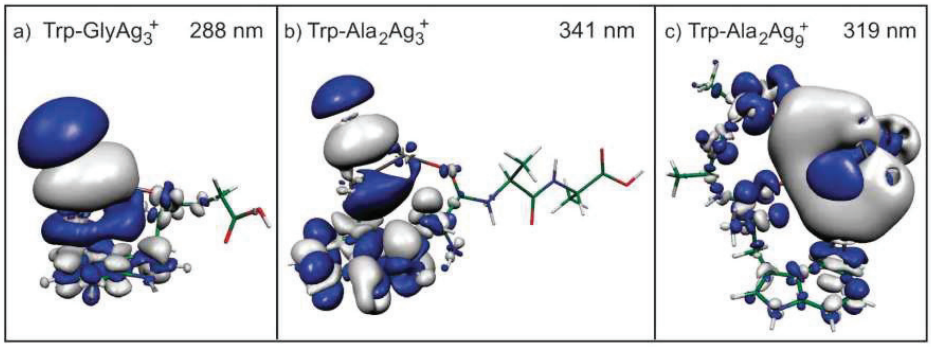


Fig. 3 Electron density difference between the electronically excited state and ground state (a) for $TrpGlyAg_3^+$ at 288 nm (b) for $Trp\text{-}Ala_2Ag_3^+$ at 341 nm and (c) for $Trp\text{-}Ala_2Ag_9^+$ at 319 nm corresponding to the transitions labeled by * in Fig. 2.

the spectrum of the hybrid system $Trp\text{-}GlyAg_3^+$. The protonated Trp-Gly dipeptide exhibits one absorption band centered around 255 nm which is characteristic for Trp-containing peptides and is due to excitation of the π-electrons within the indole ring. No fragmentation is observed above 295 nm. For the silver trimer cation one intense transition around 320 nm is observed, which is due to the degenerate $S \rightarrow P_{x,y}$ transition of Ag_3^+.[29] The experimental photofragmentation spectrum for $Trp\text{-}GlyAg_3^+$ exhibits two fragmentation bands between 225 and 330 nm. The less intense band around 255 nm is also present in the experimental spectrum of the protonated dipeptide, although with weaker intensity. The second band arises around 275 nm and continuously extends up to 325 nm. The intensity at the maximum of this band is lower than the recorded one for isolated Ag_3^+, but the photofragmentation is spread over a larger range of wavelengths. The agreement between theoretical and experimental results shown in Fig. 2a and b is of qualitative nature, due to the fact that experiments were carried out at $T = 300$ K and the presented theoretical results correspond to $T = 0$ K. If temperature-broadening is taken into account, the agreement is more quantitative as shown previously.[29] The above presented theoretical and experimental results show that the smallest silver clusters such as Ag_3^+ can serve as optical absorbing labels.

In order to illustrate that the concept is more general, we present the stable structures and corresponding calculated absorption spectra for $Trp\text{-}Ala_2Ag_3^+$ and for $Trp\text{-}Ala_2Ag_9^+$ in Fig. 2c and d, investigating the influence of the peptide length and cluster size on optical properties of hybrids. The absorption spectra of both hybrid systems, compared with the ones calculated for free protonated tripeptide, exhibit strong absorption enhancement and extension in the UV regime due to the presence of the clusters. Moreover, the intense transitions in the hybrid system with the Ag_9^+ cluster are one order of magnitude stronger than in the case of hybrids with Ag_3^+. The analysis of excitations responsible for intense transitions at 341 nm and 319 nm for Ag_3^+-tripeptide and Ag_9^+-tripeptide, given in Fig. 3b and c, respectively, shows that major charge redistribution after excitation takes place within the clusters. This is also the case for higher energy intense transitions below 275 nm. Therefore the conclusion can be drawn that gas-phase investigations of silver cluster–peptide hybrids strongly suggest that the role of clusters as local probes replacing commonly used organic dyes might be substantially advantageous, avoiding the chemical coupling of the peptides with the dyes and simultaneously increasing the sensitivity of the detection.

In order to proceed from basics towards sensors, we present structural and optical properties of one prototype example of a hybrid system at the support. We have chosen the neutral silver tetramer interacting with the dipeptide Cys-Trp supported at the F_S defect center of MgO. Our previous study of small noble metal clusters at the F_S defect center of the MgO support showed that the silver tetramer is a good candidate for an emissive center, because of long-living low-lying electronic excited states.[71] The cysteine-containing dipeptide has been chosen because proteins interact typically with metal particles *via* the sulfur atoms of the cysteine residue. Moreover, the defect center of MgO binds metal clusters and strongly stabilizes cluster–biomolecule hybrids. In the lowest energy structure of $Cys\text{-}TrpAg_4$ at the F_S center of MgO, one Ag atom is inserted into the sulfur–hydrogen bond of cysteine, the other one is bound to the carboxyl–oxygen atom of Trp and a third one is interacting with the F_S center of MgO, as shown in Fig. 4. The identification of an $Ag_4H\text{–}SCH_3$ subunit in the hybrid system implies that due to the electron withdrawing effect of the sulfur and oxygen atoms, two confined electrons in the Ag_3^+ subunit are present, Thus together with two electrons of the F_S center of MgO, systems with four confined electrons are formed. It is well known from our previous work that the dominant absorption transition for Ag_3^+ is located close to 300 nm and for the free Ag_4 cluster at 400 nm.[75] In Fig. 4a and b we compare the calculated absorption spectrum for the F_S center of MgO with the one obtained for $Cys\text{-}TrpAg_4$ at support. The dominant transition for the F_S center is located close to 350 nm. Consequently, the interaction between the hybrid system containing an Ag_3^+ subunit and the F_S center forming a system with four confined electrons should give rise to an absorption spectrum with a dominant transition close to 400 nm (in analogy to the spectrum of Ag_4). This is the case as shown in Fig. 4b. The analysis of the dominant transition at 397 nm confirms that excitations between the electrons from the F_S center and the Ag_3^+ subunit of the hybrid system occur,

 This journal is © the Owner Societies 2012

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

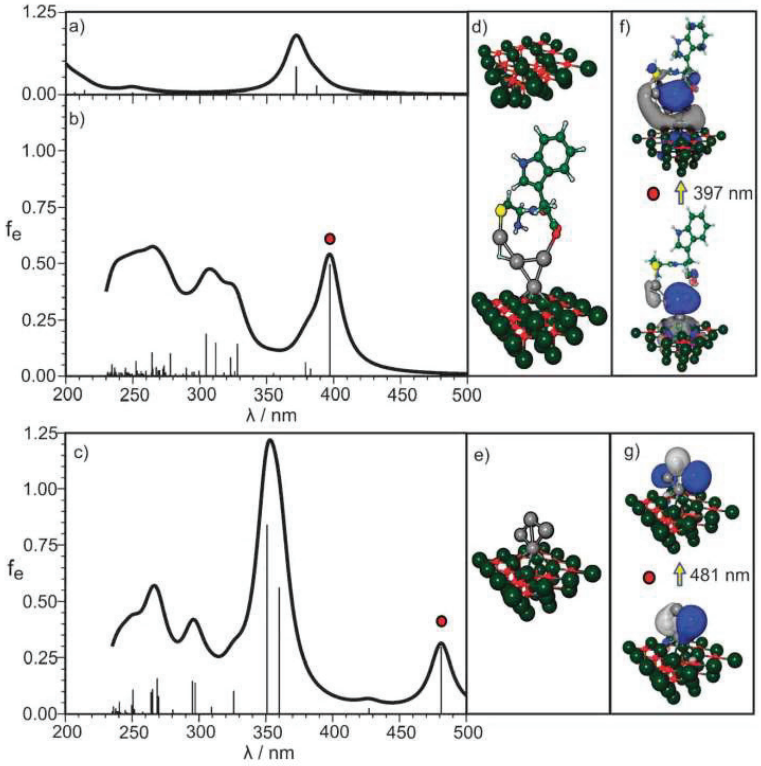


Fig. 4 Comparison between calculated spectra of (a) F_S defect center of MgO, (b) supported hybrid Cys-TrpAg$_4$ and (c) supported Ag$_4$ cluster. Broadening of the lines is simulated by the Lorentzian function with a half-width of 20 nm. The calculated oscillator strengths (f_e) are drawn as black sticks. (d) Structure of the F_S defect center of MgO and supported hybrid Cys-TrpAg$_4$ (only QM part is presented). (e) Structure of the supported Ag$_4$ cluster (only QM part is presented). Analysis of the marked transition in spectra of (f) supported hybrid and (g) supported cluster in terms of leading excitation between Kohn–Sham orbitals.

which confirms the qualitative considerations described above. In order to address the question how the supported silver cluster can be used to detect the binding of the dipeptide, we present in addition to the calculated spectrum of supported hybrid systems also the spectrum of the bare silver tetramer at support in Fig. 4c. The latter system is characterized by a low-lying transition at 480 nm and dominant transitions at 350 nm. This can be qualitatively considered as the fingerprint of systems with six confined electrons (four from the cluster and two from the F_S center of MgO). In fact, the leading features of the supported silver tetramer spectrum resemble the absorption of Ag_6.[23] The comparison of spectra of the supported hybrid with the one for the supported cluster (*cf.* Fig. 4b and c) shows explicitly that the appearance of the intense transition for the supported hybrid system at 400 nm is the signature of the presence of the Cys-Trp dipeptide. This means that the binding of peptides can be detected by the optical fingerprint, and thus supported silver clusters can serve as building blocks for biosensing materials.

Finally we wish to address the protection of clusters by ligands as another possibility for sensing applications. An example of silver clusters liganded by glutathione obtained following the Bigioni synthesis[55] is shown in Fig. 5a. The resolved bands in the inset of Fig. 5a correspond to different magic size clusters. The absorption spectrum of band 6 is also displayed in Fig. 5a. It exhibits a strong absorption peak at ~500 nm. The absorption for Ag : SG clusters around 500 nm can have a great advantage for biological applications. The phototoxicity induced by an UV blue laser can be significantly reduced by an excitation in the visible range. To rationalize the effect of thiolated liganded shells on structural and optical properties of silver clusters, we present theoretical results obtained for a prototype example in Fig. 5b and c containing S–CH_3 ligands (see ref. 76 in this issue). Since sulfur can be considered as an electron acceptor, each pair of Ag and S atoms formally consists of Ag^+ and S^-. Thus, by combining n silver atoms and x ligands the excess of Ag atoms determines the count of confined electrons, which is similar to the "superatom" model used successfully for thiolate protected gold clusters.[52] In the case of anionic species, which are experimentally accessible, one additional electron has to be

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

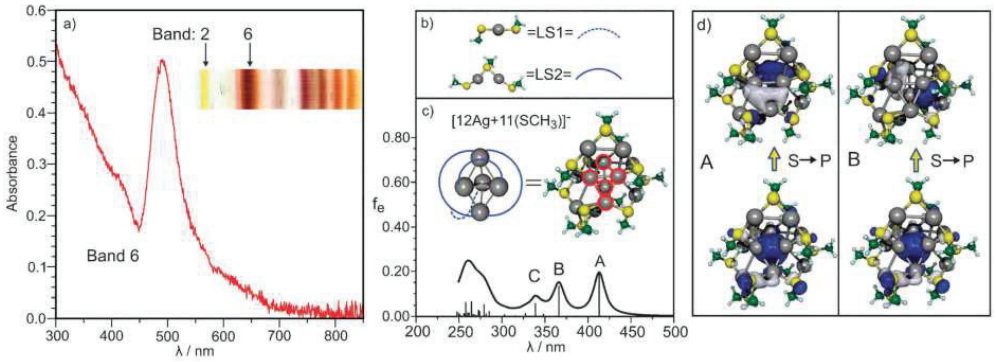


Fig. 5 (a) Optical absorption spectrum of the selected Ag:SG band (band 6 as labeled in ref. 55). This band contains mainly magic-size cluster with 31 silver atoms and 19 glutathione protected ligands. Inset: Bands from PAGE gel separation. (b) and (c) Structure and absorption spectrum of the $[12Ag + 11(SCH_3)]^-$ complex with an Ag_5 core protected by two types of ligands: LS1 and LS2. (d) Analysis of transitions labeled by A and B in terms of leading excitations between Kohn–Sham orbitals. S and P denote the nature of cluster-like orbitals of the Ag_5 core.

taken into account. Therefore anionic systems with n Ag atoms and $x = n - 1$ ligands contain two confined electrons. In the case of $n = 12$ and $x = 11$ the structure of the $[12Ag + 11(SCH_3)]^-$ complex contains an Ag_5 core which is protected by four ligands belonging to two different types. One ligand is of the type labeled by LS1 (CH_3S–Ag–SCH_3) and the other three ligands are of the type labeled by LS2 (CH_3S–Ag–SCH_3–Ag–SCH_3) as shown in Fig. 5b and c. Thus, the fully ligand-protected Ag_5 core containing two confined electrons plays an important role for determining the spectroscopic pattern as shown in Fig. 5c. The pattern is characterized by three intense transitions between 350 and 420 nm arising by excitations from the S-cluster-core orbital to the three components of P-cluster-core-orbitals labelled by A, B and C in Fig 5c. The analysis given in Fig 5d shows two components corresponding to A and B transitions. The first transition with considerable intensity is located close to 420 nm. Different ligands are likely to influence locations of the intense transitions which is important for sensing applications. Of course, the size and the structure of the core can also influence the details of the spectroscopic patterns. The question can be raised concerning the formation of liganded clusters for a given number of silver atoms and ligands. In this respect, we have chosen to present the $[12Ag + 11(SCH_3)]^-$ complex, which might be formed from $[nAg + (n + 1)(SCH_3)]^-$ systems by dissociation of two ligands according to preliminary energetic considerations.

Interestingly enough, for the chosen prototypes presented here, the absorption spectra of the supported silver–dipeptide hybrid as well as of the liganded silver cluster with an Ag_5 core exhibit intense transitions close to 400 nm which indicates convenient emissive properties in both cases. Thus, comparison with the optical properties of hybrid systems in the gas phase indicates strongly that the surrounding plays an important role, not only for stabilization or protection of the clusters, but also concerning the location of intense transitions. Therefore, the interplay between enhancement of absorption of biomolecules due to the metallic subunit and the surrounding is decisive for the design of systems with emissive properties suitable for sensing.

4 Conclusions and outlook

We have shown that the small silver clusters in the nonscalable size regime (<2 nm) can serve as optical probes for biomolecules. In contrast to quantum dots, low nuclearity silver clusters are highly attractive for applications due to their low toxicity and very small size, as recently reported on surfaces[77,78] and *in vivo*.[79] However, the synthesis, isolation and functionalization of size selected low nuclearity silver clusters are still a bottleneck. Since protected silver clusters are not as stable as analogous gold clusters, their identification by mass spectrometry, X-ray or nuclear magnetic resonance is still scarce. For example, it would be desirable to achieve X-ray determination of structures for ligand protected silver clusters in analogy to those obtained for gold.[80] In addition, the theoretical exploration of their structural and electronic properties as well as the mechanism for growth and stabilization are needed. Bioconjugation can provide extra functionality such as stability, biocompatibility and targeting. Moreover, fluorescent metallic nanoclusters could also be directly synthesized at the biological template[81–83] without further bioconjugation steps, thus opening a bright perspective for applications.

The basics gained from the gas phase studies serve to build up realistic model systems towards applications. There are two routes to proceed in the future. First, metallic clusters at support can be used to immobilize proteins in order to form ordered arrays and simultaneously provide enhanced fluorescent properties due to the coupling with the proteins. Thus, the ultimate goal is to realize label-free biosensing at the molecular level. This route leads towards the design of materials for biochips in which, for example, human serum can be poured over the biochip array and diagnostics with increased sensitivity can be achieved. The second route

 This journal is © the Owner Societies 2012

View Article Online

concerns ligand-protected clusters which might be used for sensing and diagnostic in living cells. Both routes might profit from unique optical properties of small silver clusters.

Author contributions

Vlasta Bonačić-Koutecký has initiated and supervised the theoretical investigation of cluster–biomolecule hybrids, supported hybrid systems as well as liganded silver clusters and wrote the paper. Alexander Kulesza has performed calculations on cluster biomolecule–hybrids and supported hybrid systems. Lars Gell has performed calculations on liganded clusters. Roland Mitrić has contributed to interpretation of the theoretical results. Rodolphe Antoine and Philippe Dugourd have initiated and supervised the experiments on cluster–biomolecule hybrids and liganded clusters. Franck Bertorelle has contributed to the preparation of the liganded clusters. Ramzi Hamouda, Driss Rayane and Thibault Tabarin have contributed to experiments on cluster–biomolecule hybrid systems as well as on liganded clusters. Michel Broyer has initiated experiments on cluster–biomolecule hybrids.

Acknowledgements

We acknowledge long term stimulating and fruitful cooperation with L. Wöste and his team. Financial support by the Deutsche Forschungsgemeinschaft priority program SPP 1153 "Clusters at Surfaces: Electron Structure and Magnetism" and by the Project "Laboratoire International Associé (LIA)" between France and Croatia is gratefully acknowledged. A.K. and R.M. acknowledge the financial support in the framework of the "Emmy-Noether-Programme" (ENP-MI-1236) of the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG).

References

1 E. Katz and I. Willner, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, **43**, 6042–6108.
2 M. E. Stewart, C. R. Anderton, L. B. Thompson, J. Maria, S. K. Gray, J. A. Rogers and R. G. Nuzzo, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 494–521.
3 R. Wilson, *Chem. Soc. Rev.*, 2008, **37**, 2028–2045.
4 R. E. Palmer and C. Leung, *Trends Biotechnol.*, 2007, **25**, 48–55.
5 J. R. Lakowicz, *Anal. Biochem.*, 2005, **337**, 171–194.
6 L. Zhao, L. Jensen and G. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 2911–2919.
7 C.-A. J. Lin, C.-H. Lee, J.-T. Hsieh, H.-H. Wang, J. K. Li, J.-L. Shen, W.-H. Chan, H.-I. Yeh and W. H. Chang, *J. Med. Biol. Eng.*, 2009, **29**, 276–283.
8 J. Yu, S. Choi, C. I. Richards, Y. Antoku and R. M. Dickson, *Photochem. Photobiol.*, 2008, **84**, 1435–1439.
9 L. Shang, S. Dong and G. U. Nienhaus, *Nano Today*, 2011, **6**, 401–418.
10 A. N. Kapanidis and S. Weiss, *J. Chem. Phys.*, 2002, **117**, 10953–10964.
11 R. Ando, H. Mizuno and A. Miyawaki, *Science*, 2004, **306**, 1370–1373.
12 J. R. Lakowicz, *Plasmonics*, 2006, **1**, 5–33.
13 E. G. Matveeva, T. Shtoyko, I. Gryczynski, I. Akopova and Z. Gryczynski, *Chem. Phys. Lett.*, 2008, **454**, 85–90.
14 N. Nath and A. Chilkoti, *J. Fluoresc.*, 2004, **14**, 377–389.
15 I. Gryczynski, J. Malicka, Z. Gryczynski and J. R. Lakowicz, *J. Phys. Chem. B*, 2004, **108**, 12568–12574.
16 J. R. Lakowicz, J. Malicka, I. Gryczynski and Z. Gryczynski, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, **307**, 435–439.
17 M. A. El-Sayed, *Acc. Chem. Res.*, 2001, **34**, 257–264.
18 K.-S. Lee and M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 19220–19225.
19 E. Cottancin, G. Celep, J. Lerme, M. Pellarin, J. R. Huntzinger, J. L. Vialle and M. Broyer, *Theor. Chem. Acc.*, 2006, **116**, 514–523.
20 J. Yu, S. A. Patel and R. M. Dickson, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, **46**, 2028–2030.
21 J. Yu, S. Choi and R. M. Dickson, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 318–320.
22 Y. Antoku, J.-i. Hotta, H. Mizuno, R. M. Dickson, J. Hofkens and T. Vosch, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2010, **9**, 716–721.
23 V. Bonačić-Koutecký, V. Veyret and R. Mitrić, *J. Chem. Phys.*, 2001, **115**, 10450–10460.
24 C. Sieber, J. Buttet, W. Harbich, C. Félix, R. Mitrić and V. Bonačić-Koutecký, *Phys. Rev. A*, 2004, **70**, 041201.
25 P. Radcliffe, A. Przystawik, T. Diederich, T. Döppner, J. Tiggesbäumker and K.-H. Meiwes-Broer, *Phys. Rev. Lett.*, 2004, **92**, 173403.
26 J. Zheng, P. R. Nicovich and R. M. Dickson, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2007, **58**, 409–431.
27 I. Compagnon, T. Tabarin, R. Antoine, M. Broyer, P. Dugourd, R. Mitrić, J. Petersen and V. Bonačić-Koutecký, *J. Chem. Phys.*, 2006, **125**, 164326.
28 R. Mitrić, J. Petersen, A. Kulesza, V. Bonačić-Koutecký, T. Tabarin, I. Compagnon, R. Antoine, M. Broyer and P. Dugourd, *J. Chem. Phys.*, 2007, **127**, 134301.
29 T. Tabarin, A. Kulesza, R. Antoine, R. Mitrić, M. Broyer, P. Dugourd and V. Vlasta Bonačić-Koutecký, *Phys. Rev. Lett.*, 2008, **101**, 213001.
30 A. Kulesza, R. Mitrić and V. Bonačić-Koutecký, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 3783–3788.
31 A. Kulesza, R. Mitrić, V. Bonačić-Koutecký, B. Bellina, I. Compagnon, M. Broyer, R. Antoine and P. Dugourd, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 878–881.
32 A. Kulesza, R. Mitrić and V. Bonačić-Koutecký, *Chem. Phys. Lett.*, 2011, **501**, 211–214.
33 K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Chem. Phys.*, 1999, **247**, 155–162.
34 T. Sannomiya and J. Vörös, *Trends Biotechnol.*, 2011, **29**, 343–351.
35 G. Rong, H. Wang and B. M. Reinhard, *Nano Lett.*, 2010, **10**, 230–238.
36 A. A. Fisher, J. C. Nelson and D. Ure, *Genet. Eng. Biotechnol. News*, 2008, **28**, 28–29.
37 T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, J. T. Khoury, I. Vezmar, R. L. Whetten, W. G. Cullen, P. N. First, C. Gutiérrez-Wing, J. Ascensio and M. J. Jose-Yacamán, *J. Phys. Chem. B*, 1997, **101**, 7885–7891.
38 T. G. Schaaff, G. Knight, M. N. Shafigullin, R. F. Borkman and R. L. Whetten, *J. Phys. Chem. B*, 1998, **102**, 10643–10646.
39 R. L. Donkers, D. Lee and R. W. Murray, *Langmuir*, 2004, **20**, 1945–1952.
40 I. Hussain, S. Graham, Z. Wang, B. Tan, D. C. Sherrington, S. P. Rannard, A. I. Cooper and M. Brust, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 16398–16399.
41 Y. Negishi, K. Nobusada and T. Tsukuda, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 5261–5270.
42 A. P. Gies, D. M. Hercules, A. E. Gerdon and D. E. Cliffel, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 1095–1104.
43 J. Kim, K. Lema, M. Ukaigwe and D. Lee, *Langmuir*, 2007, **23**, 7853–7858.
44 M. Zhu, E. Lanni, N. Garg, M. E. Bier and R. Jin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 1138–1139.
45 N. K. Chaki, Y. Negishi, H. Tsunoyama, Y. Shichibu and T. Tsukuda, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 8608–8610.
46 R. Jin, *Nanoscale*, 2010, **2**, 343–362.
47 J. Akola, M. Walter, R. L. Whetten, H. Häkkinen and H. Grönbeck, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 3756–3757.
48 H. Häkkinen, M. Walter and H. Grönbeck, *J. Phys. Chem. B*, 2006, **110**, 9927–9931.
49 C. M. Aikens, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2011, **2**, 99–104.
50 M. Zhu, C. M. Aikens, F. J. Hollander, G. C. Schatz and R. Jin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 5883–5885.
51 Y. Pei, Y. Gao, N. Shao and X. C. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 13619–13621.
52 M. Walter, J. Akola, O. Lopez-Acevedo, P. D. Jadzinsky, G. Calero, C. J. Ackerson, R. L. Whetten, H. Grönbeck and

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

View Article Online

H. Häkkinen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2008, **105**, 9157–9162.
53 Z. Wu and R. Jin, *Nano Lett.*, 2010, **10**, 2568–2573.
54 N. Nishida, H. Yao, T. Ueda, A. Sasaki and K. Kimura, *Chem. Mater.*, 2007, **19**, 2831–2841.
55 S. Kumar, M. D. Bolan and T. P. Bigioni, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 13141–13143.
56 Y. Cui, Y. Wang, R. Liu, Z. Sun, Y. Wei, Y. Zhao and X. Gao, *ACS Nano*, 2011, **5**, 8684–8689.
57 T. U. B. Rao, B. Nataraju and T. Pradeep, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 16304–16307.
58 I. Diez and R. H. A. Ras, *Nanoscale*, 2011, **3**, 1963–1970.
59 T. Udaya Bhaskara Rao and T. Pradeep, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 3925.
60 D. Andrae, U. Haeussermann, M. Dolg, H. Stoll and H. Preuss, *Theor. Chim. Acta*, 1990, **77**, 123.
61 S. Gilb, P. Weis, F. Furche, R. Ahlrichs and M. M. Kappes, *J. Chem. Phys.*, 2002, **116**, 4094–4101.
62 A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, 1993, **98**, 5648.
63 C. Lee, W. Yang and R. G. Parr, *Phys. Rev. B: Condens. Matter*, 1988, **37**, 785.
64 S. J. Vosko, L. Wilk and M. Nusair, *Can. J. Phys.*, 1980, **58**, 1200.
65 P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski and M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.*, 1994, **98**, 11623.
66 T. Yanai, D. P. Tew and N. C. Handy, *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **393**, 51–57.
67 M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy and J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 3902.
68 P. V. Sushko, A. L. Shluger and C. R. Catlow, *Surf. Sci.*, 2000, **450**, 153.
69 P. J. Hay and W. R. Wadt, *J. Chem. Phys.*, 1985, **82**, 284.
70 A. Kulesza, R. Mitrić and V. Bonačić-Koutecký, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, DOI: 10.1039/C2CP23500E, Advance Article.
71 C. Bürgel, R. Mitrić and V. Bonačić-Koutecký, *Phys. Status Solidi B*, 2010, **247**, 1099–1108.
72 F. O. Talbot, T. Tabarin, R. Antoine, M. Broyer and P. Dugourd, *J. Chem. Phys.*, 2005, **122**, 074310.
73 V. Larraillet, R. Antoine, P. Dugourd and J. Lemoine, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 8410–8416.
74 T. Tabarin, R. Antoine, M. Broyer and P. Dugourd, *Eur. Phys. J. D*, 2006, **37**, 237–239.
75 V. Bonačić-Koutecký, J. Pittner, M. Boiron and P. Fantucci, *J. Chem. Phys.*, 1999, **110**, 3876.
76 L.-S. Wang, C.-G. Ning, X.-G. Xiong, Y.-L. Wang and J. Li, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, DOI: 10.1039/C2CP23490D, Accepted Manuscript.
77 G. E. Johnson, C. Wang, T. Priest and J. Laskin, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 8069–8072.
78 G. E. Johnson, T. Priest and J. Laskin, *ACS Nano*, 2011, **6**(1), 573–582.
79 S. Choi, J. Yu, S. A. Patel, Y.-L. Tzeng and R. M. Dickson, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2011, **10**, 109–115.
80 P. D. Jadzinsky, G. Calero, C. J. Ackerson, D. A. Bushnell and R. D. Kornberg, *Science*, 2007, **318**, 430–433.
81 C. I. Richards, S. Choi, J.-C. Hsiang, Y. Antoku, T. Vosch, A. Bongiorno, Y.-L. Tzeng and R. M. Dickson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 5038–5039.
82 B. Han and E. Wang, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, **402**, 129–138.
83 J. Xie, Y. Zheng and J. Y. Ying, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 888–889.

Downloaded by Université Claude Bernard Lyon on 13 February 2013
Published on 13 March 2012 on http://pubs.rsc.org | doi:10.1039/C2CP00050D

 This journal is © the Owner Societies 2012

Article 4 : Synthesis, Characterization and Optical Properties of Low Nuclearity Liganded Silver Clusters : $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$

Nanoscale

Nanoscale

Dynamic Article Links ►

Cite this: DOI: 10.1039/c0xx00000x

www.rsc.org/xxxxxx

ARTICLE

Synthesis, Characterization and Optical Properties of Low Nuclearity Liganded Silver Clusters: $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$

Franck Bertorelle,[a] Ramzi Hamouda, [a] Driss Rayane,[a] Michel Broyer,[a] Rodolphe Antoine, [a,*] Philippe Dugourd,[a] Lars Gell,[b] Alexander Kulesza,[c] Roland Mitrić[c] and Vlasta Bonačić-Koutecký[b,d,*]

Received (in XXX, XXX) Xth XXXXXXXXX 20XX, Accepted Xth XXXXXXXXX 20XX
DOI: 10.1039/b000000x

We report a simple synthesis of silver:glutathione (Ag:SG) clusters using a cyclic reduction in oxidative condition. Two synthesis are described which lead to solutions containing well-defined $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters that have been characterized by mass spectrometry. The optical properties of silver:glutathione (Ag:SG) cluster solutions have been investigated experimentally. In particular, the solution containing $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters show a bright and photostable emission. For $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters, the comparison of experimental findings with DFT and TDDFT calculations allowed us to reveal the structural and electronic properties of such low nuclearity liganded silver clusters.

Introduction

Low nuclearity liganded metal nanoclusters (NCs) has gained particular attention because they bring new interesting properties due to the quantum confinement effect.[1, 2] Hence, they exhibit unique optical,[3-5] electronic,[6, 7] and structural properties.[8-11] The quest for the smallest liganded metal NCs has led in last years to a tremendous development with the aim to explore new routes of their synthesis. In particular it is now possible to produce small silver NCs with bright emission,[12] which is of considerable interest in sensoring applications.[13, 14]

Different routes have been proposed to synthesize silver clusters. The use of templates is one of the most extensively studied. DNA encapsulated silver clusters,[15-17] though highly polydispersed, present remarkable absorption and emission features throughout the visible region. Dendrimers[18] and proteins[19-22] are also promising templates for silver clusters formation. Ligands containing thiol groups are good candidates to stabilize metal NCs due to the strong interaction between sulfur and silver or gold atoms.[7, 23] Largely applied to gold,[24] chemical routes for stabilization of nanoclusters using thiolated ligands were recently extended to silver. Kitaev and co-workers[25, 26] pioneered this field using chiral thiols to prepare silver clusters by a single-stage procedure or by an etching procedure. More recently, Bigioni and coworkers[27] reported the synthesis of glutathione-stabilized magic-number silver cluster compounds and their characterization by mass spectrometry.[28] Mass spectrometry has played a pivotal role in the characterization of magic-numbered metal NCs.[29-31] In particular, high-quality ESI mass spectra of a prototype silver:glutathione (Ag:SG) cluster were obtained recently by Bigioni, and a first composition assignment for a ligand-protected Ag cluster by a formula ($Ag_{32}(SG)_{19}$), has been proposed.[28] It was also found that (Ag:SG) cluster are fragile relative to the well-characterized $Au_{25}(SG)_{18}$ clusters.

The routes mentioned above often imply delicate purification processes. Therefore, there is a need for developing simple synthetic approaches, to create well-defined clusters with narrow size distributions. Very recently, Lopez-Quintela and coworkers reported a single step synthesis of liganded Ag_5 and Ag_6 fluorescent clusters via an electrochemical method.[32, 33] In this paper, we report synthesis of silver:glutathione (Ag:SG) clusters using a cyclic reduction under oxidative conditions. Two synthesis are described and lead to solutions containing well-defined $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ that have been characterized by mass spectrometry. The optical properties of silver:glutathione (Ag:SG) cluster solutions have been investigated experimentally. In particular, the solution containing $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters shows a bright and photostable emission. For $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters, the comparison of experimental findings with DFT and TDDFT calculations allowed us to reveal the structural and electronic properties of such low nuclearity liganded silver clusters.

Materials and Methods

Materials.

All the chemicals were commercially available and were used without purification. Triethylamine, methanol (HPLC grade), acrylamide (98%), bis-acrylamide (98%), glycine, tris(hydroxymethylamine) and GSH (γ-Glu-Cys-Gly, MW 307) were purchased from Carl Roth. $AgNO_3$, CF_3COOAg, glacial

acetic acid, sodium borohydride ($NaBH_4$) and tetramethylammonium borohydride ($((CH_3)_4BH_4)$) were purchased from Sigma Aldrich. MilliQ water with a resistivity of 18.2 MΩcm was used for all experiments.

Synthesis and separation of low nuclearity liganded silver clusters

Synthesis A. This synthesis uses a cyclic reduction in oxidative condition.[26] To an ice cold solution of glutathione (200 mg GSH in 35 ml H_2O) we add drop by drop, 1 ml of $AgNO_3$ solution (55 mg/ml). A white precipitate appears that was dispersed by adding 800 µl of 1M NaOH solution (pH≈6). Then 36 mg of $NaBH_4$ in 1 ml of ice cold water was quickly added and the solution was left under agitation. After 1h30, 300 µl of hydrogen peroxide (33%) was added to the dark brown solution. Additional amount of silver nitrate (140 µl at 100mg/ml) and glutathione (50 mg) were added and then 500 µl of ice cold solution of $NaBH_4$ (20mg/ml). The reaction mixture was kept stirring for 1h30 before being concentrated to a volume of ≈5 ml in a rotary evaporator (T≈30°C). The clusters were precipitated by adding ≈15 ml of methanol and centrifuged 5 min at 11000 rpm. Supernatant was removed. Clusters are solubilised in 20 ml of water and 50 µl of glacial acid acetic is added (pH ≈4). The solution is left undisturbed 2 hours before being centrifuged 30 min at 13000 rpm. The very pale brown precipitate was removed and the supernatant was concentrated as before. AgSG cluster was precipitated with methanol and dry under vacuum.

Synthesis B. 90 mg of glutathione was dissolved in methanol (40ml) and triethylamine (1ml). Solution was cooled in an ice bath and 0.5 ml of silver trifluoroacetate solution was added (64mg/ml in methanol) under agitation. Solution was irradiated with commercial UV lamp (black light lamp type, maximum 365 nm, 25W) and 50mg of tetramethylammonium borohydride was quickly added. Note that by only using UV irradiation in the synthesis leads to a solution with the same optical properties as the one reported by Zhou et al.[34] After 1 hour the solution exhibits a strong red fluorescence. 20 mg of tetramethylammonium borohydride was then added and solution was agitated under UV light for one more hour. Clusters were concentrated to ≈5 ml in a rotary evaporator, precipitated by 20 ml of diethyl ether before being centrifuged 5 min (11000rpm). After being redissolved in water (≈1 ml) and 300µl of NaOH (1M) solution, 4 ml of methanol was added (note that 28% ammonium hydroxide can be used instead of NaOH to avoid the sodium adducts in mass spectrometry, but if used, 20 ml of methanol is needed and precipitation is slower). The precipitate was centrifuged again (10min/11000rpm).This cycle (dissolution/precipitation/centrifugation) was done 2 times. After the end, powder was dry under vacuum.

Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). PAGE separation was carried out by using a vertical gel electrophoresis unit with a size of 0.2 cm × 20 cm × 20 cm. The separating and stacking gels were prepared by acrylamide monomers with the total contents of 35 and 7 wt% (acrylamide/bis- (acrylamide) 94:6), respectively. The eluting buffer consisted of 192 mM glycine and 25 mM tris(hydroxymethylamine). The as-prepared Ag(SG) clusters were dissolved in a 15% (v/v) glycerol/water solution (6 mg in 100 µl). The samples solutions were loaded onto the stacking gel (10 µl per well) and eluted for 7 h at a constant voltage mode (200 V) to achieve sufficient separation

Mass spectrometry

Solutions were diluted without gel separation at a concentration of ~1 mg/mL in H_2O, electrosprayed at a flow rate of 10 µL/min and analyzed in negative mode with a linear quadruple ion trap mass spectrometer (LTQ, Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA) with a spray voltage of −3 kV and a capillary temperature of 100 °C. Other instrument settings were adjusted for each species to optimize the distribution of charge states observed in the mass spectrum. Isotope-resolved mass spectrum were recorded using the zoom scan mode of the instrument (mass resolution ~10 000, mass accuracy 0.2 Th).

Fluorescence measurements.

Steady-state and lifetime measurements. Fluorescence excitation and emission spectra were measured using a fluoromax-4 Horiba fluorescence spectrophotometer, in the resolved time mode. Luminescence decay curves were collected with the time-correlated single-photon counting (TCSPC) extension of fluoromax-4 using a nano-led source (370nm).

Quantum Yield Measurement. DCM in methanol (quantum yield 0.43)[35] was chosen as a standard. First of all, a series of different concentrations of DCM and silver nanoclusters were prepared. From the absorption spectrum, DCM and silver nanoclusters were found to have a shared region of linear absorption as a function of concentration from 380 nm to 540 nm. 440 nm was chosen as the excitation wavelength. The emission intensities of DCM and silver nanoclusters were integrated from 500 nm to 800 nm. Both the excitation and emission slit apertures were 5 mm. Linear relationships between the absorption and the integrated emission intensity were observed with slopes of 7.86 10^8 and 8.19 10^7, for DCM and silver nanoclusters respectively. The quantum yield of silver nanoclusters is obtained using :

$$\varphi = \varphi_r \frac{A_r}{I_r}\frac{I}{A} \qquad (1)$$

where φ is the quantum yield, I is the measured integrated emission intensity, A is the absorbance and the subscript "r" refers to the reference DCM.

Computational

The structural and optical properties of liganded clusters have been determined using density functional theory (DFT) and its time-dependent version (TDDFT).

This journal is © The Royal Society of Chemistry [year]

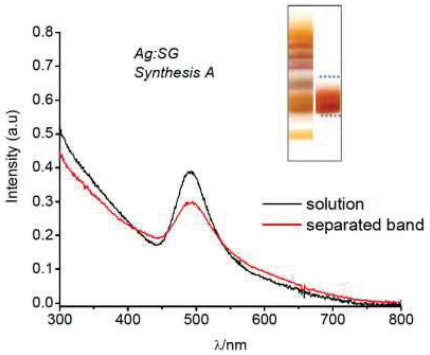


Figure 1 : Visible absorption spectra of silver nanoclusters. (black line) absorption spectrum of silver clusters from "synthesis A" in water solution. (red line) absorption spectrum of the band extracted after PAGE separation. Inset : PAGE for Ag:SG clusters using (left) Bigioni synthesis see ref. 27 and (right) our "synthesis A". The part extracted for optical spectra (red line in the figure) was the one between the two dotted lines.

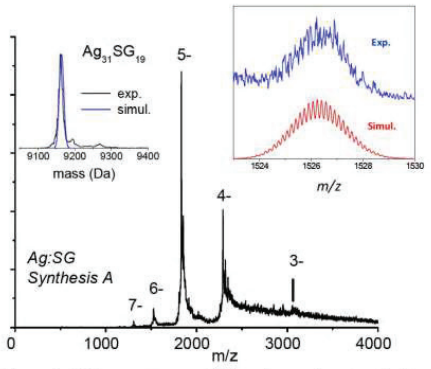


Figure 2 : ESI mass spectrum of silver clusters from "synthesis A". Inset right : Comparison of the experimental and simulated isotopic distributions for the 6− charge state of $Ag_{31}(SG)_{19}$. Inset left : Comparison of the experimental and simulated deconvoluted spectra of $Ag_{31}(SG)_{19}$.

For the silver atoms the 19-e− relativistic effective core potential (19-e− RECP) from the Stuttgart group[36] taking into account scalar relativistic effects has been employed. For all atoms triple zeta plus polarization atomic basis sets (TZVP) have been used.[36, 37] Becke's three-parameter non-local exchange functional together with the Lee–Yang–Parr gradient-corrected correlation functional (B3LYP)[38-41] and its Coulomb-attenuated version (CAM-B3LYP)[42] have been employed to determine structural and optical properties of gas-phase liganded clusters.

An extensive search for structures of the silver complexes has been performed using the simulated annealing method coupled to molecular dynamics simulations in the frame of the semiempirical AM1 method.[43] The found structures were then reoptimized in the frame of the DFT method using the functionals and AO basis sets as described above. The vibrational frequencies have been computed in order to find true minima on the potential energy surfaces.

Results and discussion

The nanoclusters produced by *"synthesis A"* and *"synthesis B"* were characterized by mass spectrometry and optical methods. As described in more details below, *"synthesis A"* contains mainly the magic-size nanocluster $Ag_{31}SG_{19}$, while "*synthesis B*" leads to smaller nanoclusters and in particular contains the size $Ag_{15}SG_{11}$. While nanoclusters produced by *"synthesis A"* are non-fluorescent, a strong fluorescence in the red is observed for nanoclusters produced by *"synthesis B"*.

$Ag_{31}(SG)_{19}$. Fig. 1 shows the UV-vis absorption spectra in solution of the synthesized silver clusters using *"synthesis A"*. An intense visible band centred at ~490 nm is observed. The present spectrum is very similar to the one reported by Bigioni et al on the as-called "band 6".[27] "*Synthesis A*" leads to a unique band closely located near the "band 6" observed in Bigioni synthesis (see inset in Fig. 1). The absorption spectrum after gel separation is also displayed in Fig. 1. Absorption spectra in solution and separated band after PAGE separation are very similar.

The size of the prepared silver clusters was estimated by ESI-mass spectrometry, which is an especially useful technique in the case of silver due to their unequivocally isotopic patterns. An ESI mass spectrum for the silver-glutathione cluster from solution of *"synthesis A"*, and acquired under gentle ESI conditions is shown in Figure 2. A charge state distribution was observed from $[M-3H^+]^{3-}$ through $[M-7H^+]^{7-}$. Deconvolution of charge states 3− through 7− provided a mass of 9161 Da for the intact Ag cluster, consistent with the calculated mass of $Ag_{31}(SG)_{19}$ (see inset left in Fig. 2). To verify this formula assignment, ESI spectra in zoom scan mode were recorded to obtain isotopic resolution. The measured mass distribution was compared with the simulated isotopic distributions for the 3− charge state of $Ag_{31}(SG)_{19}$. Although not completely resolved, the isotopic distributions were found to be in good agreement (see inset right in Figure 2), thus confirming the molecular formula assignment. In fact, silver NCs are fragile which prevented the possibility to increase the mass resolution of our instrument to the ultra-zoom scan mode. This size was already observed and reported by Bigioni and co-workers. However, in their synthesis, using gentle ESI conditions and solution conditions designed to stabilize the clusters, they observe mainly the $Ag_{32}(SG)_{19}$ ligand-protected Ag cluster. This discrepancy may be due to difference in the two synthesis, but also these clusters are extremely fragile and difference may be due to a silver atom evaporation from $Ag_{32}(SG)_{19}$ in the ionic train of our MS instrument.

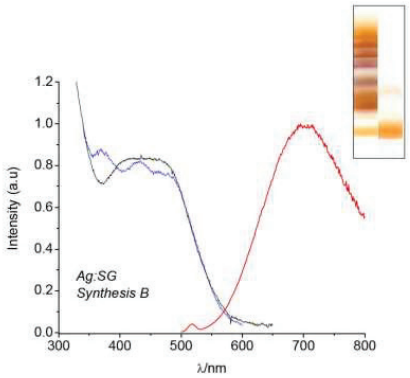


Figure 3 : Visible absorption, excitation and emission spectra of silver nanoclusters from "synthesis b" in water solution. (black line) absorption spectrum, (red line) emission spectrum with excitation at 470 nm, (blueline) excitation spectrum for emission at 665 nm. Inset : PAGE for Ag:SG clusters using (left) Bigioni synthesis see ref. 27 and (right) our "synthesis B".

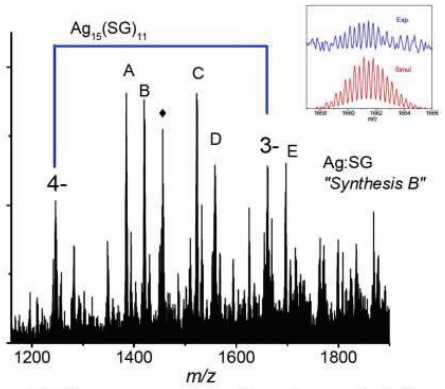


Figure 4 : ESI mass spectrum of silver clusters from "synthesis B". Inset : Comparison of the experimental and simulated isotopic distributions for the 3− charge state of $Ag_{15}(SG)_{11}$. Peaks labelled A,B, C, D and E correspond to clusters with 3- charge state of $Ag_{13}(SG)_9$, $Ag_{14}(SG)_9$, $Ag_{14}(SG)_9$, $Ag_{14}(SG)_{10}$ and $Ag_{16}(SG)_{11}$, respectively.

$Ag_{15}(SG)_{11}$. Fig. 3 shows the UV-vis absorption spectra of the synthesized silver clusters using *"synthesis B"*. The absorption spectrum displays a continuous increase below 600 nm with a plateau between 400-500 nm. The present absorption spectrum is very similar to the one reported by Bigioni et al. on the as-called "band 2".[27] The nanoclusters produced by *"synthesis B"* are fluorescent. An intense and broad luminescent emission band located at 690 nm is observed upon excitation at 470 nm (Fig. 3). This emission (excitation) band does not significantly vary with the excitation (emission) wavelength (see Fig. S1 in supporting information). The luminescence quantum yield is 2.2 ± 1 % measured by comparing to DCM dye (see experimental section for details). Once again, our synthesis *"synthesis B"* leads to a unique band closely located near the "band 2" in Bigioni synthesis. The absorption spectrum after gel separation is displayed in Fig. S2 in supporting information. Absorption, emission and excitation spectra in solution and after gel separation are very similar (see fig. S2). In order to have a better understanding of the excited-state dynamics, we performed picosecond time-resolved measurements for silver clusters from *"synthesis B"*. Results are given in Fig. S3 in supporting information. The curve can be fitted by a double exponential curve (characteristic times of 0.75 ns and 3.6 ns). According to previous studies, the shorter decay corresponds to the emission of a charge transfer state, and longer decay (3.6 ns) comes from the emission of the Ag core.[32]

An ESI mass spectrum for the silver-glutathione cluster from solution of *"synthesis B"* and acquired under gentle ESI conditions is shown in Figure 4. Two charge states for silver NCs were observed ($[M-4H^+]^{4-}$ and $[M-3H^+]^{3-}$). Deconvolution of charge states provided a mass of 4987 Da for the intact Ag cluster, consistent with the calculated mass of $Ag_{15}(SG)_{11}$. The peak attribution was confirmed by isotopic distribution measurement.

Although $Ag_{15}(SG)_{11}$ was the most abundant NC observed in mass spectra of solution of *"synthesis B"*, other peaks are present and are due to $Ag_{14}(SG)_{10}$, $Ag_{14}(SG)_9$, $Ag_{13}(SG)_9$, $Ag_{15}(SG)_{10}$ and $Ag_{16}(SG)_{11}$. The presence of numerous small NCs in mass spectra of *"synthesis B"* may be due to a silver atom and/or ligand evaporation from $Ag_{16}(SG)_{11}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$ clusters in the ionic train of our MS instrument. Note that, after isolation and collision-induced activation with helium atoms in the trap, $Ag_{15}(SG)_{11}$ easily fragments by an evaporation of a charged or neutral gluthatione molecule (leading to $Ag_{15}(SG)_{10}$) (data not shown).

Our results on the fluorescence properties (both emission band, quantum yield) of nanoclusters produced by "synthesis B" are close to the recent work of Le Guével et al,[44] who also used glutathione to stabilize silver nanoclusters. However in Ref. [44] such nanoclusters were produced using a delicate protocol by collecting them on a plastic surface during an interfacial etching process. Furthermore, the red emitting clusters were found to present larger polydispersity in cluster size with probable quenching due to the presence of non-fluorescent species. Finally, these red emitting clusters showed a long lifetime component (>100 ns). This long lifetime component may be related to the electronic transfer between the triplet excited state of the sp orbitals of silver and the p orbitals of sulfur.[45] Difference in lifetime decay observed between the present silver NCs and those reported by Le Guevel et al.[44] is certainly due to differences cluster size and/or staple ligand nature.

It is interesting to compare the size of the nanoclusters with their fluorescence properties. Indeed, quantum confinement can offer a qualitative explanation of fluorescence emission for noble metal clusters. However, many factors such as the oxidation state of the metal, the nature of the ligand, and the steric protection of the metal core affect the fluorescence properties. Small silver clusters (< 10 atoms) have recently received significant attention due to their strong red fluorescence.[46-48] Red fluorescence is usually observed for NCs

This journal is © The Royal Society of Chemistry [year]

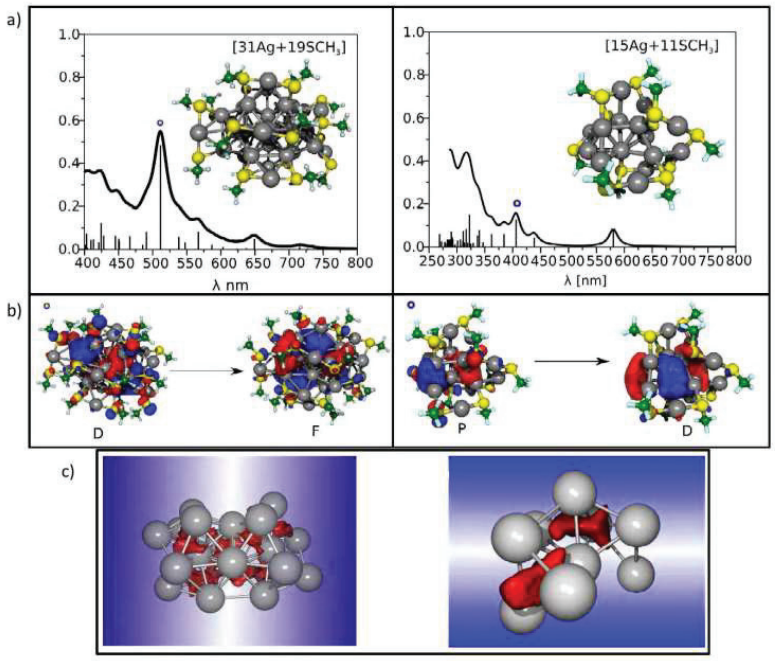


Figure 5 : a) Structure and absorption spectrum of $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ and $Ag_{31}(SCH_3)_{19}$) clusters. b) Analysis of transitions labelled by (o) in terms of leading excitations between Kohn–Sham orbitals. c) Core structure of (left) $Ag_{31}(SCH_3)_{19}$ and (right) $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ clusters together with the electron localization function (ELF) plotted for the isovalue 0.20 for $Ag_{15}(SCH_3)11$ and 0.25 for $Ag_{31}(SCH_3)_{19}$.

with less than 25 silver atoms,[19, 26, 49, 50] although, red emission was recently reported for silver NCs assigned to $Ag_{75}(SG)_{40}$.[51] The silver NCs obtained with the "synthesis B" present a high quantum yield as compared to other liganded clusters using organic templates; however the quantum yields for NCs using protein as template are higher.[50]

Structural and optical properties of $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$. Insight from theory.

To rationalize the effect of thiolated liganded shells on structural and optical properties of silver clusters, we present theoretical results obtained for two prototype examples containing S–CH_3 ligands ($Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ and $Ag_{31}(SCH_3)_{19}$). Since sulfur can be considered as an electron acceptor, each pair of Ag and S atoms formally consists of Ag^+ and S^-. Thus, by combining n silver atoms and x ligands the excess of Ag atoms determines the count of confined electrons, which is related to the "superatom" model used successfully for thiolate protected gold clusters.[11] The structure of $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ cluster contains an Ag_8 core which is protected by four ligands belonging to three different types. Two ligands are of the type labelled L1 (CH_3S–Ag–SCH_3), one other ligand is of the type labelled L2 (CH_3S–Ag–SCH_3–Ag–SCH_3) and the fourth one is of the L3 type (CH_3S–Ag–SCH_3–Ag–SCH_3–Ag–SCH_3) as shown in Figs. 5 and 6. The structure of $Ag_{31}(SCH3)_{19}$ cluster contains an Ag_{21} core which is protected by nine ligands belonging to two different types : eight L1 ligands and one L2 ligand (as shown in Figs. 5 and 6). The number of electrons within the cluster core can be determined by looking at the occupation of delocalized cluster orbitals which can be classified as S, P and D-like orbitals. For $Ag_{15}(SCH3)_{11}$ cluster, the fully ligand-protected Ag_8 core contains 4 confined electrons, while for $Ag_{31}(SCH3)_{19}$, the core contains 12 confined electrons. Electron localization function (ELF) plots (displayed in Fig. 5c) show the localization of these electrons in the silver core. In $Ag_{15}(SCH3)_{11}$ the four confined electrons occupy the lowest cluster S-orbital and a single cluster P-orbital while in $Ag_{31}(SCH3)_{19}$ the S and P cluster orbitals are fully occupied and four additional electrons occupy two D-orbitals. These confined electrons play an important role for determining the spectroscopic pattern shown in Fig. 5a). The spectroscopic patterns for $Ag_{31}(SCH3)_{19}$ are characterized by an intense transition at 510 nm due to excitations from the D-cluster-core orbital to the F-cluster-core-orbitals (Fig 5b). The calculated spectrum is in good agreement with the experimental absorption spectrum (Fig. 1). The spectroscopic patterns for $Ag_{15}(SCH3)_{11}$ are characterized by an intense transition at 410 nm due to excitations from the P-cluster-core orbital to the D-cluster-core-orbitals (Fig 5b). A

first band is calculated at 572 nm. Note that the position of this first band is very sensitive to the structures of isomers (as shown in Fig. S4 in supporting information). Experimentally, we observe a plateau between 400 nm and 500 nm with an onset of absorption at ~600 nm (see fig. 3 and S2a). We wish to emphasize that different cluster sizes (and possibly isomers) coexist in "synthesis B" (as evidenced by MS data), and the resulting absorption spectrum is a convolution of all spectroscopic patterns of individual clusters (between $Ag_{13}(SG)_9$ and $Ag_{16}(SG)_{11}$) which may smooth the lowest energy band and result in a regular increase as observed in figure 4. Emission spectra recorded for Ag_4 and Ag_3 clusters embedded in matrix[52] and aptamer templates[53] display visible fluorescence, while larger clusters only display fluorescence in UV range. This is in agreement with the small number of delocalized electrons calculated for $Au_{15}(SG)_{11}$nanocluster.

Interestingly, the structure obtained for $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$ differs significantly from the structure predicted for small thiolated gold clusters.[54] Indeed, the most stable geometries for $[Au_{12}(SCH_3)_9]^+$, $[Au_{13}(SCH_3)_{10}]^+$, $[Au_{14}(SCH_3)_{11}]^+$, and $[Au_{15}(SCH_3)_{12}]^+$, lead to structures with a Au_6 core covered with dimer $[Au_2(SCH)_3]$ and trimer $[Au_3(SCH_3)_4]$ motifs or their combinations. This family of gold NCs corresponds to a series of clusters that satisfy the 2e- shell closing count, which is the smallest one within the spherical superatom complex model. Au(I) and Ag(I)-thiolate complexes lead to different stoechiometries (in particular silver tends to form larger complexes) due to differences in Au- and Ag-sulfur chemistry.[55] This may account for the formation of different metal core and staple liganded complexes between small silver and gold nanoclusters.

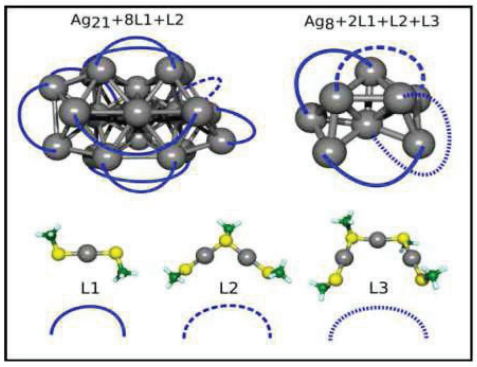


Figure 6 : structure of the silver core for Ag15(SCH3)11 and Ag31(SCH3)19) for clusters with different type of ligands.

Conclusions

We have reported a simple synthesis of silver:glutathione (Ag:SG) clusters using a cyclic reduction in oxidative condition leading to solution containing magic-numbered silver NCs. Insight from theory for structural and optical properties of ultrasmall silver NCs permits to better address the nature of the metal core and the staple motifs that stabilize the silver core, and to outline the difference with small liganded gold nanoclusters. The solution containing Ag15(SG)11 clusters show a bright and photostable emission. Such low nuclearity red silver nanoclusters are potentially promising for biolabeling and imaging as alternatives to the standard fluorescent probes such as quantum dots or organic dyes.

Acknowledgments

Financial support by the Project "Laboratoire International Associé (LIA)" NCBA between France and Croatia is gratefully acknowledged. R.M. acknowledges the financial support in the framework of the "Emmy-Noether-Programme" (ENP-MI-1236) of the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG).

Notes and references

[a] *Institut Lumière Matière, UMR5306 Université Lyon 1-CNRS, Université de Lyon 69622 Villeurbanne cedex, France, Fax: +33 4 72 43 15 07; Tel: +33 4 72 43 10 85 rodolphe.antoine@univ-lyon1.fr*

[b] *Humboldt-Universität zu Berlin, Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin, Germany, vbk@chemie.hu-berlin.de*

[c] *Department of Physics, Free University Berlin, Arnimallee 14, 14195 Berlin, Germany,*

[d] *Center for Advanced Sciences and Technology (ICAST), University of Split, Meštrovićevo Šetalište bb., 2100 Split, Croatia*

† Electronic Supplementary Information (ESI) available: [excitation and emission spectra of "synthesis B" in water and of separated band after PAGE separation; lifetime measurements of silver cluster from solution of "synthesis B" in water; Structure and absorption spectrum of the two lowest-energy isomers of $Ag_{15}(SCH_3)_{11}$]. See DOI: 10.1039/b000000x/.

1. W. A. de Heer, *Rev. Mod. Phys.*, 1993, **65** 611.
2. H. F. Qian, M. Z. Zhu, Z. K. Wu and R. C. Jin, *Accounts Chem. Res.*, 2012, **45**, 1470-1479.
3. K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao and G. C. Schatz, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 668-677.
4. M. M. Alvarez, J. T. Khoury, T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, I. Vezmar and R. L. Whetten, *J. Phys. Chem. B*, 1997, **101**, 3706-3712.
5. Y. Negishi, Y. Takasugi, S. Sato, H. Yao, K. Kimura and T. Tsukuda, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 6518-6519.
6. C. M. Aikens, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2010, **2**, 99-104.
7. R. C. Jin, *Nanoscale*, 2010, **2**, 343-362.
8. M. W. Heaven, A. Dass, P. S. White, K. M. Holt and R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 3754-+.
9. S. W. Chen, R. S. Ingram, M. J. Hostetler, J. J. Pietron, R. W. Murray, T. G. Schaaff, J. T. Khoury, M. M. Alvarez and R. L. Whetten, *Science*, 1998, **280**, 2098-2101.
10. P. D. Jadzinsky, G. Calero, C. J. Ackerson, D. A. Bushnell and R. D. Kornberg, *Science*, 2007, **318**, 430-433.
11. M. Walter, J. Akola, O. Lopez-Acevedo, P. D. Jadzinsky, G. Calero, C. J. Ackerson, R. L. Whetten, H. Gronbeck and H. Hakkinen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2008, **105**, 9157-9162.
12. I. Diez and R. H. A. Ras, *Nanoscale*, 2011, **3**, 1963-1970.
13. V. Bonacic-Koutecky, A. Kulesza, L. Gell, R. Mitric, R. Antoine, F. Bertorelle, R. Hamouda, D. Rayane, M. Broyer, T. Tabarin and P. Dugourd, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, **14**, 9282-9290.
14. S. Choi, R. M. Dickson and J. Yu, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 1867-1891.
15. W.-W. Guo, J.-P. Yuan, Q.-Z. Dong and E.-K. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 932-934.

This journal is © The Royal Society of Chemistry [year]

16. E. G. Gwinn, P. O'Neill, A. J. Guerrero, D. Bouwmeester and D. K. Fygenson, *Adv. Mater. (Weinheim, Ger.)*, 2008, **20**, 279-283.
17. J. T. Petty, J. Zheng, N. V. Hud and R. M. Dickson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 5207-5212.
18. J. Zheng and R. M. Dickson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 13982-13983.
19. A. Mathew, P. R. Sajanlal and T. Pradeep, *J. Mater. Chem.*, 2011, **21**, 11205-11212.
20. C. Shao, B. Yuan, H. Wang, Q. Zhou, Y. Li, Y. Guan and Z. Deng, *J. Mat. Chem.*, 2011, **21**, 2863-2866.
21. J. Xie, Y. Zheng and J. Y. Ying, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 888-+.
22. H. Wei, Z. Wang, L. Yang, S. Tian, C. Hou and Y. Lu, *Analyst*, 2010, **135**, 1406-1410.
23. H. Hakkinen, *Nat. Chem.*, 2012, **4**, 443-455.
24. J. F. Parker, C. A. Fields-Zinna and R. W. Murray, *Accounts Chem. Res.*, 2010, **43**, 1289-1296.
25. N. Cathcart and V. Kitaev, *J. Phys. Chem. C*, 2010, **114**, 16010-16017.
26. N. Cathcart, P. Mistry, C. Makra, B. Pietrobon, N. Coombs, M. Jelokhani-Niaraki and V. Kitaev, *Langmuir*, 2009, **25**, 5840-5846.
27. S. Kumar, M. D. Bolan and T. P. Bigioni, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 13141-13143.
28. J. Guo, S. Kumar, M. Bolan, A. Desireddy, T. P. Bigioni and W. P. Griffith, *Anal. Chem.*, 2012, **84**, 5304-5308.
29. R. Hamouda, B. Bellina, F. Bertorelle, I. Compagnon, R. Antoine, M. Broyer, D. Rayane and P. Dugourd, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2010, **1**, 3189-3194.
30. K. M. Harkness, Y. Tang, A. Dass, J. Pan, N. Kothalawala, V. J. Reddy, D. E. Cliffel, B. Demeler, F. Stellacci, O. M. Bakr and J. A. McLean, *Nanoscale*, 2012, **4**, 4269-4274.
31. R. Hamouda, F. Bertorelle, D. Rayane, R. Antoine, M. Broyer and P. Dugourd, *Int. J. Mass Spectrom.*, 2012.
32. G. B. Santiago, M. J. Rodriguez, C. Blanco, J. Rivas, M. A. Lopez-Quintela and J. M. G. Martinho, *Nano Lett.*, 2010, **10**, 4217-4221.
33. B. S. Gonzalez, M. C. Blanco and M. A. Lopez-Quintela, *Nanoscale*, 2012, **4**, 7632-7635.
34. T. Zhou, M. Rong, Z. Cai, C. J. Yang and X. Chen, *Nanoscale*, 2012, **4**, 4103-4106.
35. J. M. Drake, M. L. Lesiecki and D. M. Camaioni, *Chem. Phys. Lett.* , 1985, **113**, 530.
36. D. Andrae, U. Haeussermann, M. Dolg, H. Stoll and H. Preuss, *Theor. Chim. Acta*, 1990, **77**, 123.
37. S. Gilb, P. Weis, F. Furche, R. Ahlrichs and M. M. Kappes, *J. Chem. Phys.*, 2002, **116**, 4094.
38. A. D. Becke, *Phys. Rev. A*, 1988, **38**, 3098-3100.
39. C. T. Lee, W. T. Yang and R. G. Parr, *Phys Rev. B*, 1988, **37**, 789.
40. P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski and M. J. Frisch, *J. Phys. Chem.* , 1994, **98**, 11623.
41. S. J. Vosko, L. Wilk and M. Nusair, *Can. J. Phys.* , 1980, **58**, 1200.
42. T. Yanai, D. P. Tew and N. C. Handy, *Chem. Phys. Lett.*, 2004, **393**, 51-57.
43. M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy and J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* , 1985, **107**.
44. X. Le Guével, C. Spies, N. Daum, G. Jung and M. Schneider, *Nano Res.*, 2012, **5**, 379.
45. C. Zhou, C. Sun, M. X. Yu, Y. P. Qin, J. G. Wang, M. Kim and J. Zheng, *J. Phys. Chem. C*, 2010, **114**, 7727.
46. L. A. Peyser, A. E. Vinson, A. P. Bartko and R. M. Dickson, *Science*, 2001, **291**, 103.
47. L. A. Peyser, T.-H. Lee and R. M. Dickson, *J. Phys. Chem. B*, 2002, **106**, 7725.
48. J. Zheng, P. R. Nicovich and R. M. Dickson, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2007, **58**, 409-431.
49. S. Huang, C. Pfeiffer, J. Hollmann, S. Friede, J. J. C. Chen, A. Beyer, B. Haas, K. Volz, W. Heimbrodt, J. M. M. Martos, W. Chang and W. J. Parak, *Langmuir*, 2012, **28**, 9815.
50. U. Anand, S. Ghosh and S. Mukherjee, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2012, **3**, 3605.
51. I. Chakraborty, T. Udayabhaskararao and T. Pradeep, *Chem. Commun.*, 2012, **48**, 6788.
52. C. Felix, C. Sieber, W. Harbich, J. Buttet, I. Rabin, W. Schulze and G. Ertl, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, **313**, 105-109.
53. Z. Sun, Y. Wang, Y. Wei, R. Liu, H. Zhu, Y. Cui, Y. Zhao and X. Gao, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)*, 2011, **47**, 11960-11962.
54. A. Tlahuice and I. L. Garzon, *Phys Chem Chem Phys.*, 2012, **14**, 7321.
55. B. Bellina, I. Compagnon, F. Bertorelle, M. Broyer, R. Antoine, P. Dugourd, L. Gell, A. Kulesza, R. Mitric and V. Bonacic-Koutecky, *J. Phys. Chem. C*, 2011, **115**, 24549–24554.

This journal is © The Royal Society of Chemistry [year]

Synthèse et caractérisation de nanoclusters stabilisés par des ligands thiolés

Mes travaux de recherche concernent la synthèse et la caractérisation des nanoclusters stabilisés par des ligands thiolés, et plus particulièrement des nanoclusters d'or et d'argent. L'étude de ces clusters par des méthodes de caractérisation optique en solution, séparation sur le gel d'électrophorèse et la spectrométrie de masse à haute résolution a permis de sonder quelques propriétés structurelles et électroniques. L'originalité de ce travail de thèse vient, du couplage d'un spectromètre de masse avec un laser accordable en longueur d'onde UV/Visible pour étudier les propriétés optiques de clusters en phase gazeuse. En effet, ce travail a permis d'obtenir le premier spectre sur des mesures optiques de ces espèces.

Une partie de ce travail est consacrée à la synthèse et la caractérisation des nanoclusters d'or stabilisés par les glutathions allant de $Au_4(SG)_4$ à $Au_{25}(SG)_{18}$. Les expériences de fragmentation induite par collision sont réalisées sur les clusters afin de sonder leurs structures. Nous avons développé une nouvelle méthode basée sur l'analyse des structures isotopiques expérimentales pour déterminer le nombre d'électrons accommodés le cœur métallique.

Ces études expérimentales ont été étendues à d'autres systèmes tels que les clusters d'argent stabilisés par les glutathions. Deux méthodes de synthèse des clusters $Ag_x(SG)_y$ ont été développées au laboratoire. Dans le cadre de ce travail, pour la première fois, nous avons pu déterminer la stichométrie de ces clusters $Ag_{31}(SG)_{19}$ et $Ag_{15}(SG)_{11}$.

Synthesis and characterization of nanoclusters stabilized by thiolates

My research works concerns the synthesis and characterization of nanoclusters stabilized by thiolates (SG), particularly the gold and silver nanoclusters. The study of these clusters by optical characterization techniques in solution, separation by gel electrophoresis and high-resolution mass spectrometry has allowed to probe some structural and electronic proprieties. The origin of this work come from experimental setup coupled mass spectrometry to UV/Visible optical parametric oscillator tunable laser for understanding the optical proprieties of the clusters in gas phase. In fact, this work has allowed to get the first optical gas phase spectrum of this species.

The first part of this work is dedicated to the synthesis and characterization of glutathione stabilized gold nanoclusters with size between $Au_4(SG)_4$ and $Au_{25}(SG)_{18}$. Collision induced dissociation experiments are performed to probe some structural proprieties of the clusters. We have developed new method based on the analysis of the experimental isotopic distribution allowed to find the number of electrons bear in metallic core.

These experimental studies have been extended to other systems such as glutathione stabilized silver nanoclusters. Two synthesis methods $Ag_x(SG)_y$ have been developed in the laboratory. For the first time, we have found the stoicheiometry of these clusters as $Ag_{31}(SG)_{19}$ and $Ag_{15}(SG)_{11}$.

DISCIPLINE **Physique**

MOTS-CLES

Synthèse, spectrométrie de masse, spectrophotomètre, spectrofluoromètre, laser UV/Visible, fragmentation, photodétachement, nanoclusters d'or, nanoclusters d'argent

ADRESSE DU LABORATOIRE

Laboratoire de spectrométrie ionique et moléculaire

Domine scientifique la Doua

Bâtiment Alfred Kastler

43, Bd du 11 Novembre 1918

69622 Villeurbanne, France