

Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB

Alexandra Delvallée

▶ **To cite this version:**

Alexandra Delvallée. Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB. Chimie-Physique [physics.chem-ph]. ENSTA ParisTech, 2014. Français. NNT : . tel-01102461

HAL Id: tel-01102461

https://pastel.hal.science/tel-01102461

Submitted on 12 Jan 2015

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

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

Thèse pour l'obtention du Titre de

DOCTEUR DE L'ENSTA - PARISTECH

SPECIALITE : CHIMIE

par

Alexandra DELVALLEE

Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB

Soutenue publiquement le 17 décembre 2014 devant le jury composé de :

Walter FÜRST	Président du Jury
Jean-François HOCHEPIED	Directeur de thèse
Fabrice CHARRA	Rapporteur
Eric GAFFET	Rapporteur
Antoine GHANEM	Examinateur
Jasmine PETRY	Examinateur
Nicolas FELTIN	Directeur des travaux

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les directeurs des travaux de thèse, Nicolas Feltin et Sébastien Ducourtieux, pour le soutien, la disponibilité et les connaissances qu'ils m'ont apportés au cours de ces trois années. Et pour la confiance qu'ils m'ont accordée depuis février 2011.

Mes remerciements vont également à Jean-François Hochepied, directeur de thèse, qui m'a suivie tout au long de ce parcours. Le recul qu'il a pu avoir sur les travaux de sa « vraie-fausse doctorante» m'a été précieux. Je le remercie également pour les nanoparticules « faites maison ».

Je souhaite également remercier François Piquemal de m'avoir accueillie dans son équipe. Il me semble important de lui exprimer ma reconnaissance pour son appui lorsqu'il a fallu orienter ma vie professionnelle. La confiance qu'il m'a donnée et qu'il renouvelle m'est précieuse. Je remercie également M. Bruno Hay de nous avoir accueillis dans son département après notre « migration ».

Mes sœurs m'ont soutenue dans ce projet, et j'espère leur montrer ma reconnaissance comme il se doit. De plus, je souhaite formuler ici la profonde reconnaissance pour le soutien apporté lors des moments difficiles à Papi Jean, Jeannine, Aline et Damien. Je sais que je n'aurais pas pu arriver là sans vous, même si je ne le montre pas comme il le faudrait.

Pour la convivialité qu'ils apportent tous au laboratoire (ou ont apporté), je remercie les personnes que j'ai pu côtoyer ces dernières années : Laurent, Valérie, Olivier S., Olivier T., Gael, Pierre, Ralph, Saif, Florentin, Thibaut, Sophie, Rebeca, Fabien, Félicien, Wilfried, Benoit, Younes, Paul, Myriam, Hervé, Jean-Christophe, Hind, Enyang, Abderrezak, Hajar et Shiraz. Chacun d'entre eux ont participé à ma réussite à leur manière.

Enfin, des remerciements particuliers vont à Oumy et Charlène pour la grande amitié que je leur porte et qui m'est rendue.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS **3**

TABLE DES MATIERES **5**

TABLE DES ILLUSTRATIONS **9**

INTRODUCTION GENERALE **15**

CHAPITRE 1 LA MESURE DIMENSIONNELLE DE NANOPARTICULES **19**

1 GENERALITES SUR LES NANOMATERIAUX 19

1.1 Définition des nanomatériaux *19*

1.2 Propriétés spécifiques des nanoparticules : effet de taille *21*

1.2.1 Effet de surface 21

1.2.2 Thermodynamique des nanosystèmes 21

1.2.3 Propriétés électroniques 22

1.2.4 Propriétés optiques 23

1.2.5 Propriétés magnétiques 24

1.2.6 Propriétés structurelles 25

1.3 Intérêts et impacts de l'utilisation courante des nanomatériaux *26*

1.4 Problèmes posés par l'identification d'un nano-objet *27*

1.5 Recommandations des autorités – textes réglementaires *29*

2 NANOMETROLOGIE –TRAÇABILITE 30

2.1 La nanométrologie : un catalyseur pour le développement des « nanos » *31*

2.2 Système international d'unités (SI) *32*

2.3 Unité de longueur : le mètre SI *33*

2.4 Chaine de traçabilité pour les mesures dimensionnelles à l'échelle du nanomètre *34*

3 LES DIFFERENTES TECHNIQUES DE MESURES DIMENSIONNELLES DE NANOPARTICULES 35

3.1 Les techniques de mesures d'ensemble / méthodes indirectes *35*

3.1.1 Dynamic Light Scattering (DLS) / Diffusion dynamique de la lumière 36

3.1.2 Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) / Technologie NanoSight© (Malvern) 37

3.1.3 Méthode BET (Brunauer, Emmett, Teller) 37

3.1.4 Diffractométrie des rayons-X (DRX) 37

3.2 Les techniques de mesures individuelles / méthodes directes *38*

3.2.1 Microscopie à Force Atomique (AFM – Atomic Force Microscopy) 38

a. Principe de fonctionnement et description de la technique 38

b. Principe de mesure d'une nanoparticule sphérique par AFM 42

3.2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB/SEM - Scanning Electron Microscopy) 44

a. Principe de fonctionnement et description de la technique 44

b. Principe de mesure d'une nanoparticule sphérique par MEB 47

3.2.3 Microscopie électronique à transmission (MET/TEM – Transmission Electron Microscopy) 47

3.2.4 Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) 49

CHAPITRE 2 DEVELOPPEMENT DE METHODES D'ECHANTILLONNAGE ADAPTEES A LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR AFM/MEB **55**

1 IMPORTANCE DE LA METHODE D'ECHANTILLONNAGE 55

1.1 Mesures AFM : Influence de la rugosité et de la dispersion des particules sur le substrat *55*

1.2 Mesure MEB : Influence de l'effet de charge et de la dispersion des nanoparticules sur le substrat *57*

2 CHOIX DES SUBSTRATS 58

3 SUSPENSIONS COLLOÏDALES UTILISEES 60

3.1 Suspensions commerciales utilisées lors de la thèse 60
3.2 Suspensions synthétisées en laboratoire 60
4 TEST DE DIFFERENTES METHODES D'ECHANTILLONNAGE 61
4.1 Méthode d'échantillonnage par évaporation simple 62
4.1.1 Sur mica 62
4.1.2 Sur mica fonctionnalisé avec de la poly-L-lysine (PLL) 63
4.1.3 Sur silicium 63
4.1.4 Arrachement des structures tridimensionnelles de nanoparticules 64
4.2 Evaporation forcée grâce à un flux d'air comprimé 65
4.3 Méthode d'échantillonnage avec une tournette 66
4.3.1 Résultats obtenus sur un substrat hydrophile : le mica 66
4.3.2 Résultats obtenus sur un substrat hydrophobe : le silicium 68

CHAPITRE 3 BILAN D'INCERTITUDE ASSOCIE A LA MESURE DE NANOPARTICULES SPHERIQUES PAR AFM 73

1 DESCRIPTION DU SYSTEME UTILISE ET PRECAUTIONS ENVIRONNEMENTALES 73
2 ETALONNAGE ET CARACTERISATION DE L'AFM 75
2.1 Etalonnage de l'instrument 75
2.1.1 Certificat d'étalonnage de l'étalon 75
2.1.2 Protocole d'étalonnage de l'instrument 76
2.1.3 Inhomogénéité de l'étalon suivant l'axe Z 77
a. Etude de reproductibilité 78
b. Etude de répétabilité 80
2.2 Caractérisation de l'équipement 81
2.2.1 Bruit 81
a. Bruit suivant l'axe Z 81
b. Bruit suivant les axes X et Y 82
2.2.2 Dérives de l'instrument 82
a. Dérive thermique suivant les axes X et Y 84
b. Dérives thermiques et électroniques suivant l'axe vertical 86
2.2.3 Influence de la vitesse de balayage sur la mesure de taille de nanoparticules 87
3 ETABLISSEMENT DU BILAN D'INCERTITUDE DE LA MESURE DE HAUTEUR DE NANOPARTICULE PAR AFM 89
3.1 Sources d'incertitudes liée à l'étalonnage de l'instrument 90
3.2 Sources d'incertitudes liées à l'échantillon 90
3.2.1 Rugosité 90
3.2.2 Déformation des particules 90
a. Dilatation de la particule 90
b. Déformation de la particule lors du dépôt 91
c. Déformation de la particule sous contrainte de la pointe 92
3.3 Sources d'incertitudes liées à l'instrument 93
3.3.1 Sources d'incertitude directement liées à l'axe Z 93
a. Influence des dérives thermiques et électroniques sur la mesure de hauteur 94
b. Influence de la vitesse de balayage sur la mesure de hauteur 94
c. Limite de résolution suivant l'axe Z 94
3.3.2 Sources d'incertitude sur la mesure de hauteur liées au plan XY 95
3.4 Bilan d'incertitude 96

CHAPITRE 4 INCERTITUDES ASSOCIEES A LA MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES IMAGEES PAR MEB ... 99

1 DESCRIPTION DU SYSTEME UTILISE ET PRECAUTIONS ENVIRONNEMENTALES 99
2 ETALONNAGE 100
2.1 Utilisation du réseau VLSI 100
2.1.1 Mise en évidence du phénomène appelé « Leading Edge Distorsion » 100
2.1.2 Résultat de la mesure de l'étalon sur le côté non distordu de l'image 104

2.2 Utilisation d'un réseau fabriqué par nos soins 105
3 SOURCES D'INCERTITUDES DE LA MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES PAR MEB 106
3.1 Dégradation des échantillons sous le faisceau électronique 107
3.1.1 Dégradation des particules 107
3.1.2 Dégradation de l'environnement proche de la nanoparticule 108
3.2 Incertitudes liées à l'ajustement des paramètres d'imagerie du MEB 109
3.2.1 Influence du facteur de grossissement 109
3.2.2 Influence de la taille de pixel sur la mesure 111
3.2.3 Impact de la défocalisation 112
3.2.4 Impact de la distance de travail et de la tension d'accélération 113

CHAPITRE 5 DEVELOPPEMENT D'UN PROGRAMME SEMI-AUTOMATIQUE POUR LA MESURE TRAÇABLE DE TAILLE DE NANOPARTICULES IMAGEES PAR AFM ET MEB 119

1 OUTILS DE TRAITEMENT DES IMAGES EXISTANTS 119
1.1 Pour la mesure de nanoparticules imagées par AFM 119
1.1.1 Mesures effectuées « manuellement » 120
1.1.2 Détection des particules par seuillage et filtrage automatique des particules agglomérées 121
1.1.3 Méthode automatique « Watershed » : segmentation par partage des eaux 124
1.2 Pour la mesure de nanoparticules imagées par MEB 124
1.2.1 Détermination du diamètre équivalent par une méthode manuelle 125
1.2.2 Détermination du diamètre équivalent par seuillage de l'image MEB 127
1.2.3 Détermination du diamètre équivalent par la méthode de segmentation par partage des eaux 128
1.3 Utilité du développement d'un programme semi-automatique spécifique 129
2 DEVELOPPEMENT D'UN PROGRAMME SEMI-AUTOMATIQUE SOUS MATLAB © 130
2.1 Cahier des charges du processus semi-automatique à développer 130
2.2 Pré-traitement des images AFM sous Mountains Map 130
2.2.1 Etape de redressement de l'image 130
2.2.2 Etape de création de l'image binaire 131
2.3 Description de l'algorithme 132
2.3.1 Pour les images AFM 132
2.3.2 Pour les images MEB 136
2.3.3 Nanoselect : un programme adapté aux deux techniques de mesure 138
3 VALIDATION DU PROGRAMME NANOSELECT ET COMPARAISON AVEC DES LOGICIELS EXISTANTS 140
3.1 Tests avec une image AFM simulée 140
3.1.1 Dépôt sur une surface simulée sans rugosité 140
3.1.2 Dépôt sur une surface simulée avec rugosité 141
3.2 Tests avec une image AFM réelle 142
3.3 Test avec une image MEB simulée 145
3.3.1 Simulation du dépôt de particules imagées par MEB 146
3.3.2 Résultats 147

CHAPITRE 6 COMPARAISON DE MESURES AFM ET MEB DE TAILLE DE NANOPARTICULES SPHERIQUES 151

1 VERS UNE METROLOGIE DIMENSIONNELLE HYBRIDE POUR LES NANOPARTICULES 151
2 DEVELOPPEMENT D'UN SUBSTRAT SPECIFIQUE 152
3 RESULTATS OBTENUS POUR TROIS POPULATIONS DE NANOPARTICULES ETUDIEES PAR AFM/MEB 154
3.1 Exemples d'études de mesure de taille de nanoparticules par diverses techniques 154
3.2 Populations étudiées lors de ces travaux de thèse 155
3.3 Résultats obtenus par AFM et par MEB sur l'échantillon A 156
3.4 Résultats obtenus sur l'échantillon B 157
3.5 Résultats obtenus sur l'échantillon C 159
3.5.1 Mesure des distances entre particules sur l'échantillon C 160

3.5.2 Résultats 162
4 CONCLUSION 163
CONCLUSION ET PERSPECTIVES 165
ANNEXE 1 167
ANNEXE 2 169
ANNEXE 3 179
ANNEXE 4 181

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1-1 : CLASSEMENT DES NANOMATERIAUX SELON LA DEFINITION DE L'ISO/TC 229. 20
FIGURE 1-2 : EVOLUTION DU POINT DE FUSION DE NANOPARTICULES D'ETAIN[8] (GAUCHE) ET D'OR[7] (DROITE) EN FONCTION DE LEUR TAILLE. 22
FIGURE 1-3 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES NIVEAUX D'ENERGIE DE VALENCE ET DE CONDUCTION D'UN ATOME, D'AGREGATS DE TAILLE NANOMETRIQUE ET D'UN MATERIAU CONDUCTEUR A L'ETAT MASSIF. 23
FIGURE 1-4 : OBSERVATION DE LA MODIFICATION DES PROPRIETES OPTIQUES EN FONCTION DE LA TAILLE DES PARTICULES : PHOTOGRAPHIE DE SUSPENSIONS COLLOIDALES DE CDSE OBSERVEES EN FLUORESCENCE ET SPECTRE D'ABSORPTION DE PARTICULES DE CDSE EN FONCTION DE LA TAILLE DE CELLES-CI. 24
FIGURE 1-5 : EVOLUTION DU MOMENT MAGNETIQUE DU NICKEL (A), DU COBALT (B) ET DU FER (C) EN FONCTION DE LA TAILLE DES NANOPARTICULES EXPRIMEE EN NOMBRE D'ATOMES. 25
FIGURE 1-6 : EVOLUTION DE LA DISTANCE ENTRE LES ATOMES (PARAMETRE DE MAILLE) POUR DES PARTICULES DE NICKEL ET DE CUIVRE EN FONCTION DE LA TAILLE DES NANOPARTICULES[13]. 25
FIGURE 1-7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE ET IMAGE MEB EFFECTUEE AU COURS DE LA THESE DE NANOPARTICULES D'OR CRISTALLISEE (FOURNIES PAR SIGMA ALDRICH) EN UN OCTAEDRE TRONQUE ET EN ICOSAEDRE. 26
FIGURE 1-8 : EVOLUTION DU NOMBRE DE PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES DEPOSEES AYANT POUR MOT-CLEF LE TERME « NANOMATERIAL ». LA BASE DE DONNEES UTILISEE EST SCOPUS (GAUCHE). EVOLUTION DU NOMBRE DE BREVETS DEPOSES AYANT POUR MOT-CLEF « NANOMATERIAL » (DROITE). LA BASE DE DONNEES UTILISEE EST WORLDWIDE D'ESP@NET. 26
FIGURE 1-9 : GRANDEURS DU SYSTEME INTERNATIONAL D'UNITES ACTUEL (GAUCHE) ET CELUI MIS EN ŒUVRE UNIQUEMENT A PARTIR DE CONSTANTES FONDAMENTALES DANS LES PROCHAINES ANNEES (DROITE). LES SEPT UNITES DE BASE SONT : LE METRE M (UNITE DE LONGUEUR), LE KILOGRAMME KG (UNITE DE MASSE), LA SECONDE S (UNITE DE TEMPS), L'AMPERE A (UNITE D'INTENSITE DE COURANT ELECTRIQUE), LE KELVIN K (UNITE DE TEMPERATURE), LA MOLE MOL (UNITE MESURANT LA QUANTITE DE MATIERE), ET LA CANDELA CD (UNITE D'INTENSITE LUMINEUSE). 33
FIGURE 1-10 : EXEMPLE DE CHAINE DE TRAÇABILITE (MICROSCOPIES) APPLIQUEE AUX MESURES DIMENSIONNELLES A L'ECHELLE DU NANOMETRE. 34
FIGURE 1-11 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU DIAMETRE EQUIVALENT D'UNE PARTICULE. 35
FIGURE 1-12 : PRINCIPE D'INTERACTION POINTE/ECHANTILLON AVEC ; (1) LE SYSTEME DE DETECTION DES DEFLEXIONS DU LEVIER, (2) ENSEMBLE LEVIER/POINTE, (3) ECHANTILLON A IMAGER, (4) IMAGE DE TOPOGRAPHIE MESUREE 38
FIGURE 1-13 : EVOLUTION DE L'ENERGIE POTENTIELLE ENTRE LA POINTE AFM ET LA SURFACE DE L'ECHANTILLON EN FONCTION DE LA DISTANCE QUI LES SEPARE[34]. CETTE EVOLUTION SUIT LE POTENTIEL DE LENNARD-JONES. 39
FIGURE 1-14 : IMAGE MEB D'UNE POINTE AFM SUR SON LEVIER. POINTES STANDARDS COMMERCIALISEES PAR NANOANDMORE 40
FIGURE 1-15 : SCHEMA REPRESENTANT LA POSITION DU LASER SUR LA PHOTODIODE : (A) POUR UNE POINTE EN RETRAIT ET HORS DU CHAMP DE FORCE, (B) POUR UNE POINTE EN REGIME ATTRACTIF, ET (C) POUR UNE POINTE EN REGIME REPULSIF 41
FIGURE 1-16 : SCHEMA D'UN SCANNER D'AFM PIEZOELECTRIQUE GENERANT DES DEPLACEMENTS DANS LES TROIS DIRECTIONS DE L'ESPACE. LES CERAMIQUES NOTES X ET Y PERMETTENT LES DEPLACEMENTS LATERAUX ET CELLE NOTEE Z PERMET LES DEPLACEMENTS VERTICAUX. 42
FIGURE 1-17 : PRINCIPE DE MESURE UTILISE DANS CETTE ETUDE POUR LA MESURE DU DIAMETRE D'UNE NANOPARTICULE SPHERIQUE PAR AFM. LE TRAIT VERT CORRESPOND AU TRAJET DE LA POINTE SUR L'ECHANTILLON, METTANT EN AVANT LE PHENOMENE DE CONVOLUTION POINTE/SURFACE. 42
FIGURE 1-18 : METHODE DE LA « CALOTTE SPHERIQUE » MISE EN ŒUVRE PAR O. COUTEAU ET G. ROEBBEN (COMMISSION EUROPEENNE, JOINT RESEARCH CENTER, INSTITUTE FOR MATERIALS AND MEASUREMENTS – IRMM, BELGIQUE) 43
FIGURE 1-19 : MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES DEPOSEE EN UNE MONOCOUCHE PAR MESURE DU PAS DU RESEAU CONSTITUE DE NANOPARTICULES. CETTE METHODE EST MISE EN ŒUVRE PAR L'EQUIPE DE J. GARNAES (DFM – INSTITUT DE METROLOGIE DANOIS)[46] ET EGALEMENT PAR L'EQUIPE DE F. MELI (METAS - INSTITUT DE METROLOGIE SUISSE) 44
FIGURE 1-20 : PRINCIPALES EMISSIONS ELECTRONIQUES ET ELECTROMAGNETIQUES DUES AUX INTERACTIONS D'UN FAISCEAU D'ELECTRONS AVEC UN ECHANTILLON. LES ELECTRONS SE DEPLACENT DANS UN VOLUME APPELE POIRE D'INTERACTION. 45
FIGURE 1-21 : SCHEMA REPORTANT LES ELEMENTS PRINCIPAUX CONSTITUTIFS D'UN MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE. 46

FIGURE 1-22 : IMAGE D'UNE NANOPARTICULE DE MAGNETITE Fe_3O_4 IMAGEE PAR MET. 48
FIGURE 1-23 : NANOPARTICULES D'OR IMAGEES PAR MET (GAUCHE). IL EST COMPLEXE DE SEPARER CERTAINS ELEMENTS DE L'IMAGE, TOUT COMME POUR LA PHOTOGRAPHIE (DROITE) OU SONT MONTRES DEUX RHINOCEROS QU'ON POURRAIT ASSIMILER A UN RHINOCEROS A DEUX TETES. 48
FIGURE 2-1 : INFLUENCE DE LA RUGOSITE DU SUBSTRAT SUR LA MESURE DE HAUTEUR D'UNE NANOPARTICULE DEPOSEE SUR CELUI-CI (GAUCHE). REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA RUGOSITE DU SUBSTRAT (DROITE) 55
FIGURE 2-2 : CAS PARTICULIER DE PARTICULES AGGLOMEREES : ILLUSTRATION SCHEMATIQUE DU CAS D'UN NON-CONTACT PARTICULE/SUBSTRAT 56
FIGURE 2-3 : SCHEMA DE PRINCIPE D'UN COMPENSATEUR DE CHARGE[66] (CCS : CHARGE COMPENSATOR SYSTEM). 57
FIGURE 2-4 : IMAGE AFM (2 µM X2 µM) DES DIFFERENTS SUBSTRATS ETUDIES. LA MEME ECHELLE EN VERTICALE EST UTILISEE POUR CHACUNE DES ILLUSTRATIONS. 59
FIGURE 2-5 : GRAPHIQUE REPRESENTANT LA PREDOMINANCE DES FORCES DE CAPILLARITE (*Fc*) PAR RAPPORT AUX FORCES D'ADHESION (*FA*) EN FONCTION DE L'EPAISSEUR DE LA COUCHE DE SOLVANT (A). LORSQUE LES FORCES DE CAPILLARITE SONT PREDOMINANTES, LES PARTICULES FORMENT DES AGGLOMERATS. FIGURE EXTRAITE DE L'ARTICLE DE A. THILL ET O. SPALLA[72]. 62
FIGURE 2-6 : IMAGE EFFECTUEE AU MICROSCOPE OPTIQUE (GAUCHE) ET AU MEB DE « CRISTAUX » DE NANOPARTICULES. 63
FIGURE 2-7 : IMAGES MEB DES « CERCLES » FORMES PAR LE SECHAGE DE GOUTTELETTES PRESENTES SUR LES SUBSTRAT DE SILICIUM 64
FIGURE 2-8 : (GAUCHE) SCHEMA EXPLIQUANT L'ARRACHEMENT DES « CRISTAUX » DE NANOPARTICULES AVEC DU SCOTCH, (DROITE) IMAGE AFM (20 µM X 20 µM) D'UNE ZONE OU UN BLOC A ETE ARRACHE 64
FIGURE 2-9 : IMAGE MEB D'UN ECHANTILLON DE PARTICULES DE SiO_2 OBTENU PAR EVAPORATION D'UNE GOUTTELETTE FORCEE PAR AIR COMPRIME. 65
FIGURE 2-10 : FIGURE REPRESENTANT LES DEUX ETAPES D'ECHANTILLONNAGE PAR SPIN COATING UTILISEE LORS DE CES TRAVAUX. 66
FIGURE 2-11 : FIGURE REPRESENTANT LES 3 ZONES REMARQUABLES DE SUBSTRATS LORS DES DEPOTS. SONT NOTEES RESPECTIVEMENT (A), (C) ET (B) LES BORDS DE L'ECHANTILLON, LE CENTRE DE L'ECHANTILLON, ET UNE ZONE INTERMEDIAIRE ENTRE CES DEUX DERNIERES. 66
FIGURE 2-12 : IMAGES MEB D'UNE POPULATION DE SiO_2 DEPOSEE PAR SPIN-COATING SUR UN SUBSTRAT DE MICA AVEC DIFFERENTES VITESSES DE ROTATION LORS DE LA PREMIERE ETAPE (ETALEMENT). POUR CHAQUE ECHANTILLON, TROIS ZONES ONT ETE MISES EN EVIDENCE : (I) LES BORDS DE L'ECHANTILLON (III) LE CENTRE DE L'ECHANTILLON, ET (II) UNE ZONE INTERMEDIAIRE ENTRE LES ZONES (I) ET (III). 67
FIGURE 2-13 : VARIATION DE L'EPAISSEUR DE LA COUCHE DE SOLVANT EN FONCTION DE LA VITESSE DE ROTATION. A 300 TR.MIN-1, LE MOUVEMENT BROWNIEN EST DOMINANT. A 1000 TR.MIN-1, LES NANOPARTICULES SONT SOUMISES AUX FORCES DE CAPILLARITES. 68
FIGURE 2-14 : IMAGES MEB D'UNE POPULATION DE SiO_2 DEPOSEE PAR SPIN-COATING SUR DU SILICIUM AVEC DIFFERENTES VITESSES DE ROTATION LORS DE LA PREMIERE ETAPE (ETALEMENT). COMME POUR LE MICA, POUR CHAQUE ECHANTILLON, TROIS ZONES ONT ETE MISES EN EVIDENCE : (I) LES BORDS DE L'ECHANTILLON (III) LE CENTRE DE L'ECHANTILLON, ET (II) UNE ZONE INTERMEDIAIRE ENTRE LES ZONES (I) ET (III). 69
FIGURE 3-1 : VUE SCHEMATIQUE SIMPLIFIEE DE LA TETE HYBRIDE DU DIMENSION NANOMAN V. 73
FIGURE 3-2 : PHOTOGRAPHIES DES PROTECTIONS ACOUSTIQUES ET VIBRATOIRES MISES EN ŒUVRE SUR L'AFM DU LNE (DIMENSION V, VEECO). 74
FIGURE 3-3 : IMAGE MEB D'UNE POINTE OTESPA (GAUCHE) ET SCHEMA EXPLICATIF DE SES SPECIFICITES (DROITE). POUR LES POINTES OTESPA-R3, LES SPECIFICITES SONT LES SUIVANTES : BA (BACK ANGLE) = 35 ± 1°, FA (FRONT ANGLE) = 0 ± 1°, SA (SIDE ANGLE) = 18 ± 1°, HEIGHT (HAUTEUR) COMPRISE ENTRE 9 µM ET 19 µM. 74
FIGURE 3-4 : IMAGE AFM DE L'ETALON DE TRANSFERT STS2-440P. 76
FIGURE 3-5 : ETUDE DE REPRODUCTIBILITE : PAS DU RESEAU (HAUT) ET HAUTEUR DE MARCHE MOYENNE (BAS) MESURES POUR L'ETALON STS2-440P A DES POSITIONS DIFFERENTES SUR L'ETALON. 79
FIGURE 3-6 : ETUDE DE REPETABILITE : SUIVI DU PAS MOYEN (HAUT) ET DE LA HAUTEUR DE MARCHE MOYENNE (BAS) MESURES SUR L'ETALON STS2-440P SUR UNE PERIODE DE 65 HEURES, SUR LA MEME ZONE DE L'ETALON, ET DURANT UNE PERIODE DE STABILITE THERMIQUE. 80
FIGURE 3-7 : BRUIT RMS EN FONCTION DE LA GAMME DE DEPLACEMENT (Z-RANGE) UTILISEE. 82

FIGURE 3-8 : PHOTOGRAPHIE DE L'AFM ET DU CAISSON LE CONTENANT MONTRANT LES SONDES DE TEMPERATURES MISES EN PLACE POUR LA CORRELATION DERIVE DE L'INTRUMENT – TEMPERATURE. 83
FIGURE 3-9 : SCHEMA REPRESENTANT LE TEMPS ECOULE ENTRE DEUX IMAGES ENREGISTREES AVEC LA FONCTION « *CAPTURE MOVIE* ». POUR ATTEINDRE LA MEME LIGNE N SUR L'IMAGE 2, IL FAUT UN TEMPS DE 2X*T1*, ALORS QUE POUR ATTEINDRE CETTE MEME LIGNE SUR L'IMAGE 3, IL FAUT UN TEMPS DE 2X*T2*. 83
FIGURE 3-10 : IMAGES AFM DE L'ETALON STS2-440P (5 µM X 5 µM) ACQUISES EN CONTINU DURANT LA PHASE DE MONTEE EN TEMPERATURE DE L'ELECTRONIQUE ET TRAITEES PAR WSXM (REDRESSEMENT ET SUIVI DES POSITIONS D'UN MOTIF GRACE A LA FONCTION « *PARTICLE MOVEMENT ANALYSIS* »). IL N'A PAS ETE DEMANDE DE MOUVEMENT EN POSITION SUR L'ECHANTILLON, ET SEULES LES DERIVES EXPLIQUENT LES DEPLACEMENTS DES MOTIFS SUR L'IMAGE. LA CROIX BLANCHE INDIQUE LA POSITION DU CENTRE DU MOTIF SUR L'IMAGE EN COURS, LA CROIX BLEUE INDIQUE LA POSITION DU CENTRE DU MOTIF SUR L'IMAGE QUI PRECEDE. 84
FIGURE 3-11 : SUIVI DES POSITIONS EN X (ROUGE) ET EN Y (BLEUE) DU MOTIF REPRESENTE EN FIGURE 3-10 AINSI QUE LA TEMPERATURE DURANT LES DEUX PHASES DE L'EXPERIENCE : LE GRAPHIQUE DU HAUT CORRESPOND A LA MONTEE EN TEMPERATURE, ET EN BAS SONT REPORTEES LES DONNEES DE FIN DE MONTEE EN TEMPERATURE ET DU PLATEAU. LA TEMPERATURE SE STABILISE DONC AU BOUT DE 16+30 = 46 HEURES. 85
FIGURE 3-12 : CHAINES METROLOGIQUES SUIVANT L'AXE X (AXE RAPIDE/GAUCHE) ET SUIVANT L'AXE Y (AXE LENT/DROITE). 86
FIGURE 3-13 : SUIVI DE LA HAUTEUR MAXIMALE DES IMAGES AFM DU RESEAU STS2-440P ACQUISES EN CONTINU AINSI QUE DE LA TEMPERATURE RELEVEE DURANT LA PHASE 2 DE LA MONTEE EN TEMPERATURE DE L'ELECTRONIQUE. 86
FIGURE 3-14 : INFLUENCE DE LA VITESSE DE BALAYAGE SUR LA MESURE DE HAUTEUR DE NANOPARTICULES. EN INSERT, UN PROFIL AFM DE LA PARTICULE ETUDIEE POUR UNE VITESSE DE BALAYAGE DE 10 $\mu M.s^{-1}$ 87
FIGURE 3-15 : COURBE D'APPROCHE RETRAIT D'UNE POINTE DE SILICIUM OTESPA-R3 SUR UNE PARTICULE DE SiO_2. 93
FIGURE 3-16 : SCHEMA REPRESENTANT L'INFLUENCE D'UN MOUVEMENT DE LA POINTE DANS LE PLAN SUR LA MESURE DE HAUTEUR D'UNE NANOPARTICULE SPHERIQUE. 95
FIGURE 4-1 : PHOTOGRAPHIE DU MEB ZEISS ULTRA PLUS. LE POSTE DE CONTROLE EST PLACE A L'EXTERIEUR DE LA PIECE OU SE TROUVE L'INSTRUMENT. 100
FIGURE 4-2 : CLICHE MEB DE L'ETALON STS2-440P. 101
FIGURE 4-3 : PROFIL D'UNE IMAGE MEB D'UN RESEAU ETALON AVEC L'APPARITION DE PICS EN NIVEAU DE GRIS SUR LES BORDS DES MOTIFS. LA MESURE D'UN PAS DE RESEAU CORRESPOND A LA DISTANCE ENTRE DEUX PICS NON CONSECUTIFS. 102
FIGURE 4-4 : METHODE DE MESURE DU PAS DE RESEAU MOYEN SUIVANT L'AXE X (GAUCHE) ET SUIVANT L'AXE Y (DROITE) POUR CHAQUE COLONNE ET LIGNE DE MOTIFS RESPECTIVEMENT. LES COLONNES DE MOTIFS SONT NUMEROTEES DE GAUCHE A DROITE ET LES LIGNES DE MOTIFS SONT NUMEROTEES DE HAUT EN BAS. LES MOYENNES DE PAS DE RESEAU SUR CHAQUE COLONNE SONT CALCULEES POUR CONNAITRE LES PAS DE RESEAU MOYENS EN FONCTION DU NUMERO DE MOTIFS. 102
FIGURE 4-5 : MESURE DU PAS DE RESEAU MOYEN SUIVANT LES AXES X (HAUT) ET Y (BAS) ET EN FONCTION DU NUMERO DE LA COLONNE (SUIVANT X) OU DE LA LIGNE (SUIVANT Y) DE MOTIFS DANS L'IMAGE. LES MOTIFS SONT NUMEROTES DE GAUCHE A DROITE SUR L'IMAGE SUIVANT L'AXE X ET DE HAUT EN BAS SUR L'IMAGE SUIVANT L'AXE Y. 103
FIGURE 4-6 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU RESEAU FABRIQUE AU LPN, ET IMAGE MEB DU RESEAU OBTENU. 106
FIGURE 4-7 : (GAUCHE) DEGRADATION ET DISPARITION D'UNE NANOPARTICULE D'OR (30 NM) DEPOSEE SUR DU MICA, IMAGEE PAR MEB (6 KV). L'EXPERIENCE SE PRODUIT SUR UNE DUREE TOTALE DE 64 SECONDES. (DROITE) NANOPARTICULE D'OR PROVENANT DE LA MEME SUSPENSION QUE POUR LA SERIE D'IMAGE PRECEDENTE ET IMAGEE DANS LES MEMES CONDITIONS (6KV), MAIS DEPOSEE SUR UN SUBSTRAT DE SILICIUM. L'EXPERIENCE SE PRODUIT SUR UNE DUREE TOTALE DE 720 SECONDES. 107
FIGURE 4-8 : DEGRADATION D'UNE NANOPARTICULE DE SiO_2 DEPOSEE SUR DU SILICIUM ET DE SON ENVIRONNEMENT PROCHE. NOUS POUVONS OBSERVER QUE LA ZONE OU EST POSEE LA PARTICULE A EGALEMENT ETE DEGRADEE. 108
FIGURE 4-9 : CLICHES MEB D'UNE MEME ZONE D'UN ECHANTILLON DE NANOPARTICULES DE SiO_2 DEPOSE SUR DU SILICIUM IMAGEE AVEC TROIS RESOLUTIONS DIFFERENTES EN CONSERVANT LA MEME TAILLE DE PIXEL : (GAUCHE) RESOLUTION DE 1024 X 768 PIXELS, (CENTRE) RESOLUTION DE 2048 X 1536, ET (DROITE) RESOLUTION DE 3072 X 2304 PIXELS. 109
FIGURE 4-10 : HISTOGRAMMES EN TAILLE DE NANOPARTICULES DE SIO2 IMAGEES PAR MEB AVEC TROIS GROSSISSEMENTS DIFFERENTS EN FIXANT LA TAILLE DE PIXEL (HAUT). POUR UNE RESOLUTION DE 1024 X 768 PIXELS, (CENTRE) POUR UNE RESOLUTION DE 2048 X 1536 PIXELS, ET (BAS) POUR UNE RESOLUTION DE 3072 X 2304 PIXELS. 110

FIGURE 4-11 : DISTRIBUTION EN TAILLE DE 74 NANOPARTICULES D'OR IMAGEES AVEC DES TAILLES DE PIXEL DIFFERENTES. EN HAUT A GAUCHE, LA TAILLE DU PIXEL EST EGALE A 11,24 NM, EN HAUT A DROITE, LA TAILLE DU PIXEL EST EGALE A 7,51 NM, EN BAS A GAUCHE, ELLE EST EGALE A 2,40 NM ET EN BAS A DROITE, ELLE EST EGALE A 1,02 NM. 111
FIGURE 4-12 : CLICHES MEB DE NANOPARTICULES DE SiO_2. A GAUCHE, LE FAISCEAU D'ELECTRONS EST FOCALISE SUR L'ECHANTILLON, A DROITE, IL EST DEFOCALISE (1,5 µM DE DEPLACEMENT VERTICAL DE LA PLATINE PAR RAPPORT A SON PLAN FOCAL). 112
FIGURE 4-13 : MESURES DE TAILLE D'UNE NANOPARTICULE EN FONCTION DE LA DEFOCALISATION. CETTE DEFOCALISATION EST EFFECTUEE EN FAISANT VARIER LA POSITION VERTICALE DE LA PLATINE PORTE-ECHANTILLON PAS A PAS (PAS DE 0,1 µM). 113
FIGURE 4-14 : MESURE DE TAILLE D'UNE MEME NANOPARTICULE PAR MEB POUR DIFFERENTE DISTANCES DE TRAVAIL (WD, POUR WORKING DISTANCE) ET DIFFERENTES TENSIONS D'ACCELERATION AVEC LE DETECTEUR IN-LENS (HAUT) ET AVEC LE DETECTEUR SE2 (CENTRE). CONTROLE DE LA DEGRADATION DE LA NANOPARTICULE OU DE SON ENVIRONNEMENT PAR AFM AVANT ET APRES CHAQUE SERIE D'IMAGES A UNE DISTANCE DE TRAVAIL DONNEE. 114
FIGURE 4-15 : DEGRADATION DU « TAPIS » D'IMPURETES ET IMPACT SUR LA MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES PAR AFM. 115
FIGURE 5-1 : EXEMPLE DE MESURE MANUELLE DE LA HAUTEUR D'UNE NANOPARTICULE SPHERIQUE EFFECTUEE GRACE AU LOGICIEL MOUNTAINSMAP© : CHOIX DU PROFIL (GAUCHE), DIFFERENTS PROFILS SELECTIONNES (DROITE). SUR CET EXEMPLE L'ERREUR MANUELLE FAITE SUR LE CHOIX DU PROFIL A ETE SURESTIMEE DE FAÇON A MONTRER L'IMPACT DE CELLE-CI SUR LA MESURE DE LA HAUTEUR. 120
FIGURE 5-2 : DETECTION DE PARTICULES PAR SEUILLAGE (LOGICIEL SPIP©) AVEC DEUX VALEURS DE SEUIL DIFFERENTES. LES ELEMENTS COLORES EN VERT SONT LES ELEMENTS DETECTES. A GAUCHE, LE SEUIL A ETE PLACE A UNE VALEUR DE 40 NM, TOUTES LES PARTICULES NE SONT PAS DETECTEES. A DROITE, LE SEUIL A ETE PLACE A ENVIRON 10 NM, TOUTES LES PARTICULES SONT DETECTEES. ON NOTERA QUE LES PARTICULES AGGLOMEREES SONT DETECTEES EN NE COMPTANT QUE POUR UN SEUL ELEMENT. 121
FIGURE 5-3 : DISTRIBUTION EN AIRE D'UNE POPULATION BI-MODALE DE NANOPARTICULES SPHERIQUES IMAGEES PAR AFM (IMAGE CORRESPONDANTE EN INSERT). DEFINITION DE FILTRE PARAMETRE EN FONCTION DE L'AIRE DES ELEMENTS AFIN DE SELECTIONNER LES PARTICULES DEVANT COMPTER DANS LA DISTRIBUTION (POINTILLES VERTS). SUR L'HISTOGRAMME DU HAUT, AUCUN FILTRE N'EST APPLIQUE ; SUR L'HISTOGRAMME CENTRAL, LE FILTRE 1 EST APPLIQUE ; SUR L'HISTOGRAMME DU BAS, LE FILTRE 2 EST APPLIQUE. . 123
FIGURE 5-4 : DETECTION INDIVIDUELLE DE PARTICULES AGGLOMEREES PAR LA METHODE DE SEGMENTATION PAR PARTAGE DES EAUX (GAUCHE, TRAITEMENT EFFECTUE GRACE A SPIP ©) ET ZOOM (DROITE). 124
FIGURE 5-5 : SELECTION D'UN PROFIL SUR UNE IMAGE MEB POUR L'OBTENTION DU DIAMETRE DE LA PARTICULE DE FAÇON MANUELLE. L'ERREUR SUR LE CHOIX DU PLACEMENT DES PROFILS A ETE AMPLIFIEE DE FAÇON A BIEN REMARQUER L'INFLUENCE DE CE DERNIER SUR LA MESURE DE DIAMETRE. 125
FIGURE 5-6 : MESURE DU DIAMETRE SELON 3 CRITERES DIFFERENTS : MESURE PRISE A LA BASE DE LA NANOPARTICULE (BLEU), MESURE PRISE AU SOMMET DE LA NANOPARTICULE (ROUGE) ET MESURE PRISE A MI-HAUTEUR DE LA NANOPARTICULE (VERT). 126
FIGURE 5-7 : SCHEMA REPRESENTANT LE BALAYAGE D'UNE PARTICULE DEPOSEE SUR UN SUBSTRAT PAR UN FAISCEAU D'ELECTRONS EN TROIS ETAPES. 126
FIGURE 5-8 : DEPENDANCE DU DIAMETRE EQUIVALENT EN FONCTION DU PLACEMENT DU SEUIL LORS DE LA DETECTION ET DE LA DETERMINATION DE LA TAILLE DE LA NANOPARTICULE PAR SEUILLAGE : SUR UNE IMAGE MEB (-CONTRASTE TOPOGRAPHIQUE, DETECTEUR IN-LENS, GAUCHE), ET SUR UN PROFIL (DROITE). 128
FIGURE 5-9 : DETECTION INDIVIDUELLE DES NANOPARTICULES AGGLOMEREES SUR UNE IMAGE MEB CONVERTIE EN LUMINANCE (MOUNTAINSMAP©). ON OBSERVERA QUE LE CONTOUR DETECTE POUR LES PARTICULES AGGLOMEREES NE CORRESPOND PAS BIEN AUX CONTOURS DES PARTICULES. 129
FIGURE 5-10 : IMAGES AFM BRUTES. A GAUCHE UNE IMAGE DE TOPOGRAPHIE, LA MEME IMAGE EN AMPLITUDE ET L'IMAGE DE PHASE. 131
FIGURE 5-11 : IMAGES TOPOGRAPHIQUES ISSUES DE L'AFM. A GAUCHE, L'IMAGE BRUTE, A DROITE, LES IMAGES REDRESSEES. EN HAUT A DROITE, LE REDRESSEMENT A ETE EFFECTUE LIGNE A LIGNE, SANS EXCLUSION AUTOMATIQUE DES STRUCTURES. EN BAS A DROITE, LE REDRESSEMENT A ETE EFFECTUE LIGNE A LIGNE AVEC EXCLUSION AUTOMATIQUE DES STRUCTURES (MOUNTAINS MAP). 131
FIGURE 5-12 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA BINARISATION D'UN PROFIL D'UNE IMAGE TOPOGRAPHIQUE (HAUT). BINARISATION D'UNE IMAGE TOPOGRAPHIQUE DE NANOPARTICULES IMAGEE PAR AFM. 132
FIGURE 5-13 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CALCULS PERMETTANT D'OBTENIR UNE IMAGE DE LA RUGOSITE EN EXCLUANT LES POINTS CORRESPONDANT AUX NANOPARTICULES REPRESENTES PAR DES 0. 133

FIGURE 5-14 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES CALCULS PERMETTANT D'OBTENIR UNE IMAGE PRESENTANT UNIQUEMENT DES NANOPARTICULES. LES POINTS NE CORRESPONDANT PAS AUX PARTICULES SONT REPRESENTES PAR DES 0. 134
FIGURE 5-15 : INTERFACES DU PROGRAMME NANOSELECT : POUR LE CHARGEMENT DES IMAGES POUR UNE IMAGE AFM (HAUT), ET POUR LA SELECTION DES PARTICULES UNE A UNE (CENTRE), ET EXEMPLE D'ELEMENTS A ELIMINER DE LA DISTRIBUTION EN TAILLE (BAS)... 135
FIGURE 5-16 : INTERFACES DU PROGRAMME NANOSELECT : POUR LE CHARGEMENT ET LA BINARISATION DES IMAGES POUR UNE IMAGE MEB (CONTRSATE TOPOGRAPHIQUE, DETECTEUR IN-LENS, HAUT), ET POUR LA SELECTION DES PARTICULES UNE A UNE. 137
FIGURE 5-17 : PROCESSUS PRINCIPAL DU PROGRAMME NANOSELECT..... 139
FIGURE 5-18 : DEPOT DE NANOPARTICULES SIMULE SUR UN PLAN SANS RUGOSITE. 140
FIGURE 5-19 : IMAGE SIMULEE DE LA SURFACE AVEC DE LA RUGOSITE (2,5 µM X 2,5 µM – 2500 X 2500 PIXEL) (GAUCHE) ET IMAGE SIMULEE DU DEPOT DE PARTICULES SUR CETTE SURFACE SIMULEE (DROITE). 141
FIGURE 5-20 : IMAGE AFM (TOPOGRAPHIE REDRESSEE) REELLE UTILISEE POUR MONTRER LA PERFORMANCE DE LA METHODE SEMI-AUTOMATIQUE. LA POPULATION DE PARTICULES DE SiO_2 DEPOSEE EST MONODISPERSE. 143
FIGURE 5-21 : DISTRIBUTIONS EN TAILLE DE LA MEME IMAGE D'UNE POPULATION MONODISPERSE DE NANOPARTICULES DE SiO_2 OBTENUES PAR DIFFERENTS LOGICIELS. 144
FIGURE 5-22 : PROFIL EXPERIMENTAL (POINT) D'UNE NANOPARTICULE IMAGEE PAR MEB (DETECTEUR SE2) ET FIT GAUSSIEN ASSOCIE (HAUT) ET PROFIL EXPERIMENTAL « CREUSE » D'UNE NANOPARTICULE IMAGEE PAR MEB (DETECTEUR IN-LENS) (BAS). 146
FIGURE 5-23 : SIMULATION DE NANOPARTICULES SPHERIQUES IMAGEES PAR MEB. LA LARGEUR ET LA LONGUEUR DE L'IMAGE SIMULEE EST FIXEE A 2 µM AVEC UNE TAILLE DE PIXEL EGALE A 1 NM. 147
FIGURE 5-24 : DISTRIBUTION EN NIVEAU DE GRIS D'UNE IMAGE MEB REELLE (GAUCHE) ET DE L'IMAGE SIMULEE DROITE. LE TRAIT ROSE EN POINTILLE REPRESENTE LE SEUIL QUI PERMET LA GENERATION DE L'IMAGE BINAIRE (VOIR PARAGRAPHE 2.3.2) 148
FIGURE 6-1 : VUE SCHEMATIQUE DE 12 MOTIFS DE LOCALISATION SUR UN SUBSTRAT DE 1 MM X 1 MM DE SILICIUM (HAUT). IMAGE MEB (CONTRASTE TOPOGRAPHIE, DETECTEUR IN-LENS) D'UNE STRUCTURE DE LOCALISATION GRAVEE SUR UN SUBSTRAT DE SILICIUM (BAS-GAUCHE). IMAGE MEB (CONTRASTE TOPOGRAPHIE, DETECTEUR IN-LENS) D'UN DEPOT DE NANOPARTICULES DE SiO_2 SUR UN TEL SUBSTRAT (BAS-DROITE). 153
FIGURE 6-2 : DISTRIBUTION EN TAILLE DE NANOPARTICULES DE L'ECHANTILLON A OBTENU PAR MEB (HAUT) ET PAR AFM (BAS). 156
FIGURE 6-3 : MEME GROUPE DE 70 NANOPARTICULES D'OR DEPOSEES SUR DU MICA (ECHANTILLON B), IMAGEES PAR AFM (HAUT) ET PAR MEB (BAS). SUR LA DROITE, UN ZOOM MONTRANT 9 NANOPARTICULES IMAGEES PAR AFM (HAUT) ET PAR MEB (BAS). 157
FIGURE 6-4 : HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION EN TAILLE CONSTRUITS A PARTIR DES MESURES OBTENUES PAR AFM ET PAR MEB SUR LA POPULATION D'UN MEME GROUPE DE 70 NANOPARTICULES D'OR ISOLEES (ECHANTILLON B). 158
FIGURE 6-5 : MEME GROUPE DE 55 NANOPARTICULES DE SiO_2 DEPOSEES SUR DU SILICIUM (ECHANTILLON B), IMAGEES PAR AFM (HAUT) ET PAR MEB (BAS). SUR LA DROITE, UN ZOOM MONTRANT 29 NANOPARTICULES IMAGEES PAR AFM (HAUT) ET PAR MEB (BAS). 160
FIGURE 6-6 : IMAGE MEB (GAUCHE) ET IMAGE AFM (DROITE) DE TROIS MEMES NANOPARTICULES DE SiO_2. 161
FIGURE 6-7 : HISTOGRAMMES DE DISTRIBUTION EN TAILLE CONSTRUITS A PARTIR DES MESURES OBTENUES PAR AFM ET PAR MEB SUR LA POPULATION D'UN MEME GROUPE DE 55 NANOPARTICULES DE SiO_2 ISOLEES (ECHANTILLON C). 162

INTRODUCTION GENERALE

Le Laboratoire National de métrologie et d'Essais (LNE) a pour mission de réaliser, de mettre à disposition et de conserver les unités du Système International d'unités (SI) au niveau national. Il doit également développer les méthodes qui sont nécessaires lorsque de nouvelles techniques de mesures apparaissent. Dans le domaine des nanosciences, cette mission passe notamment par le développement de nouvelles références et de méthodes spécifiques à la mesure des nanomatériaux par microscopies à force atomique et électronique qui sont des techniques dites directes, puisque directement traçables au SI.

L'ensemble des acteurs impliqués dans le domaine des nanotechnologies et nanosciences s'accorde sur le manque de métrologie et d'instrumentations adaptées au domaine nanométrique (1-100 nm). Cette situation a tendance à freiner le développement de ce domaine émergent. Les besoins couvrent toute la chaîne d'innovation, de la recherche fondamentale au secteur industriel. Ils englobent à la fois les aspects d'instrumentation, de méthodologie, d'étalonnage et de formation. Le développement des nanotechnologies va ainsi engendrer une très grande activité métrologique dans les années à venir, et toutes les grandeurs physico-chimiques seront concernées.

Les agences de surveillance ou de régulation des produits de consommation insistent notamment sur l'absence de mesures fiables pour traiter sérieusement les risques potentiels des nanoparticules dans le domaine de la santé et de l'environnement. La notion de dimension caractéristique est, comme la quantité, déterminante pour étudier la dangerosité potentielle des nano-objets. Dans ce contexte, il est urgent de développer des instruments capables de mesurer de façon spécifique les nanoparticules manufacturées. A la notion de dimension, on peut ajouter celle de morphologie car depuis les affaires relatives à l'amiante, il a été démontré que ce paramètre peut avoir une grande importance dans la rétention de nano-objets dans les tissus biologiques. Tout ceci impose qu'au niveau national et international une chaîne de traçabilité et d'étalonnage spécifique soit mise en place. Or, la nanométrologie, c'est-à-dire la science de la mesure à l'échelle du nanomètre n'en est qu'à ses débuts. Même si les Instituts Nationaux de Métrologie (INMs) européens possèdent des instruments de mesure, les méthodologies sont seulement en cours de développement et les matériaux de référence font défaut, rendant souvent impossible la mise en place d'inter-comparaisons sérieuses pour échanger ou comparer des données de mesures. De plus, peu de normes sont actuellement disponibles et un grand chantier s'ouvre dans ce domaine. Les principaux organismes internationaux impliqués dans la normalisation des nanomatériaux réfléchissent à des protocoles de caractérisation et des méthodes de mesures reproductibles et reconnus par tous. Une fois ce travail réalisé, les entreprises seront alors capables de fournir des informations claires sur les nanoproduits qu'elles fabriquent ou utilisent.

Dans ce contexte, le LNE développe depuis 2010 une plate-forme de CARactérisationMEtrologique des Nanomatériaux (CARMEN) qui permettra à terme l'établissement d'une fiche d'identité pour chaque nanoparticule composée des principaux paramètres pertinents pour une caractérisation complète d'une population de nanoparticules. Les études entreprises au sein de cette plateforme ont aussi pour but de mettre en place toutes les chaînes de traçabilité des mesurandes liés à la caractérisation des nano-objets. Cette plate-forme, unique en France, installée dans un environnement contrôlé, est mise au service de l'industrie et du monde académique. Elle permet aussi de soutenir les études toxicologiques

et éco-toxicologiques en cours, sur l'évaluation des risques liés à l'utilisation de nanomatériaux. Elle est constituée de l'ensemble des instruments (AFM, MEB, DRX, BET, zétamétrie, etc…) nécessaires pour la mesure des paramètres caractéristiques des nano-objets tels qu'ils ont été définis par les travaux de l'ISO TC 229/SC (en charge de la normalisation des nanomatériaux) :

- la dimension,
- la polydispersité,
- la composition chimique,
- la structure cristallographique,
- la morphologie,
- l'état d'agrégation ou d'agglomération,
- la surface spécifique
- la charge en surface et
- la chimie de surface
- la solubilité et la dispersibilité.

Cependant, la nanométrologie dimensionnelle reste une première étape déterminante pour le développement de cette plate-forme. Elle permet une mesure absolue et traçable des paramètres géométriques qui caractérisent un nano-objet. Le sujet de ces travaux de thèse est focalisé sur le développement de la métrologie dimensionnelle de nano-objet par AFM (Atomic Force Microscope) et MEB ou SEM (Microscope Electronique à Balayage – Scanning Electron Microscope). Pour atteindre cet objectif, les équipements doivent absolument être étalonnés.

Ces deux instruments sont les plus répandus dans les Instituts Nationaux de Métrologie (INMs) pour le développement de la nanométrologie dimensionnelle car ce sont les seuls capables d'atteindre des résolutions nanométriques facilement traçables au SI. L'AFM tire son haut pouvoir résolutif de la mise en interaction de l'échantillon à imager avec une fine pointe dont l'extrémité possède un rayon de courbure d'environ 10 nm. Les résolutions obtenues sont inférieures au nanomètre verticalement (Z) et dépendent horizontalement (XY) de la géométrie de la pointe.

Le MEB est un outil de caractérisation très polyvalent avec une grande vitesse de balayage et une très grande gamme de mesure. Les progrès réalisés dans les domaines des sources à électrons et la maîtrise des faisceaux électroniques permettent aujourd'hui d'atteindre des résolutions latérales inférieures au nanomètre avec les MEB de dernière génération, ce qui les rend compétitifs pour la mesure dimensionnelle de nanoparticules. A l'inverse de l'AFM, le MEB ne permet pas de mesure suivant l'axe vertical mais donne seulement un contraste de niveau de gris.

En termes de résolution et de sensibilité, le MEB et l'AFM sont donc complémentaires car ils compensent leurs défauts respectifs. En exploitant cette complémentarité et en combinant les mesures, il est alors possible de caractériser dans les trois dimensions de l'espace le nano-objet à étudier avec des incertitudes connues.

Cependant, pour assurer la traçabilité des mesures, les équipements doivent absolument être étalonnés. Ainsi, le LNE développe depuis plusieurs années un AFM métrologique (mAFM), instrument de métrologie primaire qui, dans la plupart des INM, est le premier maillon de toute la chaîne de traçabilité. En effet, son rôle est de relier les mesures réalisées à l'échelle du nanomètre (mesures AFM/ MEB par

exemple) à la définition du mètre SI. La mise en pratique de cette définition qui implique la seconde et la vitesse de la lumière dans le vide s'effectue grâce à des lasers stabilisés en fréquence. Un mAFM met en œuvre des interféromètres dont les sources lasers sont étalonnées en longueur d'onde et mesurent en temps réel la position relative de la pointe par rapport à l'échantillon. Dans ce domaine, le LNE a acquis une expertise reconnue au niveau international. Le projet d'AFM métrologique au LNE est actuellement finalisé par un étudiant en thèse. Des structures de référence permettent ensuite le transfert de la valeur de référence vers les instruments à étalonner.

L'objectif de cette thèse est par conséquent de proposer des méthodes de mesures dimensionnelles traçables au SI à partir de deux techniques de microscopie complémentaires mais qui mettent en œuvre des principes physiques bien différents : d'une part les forces d'interactions pour la microscopie à force atomique et d'autre part les interactions électrons-matière pour le MEB.

Pour chacune de ces deux techniques et dans le cas de mesures effectuées sur des nanoparticules, trois étapes peuvent être identifiées :

- L'échantillonnage
- La mesure
- Le traitement des données

La maîtrise de ces trois étapes permet d'améliorer de manière significative à la fois l'exactitude et l'incertitude de mesure. Nous nous sommes efforcés d'étudier l'impact de chacune de ces étapes sur le résultat de mesure et de proposer pour chacune d'elles des possibilités d'amélioration.

Evaluer l'incertitude de mesure et tenter de la minimiser signifie caractériser complétement chaque instrument et déterminer l'ensemble des sources d'erreurs qui peuvent impacter la mesure et nous éloigner de la « valeur vraie ». L'étude sur la mesure de nanoparticules nous a obligés à développer nos propres structures de référence car aucune n'est actuellement disponible. Ces structures de transfert ont notamment permis de détecter les défauts respectifs des deux instruments. Afin de valider les méthodes proposées, des nanoparticules synthétisées par chimie des solutions dans l'équipe de Jean-François Hochepied (localisée à l'ENSTA ParisTech/ Unité Chimie et Procédés) ont été utilisées.

Pour l'étape de traitement des images acquises par AFM et par MEB, nous nous sommes confrontés au même problème : aucun produit commercial n'était métrologiquement satisfaisant. L'un des défis de cette thèse fut de développer un logiciel adapté aux méthodes proposées et qui présente la particularité d'être semi-automatique pour sélectionner manuellement les nano-objets à insérer dans la distribution en taille et ainsi éviter les erreurs induites par les agglomérats.

Nous mettrons aussi en évidence dans ce mémoire comment il est possible de combiner les mesures provenant de deux techniques de microscopies différentes pour mieux caractériser les propriétés morphologiques du nano-objet considéré. Le passage d'un instrument à l'autre nécessite le développement d'un système de repositionnement car il est souvent impossible de retrouver le groupe de nano-objets que l'on souhaite analyser. Nous définirons le concept de métrologie hybride.

CHAPITRE 1

LA MESURE DIMENSIONNELLE DE NANOPARTICULES

Dans ce chapitre, nous définirons les nanomatériaux et décrirons leurs propriétés spécifiques liées à leur taille nanométrique. Nous montrerons que ces spécificités sont à l'origine du développement important des nanotechnologies et de leur utilisation, qui est cependant limitée par le manque de métrologie associée. Enfin, nous décrirons différentes techniques de mesure dimensionnelle de nanoparticules et nous nous attarderons sur les techniques de microscopie à force atomique (AFM) et de microscopie électronique à balayage (MEB) qui font l'objet de cette thèse.

1 GENERALITES SUR LES NANOMATERIAUX

1.1 Définition des nanomatériaux

A l'heure actuelle, il n'existe pas de définition unique et reconnue au niveau international d'un nanomatériau. Cependant, de nombreuses organisations internationales ont engagé des travaux dans ce domaine, ce qui a abouti à une multitude de définitions[1]. Le comité technique en charge de la normalisation (TC229) de l'organisation internationale de normalisation (ISO) définit, par exemple, un nanomatériau uniquement par une taille affectée à une dimension externe (nano-objet) ou interne (matériaux nanostructurés)[2]. De par cette définition, un nano-objet possède une ou plusieurs dimensions caractéristiques externes dans le domaine nanométrique. Par conséquent, un nano-objet possédant :

- une dimension caractéristique dans ce domaine est une couche mince ou un nano-feuillet.
- deux dimensions caractéristiques dans ce domaine est un nano-fil.
- trois dimensions caractéristiques dans ce domaine est une nanoparticule.

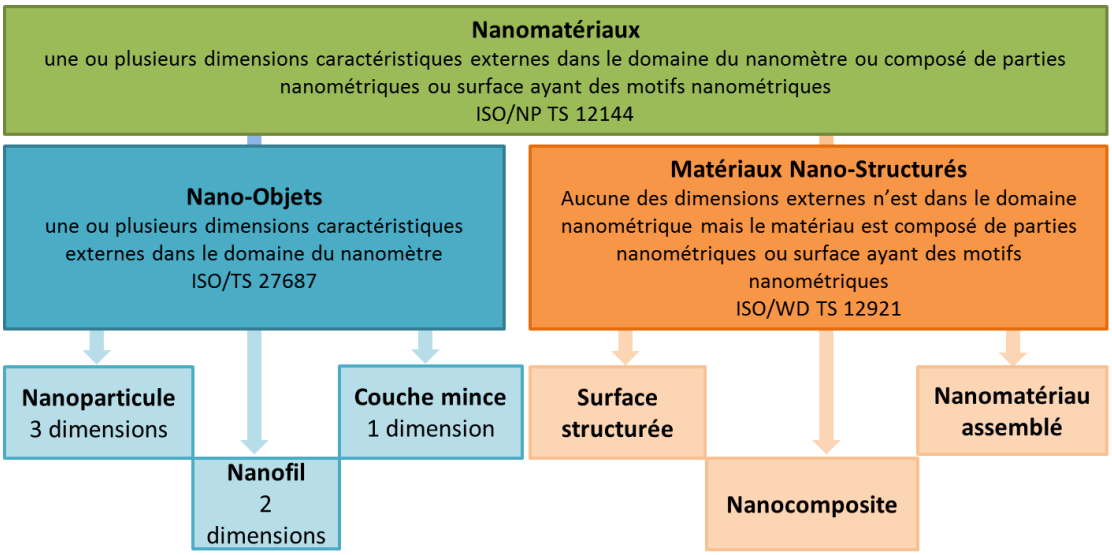


Figure 1-1 :Classement des nanomatériaux selon la définition de l'ISO/TC 229.

Un matériau nanostructuré n'a quant à lui aucune dimension externe dans le domaine du nanomètre. Il convient alors de définir le « domaine nanométrique ». Ce domaine a été défini par l'ISO TC 229, en accord avec le comité européen de normalisation (CEN/TC352) comme étant « compris entre 1 nm et 100 nm approximativement». Grâce à la limite inférieure, les atomes et certaines molécules (en dehors des macromolécules) sont exclus de ce domaine. La limite supérieure (~100 nm), quant à elle, ne fait pas l'unanimité. Certaines propriétés spécifiques aux « nanos » apparaissent dès l'échelle sub-micronique pour certains matériaux. Ce sont justement ces propriétés, parfois nouvelles, qui peuvent considérablement différer de celles du même matériau (même composition chimique, même structure cristallographique) à l'état massif que certains organismes souhaiteraient voir apparaitre dans la définition des nanomatériaux. Ainsi, des définitions non-officielles du domaine nanométrique ont pu voir le jour et indiquent que celui-ci se situe entre « l'état moléculaire et l'état massif, ce qui est typiquement, mais pas exclusivement, au-dessous de 100 nm»[3]. Cette définition a l'avantage de ne pas exclure les nanomatériaux qui auraient des propriétés différentes de celles de l'état massif au-dessus de cette limite supérieure arbitraire fixée à 100 nm. A l'inverse, et de façon à tenir compte de cette considération, l'ACC (American Chemistry Council) souhaiterait exclure de la définition de nanomatériaux « les matériaux qui ne présentent aucune propriété nouvelle/originale/unique comparée à la forme massive du matériau de même composition chimique»[1].

Enfin, des conditions concernant la quantité de nano-objets peuvent être ajoutées à la définition des nanomatériaux. C'est ainsi que la Commission Européenne[4] indique dans une recommandation qu'un matériau est défini comme « nanomatériau » si celui-ci est un *« matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégatd ou sous forme d'agglomérats, dont au moins 50% des particules dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm* ».

1.2 Propriétés spécifiques des nanoparticules : effet de taille

Comme indiqué précédemment, les propriétés physiques et chimiques d'un nanomatériau apparaissent souvent bien différentes de celles du même matériau à l'état massif. De plus, la grande originalité des nanomatériaux réside dans le fait que ces propriétés varient en fonction de leur(s) dimension(s) caractéristique(s). Dans ce paragraphe, nous verrons, à partir de quelques exemples, pour quelles raisons et dans quelle mesure les propriétés des matériaux peuvent être affectées lorsque la taille de l'objet devient nanométrique.

1.2.1 Effet de surface

Dans le cas d'un matériau massif, le nombre d'atomes de surface est négligeable par rapport au nombre d'atomes total. Cependant, ces atomes de surface jouent un rôle prédominant entre le matériau et son environnement. Cette affirmation est encore vraie dans le cas des nanomatériaux, mais lorsque l'objet est nanométrique la proportion d'atomes de surface par rapport au nombre total d'atomes devient très importante. Une nanoparticule sphérique dont le diamètre est de l'ordre de 2 nm, par exemple, possède 50% de ses atomes constitutifs en surface[5]. Le fait qu'une majeure partie des atomes d'un nano-objet se trouve à la surface modifie ses propriétés physiques et chimiques, contrairement aux matériaux massifs pour lesquels la proportion d'atomes de surfaces est faible et par conséquent pour lesquels les effets qui leurs sont liés sont limités. Cette caractéristique est, par exemple, largement utilisé dans le domaine de la catalyse[6], puisque la surface disponible par unité de volume est considérablement augmentée. De plus, les liaisons pendantes (électrons non appariés) des atomes de surface sont responsables de la grande réactivité des nanoparticules. Ces dernières réagissent fortement avec leur environnement, ce qui explique que leurs propriétés de surface peuvent être complétement modifiées durant leur cycle de vie.

1.2.2 Thermodynamique des nanosystèmes

Aussi, la thermodynamique des nanosystèmes est profondément modifiée par rapport à la thermodynamique des matériaux massifs. L'effet de taille change considérablement les transitions de phase notamment, avec un abaissement des températures de transition, une diminution des chaleurs latentes, et un élargissement du domaine de coexistence des phases.

Ainsi, on observe dans l'exemple ci-dessous l'évolution de la température de fusion de nanoparticules d'or[7] ou d'étain[8] en fonction du diamètre de celles-ci (Figure 1-2).

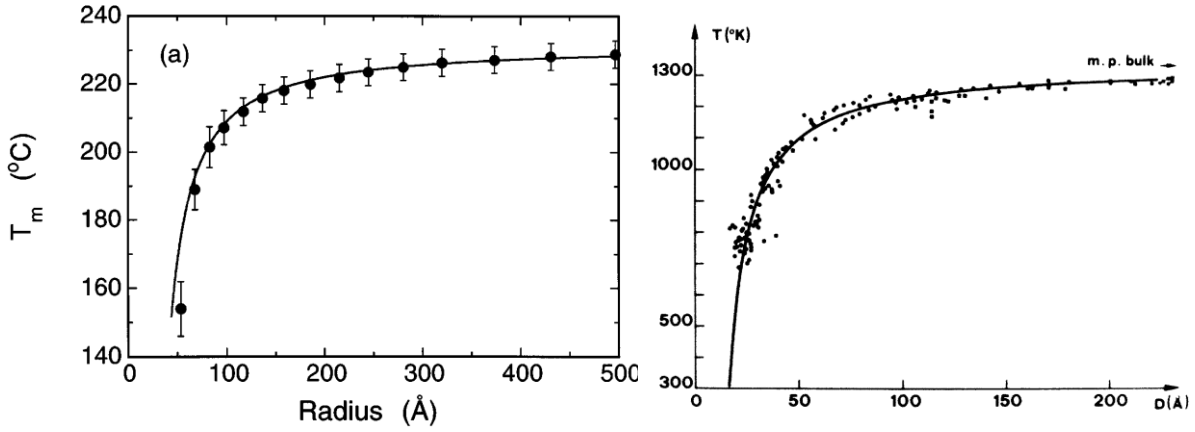


Figure 1-2 : Evolution du point de fusion de nanoparticules d'étain[8](gauche) et d'or[7] (droite) en fonction de leur taille.

Sur ces figures, on observe l'abaissement important des températures de fusion en fonction de la réduction de la taille des nanoparticules d'or ou d'étain.Pour l'étain, on observe qu'au-dessus de 20 nm, la température de fusion est de 230°C et qu'au-dessous de cette taille, la température de fusion diminue brusquement pour atteindre environ 150°C pour une taille de particule égale à 5 nm. Pour l'or, cette taille de transition est observée à 5 nm, et la température de transition solide-liquide est quasiment divisée par deux, en passant de 1200°C pour des particules de 5 nm à 700°C pour des particules de 2 nm.

1.2.3 Propriétés électroniques

Le changement de taille du nano-objet peut aussi avoir de l'influence sur la conductivité électrique du matériau[9]. Depuis les travaux du physicien Alan Herries Wilson en 1931, nous savons qu'il existe dans la matière des niveaux d'énergie si proches qu'ils se comportent comme des bandes d'énergie continues pouvant être occupées par des électrons. On distingue alors une « bande de valence » dans laquelle les électrons ne peuvent participer à des mouvements de conduction, et « une bande de conduction » qui autorise ces mouvements. Cependant, lorsque ces deux bandes sont séparées par une bande dite « interdite », les électrons sont confinés dans la bande de valence, l'énergie devant être fournie à l'électron pour passer de la bande de valence à la bande de conduction étant trop importante par rapport à l'énergie thermique : le matériau est isolant. Inversement, lorsque ces deux bandes se recouvrent partiellement, le matériau est conducteur. Enfin, lorsque le gap entre ces deux bandes est faible (< 3 – 4 eV), le matériau est appelé « semi-conducteur », car sous certaines conditions, des électrons de la bande de valence peuvent passer dans la bande de conduction.

Lorsqu'un matériau massif métallique ou semi-conducteur est réduit à l'échelle nanométrique, deux phénomènes apparaissent : (i) la structure de bande disparait au profit d'une discrétisation des niveaux d'énergie de la bande de valence et de conduction, et (ii) une bande interdite apparait dans le cas d'un matériau conducteur et celle-ci s'élargit continuellement lorsque la taille du nano-objet diminue. Ainsi, un matériau métallique à l'échelle macroscopique peut devenir isolant à l'échelle nanométrique (par exemple le mercure). Cette évolution est schématisée en Figure 1-3. De plus, ce mécanisme est à l'origine de certains phénomènes quantiques qui apparaissent au sein des nanoparticules en-dessous d'une certaine taille. En réalité, ceci met une fois de plus l'accent sur le fait que le domaine des

nanomatériaux est un domaine de transition entre le monde atomique et le domaine des matériaux massifs, dans lequel les électrons remplissent des niveaux discrets d'énergie et celui des matériaux massifs caractérisé par une structure de bande d'énergie.

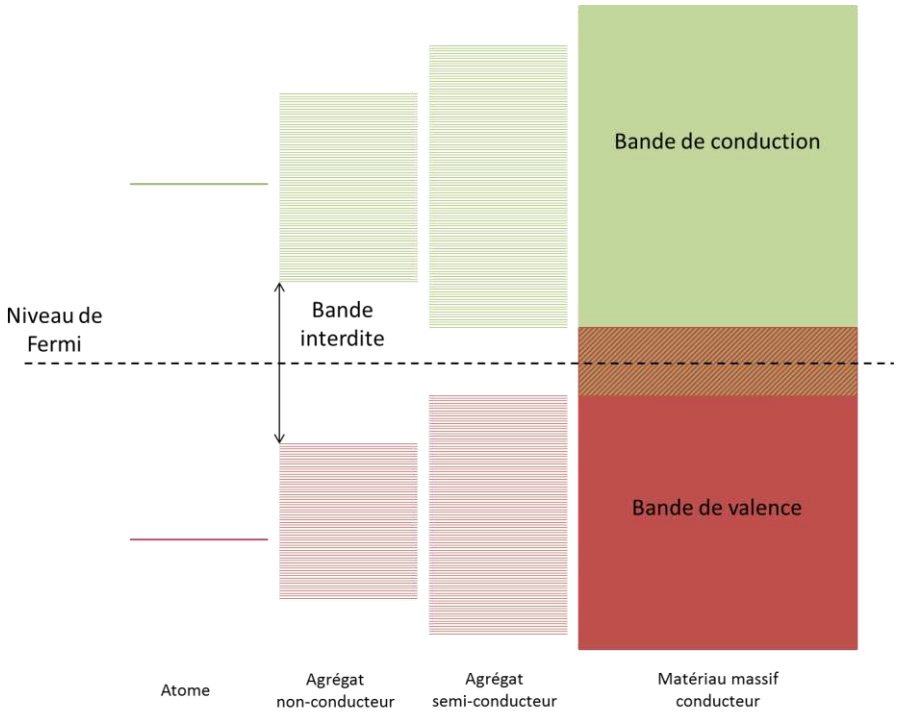


Figure 1-3 : Représentation schématique des niveaux d'énergie de valence et de conduction d'un atome, d'agrégats de taille nanométrique et d'un matériau conducteur à l'état massif.

1.2.4 Propriétés optiques

Comme mentionné précédemment, la structure électronique des matériaux est modifiée par l'effet de taille. En effet, dans le cas, par exemple, de nanoparticules semi-conductrices, la bande interdite de la structure électronique augmente lorsque la taille de la nanoparticule diminue. Ce phénomène est appelé « effet de confinement quantique » et peut être facilement observable avec des suspensions colloïdales de nanoparticules de CdSe dont le diamètre varie entre 2 nm et 8 nm (Figure 1-4). Dans ce domaine de taille, le diamètre de la nanoparticule devient comparable au rayon de Bohr. Ce rayon caractérise la distance qui sépare l'électron qui apparait dans la bande de conduction lors d'une excitation et le trou créé dans la bande de valence. Lorsque la taille de la nanoparticule devient inférieure à cette longueur caractéristique de la physique des semi-conducteurs, l'électron est forcé de se rapprocher du trou d'où le terme confinement : cela entraîne l'élargissement de la bande interdite. Ainsi, si différentes suspensions colloïdales de CdSe sont observées en absorption, la fréquence de la radiation*v* absorbée est fonction de la taille des nanoparticules de chaque suspension. Plus la taille des nanoparticules est faible (environ 2 nm), plus la lumière émise sera proche du bleu, caractérisant une énergie de bande interdite *hv* importante. Inversement, lorsque le diamètre des nanoparticules approche 8 nm, la couleur est proche du rouge caractérisant une énergie de bande interdite plus faible.

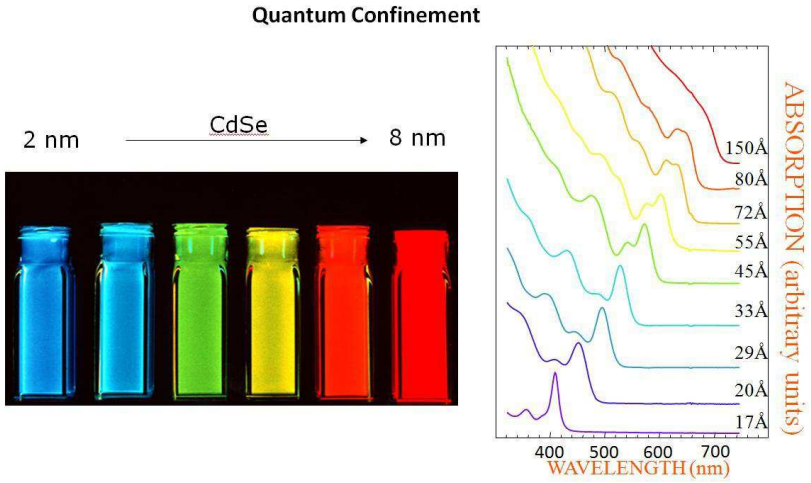


Figure 1-4 : Observation de la modification des propriétés optiques en fonction de la taille des particules : photographie de suspensionscolloidales de CdSe observées en fluorescence et spectre d'absorption de particules de CdSe en fonction de la taille de celles-ci[10].

1.2.5 Propriétés magnétiques

Comme nous venons de le voir précédemment avec le rayon de Bohr, lorsque la taille des nanoparticules est inférieure à certaines dimensions caractéristiques de la physique, des propriétés nouvelles apparaissent. Un autre exemple existe avec la modification de la structure magnétique qui intervient au sein des nanoparticules lorsque le diamètre de celles-ci est inférieur à l'épaisseur d'une paroi de Bloch.

Un matériau massif aimanté est généralement divisé en de nombreuses régions polarisées (domaines de Weiss). Au sein de chaque région, les moments magnétiques atomiques s'alignent spontanément et sont donc parallèles les uns aux autres. Afin de minimiser l'énergie magnétique totale, les lois de la physique thermodynamique impliquent que la polarisation change entre deux régions limitrophes. Ces régions sont séparées par des parois, appelées paroi de Bloch, dans lesquelles le moment magnétique atomique se retourne progressivement pour passer d'une orientation à l'autre.

Si un nanomatériau comme une nanoparticule possède des dimensions caractéristiques inférieures à l'épaisseur d'une paroi de Bloch (pour exemple pour le fer cristallisé en *cc*, l'épaisseur de la paroi de Bloch est de 42 nm), la création des domaines de Weiss est impossible et la nanoparticule est qualifiée de mono-domaine. Au sein de celle-ci, tous les moments magnétiques sont parallèles (à l'exception des atomes de surface) et induisent un macro-moment magnétique permanent.

Cette structure magnétique mono-domaine des nanoparticules implique une propriété particulière qui est le super-paramagnétisme et qui fut découvert par L. Néel en 1949[11]. Ce comportement est proche du paramagnétisme des atomes mais concerne des moments magnétiques dont la valeur est beaucoup plus importante que le moment magnétique atomique. Les propriétés de ces nano-aimants permanents sont utilisées en médecine pour la médication vectorielle ou l'imagerie. Un autre phénomène intervient lorsque la taille des nanoparticules diminue ; en effet, des résultats ont montré que le moment magnétique porté par les atomes constitutifs de cette particule augmente.

Des résultats, obtenus par l'équipe de I. Billas[12], qui concernent le fer, le cobalt, et le nickel, sont présentés Figure 1-5.

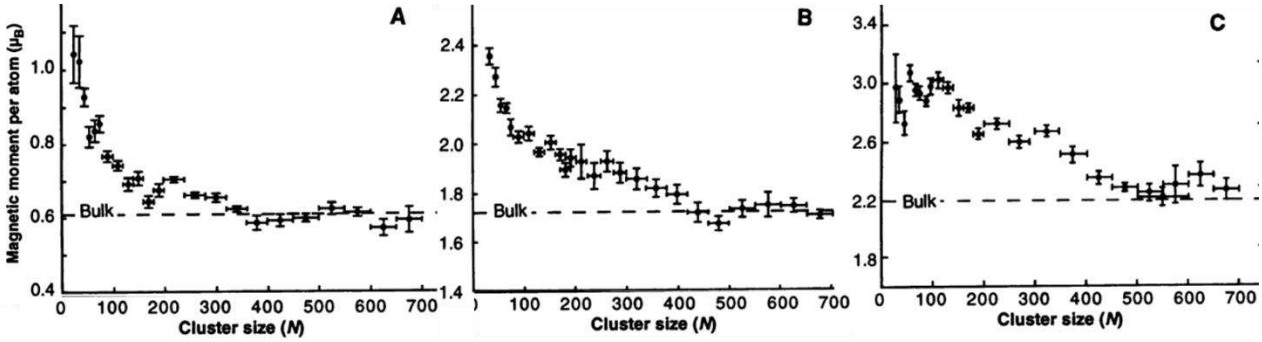


Figure 1-5 : Evolution du moment magnétique du Nickel (A), du Cobalt (B) et du Fer (C) en fonction de la taille des nanoparticules exprimée en nombre d'atomes.

1.2.6 Propriétés structurelles

Certaines études tendent à montrer que l'effet de taille implique des variations sur le paramètre de maille des éléments cristallisés. En effet, les contraintes de surface entraînent une contraction ou une expansion de la distance entre les atomes[5,13,14,15]. Plus la taille de la particule est réduite, plus ces contraintes sont fortes comme le montre l'étude de l'évolution de la distance inter-atomique en fonction de l'inverse du diamètre des nanoparticules de Nickel et de Cuivre dont les résultats sont reportés en Figure 1-6.

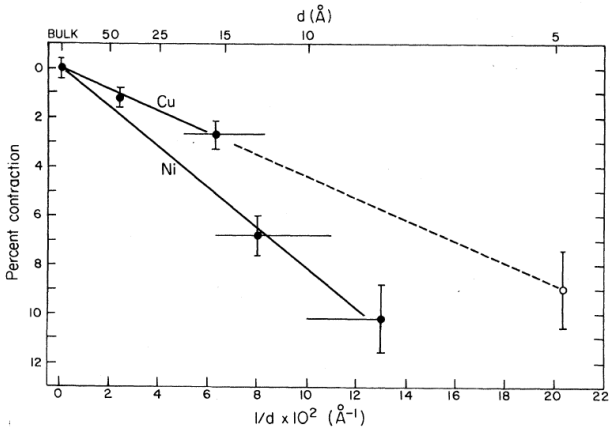


Figure 1-6 : Evolution de la distance entre les atomes (paramètre de maille) pour des particules de Nickel et de Cuivre en fonction de la taille des nanoparticules[13].

La forme des cristaux est également impactée par l'effet de taille. Lors de la croissance, les atomes de surface se positionnent de façon à minimiser l'énergie de surface du cristal formé. Cependant, certaines morphologies peuvent être observées uniquement à l'état nanométrique. Par exemple, pour les particules de métaux cristallisant sous forme *cfc*, alors que la forme la plus fréquemment rencontrée est l'octaèdre tronqué quelle que soit la taille de la particule, l'icosaèdre[16] est observé dans le cas des petits nanocristaux alors que cette structure est thermodynamiquement instable. Des exemples de ces deux morphologies, rencontrées lors de cette thèse, sont présentées en Figure 1-7.

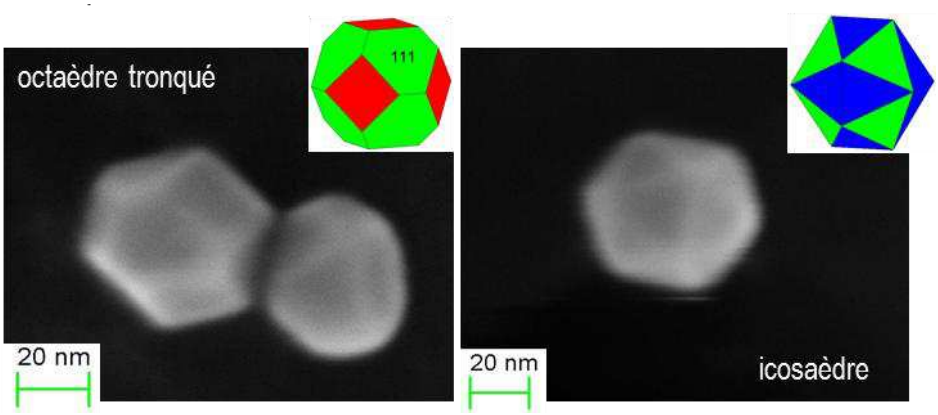


Figure 1-7 : Représentation schématique et image MEB effectuée au cours de la thèse de nanoparticules d'or cristallisée (fournies par Sigma Aldrich) en un octaèdre tronquéet en icosaèdre.

1.3 Intérêts et impacts de l'utilisation courante des nanomatériaux

De nombreuses propriétés physico-chimiques des nano-objets sont ainsi impactées par l'effet de taille et des propriétés nouvelles peuvent ainsi apparaître. Des performances jamais atteintes jusqu'à aujourd'hui sont envisageables par l'intégration de ces nano-objets dans des matériaux nouveaux. Par conséquent, l'intérêt que portent les scientifiques et les industriels pour les nanomatériaux n'a cessé d'augmenter depuis le début des années 2000 avec la possibilité de concevoir « à la carte » un nanomatériau avec la propriété (optique, mécanique, magnétique…) souhaitée. Ainsi, le nombre de publications liées au mot-clef « nanomaterials » est passé de un en 1994 à 6873 en 2014 (base de données Scopus) comme l'indique l'histogramme en Figure 1-8.

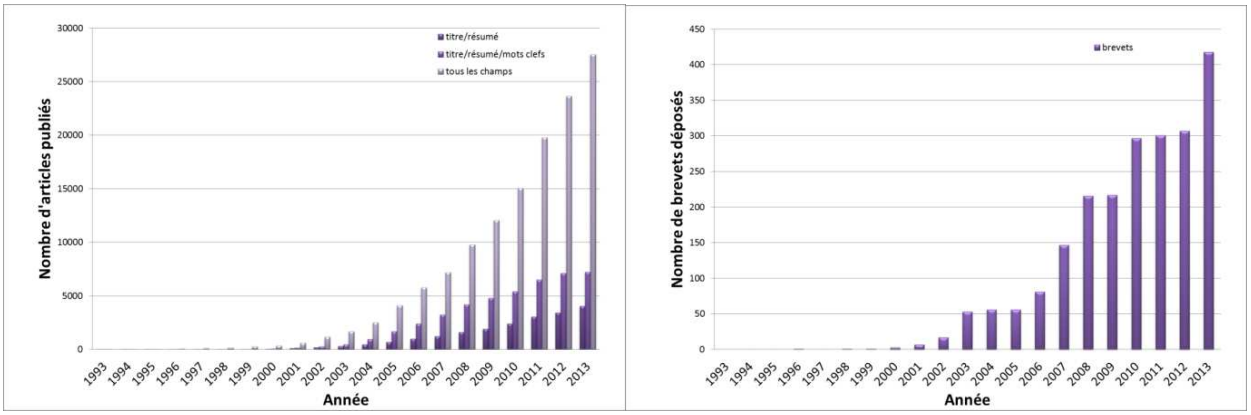


Figure 1-8 : Evolution du nombre de publications scientifiques déposées ayant pour mot-clef le terme « nanomaterial ». La base de données utilisée est Scopus (gauche). Evolution du nombre de brevets déposés ayant pour mot-clef « nanomaterial » (droite). La base de données utilisée est WorldWide d'Esp@net.

De nombreux secteurs industriels utilisent d'ores et déjà les propriétés des nanomatériaux afin d'améliorer leurs produits[17] :

- Informatique et électronique : miniaturisation des processeurs, nano-argent comme agent antibactérien sur les claviers et les souris d'ordinateurs
- Médecine : transport ciblé de substances actives, radiothérapie ciblée, imagerie médicale, tables d'opération antibactériennes
- Cosmétique et produits d'hygiène : crèmes solaires à filtre UV, dentifrice contenant des particules abrasives, pansements antibactériens…
- Alimentation : agent anti-agglomérant comme par exemple dans le sel de cuisine, emballages « intelligents »
- Bâtiment et travaux publics : peintures et vernis, vitres autonettoyantes…
- Sports et loisirs : Raquettes de tennis, cadre de vélo, peluches contenant du nano-argent pour leur action antibactérienne
- Automobile : vitres autonettoyantes, peintures, pneus, pots catalytiques…

1.4 Problèmes posés par l'identification d'un nano-objet

Alors qu'une molécule peutêtre décrite entièrement grâce à deux paramètres qui sont l'identité chimique et la conformation moléculaire (les paramètres physiques et chimiques lui correspondant étant uniquement dépendants de ces facteurs)une nanoparticule ne peut être identifiée uniquement grâce à deux paramètres. Des paramètres tels que la taille, la forme, l'état cristallin, la surface spécifique, et bien d'autres sont essentiels pour décrire un nano-objet car ses propriétés physico-chimiques en dépendent. Alors qu'il a été possible de constituer des familles de molécules, nous sommes encore à ce jour incapable de définir des familles de nanoparticules. Ceci est un handicap certain notamment pour les études toxicologiques et éco-toxicologiques pour lesquelles une étude au cas par cas est nécessaire.

Le problème devient encore plus complexe lorsque l'on parle d'une population de nanoparticules dans son milieu: l'identification de l'objet isolé n'est plus suffisante pour décrire entièrement le système, et les interactions des particules entres elles et entre les particules et leur milieu doivent également être prises en compte lors de son identification. Des paramètres tels que la charge en surface ou encore l'état d'agrégation/agglomération doivent alors apparaître lors de la description de systèmes « nano ». De nombreuses études sont disponibles sur le sujet, listant plus ou moins de paramètres caractéristiques[18,19,20,21,22]. Les travaux de l'ISO TC 229/SC (en charge de la normalisation des nanomatériaux) définit quant à lui les paramètres caractéristiques pour décrire une population de nanoparticules comme étant :

- la dimension,
- la polydispersité,
- la composition chimique,
- la structure cristallographique,
- la morphologie,
- l'état d'agrégation ou d'agglomération,
- la surface spécifique
- la charge en surface et
- la chimie de surface.
- la solubilité et la dispersibilité.

La description d'un système « nano » est très complexe.Le développement de méthodes de mesureet d'échantillons de référencen'est pas assez soutenu. L'exemple de la micro-électronique est éloquent. Depuis l'émergence de l'industrie du semi-conducteur, l'objectif est d'augmenter de façon constante la vitesse des circuits et la capacité d'enregistrement des dispositifs. La stratégie consiste à réduire la taille des transistors utilisés pour en augmenter la densité et jouer sur l'épaisseur des grilles et des oxydes. Le paramètre déterminant en micro-électronique est le CD (critical dimension/dimension critique) qui représente la dimension latérale de la plus petite structure 3D que le procédé peut fabriquer. Cependant, la première difficulté qui s'oppose à la mesure, au-delà dela complexité de sa compréhension, est la définition du mesurande. En effet, la mesure peut être effectuée en plusieurs endroits suivant l'axe Z, et plusieurs mesurandes peuvent alors être définis[23], comme la dimension critique à mi-hauteur de la structure ou la dimension critique au point haut de la structure. Si rien n'est précisé, la comparaison de deux travaux étudiant un même objet n'est pas forcément aisée.

De la même façon, les différentes mesures pouvant être effectuées sur les nanoparticules sont également impactées par le manque de méthodes de références et de matériaux de références. Ainsi, par microscopie électronique à transmission (MET), P. J. De Temmerman liste 23 mesurandes pour déterminer la taille, la forme et la topologie de surface de nanoparticules[24], dont 7 correspondent uniquement à la dimension latérale de la particule. Pour une même technique, il est donc indispensable de préciser lors d'une étude quelle méthode et quel mesurande permettent de déterminer le paramètre qui sera appelé « taille ». Il est bien entendu que pour des techniques de mesure différentes, la comparaison du paramètre appelé « taille » sera encore plus complexe. L'unification et la création de méthodes de référence est donc clairement nécessaire au développement des nanosciences. De plus, répondre au besoin de matériau de référence qui permettrait d'étalonner les instruments, de mettre en place des systèmes qualité et des comparaisons inter-laboratoires est également un défi. En effet, il faudrait que l'échantillon référent réponde au besoin d'homogénéité pour une ou plusieurs propriétés spécifiques le caractérisant physiquement et/ou chimiquement. Des propositions de matériau de référence pour la mesure de taille de nanoparticulesa été étudiée par T. P. J. Linsinger et ses collaborateurs[25] selon les disponibilités des matériaux ainsi que des techniques d'analyses existantes.

De plus, les interrogations sont de plus en plus nombreuses concernant le risque potentiel des nanomatériaux et plus particulièrement des nanoparticules sur l'environnement et la santé. Les efforts se concentrent notamment sur l'interaction et les effets des nano-objets avec/sur les cellules vivantes. Là encore, la métrologie apporterait une cohérence dont les chercheurs ont besoin pour comparer leurs travaux. Une étude bibliographique de F. Schrurs et D. Lison[26] met en lumière le manque de cohérence des recherches scientifiques en recherchant la réponse à 6 questions de base dans 38 publications scientifiques concernant la toxicologie de nanoparticules de silice. Sans remettre en doute le sérieux des travaux sélectionnés, ils montrent que les réponses aux questions posées sont très variables et sont parfois même contradictoires, concluant par exemple pour certaines études que les particules de silice ne pénètrent pas dans les cellules, et pour d'autres qu'elles y pénètrent. La variabilité des réponses montre le manque d'harmonie des méthodes de mesure et des échantillons sélectionnés.

1.5 Recommandations des autorités – textes réglementaires

Malgré l'emploi massif des nanomatériaux aujourd'hui et les questionnements concernant l'impact toxicologique et éco-toxicologique de ceux-ci, peu de réglementations concernent leur utilisation. Le règlement européen REACh prévoit l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation et les restrictions des substances chimiques. REACh donne aux industriels la responsabilité d'évaluer et de gérer les risques des produits chimiques et de communiquer les informations concernant la sécurité qui doivent être appliquées aux utilisateurs. Cependant, ce règlement ne permet pas de discriminer les éléments « nanos » des autres substances chimiques car seuls des critères concernant la chimie de la substance sont demandés pour les décrire[27] : composition chimique (constituants chimique principaux, additifs et impuretés), identité chimique (nom IUPAC, numéro CE et numéro CAS), informations moléculaires et structurelles (poids moléculaire, conformation). Pour les matériaux à l'état massif, ces critères sont suffisants pour décrire une substance de façon complète. En revanche ce n'est pas le cas pour les nanomatériaux dont les caractéristiques physiques et chimiques peuvent être modifiées en comparaison de leurs caractéristiques à l'état massif et dont la description doit prendre en compte de nombreux paramètres.

Seules des recommandations, datant de 2011, provenant de l'Union Européenne sont données concernant la définition de « nanomatériaux »[4,28]. Des recommandations plus abouties[29] et des clarifications à cette définition ont été apportées en 2014, en réponse aux problèmes rencontrés à sa mise en place. Aussi une règlementation à l'échelle européenne concernant leur utilisation dans les produits cosmétiques[30] est en cours d'application et prévoit la déclaration des nanoproduits aux autorités sanitaires compétentes et un étiquetage mentionnant leurs usages.

La France est la plus avancée concernant l'encadrement de l'utilisation des nanomatériaux et impose, depuis 2013, aux « *entreprises produisant, distribuant et important des substances à l'état nanoparticulaire et aux laboratoires publics et privés de recherche* »de « *déclarer les quantités et les usages de substances à l'état nanoparticulaire produites, distribuées ou importées en France* »[31]. Il est également indiqué dans le décret 2012-232 (JO) que cette déclaration annuelle obligatoire a pour objet de « *mieux connaître ces substances et leurs usages, de disposer d'une traçabilité des filières d'utilisation et d'une meilleure connaissance du marché et des volumes commercialisés et enfin de collecter des informations disponibles sur leurs propriétés toxicologiques et éco-toxicologiques* »[31].Ce décret définit comme substance à l'état nanoparticulaire les « *substances fabriquées intentionnellement à l'échelle nanométrique, contenant des particules, non liées ou sous forme d'agrégats ou sous forme d'agglomérats, dont une proportion minimale des particules*[50 %]*, dont la distribution en tailles en nombre, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm* ». De plus, l'arrêté du 6 août 2012[32] demande aux déclarants de communiquer <u>obligatoirement</u>:

- l'identification chimique de la substance (nom chimique, formule chimique, numéro CAS, et numéro CE, et nom commercial si existant),
- la taille moyenne des particules associée à un écart-type,
- la distribution en tailles des particules en nombre avec une courbe et la méthode utilisée pour l'obtenir,
- l'état d'agrégation et d'agglomération (et taille moyenne des agglomérats),
- la forme,

- le revêtement de la particule si existant,
- et enfin l'état de la substance nanoparticulaire (en l'état, mélange ou matériau destiné à rejeter de telles substances).

Le numéro d'identification REACh, la présence éventuelle d'impuretés, l'état cristallin, la surface spécifique et la charge de surface (potentiel zêta) ne sont des informations à communiquer que si elles sont disponibles lors de la déclaration. Plus récemment, la Belgique et le Danemark ont suivi la France en mettant en place des systèmes pour lister l'utilisation des nanomatériaux sur leur territoire.

Les premières données recueillies pour l'année 2013[33] indiquent que 670 entités françaises ont soumis au moins une déclaration (22% d'importateurs, 6% de producteurs, 68 % de distributeurs, 4% « autres » - laboratoires publics ou privés…). Il est également constaté que 280000 tonnes de substances à l'état nanoparticulaire sont produites en France et que 220000 tonnes sont importées. Le noir de carbone est la catégorie de substance la plus produite/importée avec 275000 tonnes, suivie par le dioxyde de silicium (silice amorphe) avec 155000 tonnes, et le carbonate de calcium avec 35000 tonnes. Il est cependant à signaler que la difficulté d'application et de compréhension du décret implique que les informations recueillies doivent être lues avec précautions. Un avis de l'Anses[17] (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail), chargée de gérer les données que les déclarations contiennent[31], indique notamment que certains nanomatériaux (nano-argent, nanotubes de carbone notamment) ne sont pas listés.

De plus, il est à noter la difficulté de la mise en place des multiples mesures pour les déclarants. D'une part, tous les déclarants ne possèdent pas l'instrumentation destinée à mesurer les paramètres demandés dans la déclaration. D'autre part, il est parfois difficile pour les potentiels déclarants de savoir s'ils sont réellement soumis à la réglementation, car il n'existe pas de protocole permettant de mesurer la part de nanoparticules (limitée à 50% dans la réglementation française, qui suit la réglementation européenne) en nombre dans leur matériau. De plus, si un protocole de mesure faisait l'unanimité, il faudrait également être en capacité d'associer une incertitude à cette mesure. Enfin, les problèmes de normalisation des protocoles et de métrologie associée sont également existants pour la détermination des autres paramètres de mesures permettant de caractériser un nano-objet.

2 NANOMETROLOGIE –TRAÇABILITE

La métrologie est la science de la mesure. Elle s'intéresse au processus de mesurage d'une grandeur et comprend aussi bien les aspects théoriques de sa description que les aspects pratiques de sa réalisation expérimentale[34]. Son objectif est de déterminer le résultat d'un mesurage dans un référentiel commun afin d'en faciliter les comparaisons et d'y associer une incertitude de mesure qui représente un taux de confiance sur le résultat.

D'après le GUM[35] (guide pour l'estimation des incertitudes et texte de référence du métrologue), l'objectif d 'un mesurage consiste à déterminer la valeur du mesurande , c'est- à-dire la valeur de la grandeur particulière à mesurer. En conséquence, un mesurage commence par une définition appropriée du mesurande, de la méthode de mesure et de la procédure de mesure. Le GUM ne parle pas de « valeur vraie » car les métrologues considèrent que les termes «valeur d'un mesurande» (ou d'une grandeur) et

«valeur vraie d'un mesurande» (ou d'une grandeur) sont deux termes équivalents. L'adjectif *vrai*est considéré ici comme redondant.

Cependant, le résultat d'un mesurage est seulement une approximation ou estimation de la valeur du mesurande et, de ce fait, est seulement complet lorsqu'il est accompagné par une expression de l'incertitude de cette estimation.

Le mot «incertitude» signifie doute et donc dans le domaine de la métrologie, «incertitude de mesure» signifie doute sur la validité du résultat d'un mesurage. Mais l'incertitude représente aussi la grandeur spécifique qui va fournir des mesures quantitatives du concept, et dans ce cas recouvre la notion d'écart-type.

La définition formelle du terme «incertitude de mesure», donnée par le GUM adoptée dans le VIM[34], est la suivante:

« paramètre associé au résultat d 'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande »

Trois notes sont associées à cette définition :

- Note 1 : Le paramètre peut être, par exemple, un écart type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé.
- Note 2 : L'incertitude de mesure comprend , en général , plusieurs composantes . Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique des résultats de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écarts-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écarts-types, sont évaluées en admettant des lois de probabilité, d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations.
- Note 3 : Il est entendu que le résultat du mesurage est la meilleure estimation de la valeur du mesurande, et que toutes les composantes de l 'incertitude, y compris celles qui proviennent d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux étalons de référence, contribuent à la dispersion.

Le travail du métrologue consiste à évaluer l'ensemble des sources d'erreur liées au processus de mesurage, d'exprimer chaque composante en nombre (bilan d'incertitude), puis de combiner toutes les composantes individuelles de l'incertitude en une seule incertitude globale.

La métrologie dimensionnelle à l'échelle du nanomètre ou nanométrologie dimensionnelle s'intéresse à la pratique de la mesure des dimensions caractéristiques d'objets, des distances et des déplacements allant de 1 nm à 1000 nm[36], le nanomètre étant égal à 10^{-9} mètre SI.

2.1 La nanométrologie : un catalyseur pour le développement des « nanos »

Malgré leur développement important, le progrès des nanotechnologies est freiné par le manque de métrologie et d'instrumentation adaptée au domaine nanométrique. Le monde scientifique s'accorde sur le fait que le développement de ces dernières aurait un effet catalyseur sur la recherche et le développement des nanotechnologies[37].

Les besoins métrologiques s'expriment à tous niveaux de la chaîne de valeur : de la recherche fondamentale, en passant par les laboratoires R&D à la chaîne de production. La mesure est aussi déterminantepour les études toxicologiques et éco-toxicologiques des nanomatériaux produits, et permettrait de mieux comprendre leur comportement en fin de vie.

En effet, les chercheurs ont besoin de corréler la mesure dimensionnelle de ces nano-objets avec les propriétés physiques nouvelles qui apparaissent à cette échelle afin d'en déterminer les paramètres limites. Ainsi, la recherche académique exprime des besoins en termes de méthodologie, d'instrumentation, de traçabilité, et de matériaux de référence.

Le secteur industriel doit quant à lui mettre en place une instrumentation fiable et capable de mesurer à l'échelle du nanomètre afin d'établir un système qualité permettant de reproduire des nanomatériaux et des nano-dispositifs avec un haut degré de précision. Un rapport de la « Royal Society and Royal Academy of engineering »[38] conclut que « *la rupture technologique créée par les nanosciences et les nanotechnologies ne se situe pas au niveau de la fabrication mais plutôt au niveau des outils utilisés pour observer et mesurer les propriétés et contrôler la fabrication à l'échelle nanométrique* ».

2.2 Système international d'unités (SI)

Le référentiel commun mis en œuvre et dans lequel les mesures sont comparables est le Système International d'unité (SI) définit par le Comité International des Poids et Mesures (CIPM) et adopté en 1960[39]. Ce référentiel défini sept unités de base (seconde, mètre, kilogramme, candela, mole, kelvin, ampère), leurs multiples et leurs sous-multiples, qui se rapportent chacune à une grandeur (voir Figure 1-9) et y associe une définition mathématique (excepté le kilogramme) basée sur des constantes fondamentales ou des propriétés invariantes de la nature, telles que la vitesse de la lumière dans le vide c ou encore la température du point triple de l'eau T_{PTE}. Il définit également une multitude d'unités dérivées de ces sept unités de base telles que le volt, le newton, le hertz, etc. Toute unité est ensuite représentée par une réalisation expérimentale qui fournit une valeur de référence, qui sera ensuite disséminée dans toute la chaîne de traçabilité et qui possèdera la plus faible incertitude. Il s'agit de l'étalon primaire qui est désigné ou largement reconnu comme présentant les plus hautes qualités métrologiques et dont la valeur est établie sans se référer à d'autres étalons de la même grandeur[34]. Le SI n'est pas figé et évolue de façon à s'adapter aux exigences industrielles et sociétales, aux évolutions technologiques et aux avancées scientifiques. La 24ème Conférence Générale des Poids et Mesures réunie en 2011 (CGPM) encourage d'ailleurs les métrologues à orienter leur recherches pour la redéfinition complète du SI[40] (voir Figure 1-9) grâce notamment à la dématérialisation de l'unité de masse, le kilogramme, qui est jusqu'alors défini comme étant la masse du prototype international du kilogramme (PIK) en platine iridié. Cette refonte totale du SI est prévue pour la prochaine CPGM de 2018. Le nouveau SI sera alors fondé sur un nombre restreint de constantes fondamentales qui revêtissent un caractère universel.

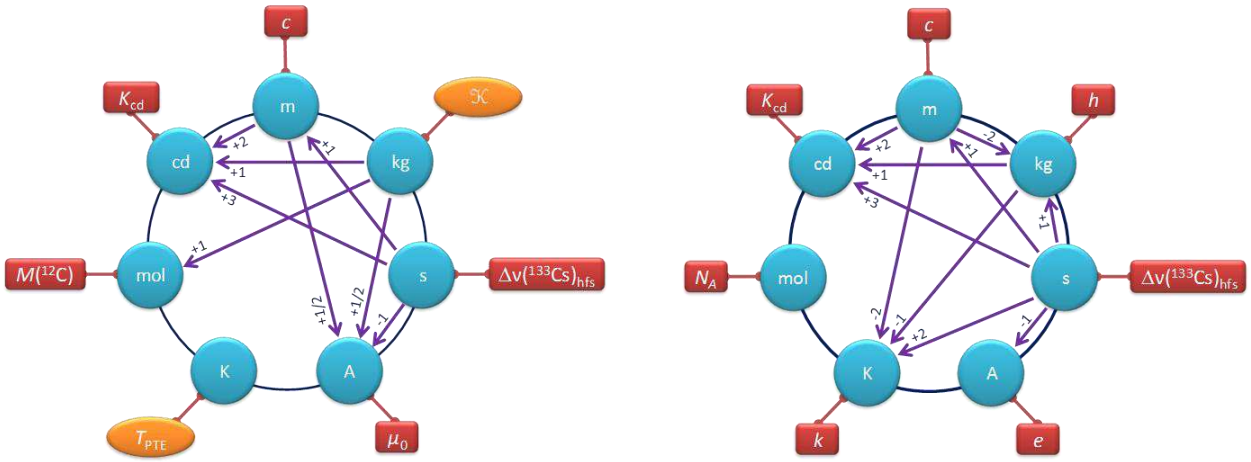


Figure 1-9 : Grandeurs du Système International d'unités actuel (gauche) et celui mis en œuvre uniquement à partir de constantes fondamentales dans les prochaines années(droite). Les sept unités de base sont : le mètre m (unité de longueur), le kilogramme kg (unité de masse), la seconde s (unité de temps), l'ampère A (unité d'intensité de courant électrique), le kelvin K (unité de température), la mole mol (unité mesurant la quantité de matière), et la candela cd (unité d'intensité lumineuse)[41].

2.3 Unité de longueur : le mètre SI

L'unité de longueur a eu plusieurs définitions et représentations au cours du temps. Ainsi, elle était associéeavant le 18ème siècle à des parties du corps humain (la coudée royale, pieds, pouces,…)[41]. La Révolution française a remis en cause cette définition anthropomorphique imparfaite car variable, et propose une définition scientifique et plus universelle d'une unité de longueur appelée mètre. Celle-ci est définie comme la distance correspondant à la dix-millionième partie du quart du méridien terrestre[42]. Ainsi, l'Académie des sciences, désigne en 1791 deux scientifiques, Delambre et Méchain, pour mesurer un arc de méridien terrestre par triangulation grâce à l'instrumentation de précision qu'est alors le cercle Borda. L'épopée durera plusieurs années avant que ne soit déposé en 1799l'étalon primaire, c'est-à-dire l'étalon de représentation (mètre étalon), qui est alors un barreau de platine. En 1960, la définition du mètre correspond à la « *longueur égale à 1650763,73 longueurs d'onde dans le vide de la radiation correspondante à la transition entre les deux niveaux 2p10 et 5d5 de l'atome de krypton 86* »[42]. Cette nouvelle définition est un progrès important car elle base la définition du mètre sur un paramètre quantique et confère un caractère universel à l'étalon, indépendant du repère spatio-temporel utilisé. Cela permet de réaliser des étalons primaires tous semblables. C'est en 1983, lors de la 17ème CPGM que la définition actuelle du mètre est établie par le biais de la définition de la seconde qui est dès lors basée sur la transition énergétique entre deux niveaux hyper-fins de l'atome de Césium 133. Le mètre y est défini alors comme la longueur du trajet parcouru dans le vide par la lumière pendant une durée de 1/299 792 458 seconde. La vitesse de la lumière dans le vide, *c*, est alors fixée, c'est-à-dire que sa valeur n'est entachée d'aucune incertitude.

2.4 Chaine de traçabilité pour les mesures dimensionnelles à l'échelle du nanomètre

De façon à raccorderà la définition du mètre SI une mesure dimensionnelle à l'échelle nanométrique, une chaine de traçabilité doit être établie. La notion de traçabilité est définie comme[34] :

[La] propriété du résultat d'un mesurage ou d'un étalon tel qu'il puisse être relié à des références déterminées, généralement des étalons nationaux ou internationaux, par l'intermédiaire d'une chaine ininterrompue de comparaisons ayant toutes des incertitudes déterminées.

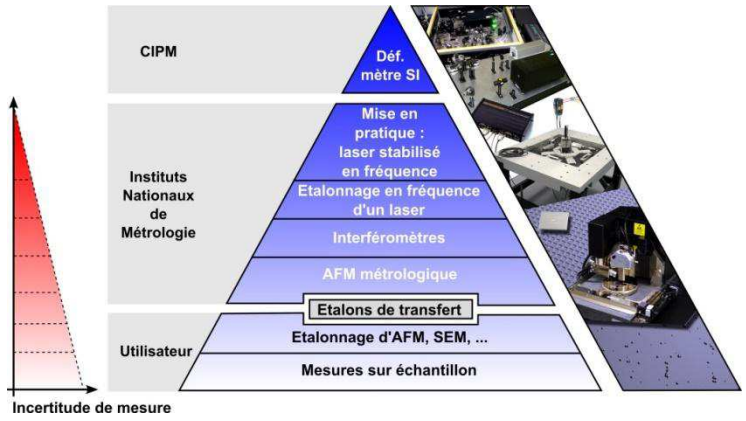


Figure 1-10 : Exemple de chaîne de traçabilité (microscopies) appliquée aux mesures dimensionnelles à l'échelle du nanomètre.

Au sommet de la pyramide de traçabilité Figure 1-10, nous retrouvons le mètre SI défini par la 17ème CGPM de 1983 (voir paragraphe 2.3) et, immédiatement en dessous de celui-ci, la réalisation pratique du mètre. Ce premier représentant expérimental de la définition du mètre, appelé étalon primaire, est un laser stabilisé en fréquence (He : Ne,Nd : YAG ou laser à colorant). Il est ensuite utilisé pour étalonner en fréquence d'autres lasers (étalons secondaires) utilisés plus couramment. Au niveau international, dans la plupart des Instituts Nationaux de Métrologie (INM) le lien entre la mesure à l'échelle du nanomètre et l'étalon primaire est assuré par des microscopes à force atomique – instrument détaillé en paragraphe 3.2.1 - dits métrologiques (mAFM, metrologicalAtomic Force Microscope) qui représentent la pierre angulaire des chaînes de traçabilités à l'échelle du nanomètre. On entend par mAFM, un AFM qui a pour fonction d'assurer la traçabilité au SI de la mesure topographique – à l'échelle nanométrique par l'intermédiaire d'une structure de référence qui peut se présenter sous la forme d'un réseau de motifs (Figure 1-10). Deux paramètres sont extraits de la mesure de cet étalon, appelé étalon de transfert : une hauteur de marche qui correspond à la hauteur moyenne des motifs suivant l'axe Z, et un pas de réseau qui correspond à la période des motifs suivant les axes X et Y. Les mAFMs mettent en œuvre un système interférométrique qui permet, pour chaque point de l'image obtenue, de fournir des coordonnées XYZ absolues, raccordées au SI, et données avec un niveau d'incertitude connu et maîtrisé.

Les mAFMs permettent d'étalonner en longueur tous types de microscopes (à force atomique, à effet tunnel, électronique à balayage…), c'est-à-dire des instruments qui fournissent des informations locales à partir de l'image du nano-objet étudié. Ces techniques sont dites directes car immédiatement traçables à l'unité de longueur SI.

De nombreuses autres techniques permettent de caractériser les propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules, par exemple la DLS (Dynamic Light Scattering) et la diffractométrie de rayons X (DRX). Ces techniques se basent sur des lois physiques et donnent des informations globales. Pour ces techniques, la mesure dimensionnelle fournie est donc déduite d'une formule mathématique. Ces techniques sont dites indirectes.

Les techniques directes permettent de fournir une mesure dimensionnelle physique tandis que les techniques indirectes fournissent un diamètre équivalent. La notion de diamètre équivalent est introduite[43] :

Si l'on note D_{eq}un diamètre équivalent, l'opération consiste à assimiler une particule de forme quelconque à une sphère de diamètre D_{eq}, toutes deux ayant en commun (au moins) une propriété (vitesse, surface spécifique…) physico-chimique. La Figure 1-11 représente une particule réelle de propriété *P* et une sphère équivalente de même propriété.

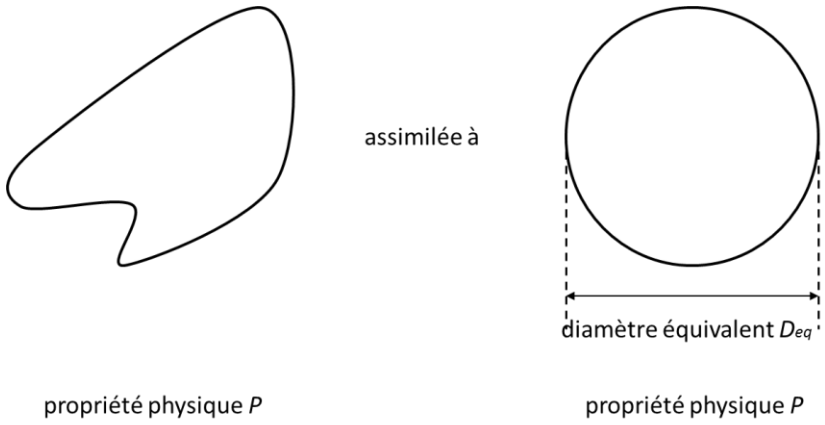


Figure 1-11 : Représentation schématique du diamètre équivalent d'une particule.

Quelques-unes des techniques de mesures dimensionnelles de nanoparticules directes et indirectes sont listées dans le paragraphe ci-après.

3 LES DIFFERENTES TECHNIQUES DE MESURES DIMENSIONNELLES DE NANOPARTICULES

3.1 Les techniques de mesures d'ensemble / méthodes indirectes

Dans ce paragraphe nous décrirons quelques-unes des techniques de mesures d'ensemble de nanoparticules qui sont des méthodes indirectes, c'est-à-dire non-traçables au mètre du Système International d'unités. Cependant, ces techniques ont un avantage certain : elles sont représentatives de l'ensemble de la population des nanoparticules analysées, et elles sont rapides. De plus, leur coût est moindre comparé aux techniques de microscopies et elles demandent moins d'expertise. Ces techniques sont donc souvent présentes dans les laboratoires ou dans l'industrie comme instruments de suivi de qualité.

3.1.1 Dynamic Light Scattering (DLS) / Diffusion dynamique de la lumière

Ce type de technique est très répandu dans le monde industriel, notamment parce que la mesure peut s'effectuer en ligne et avec de très faibles volumes d'échantillon. Malgré tout, elle reste représentative car les mesures sont effectuées à partir d'une quantité importante de particules. De plus cette méthode permet des analyses rapides.

Le principe de la technique est fondé sur les interférences qui apparaissent lorsqu'un faisceau laser traverse une suspension de nanoparticules. Des interférences se produisent quand la taille des nano-objets mesurés est de l'ordre de grandeur ou inférieure à la longueur d'onde du laser. Les variations d'intensité des motifs d'interférences sont acquises par le système de mesure. Une fonction d'autocorrélation comparant le signal d'entrée avec les variations d'intensité et prenant la forme d'une décroissance exponentielle permet d'obtenir un temps caractéristique τ directement lié à la vitesse des particules en suspension. Cette vitesse est reliée aux déplacements des nanoparticules qui sont soumises au mouvement Brownien. Or il existe une relation entre le coefficient de diffusion D_t et ce temps caractéristique qui peut s'écrire de la manière suivante :

$$D_t = \frac{q^2}{\tau}$$

oùq est fonction de la longueur d'onde et de l'angle de diffusion du laser utilisé, de l'indice de réfraction du milieu.

On en déduit ainsi le diamètre Ø des particules grâce à l'équation de Stokes-Einstein qui traduit le mouvement de particules dans un milieu de viscosité η et de température T:

$$\emptyset = \frac{K_B T}{6\pi\eta D_t}$$

oùK_B est la constante de Boltzmann.

Le diamètre Ø obtenu est appelé diamètre hydrodynamique et correspond au diamètre d'une sphère où le solvant ne pénètre pas. De plus, il faut prendre en considération le diamètre des particules dans leur milieu, c'est-à-dire comprenant leur couche diffuse (correspondant aux charges qui les entourent) et/ou les surfactants ajoutés. De ce fait, les mesures auront souvent tendance à être surestimées par rapport à des méthodes de mesure directes. Aussi, la technique ne permet pas de discriminer les nanoparticules seules des agglomérats puisque l'agglomérat a le même mouvement brownien qu'une particule de même taille que celui-ci.

Enfin, cette méthode est globale et lorsque l'échantillon est multimodal ou lorsque la distribution est large, la technique n'est pas adaptée. En effet, les particules de taille importante ont tendance à être mieux représentées que les particules de tailles plus petites puisque leur coefficient de diffusion est plus petit. De plus, cette technique ne permet pas de prendre en compte la forme des objets étudiés.

3.1.2 NanoparticleTrackingAnalysis (NTA) / Technologie NanoSight© (Malvern)

Cette méthode est basée sur le même principe que la DLS présentée dans le paragraphe précédent. Ici encore, un faisceau laser traverse une suspension de nanoparticules. Les particules diffusent de la lumière, mais dans ce cas ce n'est pas l'intensité totale des interférences qui est mesurée. En effet, ici, le mouvement Brownien des particules - qui est observé *via* le mouvement des interférences produites individuellement par les particules - est directement visualisé à l'aide d'une caméra CDD focalisée à l'endroit où les particules diffusent le plus de lumière. La vitesse des particules est déduite individuellement grâce à un logiciel qui permet de suivre ou « traquer » les mouvements des interférences. Le diamètre individuel des particules est ensuite déduit grâce à la relation de Stokes-Einstein.

3.1.3 Méthode BET (Brunauer, Emmett, Teller)

Le diamètre des particules calculé à partir de cette méthode s'effectue par le biais de la mesure de leur surface spécifique $S_{spé}$. La surface spécifique est déterminée en mesurant la surface totale sur laquelle un gaz (l'azote et le krypton sont généralement utilisés) peut être physisorbé à la surface du matériau. Cette méthode est donc particulièrement adaptée dans le cas de matériau poreux et/ou très petits.

Dans le cas spécifique de particules supposées sphériques et non poreuses, la surface spécifique est égale à la surface réelle de ces *n* particules et on obtient :

$$S_{spé} = 4n\pi\left(\frac{\emptyset_{BET}}{2}\right)^2 = \frac{6}{\rho\emptyset}$$

où$\emptyset_{BET}$ est un diamètre équivalent moyen des particules et ρ la masse volumique des particules.

3.1.4 Diffractométrie des rayons-X (DRX)

La mesure par diffractométrie des rayons X est basée sur la diffraction des rayons X par la matière cristallisée. Lors de l'interaction des rayons X avec la matière, le faisceau de rayons X est diffracté dans des directions spécifiques au cristal étudié. Un diagramme de diffraction, qui enregistre l'amplitude et l'angle des rayons diffractés est acquis. Grâce à ces derniers, des informations concernant la nature cristallographique des cristaux peut être déterminée : structure cristalline, paramètre de maille,… La formule de Scherrer permet également de déterminer la taille des cristallites selon les directions *hkl* des pics de diffraction et en considérant la largeur de ces derniers, et donc de nanoparticules monocristallines :

$$t = \frac{\lambda}{\varepsilon\ \cos\theta\ (hkl)}$$

où *t* est la taille de la nanoparticule selon la direction *hkl*, ε est la largeur à mi-hauteur (en radians) du pic considéré après correction de l'élargissement instrumental, θ(*hkl*) l'angle dediffraction, et λ la longueur d'onde envoyée.

Il s'agit là aussi d'un diamètre équivalent qui ne prend pas en compte la couche amorphe ni les défauts internes des nanoparticules. En effet, les atomes proches de ou à la surface sont désordonnés à cause d'une diminution du nombre d'atome voisins proches.

3.2 Les techniques de mesures individuelles / méthodes directes

Dans ce paragraphe nous décrirons quelques-unes des techniques de mesures individuelles de nanoparticules qui sont des méthodes directes, c'est-à-dire traçables au mètre du Système International d'unités. Ces techniques sont toutes des techniques de microscopie. Une attention particulière sera accordée à la Microscopie à Force Atomique (AFM) et à la Microscopie électronique à Balayage (MEB) puisque ce sont deux techniques qui ont été principalement été utilisées au cours de ces travaux de thèse.

3.2.1 Microscopie à Force Atomique (AFM – Atomic Force Microscopy)

a. Principe de fonctionnement et description de la technique

L'invention du STM (Scanning Tunneling Microscope) en 1982 par Binnig et son équipe a permis d'élargir les possibilités qu'offraient jusqu'alors les techniques de microscopies optiques limitées par les lois de la physique à la moitié de la longueur d'onde utilisée pour faire l'observation (c'est-à-dire entre 400 nm et 800 nm – spectre du visible) soit 200 nm maximum. En effet celui-ci est le premier instrument qui permet d'imager en trois dimensions une surface avec une résolution atomique. Mais cette technique, se basant sur la physique de l'effet tunnel, n'est capable de caractériser que des échantillons électriquement conducteurs. Cette limitation a conduit Binnig et ses collègues à l'invention du Microscope à Force Atomique (AFM) en 1986.

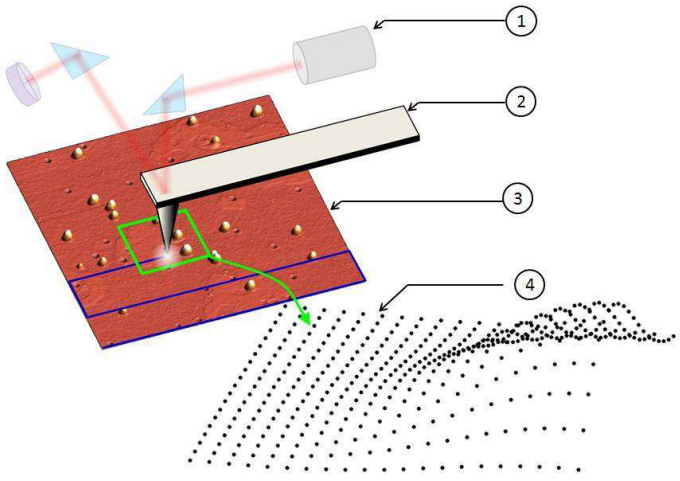


Figure 1-12 : Principe d'interaction pointe/échantillon avec ; (1) le système dedétection des déflexions du levier, (2) ensemble levier/pointe, (3) échantillon à imager, (4) image de topographie mesurée.

Le principe de la Microscopie à Force Atomique (Figure 1-12) repose sur la détection des forces mises en jeu lors de l'approche et du balayage d'une pointe au-dessus de l'échantillon à imager. L'AFM mesure le champ de force qui s'établit entre l'extrémité de cette pointe et les atomes situés directement au-dessous. Ces forces dépendent de la distance entre la pointe et l'échantillon et leur mesure permet de connaître alors la topographie de l'échantillon balayé.

De nombreuses forces entrent en jeu dans le processus de mesure. Elles varient en fonction du milieu dans lequel sont réalisées les mesures (air, vide, liquide, etc.), de la pointe qui peut être fonctionnalisée, et également de l'échantillon (Figure 1-13), mais sont dans tous les cas dépendantes de la distance entre la pointe et l'échantillon. Le modèle de Lennard-Jones décrit de manière simple ces interactions par l'énergie potentielle $E_p(L)$ entre deux atomes éloignés d'une distance L :

$$E_p(L) = 4.E_0 \times \left[\left(\frac{L_0}{L}\right)^{12} - \left(\frac{L_0}{L}\right)^{6}\right]$$

Le premier terme de la différence correspond à un régime répulsif, observé lorsque la distance pointe surface est très faible (inférieure au nanomètre). Le régime répulsif est essentiellement associé aux forces de répulsions électrostatiques qui apparaissent lorsque les nuages électroniques de chacun des atomes s'interpénètrent (principe d'exclusion de Pauli[44]). Le second terme de la différence correspond à l'effet attractif dominant à plus grande distance, associé essentiellement aux forces de Van der Waals.

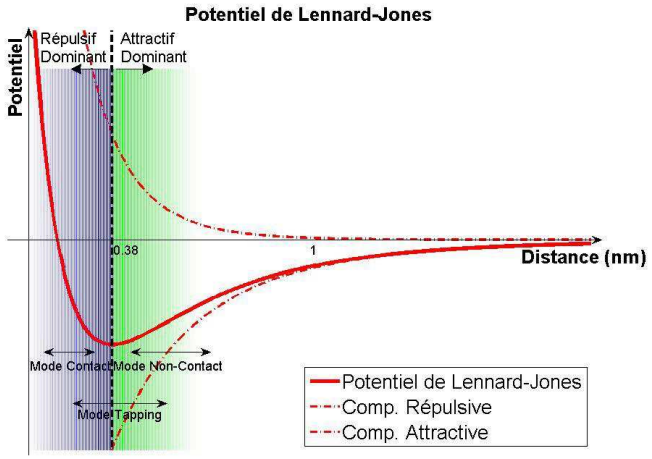


Figure 1-13 : Evolution de l'énergie potentielle entre la pointe AFM et la surface de l'échantillon en fonction de la distance qui les sépare[36]. Cette évolution suit le potentiel de Lennard-Jones.

Les principales forces mises en jeu lors d'une mesure de topographie par AFM à l'air ambiant sont :

- Les forces de Van der Waals qui sont attractives et agissent sur de très grandes distances (jusqu'à plusieurs centaines de nanomètres).
- Les forces de capillarités, attractives, dues à la présence d'une fine couche d'eau à la surface de l'échantillon causée par condensation de l'humidité ambiante. Lorsque la pointe approche suffisamment de la surface (quelques nanomètres[45]), un ménisque d'eau se forme, attirant fortement la pointe vers la surface, et la retenant lorsque celle-ci s'en éloigne.

- Les forces électrostatiques qui sont présentes dans le cas d'un échantillon et/ou d'une pointe chargés. De la même façon des forces magnétiques peuvent exister lorsque la pointe et/ ou l'échantillon sont magnétiques. Ces deux forces peuvent être attractives ou répulsives.
- Les forces de répulsions (principe d'exclusion de Pauli)

Les pointes (Figure 1-14) peuvent être de natures très différentes (forme, taille, matériau, revêtement…) et sont adaptées à différents types d'applications. Elles ont une hauteur de quelques micromètres et l'apex (extrémité de la pointe) possède un rayon de courbure de quelques nanomètres seulement pour les pointes de haute qualité. De cette façon, théoriquement, seuls les atomes situés à l'extrémité de la pointe AFM interagissent avec la surface de l'échantillon, ce qui confère à la technique sa très grande résolution latérale.



Figure 1-14 : Image MEB d'une pointe AFM sur son levier. Pointes standards commercialisées par Nanoandmore[a]

Les leviers (Figure 1-14 - droite) ont des caractéristiques géométriques (forme, longueur, …) adaptables à l'application recherchée. Les longueurs caractéristiques de ces leviers varient entre plusieurs dizaines et plusieurs centaines de micromètres. Le levier permet de convertir la variation des forces d'interactions subies par la pointe en un déplacement vertical, appelé déflexion du levier, selon la loi de Hooke :

$$F = k.\Delta Z$$

où F est la force totale d'interaction subie par la pointe, *k* la constante de raideur du levier, et ΔZ son déplacement vertical.

La distance à laquelle la pointe sonde la surface détermine le mode de fonctionnement de l'AFM, selon les forces mises en jeu. On définit ainsi trois modes de fonctionnement :

- **Le mode contact** : La pointe AFM est amenée au contact de l'échantillon et sonde un champ de forces généralement répulsif (interactions coulombiennes, voir Figure 1-13). Il s'agit d'un mode de mesure des déflexions statiques du levier dont la position (le contact) est définie par un équilibre entre la force d'appui et les forces d'interaction. L'étude de ces déflexions permet de remonter à la topographie de l'échantillon. Un des avantages de ce mode est la très bonne résolution verticale qu'il permet d'obtenir. L'inconvénient principal est que la pointe est

[a] Pointes standards commercialisées par nanoandmore disponible sur : http://www.nanoandmore.fr/

constamment en interaction avec la surface ce qui peut provoquer une détérioration autant sur la pointe que sur les échantillons fragiles.

- **Le mode non contact :** La pointe AFM sonde le champ de forces attractivesà distance de la surface (forces de Van der Waals, par exemple) dont l'amplitude est beaucoup plus faible qu'au contact des échantillons. Pour cette raison, le mode de détection statique utilisé en mode contact ne peut convenir ici. La pointe est par conséquent maintenue en oscillation à sa fréquence de résonance. A l'approche de la surface, les conditions d'interactions changent et modifient la fréquence d'oscillation. L'étude de ces variations de fréquence permet de remonter à la topographie de l'échantillon. Même s'il ne permet pas une résolution aussi précise que le mode contact, ce mode présente l'intérêt de pouvoir imager les échantillons fragiles tels que les échantillons biologiques sans les endommager.
- **Le mode contact intermittent ou Tapping ®** : Ce mode est intermédiaire entre le mode contact et le mode non-contact. La pointe sur son levier est maintenue en oscillation à une fréquence proche de sa fréquence de résonance et à une distance correspondant approximativement à l'amplitude d'oscillation. De cette façon, la pointe entre ponctuellement dans le régime répulsif. Comme pour le mode non-contact, à l'approche de la surface, les conditions d'interactions changent et modifient l'amplitude d'oscillation. Ces variations sont détectées et permettent de remonter à la topographie de la surface. L'avantage de ce mode est de permettre une bonne résolution latérale en s'affranchissant des forces de friction rencontrées dans le mode contact. Cela permet également de limiter la dégradation des échantillons. Enfin, ce mode est plus sensible que le mode non-contact puisque les variations des forces mises en jeu sont importantes, la pointe oscillant en permanence entre le régime attractif et le régime répulsif.

En mode Tapping®, un asservissement maintient l'amplitude d'oscillation constante en contrôlant la distance entre la pointe et l'échantillon.

Un système de détection des mouvements de déflexion du levier est donc nécessaire pour mesurer les variations de forces et donc les variations de topographies. Une multitude de méthodes existent (leviers piézoresistifs, interférométrie laser…) mais le plus largement utilisé est un système appelé levier optique qui est un système laser-photodiode et qui consiste à focaliser un laser sur l'extrémité du levier et à mesurer les déplacements du faisceau réfléchi grâce à une photodiode quatre quadrants. Ce système est représenté en Figure 1-15.

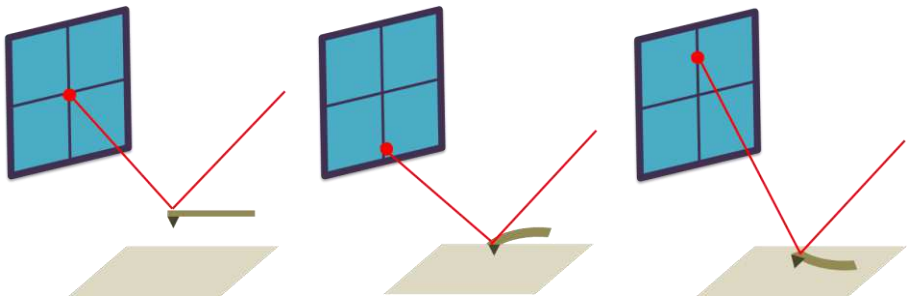


Figure 1-15 : Schéma représentant la position du laser sur la photodiode : (a) pour une pointe en retrait et hors du champ de force, (b) pour une pointe en régime attractif, et (c) pour une pointe en régime répulsif.

Comme l'AFM réalise une mesure locale de topographie, un système de balayage (ou scanner) génère un déplacement relatif de la pointe par rapport à l'échantillon dans les trois dimensions de l'espace. De nombreuses technologies existent pour générer ces déplacements à l'échelle du nanomètre. La plus répandue utilise des céramiques piézoélectriques (Figure 1-16) qui ont la capacité de se déformer (allongement, contraction, flexion…) sous l'effet d'un champ électrique. Un exemple de ce type de scanner est présenté Figure 1-16. Les gammes de déplacement sont généralement de plusieurs dizaines de micromètres et présentent une résolution de l'ordre de 0,1 nm.

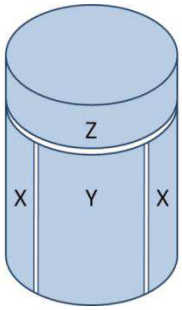


Figure 1-16 : Schéma d'un scanner d'AFM piézoélectrique générant des déplacements dans les trois directions de l'espace. Les céramiques notés X et Y permettent les déplacements latéraux et celle notée Z permet les déplacements verticaux.

b. Principe de mesure d'une nanoparticule sphérique par AFM

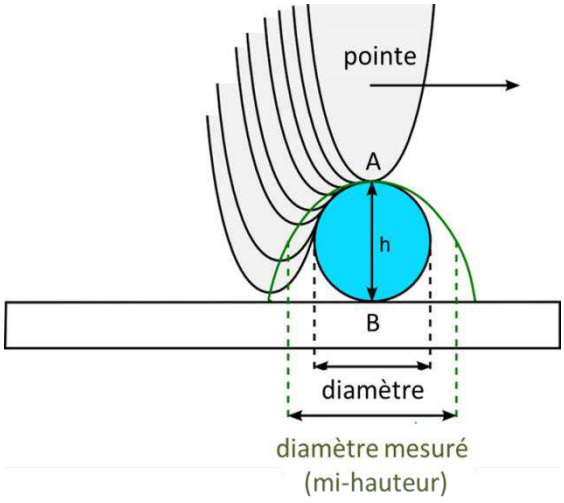


Figure 1-17 : Principe de mesure utilisé dans cette étude pour la mesure du diamètre d'une nanoparticule sphérique par AFM.Le trait vert correspond au trajet de la pointe sur l'échantillon, mettant en avant le phénomène de convolution pointe/surface.

Du fait du principe de fonctionnement de l'AFM, la géométrie de la pointe et la convolution pointe/surface conduit à l'élargissement des dimensions latérales des nanoparticules imagées (Figure 1-17). Par conséquent, même si des techniques de déconvolution existent[46], leur diamètre réel est difficilement mesurable avec des faibles incertitudes dans le plan XY. En effet, la déconvolution implique

de connaître la forme de la pointe pour connaître la forme de l'objet, mais celle-ci évolue tout au long du balayage.

Ce problème est rencontré pour toutes les formes de nanoparticules, mais nous nous intéresserons par la suite à la mesure de taille de nanoparticules sphériques pour lesquelles nous pouvons connaître également le diamètre dans le plan XY grâce à la microscopie électronique à balayage (voir paragraphe 3.2.2) et ainsi comparer et valider notre méthode de mesure pour l'objet en 3 dimensions. Cette méthode de mesure sera par la suite applicable à des objets plus complexes.

De plus, plusieurs principes de mesures sont proposés dans la littérature afin de contourner le problème de la convolution pointe/surface et déterminer avec une grande résolution le diamètre de nano-objets sphériques. Certaines équipes proposent de mesurer le diamètre d'une sphère idéale ajustée sur le dessus des particules imagées[47] (méthode dite de « la calotte » sphérique - voir Figure 1-18).

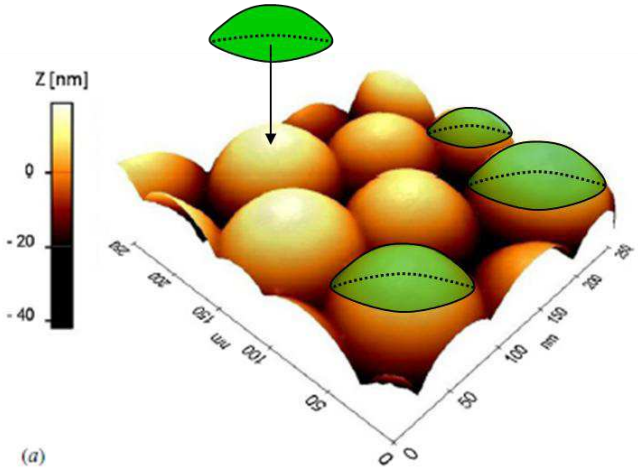


Figure 1-18 : Méthode de la « calotte sphérique » mise en œuvre par O. Couteau et G. Roebben (Commission Européenne, Joint Research Center, Institute for Materials and Measurements – IRMM, Belgique)

Une autre méthode consiste en la mesure du pas d'un réseau constitué de nanoparticules[48,49,50], mais cette méthode implique de déposer les particules en monocouche sur un substrat et que la distribution des particules en taille soit très monodisperse (voir Figure 1-19). Le pas est alors estimé en mesurant la distance dans le plan XY entre les points les plus hauts des particules[48,49]ou en mesurant la différence latérale entre les centres de gravité des particules[50].

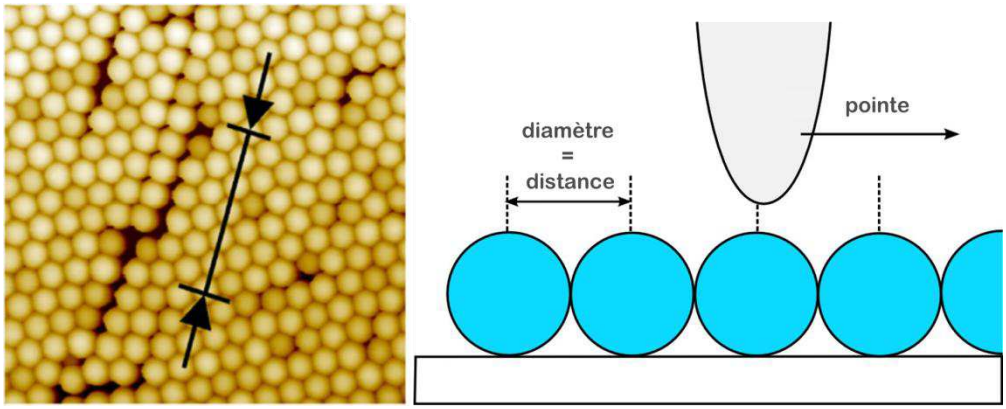


Figure 1-19 : Mesure de taille de nanoparticules déposée en une monocouche par mesure du pas du réseau constitué de nanoparticules. Cette méthode est mise en œuvre par l'équipe de J. Garnaes (DFM – Institut de métrologie danois)[48] et également par l'équipe de F. Méli (METAS - Institut de métrologie Suisse)

R.D. Boyd et ses collaborateurs ont quant à eux développé une technique qui permet de mesurer la hauteur aux coordonnées X_{centre} et Y_{centre} du centre de la particule des nanoparticules imagées[51].

Dans cette thèse, la méthode proposée s'approche de la dernière méthode citée en mesurant la hauteur maximale de la particule. Afin d'effectuer cette mesure, deux points sont requis : le premier noté A sur la Figure 1-17, correspond au maximum local suivant l'axe Z sur la particule ; le deuxième, noté B, correspond au point qui est diamétralement opposé au point A sur la particule. Ce deuxième point, qui se situe au-dessous de la particule, n'est pas accessible par AFM. Dans le cas d'une surface parfaite – non rugueuse – le point B et le point de contact particule-substrat sont confondus, et leurs coordonnées suivant l'axe Z sont égales. L'impact de la rugosité et de l'échantillonnage sur la mesure sera abordé en Chapitre 2.

3.2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB/SEM- Scanning Electron Microscopy)

Le premier microscope électronique équipé d'un système de balayage fut conçu par M. Zworykin en 1934[52] et ses performances étaient limitées à un grandissement de facteur 10. Trois ans plus tard, M. Von Ardenne, équipe d'un système de balayage un microscope électronique en transmission (STEM) possédant une taille de sonde submicronique. Mais c'est en 1942, aux Etats-Unis, que le premier microscope à balayage est développé par V. Zworykin, J. Hillier et R. L. Snyder, avec un système de balayage électromécanique. La commercialisation du premier MEB en 1965 fait notamment suite aux progrès de la détection des électrons de faible énergie.

a. Principe de fonctionnement et description de la technique

Le principe du MEB est de balayer un échantillon avec un faisceau d'électrons d'énergie E_0 appelés électrons primaires. Les électrons primaires pénètrent dans l'échantillon et interagissent avec la matière de façon à réémettre des électrons. Ces interactions sont de deux types : élastiques, c'est-à-dire sans perte d'énergie ; et inélastiques, avec perte d'énergie. Ces différentes interactions conduisent les

électrons sur des trajectoires aléatoires qui sont comprises dans un volume limité appelé poire d'interaction, schématisé en Figure 1-20.

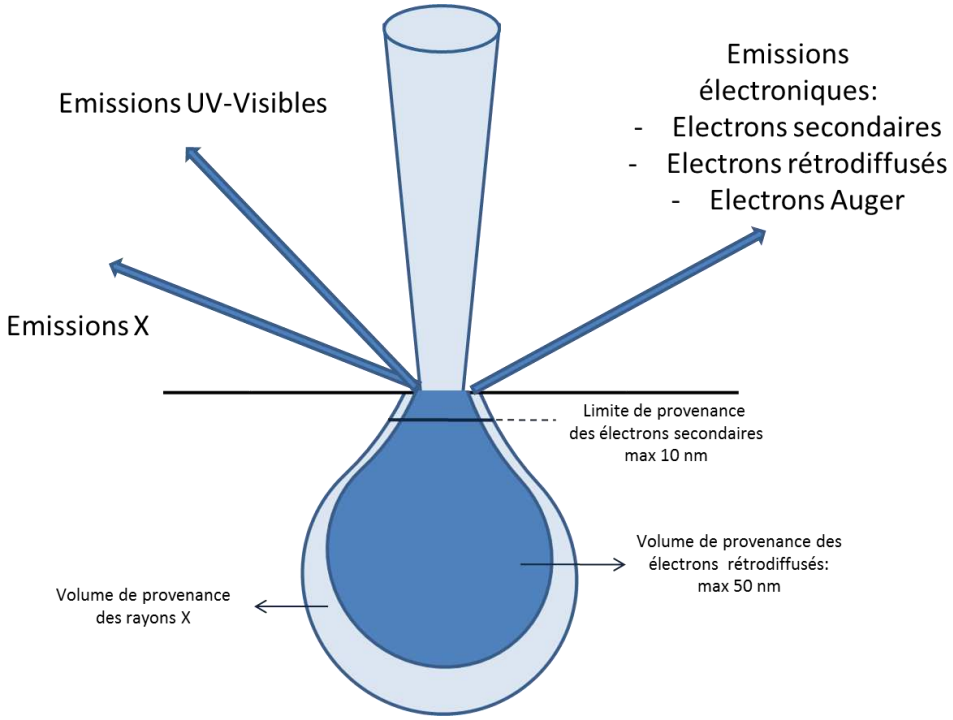


Figure 1-20 : Principales émissions électroniques et électromagnétiques dues aux interactions d'un faisceau d'électrons avec un échantillon. Les électrons se déplacent dans un volume appelé poire d'interaction.

Les principales émissions électroniques et électromagnétiques résultantes de ces interactions, et apparaissant sur la Figure 1-20 sont listées[53] :

- Les électrons secondaires sont issus de l'interaction inélastique du faisceau d'électrons primaires avec les électrons orbitaux des éléments constituant localement le matériau. L'ordre de grandeur de l'énergie de ces électrons est de quelques électron-volt. L'émission secondaire est le signal privilégié pour obtenir une image de contraste topographique.
- Les électrons rétrodiffusés sont issus du choc élastique entre le faisceau d'électrons primaires et la matière. Cette émission est sensible au numéro atomique de l'élément ciblé. Cela permet donc d'acquérir des images de contraste chimique, c'est-à-dire avec la possibilité de distinguer des phases de compositions chimiques différentes.
- Les électrons Auger : l'interaction inélastique d'un électron primaire avec un électron d'un niveau de cœur du matériau provoque l'émission d'un électron secondaire et la création d'une lacune dans les niveaux de cœur. L'élément ainsi excité revient à son état stable avec le transfert d'un électron d'un niveau externe vers la lacune, transfert s'effectuant soit par une transition radiative, soit par l'émission d'un électron appelé électron Auger[54].
- Les photons X, UV, visibles ou encore IR sont obtenus par transfert de l'énergie des électrons primaires aux électrons des orbitales atomiques qui provoque l'excitation, l'ionisation et enfin la désexcitation émissive des atomes mis en jeu. Les rayonnements X peuvent également provenir de l'interaction des électrons avec le noyau et sont alors appelés rayonnement de freinage.

Les deux premiers types d'électrons cités sont ensuite collectés grâce à des détecteurs spécifiques à leurs énergies pour chaque point XY afin de former une image.

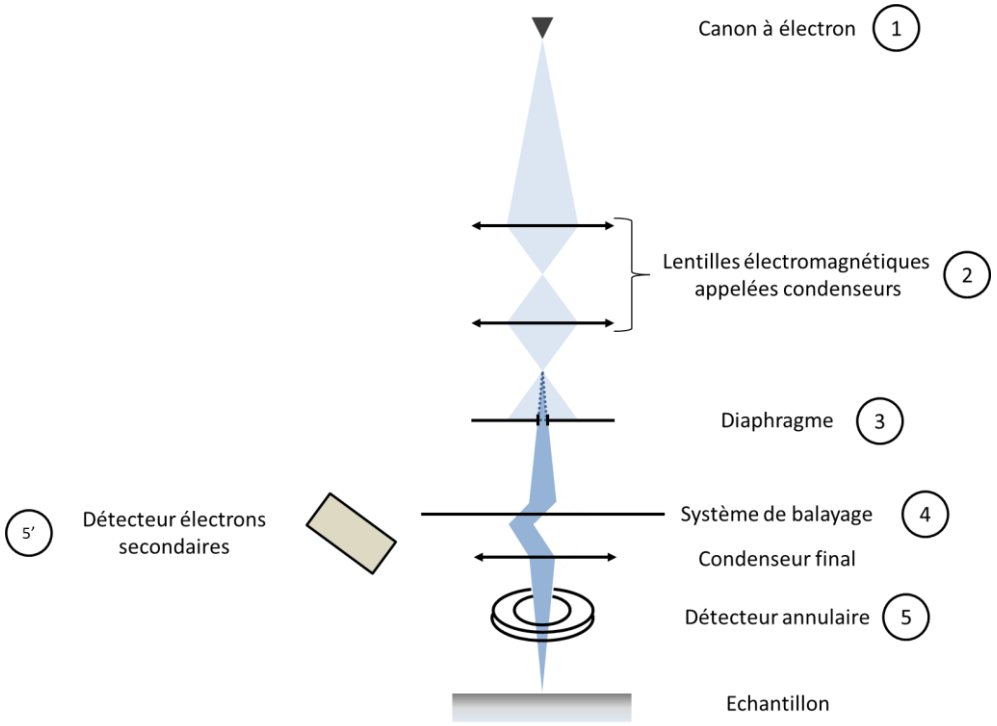


Figure 1-21 : Schéma reportant les éléments principaux constitutifs d'un microscope électronique à balayage.

Un MEB se compose essentiellement de quatre éléments ou ensembles d'éléments :

- Une source d'électrons appelée canon à électrons(1 sur la Figure 1-21) et d'un dispositif permettant de les accélérer. L'ensemble est maintenu sous un vide secondaire.
- Une colonne électronique placée elle aussi sous vide secondaire qui contient un ensemble de lentilles électromagnétiques appelées condenseurs (2) et de diaphragmes (3) permettant d'obtenir un faisceau d'électrons fin.
- Une chambre où sont placés l'échantillon et les détecteurs, maintenue également sous vide et où se produit l'interaction électron matière. Les détecteurs peuvent être positionnés sur le côté de la chambre (5') ou à l'extrémité de la colonne électronique (détecteurs In-Lens, 5). L'échantillon est quant à lui fixé sur une platine mobile.
- Un système de visualisation de l'image interprétant de manière couplée le balayage du faisceau d'électrons (4) et l'information acquise par les détecteurs.

Trois types de canons à électrons existent, évoluant au fildes années par l'intermédiaire des découvertes scientifiques, l'extraction des électrons s'effectuant suivant trois processus différents[55] :

- Par émission thermoélectrique : les électrons sont extraits d'un filament de tungstène W ou d'une pointe d'hexaborure de lanthane LaB_6 qui est chauffé. Les canons à électrons de ce type sont dits conventionnels.

- Par émission Schottky : une pointe en tungstène et oxyde de zirconium est chauffée en présence d'un fort champ électrique de façon à extraire les électrons. Ce type de canon est appelé canon à cathode chaude ou canon Schottky.
- Par effet tunnel : sous effet d'un champ électrique très intense, de l'ordre de 10^7V.cm^{-1}, et à température ambiante, les électrons sont extraits par effet tunnel. Les canons de ce type sont appelés canon à cathode froide ou encore canon à effet de champ (Field Emission Gun en anglais, ou FEG).

Les détecteurs d'électrons sont également de plusieurs types, et diffèrent selon le type d'électrons recueillis (secondaires ou rétrodiffusés), le niveau de vide dans la chambre et les constructeurs. Cependant, le plus connu et utilisé est le détecteur de Everhart et Thornley qui collecte les électrons secondaires et les électrons rétrodiffusés qui peut être de différents types et notamment se placer à l'extrémité de la colonne électronique.

Enfin, les informations recueillies en chaque point par les détecteurs sont mises en corrélation avec le balayage du faisceau électronique pour obtenir une image de façon informatique. Le tout est visualisé directement sur un écran.

b. Principe de mesure d'une nanoparticule sphérique par MEB

Contrairement à la mesure par AFM, la mesure par MEB donne une information très résolue[54] (de l'ordre du nanomètre) suivant les axes X et Y, mais ne donne aucune information quantitative suivant l'axe Z. La résolution est conditionnée par la largeur du faisceau primaire : dans le cas des MEB-FEGactuels la taille de sonde peut atteindre une largeur inférieure à 2 nm. Une mesure de diamètre « latérale » des nanoparticules est donc disponible et précise. Dans notre méthode de mesure et de façon à utiliser le maximum de données disponibles, la détermination du diamètre des particules sphériques s'effectuera à partir de la mesure de l'aire de celles-ci. Ce diamètre appelé diamètre équivalent D_{eq} sera calculé suivant la relation qui lie le diamètre d'un cercle à son aire A :

$$D_{eq} = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}}$$

Ce diamètre est un diamètre équivalent (voir définition paragraphe 2.4) mais la propriété physique qui yest associée est une dimension. Cette particularité permet de garder la traçabilité associée à ce mesurande.

Les limitations impliquées par cette méthode de mesure seront décrites dans le chapitre 2, paragraphe 1.2.

3.2.3 Microscopie électronique à transmission (MET/TEM – Transmission Electron Microscopy)

En 1931, M. Knoll, E. Ruska, E. Brüche découvrent le principe de la microscopie à transmission (MET) et le premier microscope est commercialisé dès 1938. La technique repose sur l'interaction des électrons avec un échantillon découpé en couches minces d'épaisseur inférieure à 100 nm. Les électrons du faisceau

primaire traversent l'échantillon sans être déviés et les électrons – alors appelés électrons transmis, sont collectés par un détecteur.

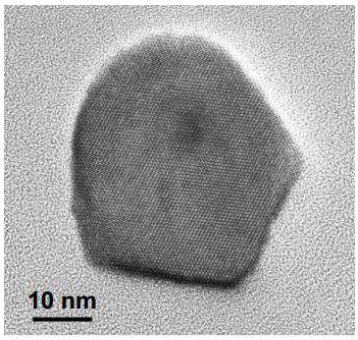


Figure 1-22 : Image d'une nanoparticule de magnétite Fe_3O_4 imagée par MET[56].

L'un des avantages de cette technique est la très grande résolution qu'elle permet d'obtenir avec des tailles de sonde inférieures à l'Angström[57]. Cependant elle est très coûteuse, et la préparation des échantillons peut varier de quelques minutes dans le cas de dépôt simple de nanoparticules à un temps considérable avec la préparation de couches minces (pour les particules incluses dans une matrice). De ce fait, et parce que l'image obtenue est une projection de l'objet observé et non une image de l'objet lui-même, le projet Co-Nanomet (Co-ordination of Nanometrology in Europe) préconise plutôt l'utilisation du MEB par rapport au MET dans le cas de la mesure de taille de nanoparticules[58]. En effet, si par exemple deux particules sont agglomérées, aucune transition dans l'image ne permet de séparer les deux particules et elles se trouvent confondues sur l'image (Figure 1-23). L'ITRS (International TechnologyRoadmap for semi-conductors), quant à elle, ne mentionne pas cette technique comme technique de mesure dimensionnelle mais comme technique de caractérisation des matériaux et de leurs contaminations[59].

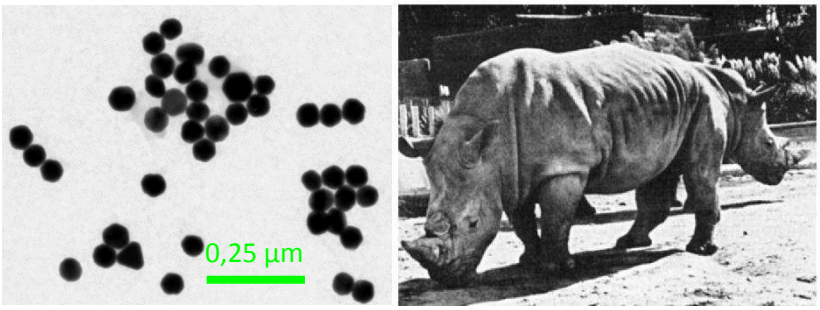


Figure 1-23 : Nanoparticules d'or imagées par MET[a] (gauche). Il est complexe de séparer certains éléments de l'image, tout comme pour la photographie (droite) oùsont montrés deux rhinocéros qu'on pourrait assimiler à un rhinocéros à deux têtes.

Cependant, grâce à la très grande résolution qu'elle permet d'atteindre, la technique continue d'être étudiée sur un plan métrologique, et P. J. de Temmerman montre qu'il est possible d'établir un bilan

[a] Image acquise par Solvay, Bruxelles

d'incertitude sur les mesures de taille de nanoparticuleseffectuées avec celle-ci[24]. De plus, la nanotomographie permet d'obtenir une image en trois dimensions des nano-objets par METpar assemblage des projections obtenus suivant différents axes d'inclinaison des détecteurs[60]. Cette méthode est cependant très longue à mettre en œuvre.

3.2.4 Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM)

La technique est une combinaison des deux techniques de microscopies présentées précédemment. Le STEM ou Scanning Transmission Electron Microscopy emploie le système de balayage d'un MEB classique mais le détecteur utilisé est placé au-dessous de l'échantillon mince de façon à collecter les électrons transmis. Cette technique permet de fournir une taille de sonde plus faible que celle du MEB : les gammes de tensions utilisées sont plus importantes que celles utilisées pour la technique MEB. La technique est tout de même moins résolue que le MET du fait de l'utilisation du système de balayage.

De la même façon que pour le MET, la technique implique une préparation d'échantillon très importante et délicate pour les nano-objets insérés dans une matrice. De plus, l'image obtenue est également une projection de l'objet observé. Des études métrologiques pour la mesure de nanoparticules sont tout de même effectuées pour cet instrument[61,62], notamment pour proposer des mesures traçables et une modélisation simplifiée par rapport aux interactions électrons/matière très complexes qui interviennent dans la technique MEB.

BIBLIOGRAPHIE

[1] R. M. David, D.R. Boverhof, J.H. Butala, S. Clancy, M. Lafranconi, C.M. Bramante, W.J. West, « *Comparative assessment of nanomaterial definitions and considerations for implementation* », Poster, American Chemistry Council

[2] « Nanotechnologies -- Directives relatives à la caractérisation physico-chimique des nano-objets manufacturés soumis aux essais toxicologiques » - ISO /13014 :2012

[3] Descriptif du programme de normalisation de l'AFNOR relatif aux nanotechnologies « AFNOR/X457 » disponible sur http://www2.afnor.org/espace_normalisation/structure.aspx?commid=59942

[4] « *Recommandation de la commission du 18 octobre 2011 relative à la définition des nanomatériaux* », Journal officiel de l'Union Européenne, 2011/696/UE, Octobre 2011.

[5] Claude Henry, « *Effets de taille sur la structure et la morphologie de nanoparticules libres ou supportées* » dans « *Les nanosciences – 2. Nanomatériaux et Nanochimie* », édition Belin, 2006

[6]NaokiToshima, « *Metalnanoparticles for catalysis* », dans « *Nanoscalematerials* », édité par L. M. Liz Marzan et P. V. Kamat, 2003

[7] Ph Buffat et J-P. Borel, « *Size effect on the melting temperature of gold nanoparticles* »

[8] S. L. Lai, J.Y Guo, V. Petrova, G. Ramanath, et L. H. Allen, « *Size-Dependant Melting Properties of Small Tin Particles : Nanocalorimetric Measurements* », Physical Review Letters, Volume 77, Number 1, 1996

[9]Spiegelman Vincent, « *Structure électronique dans les agrégats et les nanoparticules* », dans « *Les nanosciences : Nanomatériaux et nanochimie* », édition Belin, 2006

[10]Bandewi group du département Chimie du Massachussetts Institute of Technology, http://nanocluster.mit.edu/index.php

[11] L. Néel, « *Théorie du traînage magnétique des ferromagnétiques en grains fins avec applications aux terres cuites* », Annales de géophysique, tome V, fascicule 2, février 1949.

[12] I. M. L. Billas, A. Châtelain, W. A. de Heer, « *Magnetism from the Atom to the Bulk in Iron, Cobalt and Nickel Clusters* », Science, octobre 1994, 265(5179) :1682-4

[13] G. Apai, J. F. Hamilton, J Stohr, A. Thompson, « *Extended X-Ray Absorption Fine Structure of Small Cu and Ni Clusters : Binding –Energy and Bond length Changes with Cluster Size* », Physical Review Letters, Volume 436, N°2, Juillet 1979

[14] E. Gaffet,«*Phase transition induced by ball milling in germanium*», Materials Science and Engineering, A136, 161-169, 1991

[15]E. Gaffet et M. Harmelin, « *Crystal-amorphous phase transition induced by ball milling in silicon, Journal of the Less Common Metals* », 157, 201-222, 1990

[16] F. Baletto, C. Mottet, R. Ferrando, « *Microscopic mechanisms of the growth of metastable silver icosahedra* », Physical Review B., volume 63, 155408

[17] « *Evaluation des risques liés aux nanomatériaux – Enjeux et mise à jour des connaissances* », Avis de l'Anses, Rapport d'expertise collective, Avril 2014, Edition scientifique

[18] A.V. Eletskii et coll, « *Properties of nanostructures : data acquisition, categorization and evaluation* », Data Science Journal, Volume 11, 2012

[19] V. S. Aleksandrov, N. N. Trunov, A. A. Lobashev, « *Nanometrology : Systematizing and parametrizingnanosystems* », Measurement Techniques, Volume 55, N°7, 2012

[20] Scott C. Brown et coll, « *Toward advancing nano-object count metrology : A best practice framework* », Environmental Health Perspectives, Volume 121, N°11-12, p 1282

[21]Aleksandr B. Stefaniak et coll, « *Nanoscale reference materials for environment, health and safety measurement : needs, gaps and oppotunities* », NanoToxicology, 2012

[22] T. Roguet, A. piotrovski, P. Tossa, « *Méthode de cotation pour le criblage des publications en nanotoxicologie* », Environ. Risque Santé – Vol.12, N°6, Novembre 2013.

[23] W. Hässler-Grohne, DorotheeHüser, Klaus-Peter Johnsen, Carl-Jorge Frase, HaraldBosse, « *Current limitations of SEM and AFM metrology for the characterization of 3D nanostrutures* », Meas. Sci. Tech., 22, 2001, 094003

[24] Pieter-Jan De Temmerman et coll, « *Measurement uncertainty of size, shape and surface measurements using transmission electron microscopy of near-monodisperse, near-spherical nanoparticles* », Journal of nanoparticle research, vol 16, n°1, p 2177

[25] Thomas P. J. Lisingeretcoll, *« Reference materials for measuring the size of nanoparticles* », Trends in analytical Chemistry, Vol. 30, N°1, 2011.

[26] F. Schrurs et D. Lison, « *Focusing the research efforts* », Nature Nanotechnology, Vol. 7, 2012

[27] « *Identification et désignation des substances au titre de REACh et CLP* », Guide simplifié, EuropeanChemicals Agency, http://echa.europa.eu

[28]Linsinger T., Roebben G., Gillilend D., Calzolao L., Rossi F., Gibson N., Klein C., « *Requirement on measurements for the implementation of the European Commission definition of the term nanomaterial* », JRC reference Reports, 2012

[29] « *Towards a review of the EC recommendation for a definition of the term « nanomaterial* » », JRC science and policy reports, European commission, Edité par G. Robben et H. Rausher.

[30] « *Règlement (CE) N°1223/2009 du parlement européen et du conseil du 30 novembre 2008 relatif aux produits cosmétiques (refonte*) », 22 décembre 2009, Journal officiel de l'Union Européenne

[31] « *Décret N°2012-232 du 17 février 2012 relatif à la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire pris en application de l'article L. 523-4 du code de l'environnemen*t », 19 février 2012, Journal Officiel de la République Française.

[32] « *Arrêté du 6 août 2012 relatif au contenu et aux conditions de présentation de la déclaration annuelle des substances à l'état nanoparticulaire pris en application des articles R523-112 et R-523-13 du code de l'environnement* », Journal Officiel de la République Française, 10 août 2012.

[33] Rapport public concernant la déclaration (Ministère du développement durable)

[34] « *International Vocabulary of basic and General Terms in Metrology (VIM)* », 1994

[35] « *Evaluation des données de mesures - Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure* », JCGM 100:2008(F), 2008.

[36] Poyet B., « Conception d'un microscope à force atomique métrologique », Thèse de l'Université de Versailles Saint Quentin, 2010

[37] N. Feltin, S. Ducourtieux, B. Poyet, « *Nanométrologie : la science de la mesure à l'échelle du nanomètre* », Matériaux et Techniques, N°6/7, 2010

[38]« *Nanoscience and nanotechnologies : opportunities and uncertainties* », rapport de la « Royal Society » et de la « Royal Academy of Engineering », www.nanotec.org.uk/finalReport.htm, 2004.

[39] Résolution 12 de la 11ème Conférence Générale des Poids et Mesures : « *Système International d'unité* », octobre 1960 disponible sur http://www.bipm.org/fr/CGPM/db/11/12/

[40] Résolutions de la 24ème réunion de la Conférence générale des poids et mesures, 2011

[41] F. Piquemal, « Métrologie électrique quantique : de l'impédance du vide à la charge élémentaire », Rapport d'Habilitation à Diriger les Recherches de l'ENS Cachan, 2013

[42] D. Février, « Histoire du mètre » site internet de la Direction Générale de la Compétitivité, de l'Industrie et des Services (DGCIS), www.entreprises.gouv.fr/metrologie/histoire-metre

[43] Bau Sébastien, « *Etude des moyens de mesure de la surface des aérosols ultrafins pour l'évaluation de l'exposition professionnelle* », Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, 2008

[44] W. Pauli, « Exclusion principle and quantum mechanics », Nobel Conference, 1946

[45] M. Schenk, M. Füting, R. Reichelt, « *Direct vizualisation of the dynamic behavior of a water meniscus by scanning electron mycroscopy* », J. Appl, Phys. , 84, 4880 (1998)

[46] J. Canet-Ferrer, E. Coronado, A. Forment-Aliaga et E. Pinilla-Cienfuegos, « *Correction of the tip convolution effects on the imaging of nanostructures through scanning force microscopy* », Nanotechnology 25, 2014, 395703

[47]Couteau, O. &Roebben, G. *Measurement of the size of spherical nanoparticles by means of atomic force microscopy*", Measurement Science and Technology*,* 2011*, 22*, 065101

[48]Garnaes, J. « *Diameter measurements of polystyrene particles with atomic force microscopy* » Measurement Science and Technology*,* 2011*, 22*, 094011

[49]Meli, F. [Wilkening, P. D. G. &Koenders, D. L. *(Eds.)]* Nanoscale Calibration Standards and Methods: Dimensional and Related Measurements in the Micro- and Nanometer Range « *Chapter 27. Lateral and Vertical Diameter Measurements on Polymer Particles with a Metrology AFM* », *Wiley-VCH,* 2006, 361

[50] I. Misumi, K. Takahata, K. Sugawaran, S. Gonda, K. Ehara, « *Extension of the gravity centre method for diameter calibration of polystyrene standard particles with metrological AFM* », Proc. of SPIE, Vol 8378

[51] Boyd, R. D. &Cuenat, A. « *New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images* », Journal of Nanoparticle Research*,* 2011*, 13*, 105-113

[52]Maniguer L., Repoux M., Ruste J., Roussel-Dherbey F., « *Microscopie électronique à balayage et microanalyses - Introduction*», 2006

[53] F. Charlot, P. Jonnard, « *Les interactions électrons-matière* » dans « *Microscopie électronique à balayage et Microanalyses* », 2006

[54]Paqueton H., Ruste J., « *Microscopie électronique à balayage – Principe et équipement* », Technique de l'Ingénieur, p865v2, 2013.

[55] Francine Roussel Dherbey, « *Les canons à électrons en microscopie électronique à balayage* » dans « *Microscopie électronique à balayage et Microanalyses* », 2006

[56] Nicolas Menguy, « *Microscopies électroniques* », cours disponible sur http://www.impmc.jussieu.fr/~menguy/PDFs/MET_MEB/Cours_Electron_Matiere.pdf

[57] C. Dwyern C. Maunders, C. L. Zheng, M. Weyland, P. C. Tiemeijer, et J. Etheridge, « *Sub-0.1 nm-resolution quantitative scanning transmission electron microscopy without ajustable parameters* », Applied Physics Lettters, 100, 191915, 2012

[58] Co-Nanomet, « *Nanometrology Discussion papers 2011* », 2011.

[59] « *International Technology Roadmap for Semiconductors* », Edition 2009, Metrology

[60] M. Moreaud, « *Nanotomographie* », 2007

[61] E. Burh, N. Senftleben, T. Klein, D. Bergmann, D. Gneser, C. G. Frase, H. Bosse, « *Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode* », Meas. SCi. Technol. 20, 2009, 084025

[62] T. Klein, E. Burh, K- Johnsen, C. G. Frase, « *Traceable mesurement of nanoparticle size using a scanning electron microscope in transmission mode (TSEM)* », Meas Sci. Technol, 22, 094002, 2011

CHAPITRE 2

DEVELOPPEMENT DE METHODES D'ECHANTILLONNAGE ADAPTEES A LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR AFM/MEB

Dans ce chapitre, les méthodes d'échantillonnage des nanoparticules adaptées à ces mesures seront étudiées. Les substrats seront tout d'abord choisis de façon à dégrader le moins possible la mesure, puis une méthode d'échantillonnage spécialement développée dans le cadre de cette thèse permettant d'obtenir le maximum de nanoparticules isolées sera détaillée, l'agglomération étant une source d'erreur importante pour la mesure.

1 IMPORTANCE DE LA METHODE D'ECHANTILLONNAGE

1.1 Mesures AFM : Influence de la rugosité et de la dispersion des particules sur le substrat

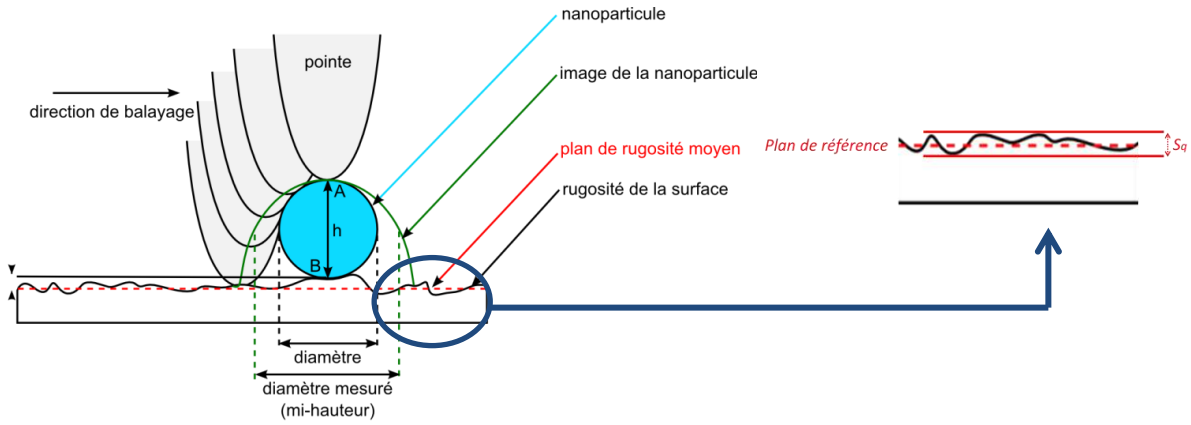


Figure 2-1 : Influence de la rugosité du substrat sur la mesure de hauteur d'une nanoparticule déposée sur celui-ci (gauche). Représentation schématique de la rugosité du substrat (droite).

Dans le Chapitre 1, la méthode de mesure d'une nanoparticule sphérique utilisée dans cette thèse a été décrite. La position du point B (Figure 2-1) qui, pour rappel n'est pas accessible par AFM, est, dans le cas d'une rugosité nulle, équivalente àcelle du point de contact particule-substrat. Cette position correspond aussi à la hauteur du plan de référence et donc à la surface du substrat. Mais, pratiquement, tout

substrat présente une certaine rugosité. Ainsi, le plan de référence (en pointillé sur la Figure 2-1) est déterminé à partir de la moyenne des mesures de hauteur sur l'ensemble des points de la surface du substrat qui est également appelé plan de rugosité moyen. Le plan de rugosité moyen est entaché d'une incertitude u_{rugo}qui correspond à la différence de hauteur entre le point de contact particule/substrat et la valeur du plan de rugosité moyen S_q(rugosité RootMean Square, voir Figure 2-1, droite) et qui est calculé comme suit :

$$S_q = \sqrt{\frac{1}{NM}\sum_{x=0}^{N}\sum_{y=0}^{M} z_{x,y}^2}$$

Où *N* et *M* sont les nombres de points suivant les axes *X* et *Y* respectivement.

De plus, dans le cas particulier de particules agglomérées, les particules peuvent ne pas être en contact avec le substrat comme indiqué dans la Figure 2-2.

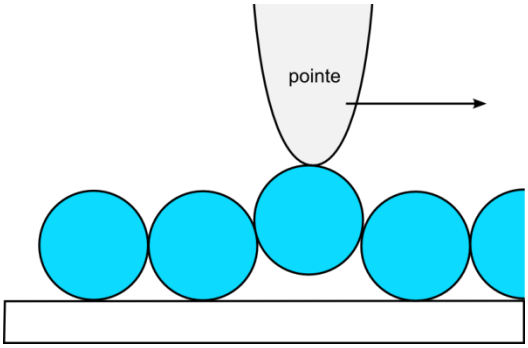


Figure 2-2 : Cas particulier de particules agglomérées : illustration schématique du cas d'un non-contact particule/substrat

Dans ce dernier cas de figure, la différence de hauteur Δh entre le plan de rugosité moyen du substrat et le point bas de la particule peut être théoriquement très importante. Cette affirmation n'est pas vérifiable, car non-observable du fait du principe de fonctionnement de l'AFM, mais une attention toute particulière à la méthode d'échantillonnage pourrait éviter le phénomène d'agglomération. En effet, mesurer des particules isolées les unes des autres sur le substrat supprimerait cette source d'erreur sur la mesure (Figure 2-1).

La dispersion des particules sur le substrat est donc importante mais cette dispersion doit être contrôlée de façon à obtenir une quantité suffisante de nanoparticules sur la surface. En effet, un nombre de 250 particules, régulièrement reporté dans les publications[63,64], est nécessaire pour que la population imagée soit représentative de la population totale. En AFM, il n'est pas forcément évident d'obtenir un total de 250 nanoparticules, du fait de la quantité d'images et du temps associé pour les obtenir. Il est donc primordial d'obtenir une densité suffisanteet homogène de particules sur le substrat pour éviter cette problématique.

1.2 Mesure MEB : Influence de l'effet de chargeet de la dispersion des nanoparticules sur le substrat

Pour rappel, le diamètre appelé diamètre équivalent D_{eq} imagé par MEB est calculé suivant la relation qui lie le diamètre d'un cercle à son aire A :

$$D_{eq} = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}}$$

Le calcul est applicable si la particule imagée est sphérique et si les bords de la particule sont bien définis. Ce dernier point est respecté lorsque les particules sont isolées les unes des autres et lorsque les paramètres et les conditions d'imagerie sont adaptés. Comme indiqué dans le paragraphe précédent, nous constatons l'intérêt de développer une méthode d'échantillonnage spécifique afin d'obtenir des nanoparticules bien isolées les unes des autres.

De plus, le principe de fonctionnement du MEB est basé sur l'interaction d'un faisceau électronique avec l'échantillon, ce qui implique que l'ensemble de l'échantillon doit être conducteur électriquement, sinon des phénomènes de charges peuvent dégrader de façon conséquente la qualité de l'image. Pour s'affranchir de ces derniers lors de l'analyse d'un échantillon non-conducteur, des méthodes applicables à l'échantillon ou à l'instrument sont disponibles :

- Métallisation de l'échantillon[65]: une couche mince (quelques nanomètres[66]) de métal est déposée sur l'échantillon, permettant l'évacuation des électrons. Cette méthode n'est pas adaptée à une méthode de mesure associée à des incertitudes maîtrisées, puisque cela modifie de façon non contrôlée la taille des nanoparticules.
- Utilisation de MEB environnementaux[67] ou d'uncompensateur de charge[68] (Figure 2-3) : le principe consiste à distribuer des charges positives à proximité de l'échantillon afin de neutraliser l'accumulation des charges négatives à sa surface. Ceci est possible grâce au travail dans un vide dégradé pour les MEB environnementaux ou à l'insertion locale d'un gaz (azote) pour les systèmes de compensateur de charges. Le gaz présent à proximité de l'échantillon est ionisé et permet la neutralisation des charges négatives.

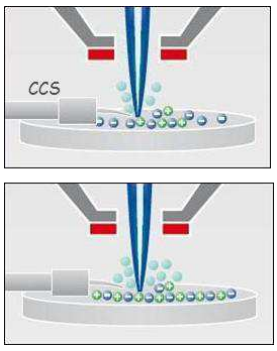


Figure 2-3 : schéma de principe d'un compensateur de charge[68] (CCS : Charge Compensator System).

Le MEB du LNE (Zeiss Ultra Plus) est équipé d'un système de compensateur de charges qui permet de se passer de métallisation lors d'analyse d'échantillon non-conducteur.

2 CHOIX DES SUBSTRATS

Comme indiqué dans le paragraphe 1.1(Figure 2-2), il est indispensable de déposer les nanoparticules sur un substrat le moins rugueux possible, afin d'éviter l'impact direct de ce paramètre sur l'incertitude de mesure par AFM. Pour sélectionner le substrat le mieux adapté à notre objectif plusieurs substrats ont été étudiés :

- Lames de microscopie (high quality, L4244, Agar Scientific)
- Lames de microscopie de qualité supérieure (chance select, G251P, Agar Scientific)
- Lamelle de microscopie de qualité (chance coverglasses, L4093, Agar Scientific)
- Feuillet de mica (G250-3, Agar Scientific)
- HOPG – Highly Ordered Pyrolitic Graphite (HOPG ZYH grade, Bruker AFM Probe)
- Wafer de carbure de silicium SiC polissage « Epiready »[69] (Novasic)
- Wafer de silicium (G3390-10, Agar Scientific)

Les lames/lamelles de microscopie et les wafers de carbure de silicium et de silicium sont préalablement nettoyés dans un mélange éthanol/acétone avec application d'ultrasons pendant 15 minutes. Lescouches superficielles de mica et de HOPG sont arrachées de façon à obtenir la surface la plus propre et plane possible avant analyse. Tous les substrats sont ensuite imagés par AFM sur une surface de 2 µm x 2 µm (512x512 points). Chaque image est ensuite redressée avec MountainsMap ® (Digital Surf) et étudiée afin de mesurer la rugosité RMS (rootmean square) qui correspond à l'écart-type des hauteurs *z* mesurées en chaque point de la surface et qui est définie en paragraphe1.1.

Les résultats sont reportés dans le Tableau 1 ainsi que des images des différents substrats dans la Figure 2-4.

Tableau 1 : Rugosités S_q mesurées sur les différents substrats étudiés et conductivité électrique.

Substrat	Référence	Conductivité électrique	Rugosité mesurée sur 2 µm x 2 µm (nm)
Lames de microscopie « high quality »	L4244, Agar Scientific	---	0,672
Lames de microscopie « chance select »	Chance select, G251P, Agar Scientific	---	0,894
Lamelle de microscopie « chance select»	Chance coverglasses, L4093, Agar Scientific	---	0,414
HOPG	HOPG ZYH grade, Bruker AFM Probe	+++	0,225
Mica	G250-3, Agar Scientific	-	0,079
Wafer de SiC	2'' SiC wafer avec polissage « Epiready »	+	0,133
Wafer de Si	G3390-10, Agar scientific	-	0,279

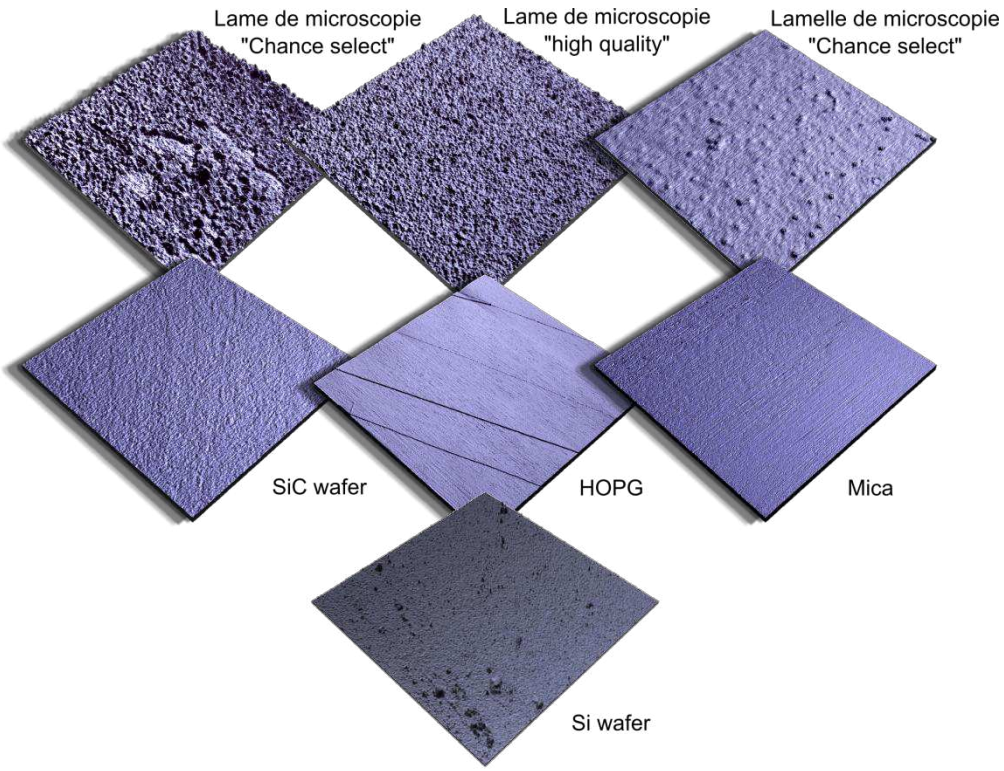


Figure 2-4 : Image AFM (2 μm x2 μm) des différents substrats étudiés. La même échelle en verticale est utilisée pour chacune des illustrations.

Nous pouvons observer que les lames et lamelles de microscopie en verre sont les substrats les plus rugueux. De plus, ils sont électriquement isolants, et cela poserait des problèmes de charges lors de l'imagerie MEB même avec l'utilisation d'un compensateur de charges.

Les wafers de silicium et de carbure de silicium (polissage « Epiready », procédé qui assure une rugosité RMS 0,2 nm[69]) sont peu rugueux avec respectivement 0,279 nm et 0,133 nm de rugosité RMS. Ils sont aussi des conducteurs électriques. Le SiC serait donc un bon candidat pour une utilisation avec les deux types de microscopie, mais une utilisation quotidienne n'est pas envisageable du fait de son coût important (environ 200 € l'unité).

Le HOPG est un très bon conducteur électrique, mais nous observons des difficultés de manipulation lors de l'arrachement des couches superficielles de graphite. En effet, la Figure 2-4 montre de nombreux plateaux atomiques de graphite. La rugosité sur ces plateaux est très faible ($Sq_{plateau\text{-}HOPG}$ = 0,062 nm) mais de nombreuses marches sont présentes ce qui dégrade fortement l'état de surface global de l'échantillon : $Sq_{global\text{-}HOPG}$= 0,225 nm. De plus, ces marches pourraient être un facteur perturbant la dispersion des particules lors d'un dépôt.

Les meilleurs résultats concernant la rugosité sont obtenus avec le mica, qui est plan et propre après exfoliation de la couche superficielle. Il est utilisé comme substrat dans de nombreuses études AFM pour le dépôt de différents types de nano-objets (ADN, nanoparticules, graphène)[70,71,72]. Il n'est pas un bon conducteur électrique mais l'observation avec le MEB est rendue possible grâce à l'utilisation d'un compensateur de charges (voirFigure 2-3).

Tenant compte de ces résultats, nous utiliserons donc principalement, dans cette étude, du mica et des morceaux de wafers de silicium.

3 SUSPENSIONS COLLOÏDALES UTILISEES

Dans cette thèse deux types de nanoparticules ont préférentiellement été utilisées : des nanoparticules d'or et des nanoparticules de SiO_2. Celles-ci proviennent de suspensions commerciales ou de suspensions synthétisées.

3.1 Suspensions commerciales utilisées lors de la thèse

Les suspensions d'or commerciales proviennent de deux fournisseurs. Celles fournies par Sigma Aldrich sont des suspensions stabilisées par des citrates (Ref. 741973, voir document en Annexe 1), présentant un diamètre nominal de 30 nm. D'autres nanoparticules d'or ont été utilisées et correspondent à un matériau de référence certifié par le NIST (voir Annexe 2) et très peu de suspension était disponible. De plus, une date limite de validité après ouverture du contenant est indiquée sur le flacon. Dépassée cette date, les valeurs des paramètres physico-chimiques indiquées sur le certificat d'étalonnage n'étaient plus assurées. Ce dernier regroupe une série de mesures de diamètre moyen effectuée avec plusieurs techniques dont l'AFM et le MEB. La mesure effectuée par AFM indique une taille de (55,4± 0,3) nm.

Les suspensions de SiO_2 commerciales ont été fournies par la société NYACOL (voir document en Annexe 3). Trois suspensions étaient disponibles :

- Nexsil 35 A, dont le diamètre nominal indiqué est de 35 nm.
- Nexsil 85-40, dont le diamètre nominal est de 50 nm.
- Nexsil 85A, dont le diamètre nominal fourni est de 50 nm également.

Les suspensions de Nexsil 35 A et 85 A sont des suspensions stables acidifiée (pH=2,8) dans lesquelles les particules sont légèrement chargées négativement. La suspension de Nexsil 85-40 est stabilisée avec du potassium dans un environnement basique (pH=9,8) et où les particules sont chargées négativement. Les deux premières suspensions étant largement polydisperses, la suspension de Nexsil 85 A a été préférentiellement utilisée et sera désignée par la suite comme la suspension commerciale de SiO_2.

Les nanoparticules de SiO_2et d'or mentionnées dans ce paragraphe seront utilisées dans la suite du manuscrit comme des matériaux de référence.

3.2 Suspensions synthétisées en laboratoire

Nous avons décidé de produire nos propres particules de silice, en nous appuyant sur le procédé Stöber réputé pour produire des particules sphériques et quasi-monodisperses, et très simple à mettre en œuvre. Ce procédé consiste à hydrolyser en milieu eau-alcool un alkoxyde de silicium en contrôlant les cinétiques respectives d'hydrolyse et de condensation afin de calibrer la taille des particules. Les leviers permettant d'atteindre un contrôle de taille sont le choix de l'alkoxyde, (groupe -OMe ou -OEt), de l'alcool (MeOH ou EtOH, ou mélange des 2), de la proportion eau/alcool, de la température, de la quantité d'ammoniac (catalyseur). En général le procédé Stöber conduit à des particules de taille plus

importante que celles que nous souhaitons fabriquer, toutefois nous avons trouvé dans la littérature des conditions expérimentales permettant d'obtenir des particules calibrées avec des tailles inférieures à 100nm de diamètre. Il s'agit de l'équipe de Huang Y., citée en référence[73].Nous reprenons le tableau donnant les conditions expérimentales de l'article en Tableau 2:

Tableau 2 : Conditions de synthèse et propriétés des particules de silice de taille inférieure à 100 nm obtenues par optimisation de la méthode Stöber[73].

Sample[a]	Temperature (°C)	Solvent system[b]	[NH_3] (M)	[H_2O] (M)	Particle Size (nm)	Particle size RSD (%)
1	40	MeOH	1.8	8.6	96	7.8
2	40	MeOH	1.7	7.7	67	9.8
3	55	1:1 MeOH–EtOH	1.4	5.8	81	9.5
4	55	1:1 MeOH–EtOH	1.2	5.0	53	9.5
5	55	EtOH	0.8	3.3	49	9.5
6	55	1:1 MeOH–EtOH	1.1	4.5	38	12.8
7	55	EtOH	0.6	2.5	27	13.3

[a] [TEOS] = 0.17 M in all cases.
[b] MeOH, methanol; EtOH, ethanol.

Nous avons repris principalement les conditions n°3 et n°4. Nous verrons par la suite qu'il peut y avoir un écart entre nos résultats et ce qui était attendu selon l'article. Ceci n'est pas forcément trop surprenant car le protocole publié conserve quelques ambiguïtés (sur la prise en compte de l'eau venant de l'ammoniac, le contrôle de température...) et la pureté des réactifs peut différer entre les conditions des auteurs et les nôtres. L'objectif principal étant de produire une population de particulesmonodisperse et de taille inférieure à 100 nm, cet écart avec le protocole de départ n'est pas pénalisant pour la suite.

4 TEST DE DIFFERENTES METHODES D'ECHANTILLONNAGE

Dans les paragraphes 4.1 et 4.2, nous constaterons que l'évaporation simple et lente d'une goutte de suspension colloïdale conduit inévitablement à un phénomène d'agglomération même si la suspension déposée est stable initialement. Ce phénomène peut être expliqué par les interactions provoquées par les forces de capillarité qui tendent à rapprocher les particules dans les derniers instants de l'étape du séchage lorsque les particules sont partiellement immergées dans le solvant. A. Thill et O. Spalla[74]montrent dans un graphique représenté en Figure 2-5 la prédominance des forces de capillarité en fonction de la distance entre particules lorsque celles-ci ne sont pas entièrement immergées dans le solvant.

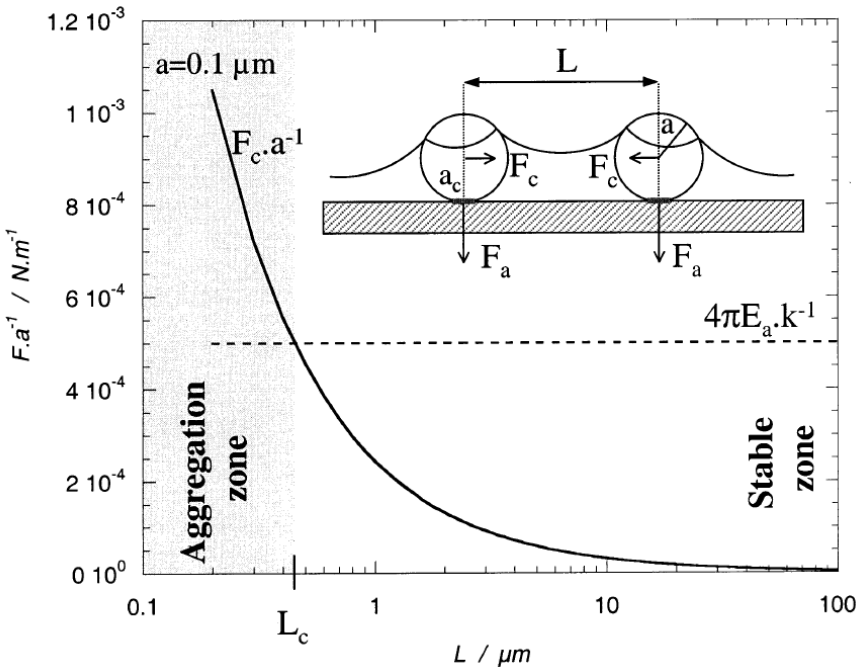


Figure 2-5 : Graphique représentant la prédominance des forces de capillarité (*Fc*) par rapport aux forces d'adhésion (*Fa*) en fonction de l'épaisseur de la couche de solvant (a). Lorsque les forces de capillarité sont prédominantes, les particules forment des agglomérats. Figure extraite de l'article de A. Thill et O. Spalla[74].

De façon à contrer les forces de capillarité, plusieurs méthodes ont été proposées dans la littérature. L'une des solutions la plus fréquemment rencontrée est l'augmentation des forces d'adhésion particules/substrat grâce à l'utilisation de substrats fonctionnalisés, notamment avec de la PLL[75] ou de l'amino-éthanol[75,51], que nous étudierons dans le paragraphe 4.1.2. Cette méthode n'est pas adaptée à notre problématique. Christopher M. Hoo[72] et ses collaborateurs ont quant à eux développé spécifiquement une cellule qui permet l'écoulement continu d'une suspension sur un substrat.

Dans cette thèse, une méthode d'échantillonnage décrite en paragraphe 4.3s'effectuant grâce à une tournette (spin-coater) est développée afin de contrôler le processus de séchage. Les mouvements de rotation rapide de la tournette répartissent les nanoparticules sur la surface et les forces centrifuges s'opposent aux forces de capillarité (Figure 2-10) conduisant au phénomène d'agglomération.

4.1 Méthode d'échantillonnage par évaporation simple

4.1.1 Sur mica

Après avoir exfolié les couches superficielles d'un substrat de mica (1 cm x 1 cm), nous déposons directement une goutte de suspension colloïdale à l'aide d'une micro-pipette (environ 1 µL). On laisse ensuite la goutte s'évaporer à l'air libre. Du fait de l'hydrophilie du mica, on peut observer que la goutte s'étale rapidement sur tout le substrat.

Pour la suspension d'or commerciale de chez Sigma Aldrich, dont le solvant est l'eau, l'évaporation se déroule sur une durée qui varie entre 10 min et 30 minutes. Pour les solutions de SiO_2synthétisées, le

solvant est un mélange éthanol-méthanol. L'évaporation du solvant se produit donc très rapidement (environ 2 minutes).

Les résultats montrent une agglomération quelle que soit la solution utilisée et sa concentration. Cependant le phénomène d'agglomération produit des résultats différents selon la concentration de la suspension colloïdale initiale : nous observons en effet des agglomérats non organisés comprenant un nombre limité de nanoparticules dans le cas de suspensions colloïdales faiblement concentrées. A l'inverse, si la solution colloïdale est fortement concentrée et présente une distribution mono-disperse en taille, nous observons la formation de multicouches structurées. En effet, les nanoparticules s'organisent dans les trois dimensions de l'espace et forment littéralement des « cristaux » de nanoparticules. La Figure 2-6 montre les cristaux obtenus lors du dépôt de nanoparticules de SiO_2 synthétisées par la méthode Stöber.

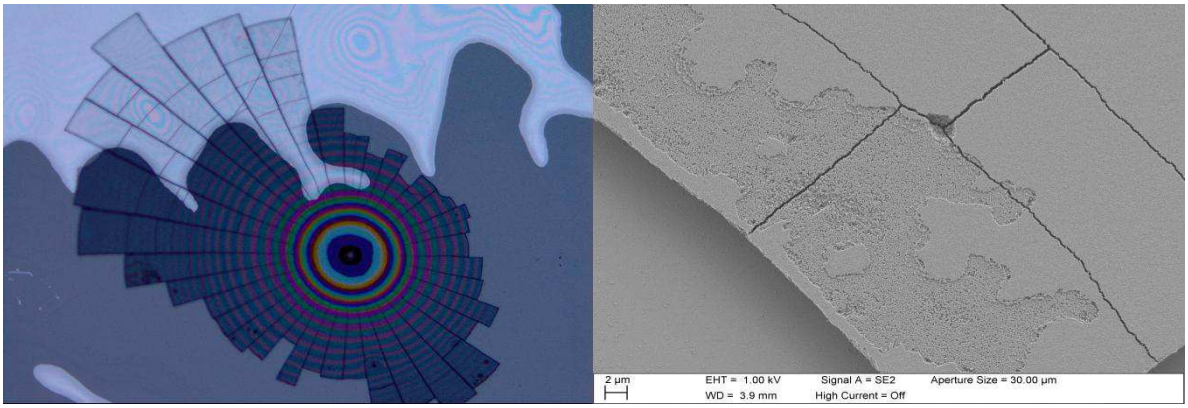


Figure 2-6 : Image effectuée au microscope optique (gauche) et au MEB de « cristaux » de nanoparticules.

Nous constatons sur ces images que l'on observe peu de nanoparticules isolées. Cette méthode n'est donc pas adaptée à notre étude.

4.1.2 Sur mica fonctionnalisé avec de la poly-L-lysine (PLL)

Des substrats chargés avec de la poly-L-lysine ont également été étudiés. En effet, la PLL est utilisée dans diverses études[51] dans le but de modifier l'état de charge du substrat et de le rendre fortement positif. Les nanoparticules métalliques sont généralement chargées négativement et le mica l'est également. Ceci pose des problèmes lors de l'adhésion des nanoparticules sur le substrat. La PLL est donc employée afin de favoriser l'adhésion des particules à la surface grâce aux interactions électrostatiques.

Les résultats sont similaires à ceux observés pour le mica non fonctionnalisé quelle que soit la solution colloïdale utilisée et sa concentration. De plus, la fonctionnalisation du substrat dégrade l'état de surface et augmente fortement sa rugosité.

4.1.3 Sur silicium

Nous commençons tout d'abord par laver le substrat de silicium (1 cm x 1 cm),en lui faisant subir un bain ultrasons dans l'acétone pendant 15 minutes. Nous renouvelons ensuite cette étape avec de

l'éthanol.Après avoir effectué ces étapes, nous déposons ici directement une goutte de suspension colloïdale d'or ou de SiO_2sur le substrat, que nous laissons ensuite s'évaporer. A l'inverse du mica, le silicium est hydrophobe, l'étalement de la goutte ne s'effectue donc pas de la même manière que sur le mica et la goutte se concentre sur une zone réduite du substrat de silicium.

Les résultats sont de nouveaux similaires à ceux observés pour le mica : une agglomération se produit quelle que soit la suspension colloïdale utilisée et la concentration. Cependant, lorsque la concentration est faible la répartition de ces agglomérats n'est pas la même que celle observée sur du mica où les particules sont réparties de façon homogène sur la surface. Sur le silicium, nous observons plutôt des « cercles » de nanoparticules, comme montrés en Figure 2-7. Ces « cercles » sont des résidus de microgouttelettes qui sont sur la surface lors du séchage dont les bords sont composés de monocouchesvoire de multicouches.

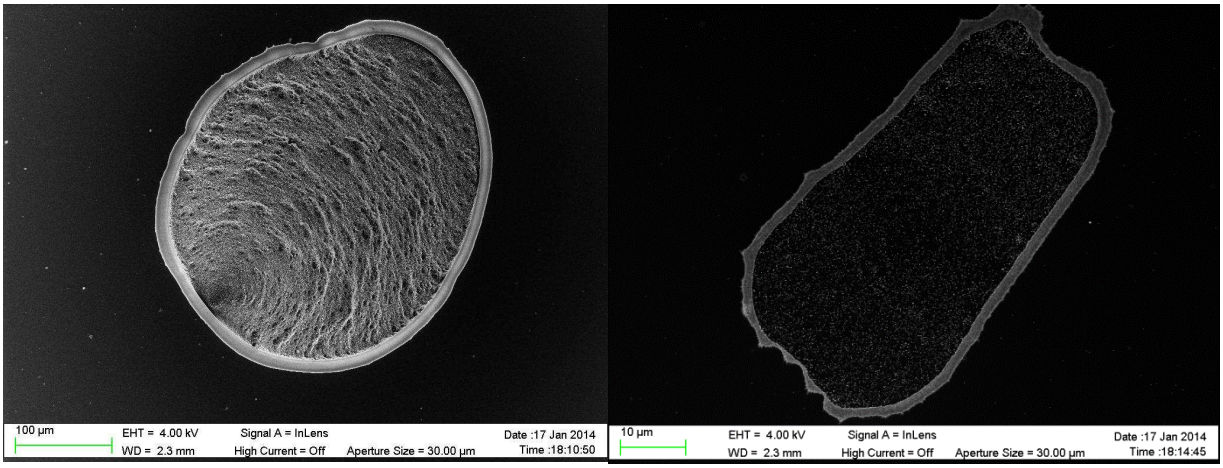


Figure 2-7 : Images MEB des « cercles » formés par le séchage de gouttelettes présentes sur les substrat de silicium.

4.1.4 Arrachement des structures tridimensionnelles de nanoparticules

Les structures tridimensionnelles obtenues après dépôt de suspensions très concentrées de SiO_2 (paragraphe 4.1.1) se maintiennent et forment des blocs facilement détachables du substrat. Un scotch nous permet de détacher ces blocs comme expliqué Figure 2-8.

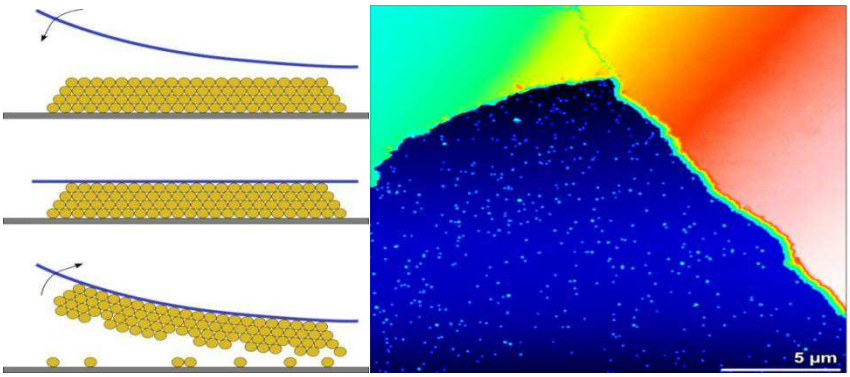


Figure 2-8 : (gauche) Schéma expliquant l'arrachement des « cristaux » de nanoparticules avec du scotch, (droite) image AFM (20 µm x 20 µm) d'une zone où un bloc a été arraché.

Nous observons Figure 2-8 (ii) que lors de l'arrachement d'un bloc de nanoparticules, toutes les particules ne sont pas solidaires de ce dernier et que certaines d'entre elles restent accrochées à la surface. Les particules sont réparties sur la zone de façon homogène et avec une densité surfacique suffisante pour être facilement imagées par AFM. Cependant, cette méthode n'est pas fiable et montre une reproductibilité faible.

4.2 Evaporation forcée grâce à un flux d'air comprimé

Dans cette partie l'évaporation a été forcée grâce à l'application d'un flux d'air comprimé sur une gouttelette déposée directement sur le substrat comme dans le paragraphe précédent. Cela a pour but d'augmenter la vitesse de séchage, et donc à diminuer le phénomène d'agglomération. Les résultats étant équivalents quel que soit le substrat, nous ne montrerons ici que ceux obtenus pour le mica.

Pour rappel, le solvant de la suspension colloïdale d'or déposée est l'eau et l'évaporation simple s'effectue en plus de dix minutes. L'application d'un flux d'air comprimé sur une gouttelette de cette solution ne permet pas un séchage beaucoup plus rapide du dépôt et le phénomène d'agglomération se produit également lentement.

La suspension colloïdale de SiO_2 est quant à elle dispersée dans un mélange méthanol-éthanol qui s'évapore très vite**.** La vitesse de cette évaporation est nettement augmentée grâce au flux d'air comprimé. La suspension étant fortement concentrée, une dilution d'un facteur 2000 par ajout d'éthanol a été effectuée avant dépôt de la gouttelette.

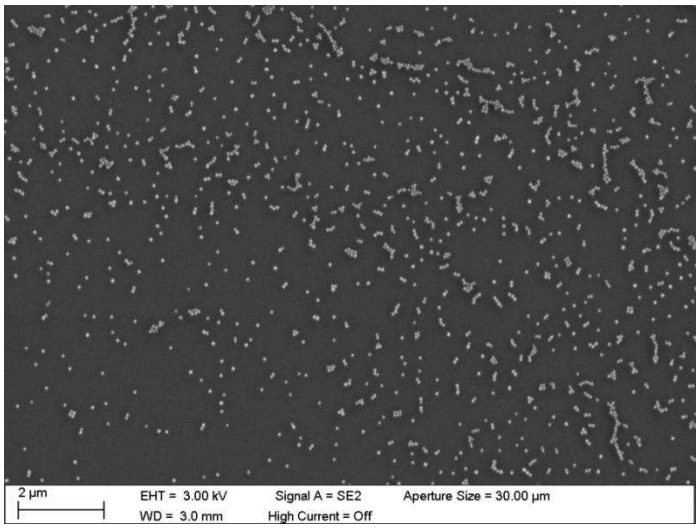


Figure 2-9 : image MEB d'un échantillon de particules de SiO_2 obtenu par évaporation d'une gouttelette forcée par air comprimé.

Cette méthode d'échantillonnage a permis d'obtenir des populations de particules bien réparties sur toute la surface (Figure 2-9), d'une façon non-homogène. Cette technique n'est donc pas adaptée à l'imagerie AFM. De plus, elle reste peu fiable et peu reproductible, et pourrait être perfectionnée.

4.3 Méthode d'échantillonnage avec une tournette

Les expériences rapportées par la suite ont été réalisées avec des nanoparticules de SiO_2synthétisées par la méthode Stöber mais des résultats similaires ont été obtenus avec des particules d'or, de SiO_2commerciales, et d'hématite.

4.3.1 Résultats obtenus sur un substrat hydrophile : le mica

Les couches superficielles du mica ont été préalablement exfoliées afin d'obtenir la surface la plus grande, la plus plane et la plus propre possible. Une goutte de suspension colloïdale de SiO_2 est déposée au centre du substrat, qui est maintenu au centre de la tournette par un système d'aspiration.

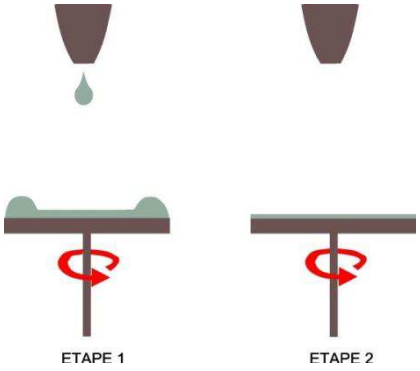


Figure 2-10 : Figure représentant les deux étapes d'échantillonnage par spin coating utilisée lors de ces travaux.

L'échantillonnage se déroule en deux étapes. La première consiste à étaler la goutte sur le substrat à une vitesse de rotation faible - comprise entre 100 tours/min et 1000 tours/min – pendant 20 secondes. La deuxième correspond à une étape de séchage, qui se déroule à 8000 tours/minute pendant 5 secondes. Ces deux étapes sont représentées dans la Figure 2-10. La Figure 2-12 montre des images MEB effectuées sur des échantillons de SiO_2 obtenus pour 5 vitesses de rotation différentes lors de l'étape d'étalement (100, 300, 500, 700 et 1000 tours/min) et pour trois zones différentes des échantillons (Figure 2-11) : (A) aux bords de l'échantillon, (C) au centre de l'échantillon et (B) dans une zone intermédiaire entre ces deux dernières.

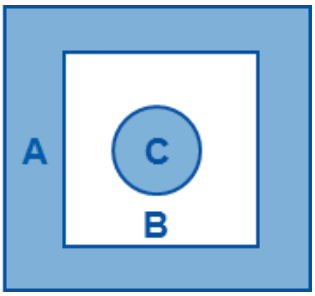


Figure 2-11 : Figure représentant les 3 zones remarquables de substrats lors des dépôts. Sont notées respectivement (A), (C) et (B) les bords de l'échantillon, le centre de l'échantillon, et une zone intermédiaire entre ces deux dernières.

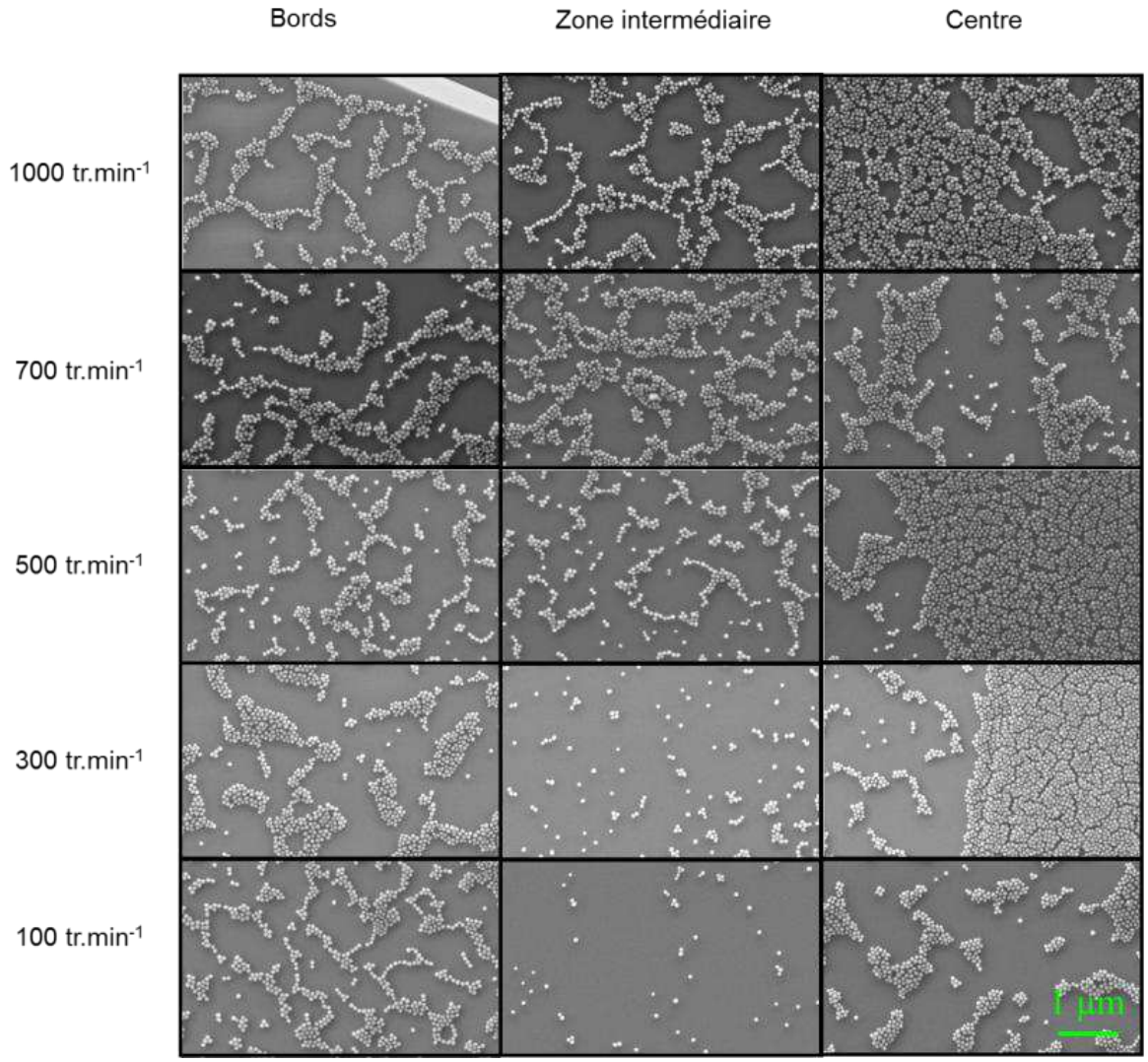


Figure 2-12 : Images MEB d'une population de SiO_2 déposée par spin-coating sur un substrat de mica avec différentes vitesses de rotation lors de la première étape (étalement). Pour chaque échantillon, trois zones ont été mises en évidence : (i) les bords de l'échantillon (iii) le centre de l'échantillon, et (ii) une zone intermédiaire entre les zones (i) et (iii).

Quelle que soit la vitesse de rotation, la densité en nanoparticules est la plus importante à proximité du centre de rotation (zone (iii)) comme attendu[76], et une forte agglomération ainsi que la formation de monocouches et de multicouche sont observées. Sur les bords de l'échantillon (zone (i)), nous retrouvons une répartition hétérogène de nanoparticules, avec des monocouches et des particules isolées. De plus, la quantité de monocouches augmente avecla vitesse de rotation lors de l'étape d'étalement. A basse vitesse de rotation (<500 tours/min), les échantillons montrent de larges zones où l'on trouve des particules isolées les unes des autres dans la zone intermédiaire (zone (ii)). En effet, l'épaisseur de la couche hydratée diminue avec l'augmentation de la vitesse de rotation (Figure 2-13). Plus cette épaisseur est faible, plus les phénomènes d'agglomération sont importants : lorsque l'épaisseur de la couche de solvant est importante, le mouvement des particules correspond au mouvement brownien. A contrario, plus l'épaisseur de la couche de solvant est faible, plus les particules subissent les forces de capillarités qui s'exercent entres elles et forment des agglomérats.

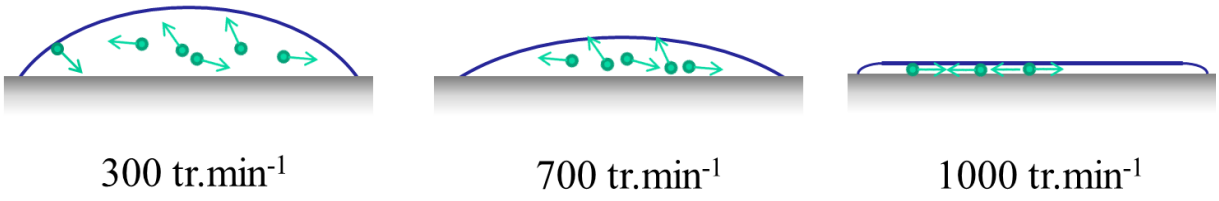


Figure 2-13 : Variation de l'épaisseur de la couche de solvant en fonction de la vitesse de rotation. A 300 tr.min-1, le mouvement brownien est dominant. A 1000 tr.min-1, les nanoparticules sont soumises aux forces de capillarités.

Les images de la Figure 2-12 montrent que le nombre de particules isolées dans la zone intermédiaire augmente avec la diminution de la vitesse de rotation lors de l'étape d'étalement. Ce nombre est proche de zéro au-delà de 300 tr/min. Le Tableau 3 reporte la densité surfacique en particules isolées dans la zone intermédiaire.

Tableau 3 : Répartition des particules isolées dans la zone intermédiaire en fonction de la vitesse de rotation pour les dépôts de particules de SiO_2 par spin-coating sur du mica.

Vitesse de rotation (tr/min)	Nombre de particules isolées sur nombre total de particules	Densité surfacique de nanoparticules (nb/µm²)	Nombre de nanoparticules isolées par unité de surface (nb/µm²)
500	0,02	30,2	0,6
300	0,3	10,8	**1,9**
100	**0,7**	1,8	0,8

Le rapport du nombre de particules isolées sur le nombre total de particules le plus important est obtenu à 100 tr/min. Cependant, la densité surfacique est faible pour cette vitesse de rotation. Elle est la plus importante pour une vitesse de 500 tr/minet atteint alors 1,9 particules parµm².

De manière générale, dans la zone intermédiaire, le taux de couverture dépend de la vitesse de rotation. Ce phénomène peut être expliqué par la variation de l'épaisseur de la couche de solvant qui dépend elle-même de la vitesse de rotation[74]. A 1000 tr/min, l'épaisseur est de l'ordre de grandeur de la taille de la particule. Dans ce cas, comme indiqué Figure 2-5, les forces de capillarité sont importantes et conduisent au phénomène d'agglomération. Dans le cas d'une vitesse de rotation plus faible, à 100 tr/min par exemple, l'épaisseur de la couche de solvant est importante et le mouvement Brownien est prédominant. Quelques particules s'accrochent à la surface de façon aléatoire et statistique, le ratio particules isolées / particules agglomérées est donc dans ce cas plus important.

4.3.2 Résultats obtenus sur un substrat hydrophobe : le silicium

La même méthode a été testée sur un substrat de silicium qui offre un comportement physico-chimique tout à fait différent de celui du mica. En effet, le silicium est hydrophobe. Cette propriété influence fortement l'étalement de la goutte sur le substrat et donc la première étape[77]. Une gouttelette est déposée sur un morceau de wafer de silicium (1 mm x 1 mm) nettoyé préalablement et la méthode

d'échantillonnage par tournette développée est appliquée. On fait varier la vitesse de rotation entre 300 tr/min et 1000 tr/min lors de l'étape d'étalement de façon à connaître celle qui est la plus adaptée à notre problématique. Les résultats sont montrés en Figure 2-14.

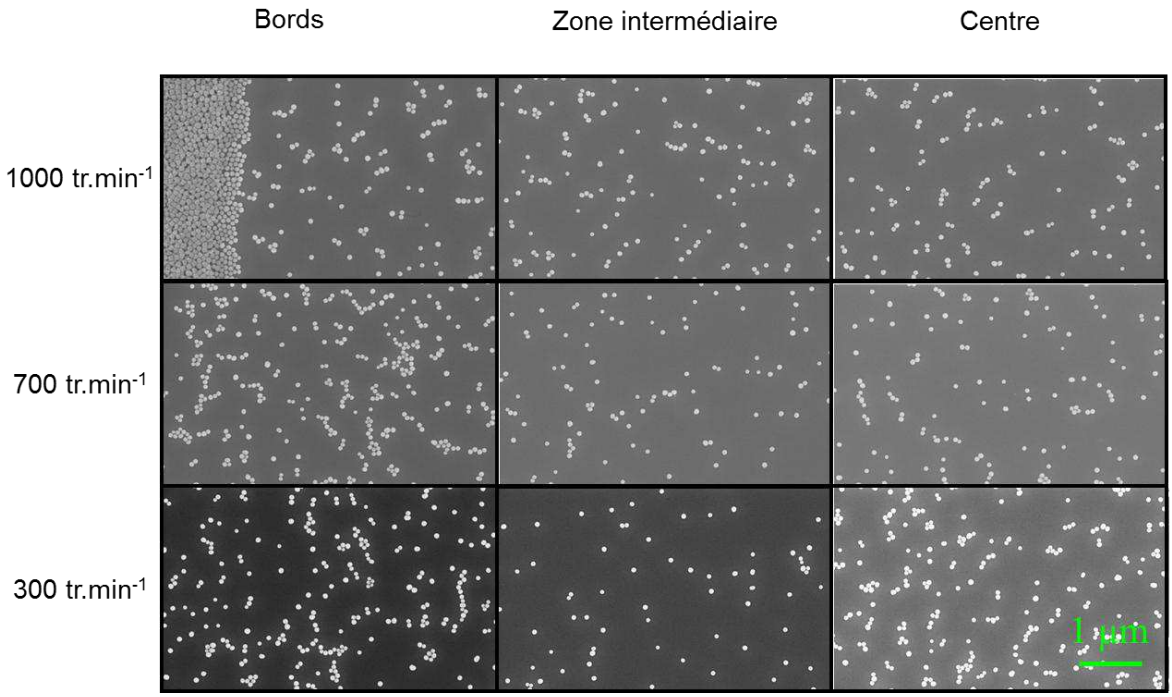


Figure 2-14 : Images MEB d'une population de SiO_2 déposée par spin-coating sur du silicium avec différentes vitesses de rotation lors de la première étape (étalement). Comme pour le mica, pour chaque échantillon, trois zones ont été mises en évidence : (i) les bords de l'échantillon (iii) le centre de l'échantillon, et (ii) une zone intermédiaire entre les zones (i) et (iii).

Les résultats sont plus homogènes que ceux obtenus sur le mica. Néanmoins, la différence de comportement entraîne une modification dans la répartition des particules isolées : elles se trouvent intégrées dans des « cercles » comme ceux trouvés lors d'un dépôt de goutte (voir Figure 2-7). Cependant, à l'intérieur de ces « cercles », les résultats restent similaires à ceux obtenus sur le mica, comme le montre le Tableau 4.

Tableau 4 :Répartition des particules isolées dans la zone intermédiaire en fonction de la vitesse de rotation pour les dépôts de particules de SiO_2 par spin-coating sur du silicium

Vitesse de rotation (tr/min)	Nombre de particules isolées sur nombre total de particules	Densité surfacique de nanoparticules (nb/µm²)	Nombre de nanoparticules isolées par unité de surface (nb/µm²)
1000	0,48	4,67	2,26
700	0,46	5	**2,29**
300	**0,59**	2	1,25

La valeur maximale de densité surfacique de nanoparticules est atteinte entre 700 et 1000 tr/min (approximativement 2,3 particules isolées par unité de surface).

[63] Nam Woong Song, KyongMi Park, In-Ho Lee, Hyun Huh, « *Uncertainty estimation of nanoparticle size distribution from a finite number of data obtained by microscopic analysis* », Metrologia, 46, 2009, 480-488.

[64]Jillavenkatesa A., Dapkunas S., Lum L., « *NIST recommended Practice Guide* », 2011, NIST, U. S. departement of commerce, Special Publication, 960-1 74- 78.

[65]J. Cazaux, « *Les matériaux isolants en microscopie électronique à balayage et microanalyse X* » dans Microscopie électronique à balayage et Microanalyses, Publication du Groupement National de Microscopie Electronique à Balayage et de microAnalyses, F. Brisset, p627, 2006

[66] Francine Roussel-Dherbey, « *La métallisation des échantillons (complément)* » dans Microscopie électronique à balayage et Microanalyses, Publication du Groupement National de Microscopie Electronique à Balayage et de microAnalyses, F. Brisset, p653, 2006

[67] Ch. Mathieu, « *The beam-gas and signal gas-interactions in the variable pressure scanning electron microscopy* », Scanning Microscopy, vol. 13, n°1, p.23-41 (1999)

[68]Buelble, « *AURIGA Cross beam und EVO am MPA* », Carl Zeiss NTS, www.mpa.uni-stuttgart.de/news.zeiss_nts.pdf

[69] Brevet numéro WO2005009684 A1 : « *Procédé de préparation de surface Epi-Ready Sur films minces de SiC* », Inventeur : Claire Richtarch, Déposant : SoitecSilicon on insulator, Claire Richtarch, 2006

[70] LS Shyakhtenko, AA. Gall, JJ Weimer, DD Hawn, YL Lyubchenko, « *Atomic Force Microscopy Imaging of DNA covalently Immobilized on a functionalized Mica Substrate* », Biophysical Journal, Volume 77, July 199, p568-576

[71] Chung Hung Liu, Li Liu, Kin Fai Mak, George W. Flynn, Tony F. Heinz, « *Ultraflat* Graphene », Nature, 19 november 2009, Volume 462, doi :10.1038/nature08569

[72] Christopher M. Hoo, T. Doan, N. Starostin, P. E. West, M. L. Mecartney, *« Optimal sample preparation for nanoparticle metrology (statistical size measurements) using atomic force microscopy* », Journal of Nanoparticle Research (2010), 12 :939-949.

[73] Huang, Y.; Pemberton, J. E., «*Synthesis of uniform, spherical sub-100 nm silica particles using a conceptual modification of the classic LaMer model* » Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2010, 360, 175–183

[74] A. Thill et O. Spalla, « *Aggregation due to capillary forces during drying of particle submonolayers* » Colloids and surfaces A :Physicochem. Eng. Aspects 217, 2003, 143-151.

[75] Boyd, R. D. &Cuenat, A. « *New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images* », Journal of Nanoparticle Research, 2011, *13*, 105-113

[76] T. Ogi, L. Balam Modesto-Lopez, F. Iskandar, K.Okuyama, « Fabrication of a large area monolayer of silica particles on a spphiresubstart by a spin-coating method », Colloids and Surface A :Physicochem. Eng. Aspects 297 (2007), 71-78.

[77] A. Das and al., « *Growth of two dimensional arrays of uncapped gold nanoparticles on silicon substrates* », Bull. Mater. Sci., volume 31, n°3 (2008), p277

CHAPITRE 3

BILAN D'INCERTITUDE ASSOCIE A LA MESURE DE NANOPARTICULES SPHERIQUES PAR AFM

Ce chapitre décrit l'instrument utilisé pour les mesures en AFM ainsi que son environnement. Les différentes sources d'erreur lors de la mesure seront caractérisées et un bilan d'incertitudesera établi pour la mesure de taille de nanoparticules par AFM.

1 DESCRIPTION DU SYSTEME UTILISE ET PRECAUTIONS ENVIRONNEMENTALES

Dans ce travail de thèse, les images AFM ont été acquises avec un Dimension Nanoman V (Veeco) équipé d'un système de balayage hybride imposé par la tête (Hybrid XYZ scanner) qui permet une très bonne précision suivant les 3 axes et fonctionnant en boucle fermée. Ce système possède une gamme de déplacement de 90 µm x 90 µm x 8 µm suivant les axes X, Y et Z respectivement.

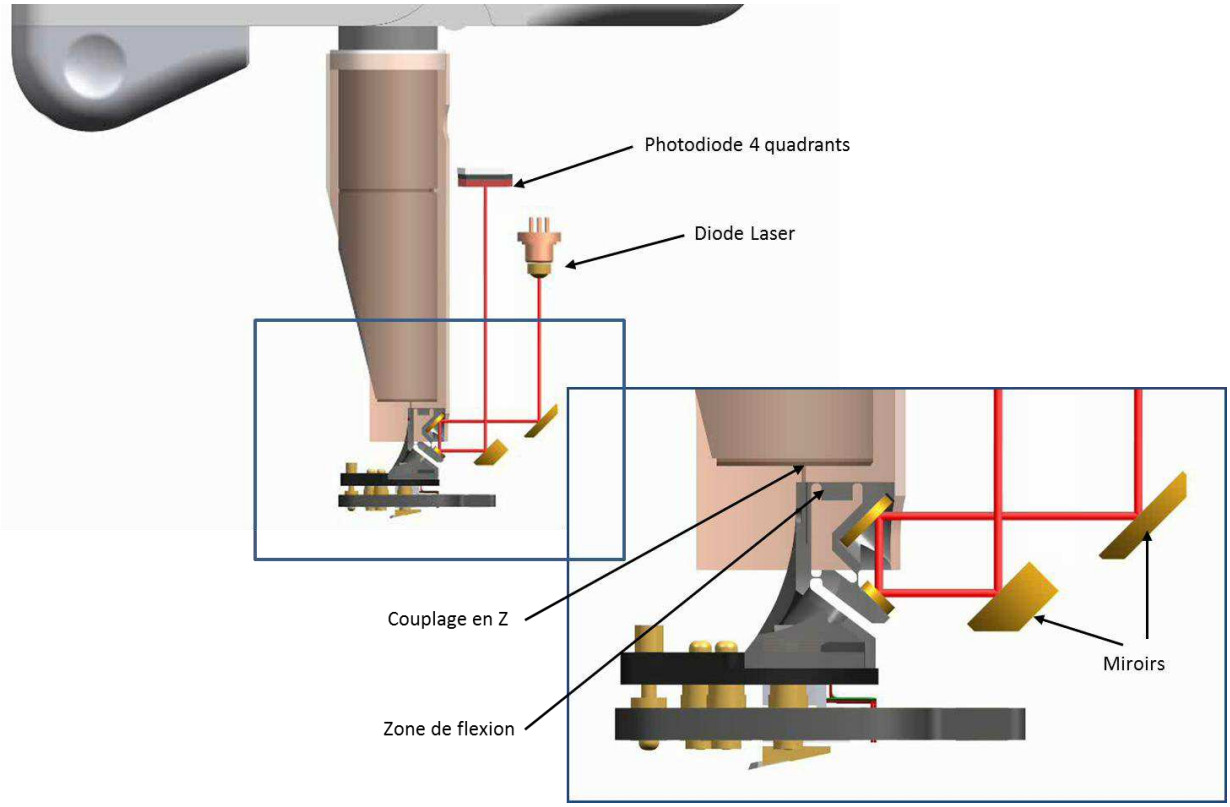


Figure 3-1 : Vue schématique simplifiée de la tête hybride du Dimension Nanoman V.

Afin d'éviter les impacts vibrationnels et acoustiques sur la mesure, l'instrument utilisé est isolé grâce à un caisson et placé sur une table antivibratoire. Le système complet est lui-même placé sur un bloc de béton massif découplé du bâtiment. Le laboratoire est quant à lui contrôlé en température (20°C ± 0,05°C) et en hygrométrie (50% ± 5% d'humidité relative). Ces précautions combinées avec les performances de l'AFM donnent au système une grande stabilité en termes de bruit et de dérives. Celles-ci seront évaluées dans le paragraphe 2.2 de ce chapitre.



Figure 3-2 : Photographies des protections acoustiques et vibratoires mises en œuvre sur l'AFM du LNE (Dimension V, Veeco).

Toutes les mesures ont été effectuées en mode tapping et avec des pointes OTESPA et OTESPA-R3 (fournies par Bruker – production des premières pointes citées stoppée et production des deuxièmes à partir de 2014). Ces pointes, représentées en Figure 3-3, ont toutes deux une fréquence de résonance nominale de 300 kHz et un rayon de courbure nominal de 7 nm environ (maximum indicatif 10 nm).

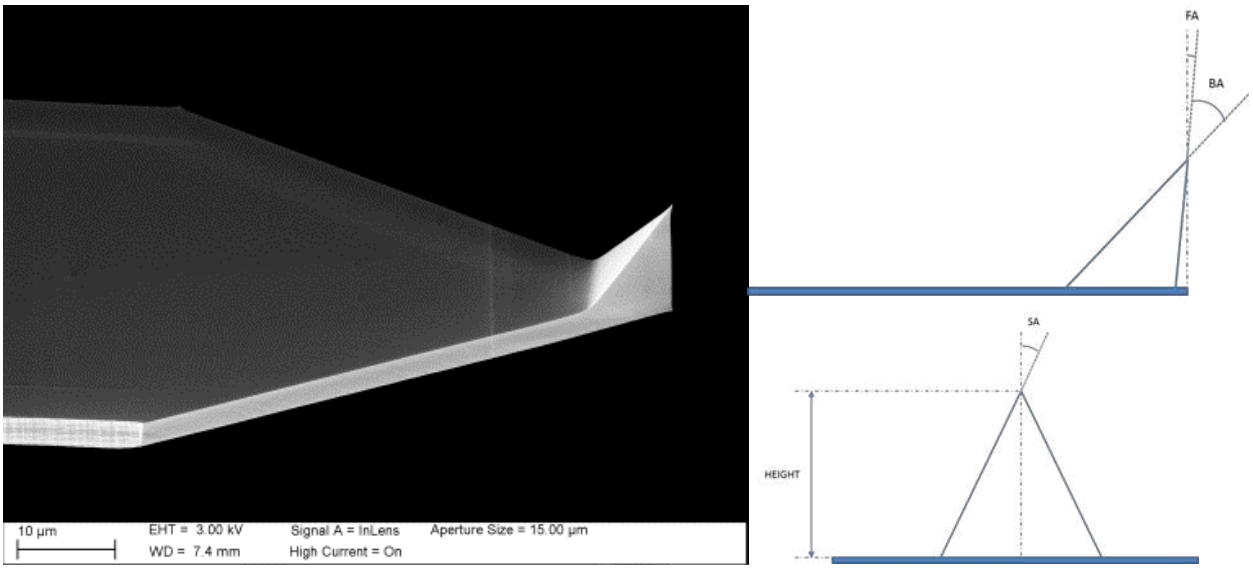


Figure 3-3 : Image MEB d'une pointe OTESPA (gauche) et schéma explicatif de ses spécificités (droite). Pour les pointes OTESPA-R3, les spécificités sont les suivantes : BA (Back Angle) = 35 ± 1°, FA (Front Angle) = 0 ± 1°, SA (Side Angle) = 18 ± 1°, Height (hauteur) comprise entre 9 µm et 19 µm.

Dans le paragraphe suivant, les sources d'incertitudes affectant possiblement la mesure de hauteur de nanoparticules sphériques par AFM seront listées et mesurées. Chacune de leur influence sera calculée pour établir un bilan d'incertitude complet.

2 ETALONNAGE ET CARACTERISATION DE L'AFM

2.1 Etalonnage de l'instrument

L'étalonnage d'un instrument est une étape cruciale pour qu'il fournisse une valeur exacte. Il est défini dans le VIM[78] comme :

L'«*ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure matérialisé, ou par un matériau de référence, et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons* ».

Cette définition est suivie de 3 notes :

- Note 1 : Le résultat d'un étalonnage permet soit d'attribuer aux indications les valeurs correspondantes du mesurande, soit de déterminer les corrections à appliquer aux indications.
- Note 2 : Un étalonnage peut aussi servir à déterminer d'autres propriétés métrologiques telles que les effets de grandeurs d'influence.
- Note 3 : Le résultat d'un étalonnage peut être consigné dans un document parfois appelé **certificat d'étalonnage**ou **rapport d'étalonnage**.

Dans notre cas, le matériau de référence utilisé sera un étalon de transfert prenant la forme d'un réseau en trois dimensions. Ce réseau est fourni avec un certificat d'étalonnage, qui permet d'assurer le raccordement au mètre SI.

Comme précisé dans la définition, cet étalonnage doit être effectué dans des conditions spécifiées, et il est possible que dans le temps l'appareil subisse des modifications. L'étalonnage de l'appareil doit donc être vérifié régulièrement de façon à corriger les variations de mesures impliquées par ces modifications.

2.1.1 Certificat d'étalonnage de l'étalon

Le certificat d'étalonnage du réseau STS2-440P, dont une image AFM est donnée en Figure 3-4, est fourni par la société VLSI (donné en Annexe 4) indique des valeurs de (41,2 ±0,7) nm suivant l'axe Z et de (1802 ± 23) nm suivant les axes X et Y. L'incertitude suivant l'axe Z impacte directement toute mesure de hauteur effectuée avec l'instrument pour lequel l'étalon a été utilisé. Cette valeur est amenée à diminuer par la suite, puisque l'AFM métrologique du LNE, conçu pour limiter les sources d'incertitude de la mesure est en cours d'évaluation, et pourra par la suite certifier le réseau suivant les axes X, Y et Z, avec des valeurs d'incertitude très inférieures à celles fournies par VLSI.

L'étalonnage de l'instrument a été régulièrement suivi pendant les travaux de thèse, et un exemple est donné en paragraphe 2.1.2.

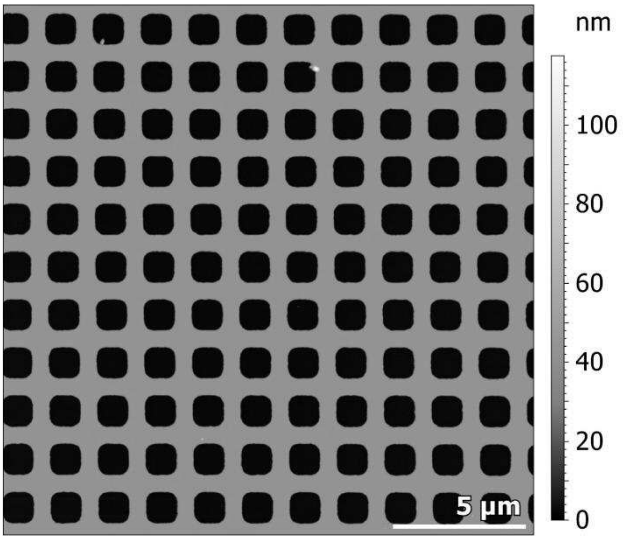


Figure 3-4 : Image AFM de l'étalon de transfert STS2-440P.

2.1.2 Protocole d'étalonnage de l'instrument

Afin d'étalonner l'AFM, nous effectuons des balayages de 20 µm x 20 µm et de 100 µm x 100 µm dans le but d'obtenir des résultats concernant des grandes et des courtes distances de déplacement. Nous nous attacherons à mesurer le pas de réseau et la hauteur de marche : par comparaison avec les données du certificat d'étalonnage fourni, nous pourrons alors étalonner l'instrument.

Cet étalonnage s'effectue à partir des images fournies par le capteur hybride appelé *Z-sensor*(voir Figure 3-1du paragraphe 1).Grâce au logiciel de traitement d'image dédié à la microscopie champ proche SPIP, nous redressons l'image brute fournie (voir Chapitre 4, Figure 5-11), puis nous obtenons les données d'étalonnage grâce aux fonctions « *Linearity »* et « *Z-calibration »* du logiciel qui donne les paramètres XY d'une cellule unitaire et calcule la hauteur de marche suivant un histogramme respectivement. Les mesures retenues sont :

- Le pas suivant l'axe X, P_x, et C_x le facteur de correction suivant l'axe X calculé par rapport à la valeur fournie par VLSI dans le certificat d'étalonnage,
- Le pas suivant l'axe YP_y et de la même façon C_y, le facteur de correction suivant l'axe Y associé,
- L'angle entre les axes propres du réseau qui permet de corriger l'orthogonalité des axes X et Y,
- La hauteur de marche ZH_z et *Cz*, le facteur de correction associé à l'axe Z.

Les facteurs de corrections sont insérés dans l'interface de contrôle de l'instrument, dans l'onglet*Calibration>XY>X sensitivity* et *Y sensitivity* et *Calibration>Z>Zsensorsensitivity*suivant les équations suivantes :

$$Xsensitivity = C_X \times Xsensitivity(old\ value)$$

$$Ysensitivity = C_Y \times Ysensitivity(old\ value)$$

$$Zsensor_sensitivity = C_X \times Zsensor_sensitivity(old\ value)$$

Après avoir corrigé les valeurs *Xsensitivity*, *Ysensitivity*,*Zsensor_sensitivity*,nous effectuons de nouvelles images afin de recueillir les nouvelles données après étalonnage. Les résultats avant et après étalonnage suivant les axes X et Y sont reportés dans leTableau 5.

Tableau 5 : Comparaison des valeurs de pas de réseau et de hauteur de marche obtenus avant et après étalonnage.

	Avant étalonnage		**Après étalonnage**	
	Valeur mesurée	Différence avec la valeur fournie par le certificat d'étalonnage	Valeur mesurée	Différence avec la valeur fournie par le certificat d'étalonnage
Pas suivant l'axe X *Px* en nm	1849,05	47,05	1807,12	5,12
Pas suivant l'axe Y *Py* en nm	1758,22	43,78	1800,72	1,28
Hauteur de marche *Hz* (Z-sensor) en nm	43,66	2,36	41,25	0,05

Nous pouvons observer, même après étalonnage, qu'il subsiste un écart à la valeur de référence. Cet écart est dû à l'inhomogénéité de l'étalon.

Les résultats obtenus après étalonnage sont satisfaisants car ils sont inférieurs à la valeur fournie par le certificat d'étalonnage avec l'incertitude : (1802 ± 23) nm suivant les axes X et Y et (41,2 ±0,7) nm suivant l'axe Z.

2.1.3 Inhomogénéité de l'étalon suivant l'axe Z

Puisque l'inhomogénéité de l'étalon a un impact sur l'étalonnage, elle a également un impact direct sur l'exactitude de toute mesure effectuée après l'étalonnage. Nous avons donc souhaité l'évaluer par des études de reproductibilité et de répétabilité.

La répétabilité des résultats de mesurage est définie par le VIM comme étant :

l' « *étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure* ».

Trois notes sont apportées :

- Note 1 : Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité.
- Note2 : Les conditions de répétabilité comprennent : même mode opératoire, même observateur, même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions, même lieu, et répétition durant une courte période de temps.
- Note 3 : La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.

De même, la reproductibilité des résultats de mesurage est définie :

« *Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectué en faisant varier des conditions de mesure* ».

Des notes sont également ajoutées :

- Note 1 : Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier.
- Note 2 : Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre : le principe de mesure, la méthode de mesure, l'observateur, l'instrument de mesure, l'étalon de référence, le lieu, les conditions d'utilisation, et le temps.
- Note 3 : La reproductibilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.

Dans notre cas, nous commencerons par l'étude de reproductibilité de la mesure de l'étalon en faisant varier la position où a lieu l'acquisition de l'image sur le réseau. Afin de savoir si la dispersion des résultats obtenus provient de cette variable ou de l'instrument, nous effectuerons ensuite une étude de répétabilité sur la mesure de l'étalon, en ne faisant pas varier cette position. Nous pourrons donc par la suite évaluer l'inhomogénéité de l'étalon.

a. Etude de reproductibilité

Une étude de reproductibilité a été faite sur la mesure du pas de réseau et de la hauteur de marche moyenne sur l'étalon STS2-440P (Annexe 4). Cette étude a été effectuée sur une courte période (52 h). Les résultats sont reportés dans la Figure 3-5.

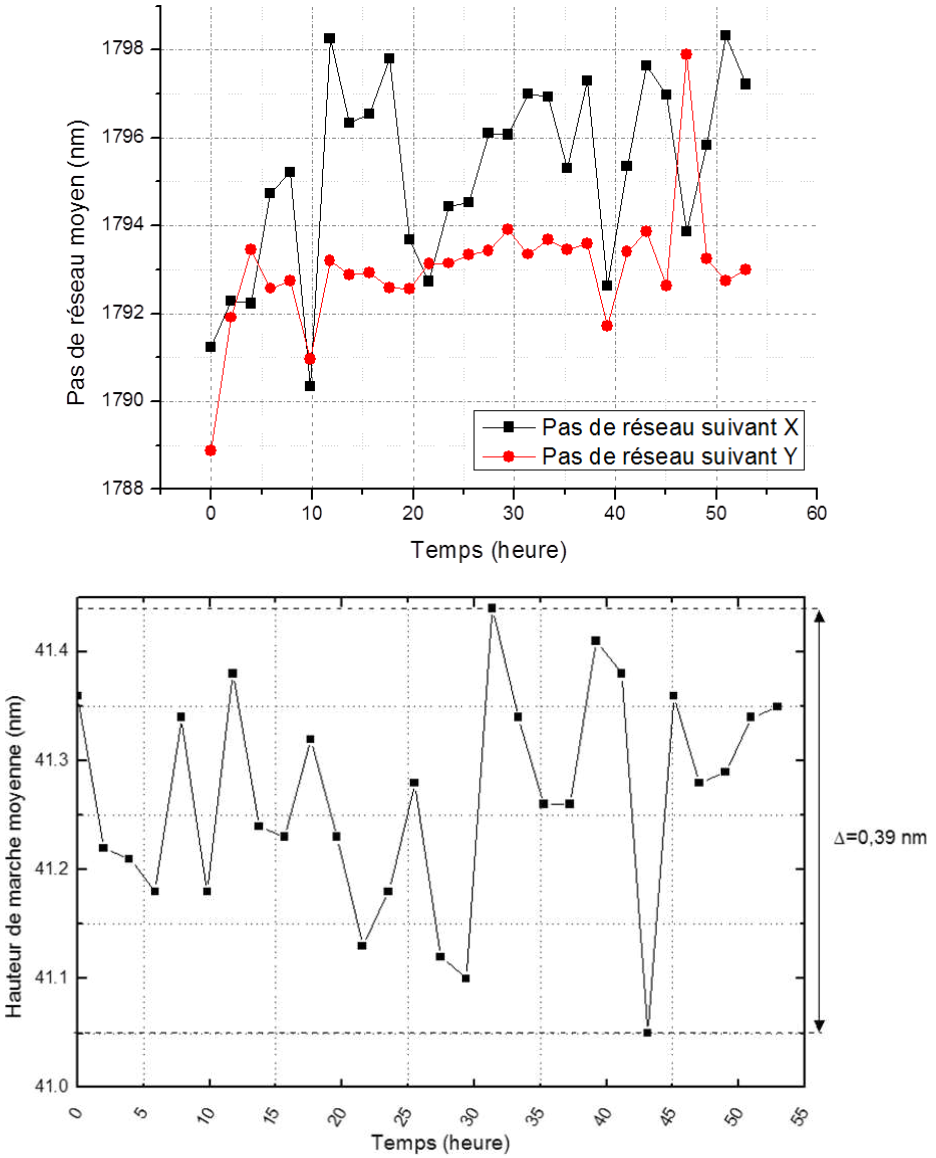


Figure 3-5 : Etude de reproductibilité : pas du réseau (haut) et hauteur de marche moyenne (bas) mesurés pour l'étalon STS2-440P à des positions différentes sur l'étalon.

Nous pouvons noter que le premier point sur la courbe XY est décalé par rapport aux autres résultats de mesure. Ce décalage est causé par la dérive thermique, la stabilité thermique n'ayant pas été atteinte à t = 0 h. Les écart-types suivants sont donc exprimés en excluant cette mesure.

Les écart-types de la mesure suivant les axes X et Y sont estimés respectivement à 1,9 nm et 0,8 nm respectivement, sans qu'une dérive ne soit observée.Nous observons donc un écart de comportement entre ces deux axes. Ceci peut être expliqué : en effet, l'axe X correspond à l'axe de balayage (ou axe rapide), et l'axe Y correspond à l'axe lent. Ce dernier est moins sollicité que l'axe de balayage, qui est donc moins stable.

La dispersion des mesures de hauteur de marche atteint 0,39 nm pic à pic et 0,12 nm en écart-type, sans qu'une réelle dérive de l'instrument ne soit notable.

Comme indiqué précédemment, l'étude s'est effectuée à différentes positions sur l'étalon, et il convient de savoir si les dispersions des mesures constatées sont dues à l'instrument ou à la non-uniformité de l'étalon.

b. Etude de répétabilité

Afin de vérifier cette hypothèse, nous effectuons une étude de répétabilité à l'aide d'une série d'images obtenue sur une même zone de l'étalon acquises au cours d'une expérience visant à évaluer les dérives de l'instrument (voir paragraphe 2.2.2). Cette étude est menée lorsque l'instrument est stabilisé et qu'un plateau en température est atteint. Les pas moyens en X et Y et la hauteur de marche sont calculés pour chaque image à l'aide du logiciel SPIP après traitement (redressement). Les résultats sont reportés enFigure 3-6.

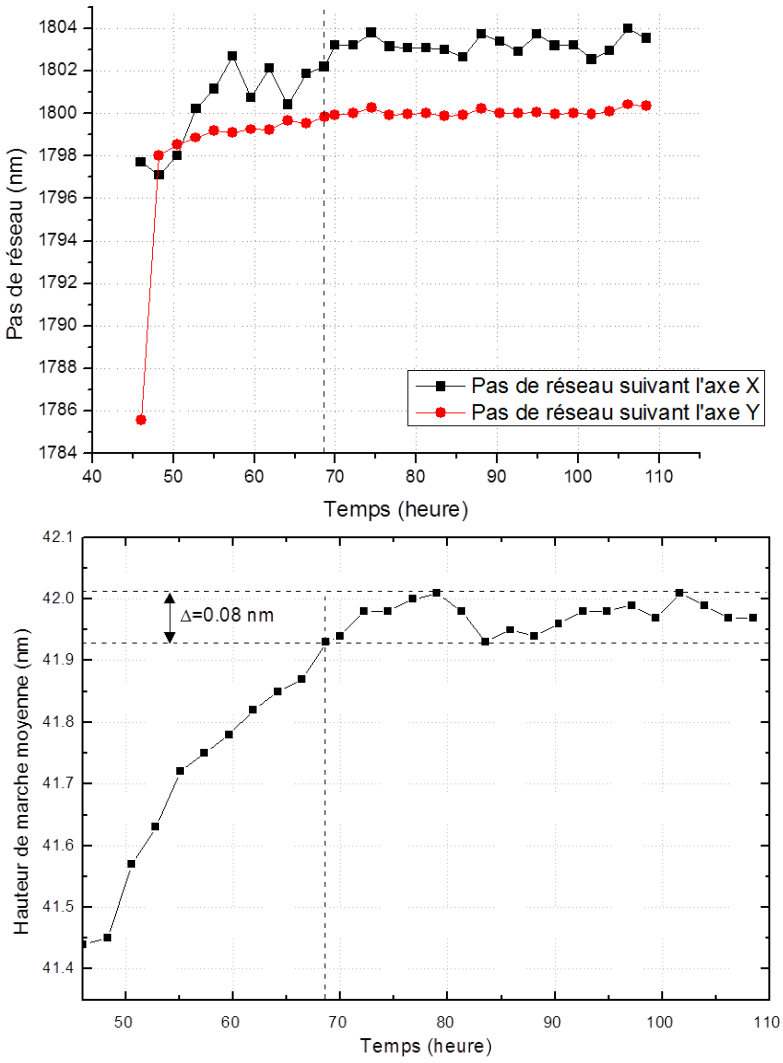


Figure 3-6 : Etude de répétabilité : suivi du pas moyen (haut) et de la hauteur de marche moyenne (bas) mesurés sur l'étalon STS2-440P sur une période de 65 heures, sur la même zone de l'étalon, et durant une période de stabilité thermique.

Les résultats montrent que les mesures effectuées pour la même zone imagée de l'étalon sont répétables pour le pas à 1,5 nm en X (écart-type) et 0,54 nm en Y (écart-type) et à 0,08 nm pour la hauteur de marche moyenne (écart-type/2σ). Le premier point est à écarter : sa différence est à attribuer à la non-stabilisation thermique dans l'instrument (voir paragraphe 2.2.1a). La répétabilité obtenue est donc largement inférieure aux dispersions obtenues en Figure 3-5, nous pouvons donc affirmer que ces dernières doivent être attribuées à la non-uniformité de l'étalon. Les résultats obtenus suivant l'axe Z seront donc utilisés directement comme données d'entrée pour le bilan d'incertitude de la mesure de taille de nanoparticule par AFM puisque cette incertitude impacte directement notre mesure.

2.2 Caractérisation de l'équipement

2.2.1 Bruit

a. Bruit suivant l'axe Z

Le bruit suivant l'axe Z a été évalué en verrouillant la position de la pointe en XY sur du mica. Il est en effet possible de verrouiller l'instrument sur un point etacquérir ainsi une image en demandant dans les paramètres de l'AFM un scan de 0 nm x 0 nm et une résolution non-nulle – chaque point de l'image obtenue correspondant à la mesure de hauteur en ce même point. Ce verrouillage en position n'est pas complétement maitrisé notamment du fait du bruit en XY et de la dérive en XY de l'instrument. Pour cette raison, nous avons choisi un substrat très peu rugueux. Une série de mesures a été effectuée pour une image de résolution de 256 x 256 (soit 65536 points) et en faisant varier le Z-range, qui correspond à la gamme de déplacement du moteur piézoélectrique, entre 250 nm et 9890 nm.

Les images sont ensuite redressées grâce au logiciel SPIP (ImageMet) afin de déduire tout effet de dérive électronique ou thermique sur la mesure du bruit (RMS) dont la formule est reportée en Chapitre 2, paragraphe 1.1.

La Figure 3-7 montre le bruit RMS mesuré lorsque la pointe est statique pour différentes gammes de déplacement.

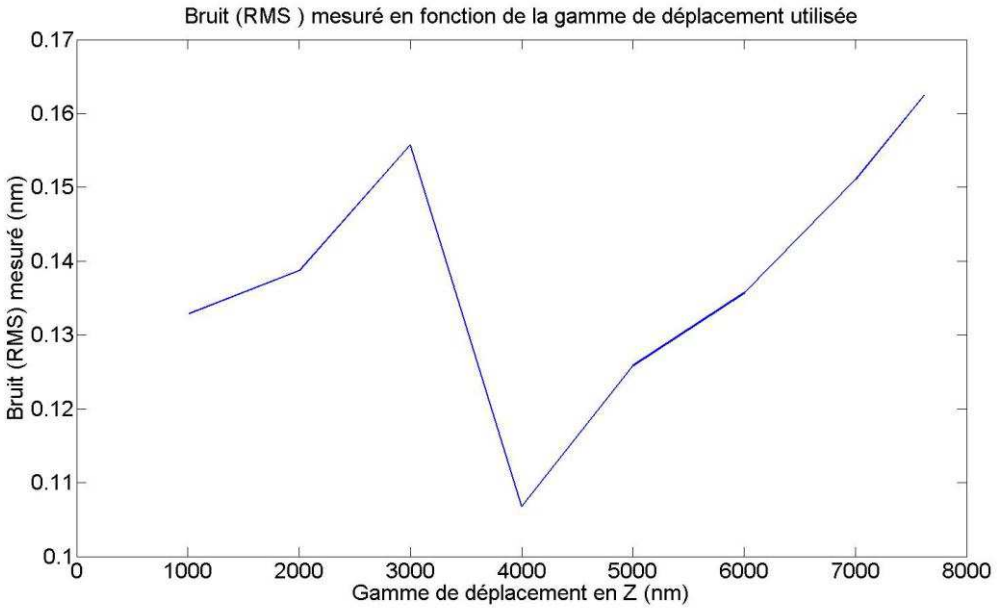


Figure 3-7 : Bruit RMS en fonction de la gamme de déplacement (Z-Range) utilisée.

Sur la Figure 3-7, nous observons que pour toutes les gammes de déplacement, le bruit RMS est compris entre 0,10 nm et 0,17 nm, et qu'il peut donc être considéré comme étant stable. Nous pouvons donc estimer le bruit RMS moyen suivant l'axe Z égal à 0,14 nm.

Cependant, dans la pratique, la gamme de déplacement suivant Z est dans la plupart des cas fixée à sa plus grande valeur pour éviter un « crash » de la pointe sur un éventuel objet de taille importante. Afin d'estimer une valeur plus proche de la réalité nous retiendrons 0,16 nm comme valeur de bruit suivant l'axe Z.

b. Bruit suivant les axes X et Y

Cette valeur étant très difficile à mesurer puisque difficilement dissociable de la dérive de l'instrument, nous prendrons par la suite la valeur donnée par le constructeur qui est B_{XY} = 6 nm pic à pic. Nous estimerons par la suite l'impact de ce bruit suivant X et Y sur la mesure de hauteur.

2.2.2 Dérives de l'instrument

Nous souhaitons, dans ce paragraphe, mesurer la dérive thermique de l'instrument suivant les 3 axes. En effet, comme indiqué dans le paragraphe concernant la dilatation de la particule, l'électronique environnant l'instrument émet de la chaleur et la température mesurée à proximité de l'échantillon avoisine les 32 °C. C'est pourquoi nous avons voulu connaître le comportement de l'instrument pendant la montée en température dans le caisson où est intégré l'appareil ainsi que son comportement lorsque le maximum en température est atteint et devient stable. Pour cela, au début de l'expérience, le caisson est ouvert et l'appareillage totalement éteint afin de commencer l'expérience à température ambiante (20°C). Une dizaine de sondes de température (PT100) ont été placées dans le caisson mais la température la plus représentative de l'environnement au niveau du système pointe-surface correspond

à la sonde qui est placée sur la tête AFM. Les températures sont relevées à intervalle régulier grâce à un multimètre Keithley 2701 interfacée avec un programme Labview.

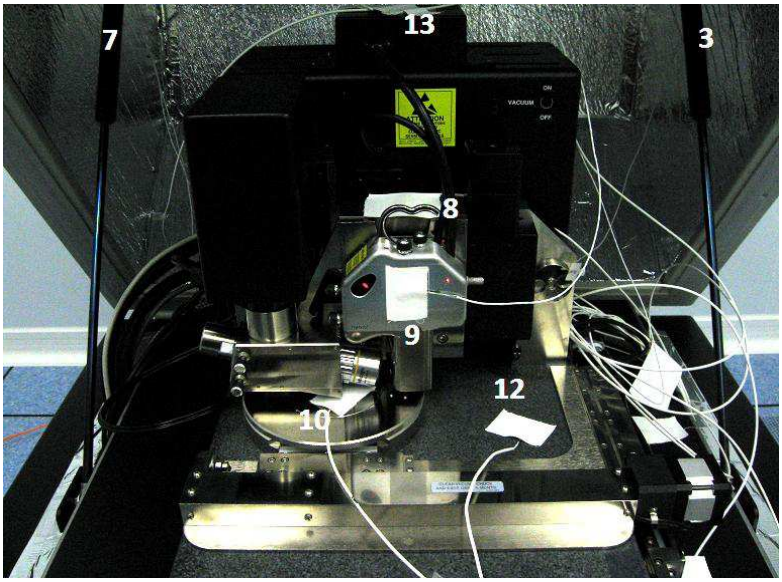


Figure 3-8 : photographie de l'AFM et du caisson le contenant montrant les sondes de températures mises en place pour la corrélation dérive de l'intrument– température.

Pendant toutes les phases de variation en température, nous avons décidé de suivre les dérives thermiques grâce à la mesure en continu de notre réseau étalon (STS2-440P, VLSI). Des motifs de cette structure de référence sont donc imagésà une fréquence connue et sans interruption grâce à la fonction « *capture movie* » proposée par le logicielNanoscope fournit avec l'AFM. L'acquisition de ces images s'effectue en mode contact pour une mesure plus rapide, puisqu'il permet d'imager à 20 µm.s^{-1} sans artefact d'imagerie tels que des sauts d'asservissement ou des phénomènes de trainée (voir Figure 3-14). La taille de l'image est de 5 µm x 5 µm pour une résolution de 256 x 256 pixels. L'image est ainsi effectuée en 2 minutes et 8 secondes. Il est cependant à signaler que le balayage des images s'effectue de haut en bas puis de bas en haut dans la fonction « *capture movie* ». Le temps écoulé pour une même ligne entre deux images n'est donc pas le même une image sur deux (voir Figure 3-9).

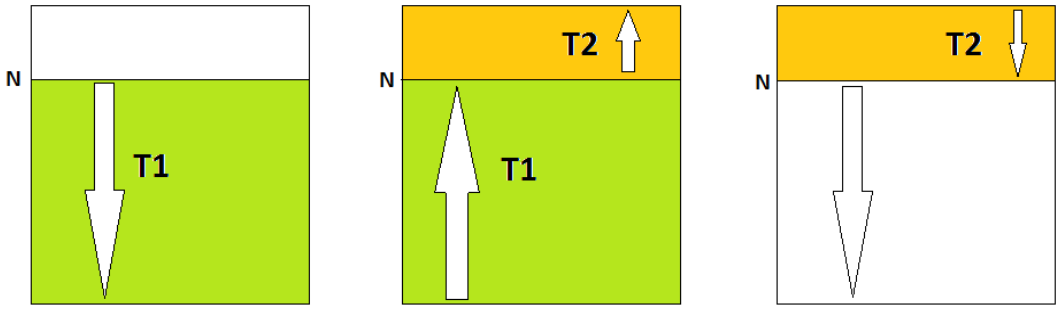


Figure 3-9 : Schéma représentant le temps écoulé entre deux images enregistrées avec la fonction « *capture movie* ». Pour atteindre la même ligne N sur l'image 2, il faut un temps de 2x*T1*, alors que pour atteindre cette même ligne sur l'image 3, il faut un temps de 2x*T2*.

Pour le traitement des images, nous prenons donc le soin de ne comparer que les images possédant le même intervalle de temps $\Delta\tau$ pour chaque ligne, soit une image sur deux où le temps $\Delta\tau$ est égal à $2xT1 + 2xT2$.

a. Dérivethermiquesuivant les axes X et Y

Le logiciel de traitement d'image WSxM[79] est utilisé pour déterminer les dérives en X et en Y de l'instrument. Un montage vidéo est effectué à partir des images AFM acquises en continu et permet de visualiser le mouvement des motifs du réseau (Figure 3-10).

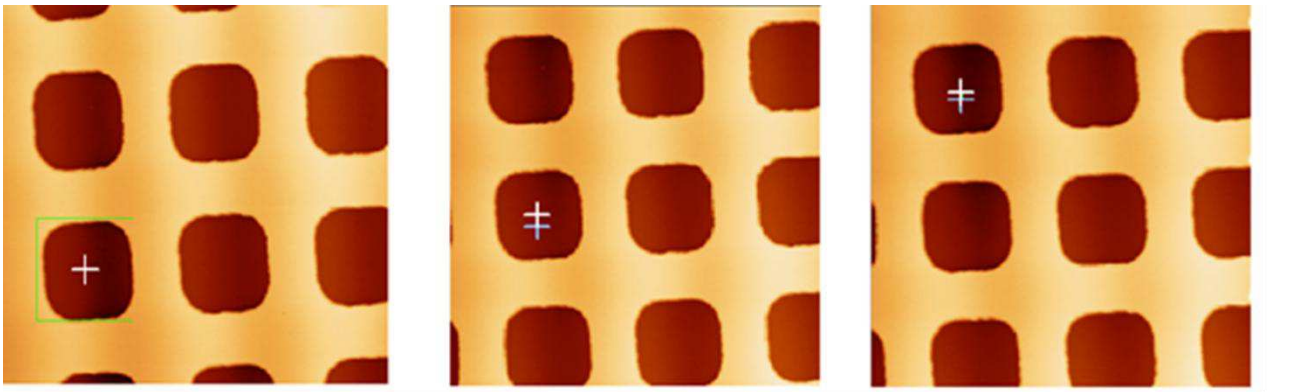


Figure 3-10 : Images AFM de l'étalon STS2-440P (5 µm x 5 µm) acquises en continu durant la phase de montée en température de l'électronique et traitées par WSxM (redressement et suivi des positions d'un motif grâce à la fonction « *particlemovementanalysis* »). Il n'a pas été demandé de mouvement en position sur l'échantillon, et seules les dérives expliquent les déplacements des motifs sur l'image. La croix blanche indique la position du centre du motif sur l'image en cours, la croix bleue indique la position du centre du motif sur l'image qui précède.

Afin de quantifier cette dérive thermique de l'instrument, la position du centre du motif (voir Figure 3-10) est mesurée au cours du temps d'une image à l'autre. Les mesures suivant les axes X et Y sont reportées Figure 3-11.

Durant la première partie du relevé, nous observons que la température au niveau de la tête AFM s'élève de 20°C à 30°C. Les positions X et Y du motif sélectionné sont fortement affectées mais de façon non-symétrique. En effet la dérive suivant l'axe Y (axe lent) suit bien les variations de température dans le caisson. Sur la gamme totale des températures mesurées pendant les deux parties de l'expérience la dérive suivant l'axe Y atteint 7,7 µm. Suivant l'axe X (axe rapide/axe de balayage) des oscillations sont tout d'abord observées puis la stabilisation s'effectue lorsque la montée en température est inférieure à 0,125 °C.h^{-1}.

Notons ici que la stabilisation en température est obtenue après 46 heures de montée en température. Puis, les dérives suivant l'axe Y se stabilisent disparaissent également lorsque la température devient stable. Il est important d'observer que les valeurs d'une mesure effectuée avant 46 heures seraitentachée d'une erreur extrêmement importante à cause de la pente importante de la dérive.

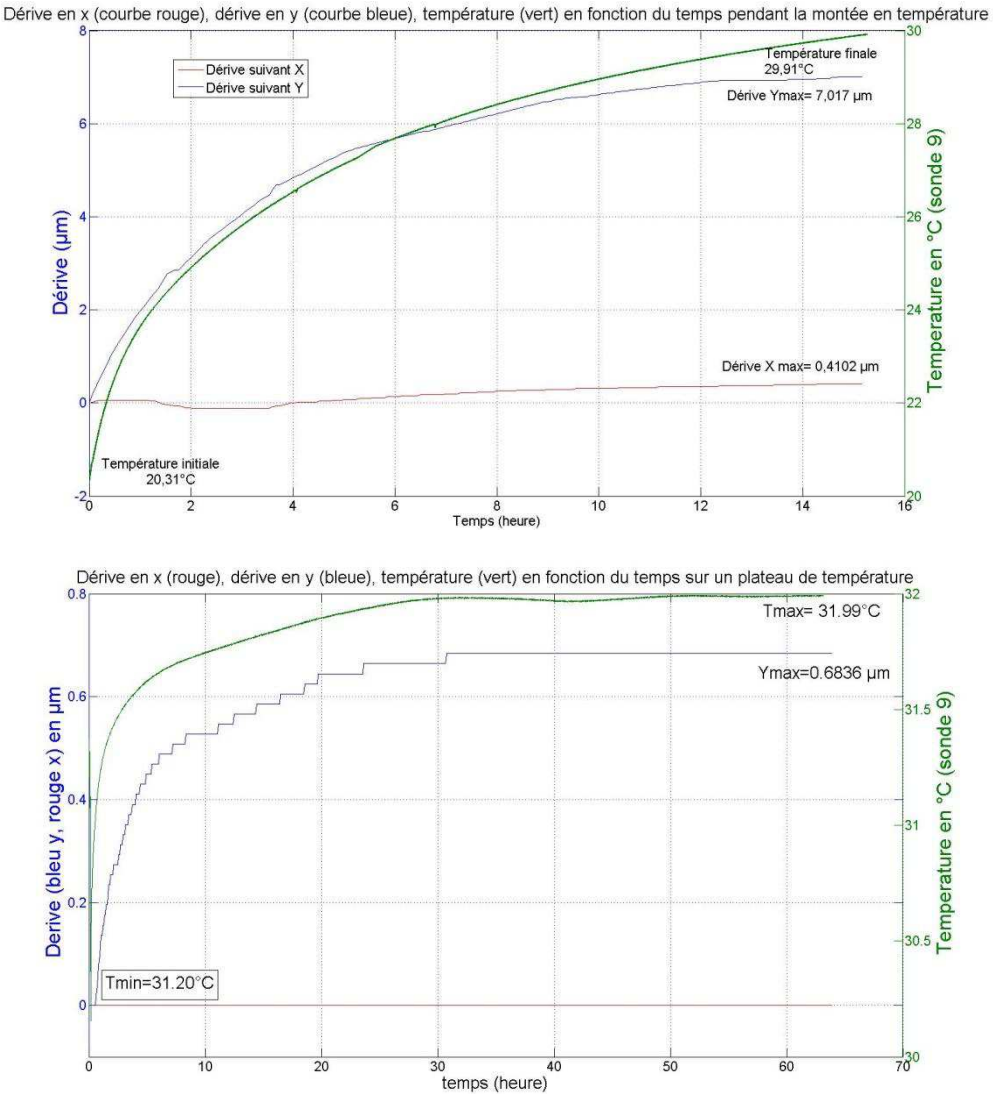


Figure 3-11 : Suivi des positions en X (rouge) et en Y (bleue) du motif représenté en Figure 3-10 ainsi que la température durant les deux phases de l'expérience : le graphique du haut correspond à la montée en température, et en bas sont reportées les données de fin de montée en température et du plateau. La température se stabilise donc au bout de 16+30 = 46 heures.

Les dérives peuvent être expliquées par les dilatations de la chaîne métrologique[80,81]. On appelle chaîne métrologique la suite de solides, de liaisons et de capteurs qui permettent d'établir la position d'un objet par rapport à un autre objet. Dans notre cas, ces deux objets sont la pointe et l'échantillon. La stabilité de la chaine métrologique est très importante car elle conditionne les performances qui seront obtenues avec le dispositif : en effet, si la chaine métrologique se dilate, la position relative de la pointe par rapport à l'échantillon sera modifiée. Le système est alors incapable de dissocier les phénomènes de dilatation et les déplacements volontaires de la pointe par rapport à l'échantillon comme par exemple lors d'un balayage. La différence de comportement concernant la dérive entre les deux axes s'explique par la non-symétrie des chaînes métrologiques suivant ces derniers (Figure 3-12).

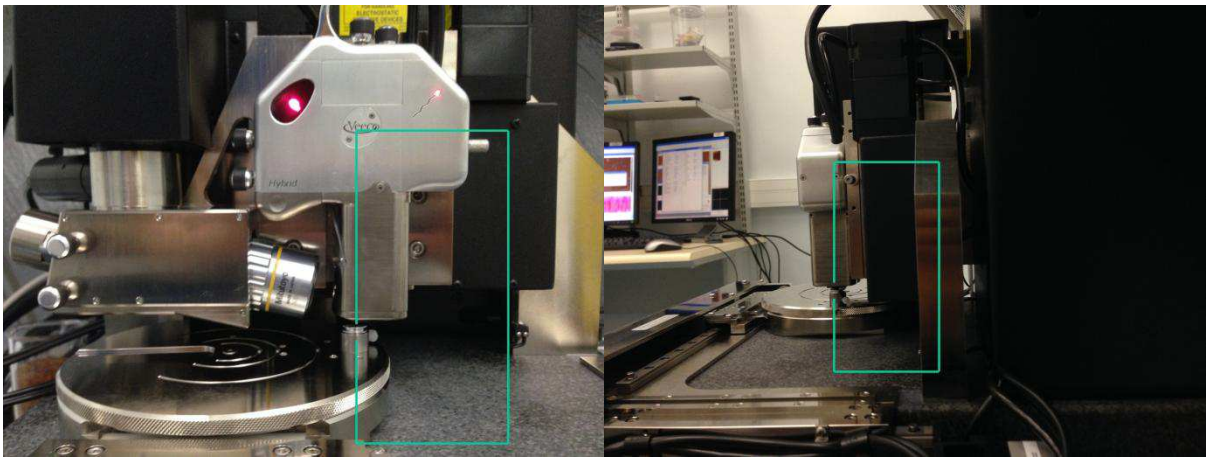


Figure 3-12 : Chaînes métrologiques suivant l'axe X (axe rapide/gauche) et suivant l'axe Y (axe lent/droite).

b. Dérives thermiques et électroniques suivant l'axe vertical

De la même façon que pour les axes X et Y, nous avons voulu estimer la dérive suivant l'axe Z du système utilisé, qui impacte directement la mesure de hauteur des nanoparticules. Contrairement aux axes X et Y, le suivi des coordonnées suivant Z pour une série d'images AFM acquises successivement n'est pas disponible de façon automatique. Les données traitées ici ne concernent uniquement que la seconde partie de l'expérience c'est-à-dire lorsque la température a atteint 30°C (au bout de 16 heures, voir paragraphe 2.2.2.a). Le traitement des données consiste à relever la hauteur du point maximum de l'image. Chaque valeur est reportée Figure 3-13 en fonction du temps et est mise en relation avec le relevé de température au niveau de la tête AFM.

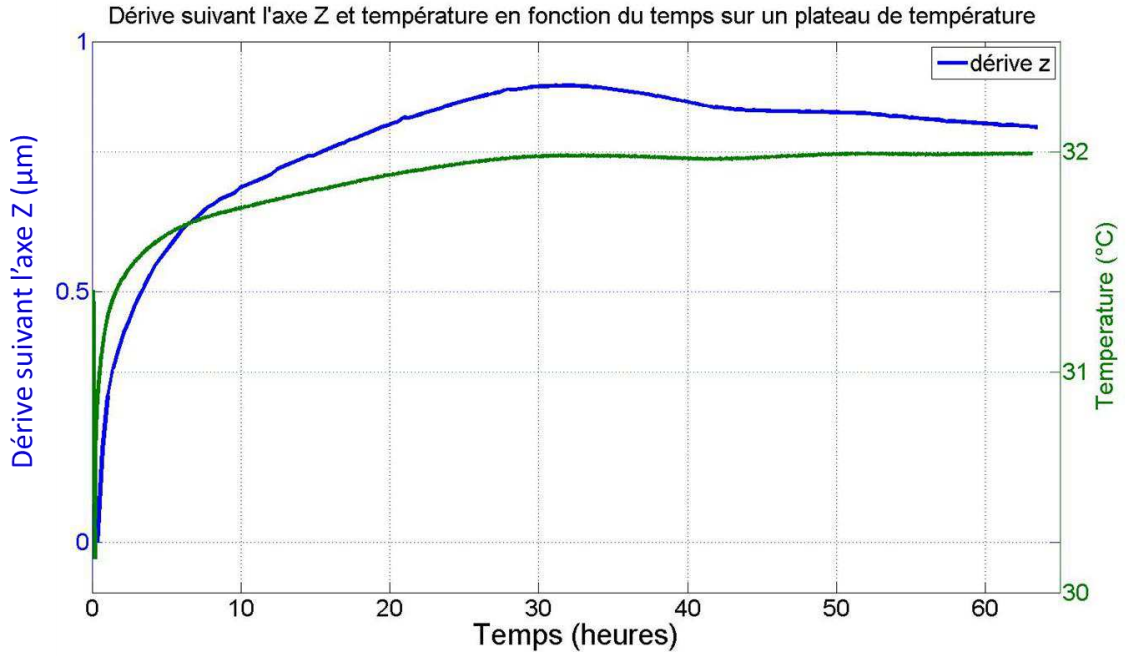


Figure 3-13 : Suivi de la hauteur maximale des images AFM du réseau STS2-440P acquises en continu ainsi que de la température relevée durant la phase 2 de la montée en température de l'électronique.

Comme pour l'axe Y, la hauteur relevée sur la série d'images suit bien les variations de température constatées dans le caisson. Durant la phase de montée en température comprise entre 30 et 32°C, nous observons une dérive en position suivant l'axe Z de 0,9 µm. Lorsque la température se stabilise, à 32°C au bout de 30 +16 = 46 heures, une inversion de la courbe de dérive suivant l'axe Z est notée et cette dernière tend à diminuer. Tout se passe comme si la montée rapide en température avait provoqué un « overshoot » sur la mesure de hauteur qui revient à l'équilibre sur le plateau de température. Physiquement, cette évolution s'explique par une dérive du système électronique et la pente relevée lorsque la température est stable nous donne une estimation de cette dérive à 6 µm.min^{-1}. Dans la section 3, nous calculerons l'impact direct de cette dérive sur la mesure de hauteur des nanoparticules.

2.2.3 Influence de la vitesse de balayage sur la mesure de taille de nanoparticules

La vitesse de balayage est un paramètre essentiel qui ne doit pas être négligé pour l'obtention de mesures précises. Afin d'estimer l'influence de ce paramètre une série de mesures a été effectuée sur une unique nanoparticule d'or de 50 nm provenant d'une suspension colloïdale de référence fournie par le NIST et déposée sur du mica. Les images de topographie, d'amplitude et de phase de cette particule ont été enregistrées pour des vitesses de balayage comprises entre 1 µm.s^{-1} et 40,7 µm.s^{-1} ; les gains de la boucle d'asservissement étant fixés. La hauteur de la particule a été mesurée suivant la méthode de mesure décrite en Chapitre 1, paragraphe 3.2.1.aaprès avoir redressé l'image grâce au logiciel MountainsMap (Digital Surf). Les résultats sont reportés en Figure 3-14.

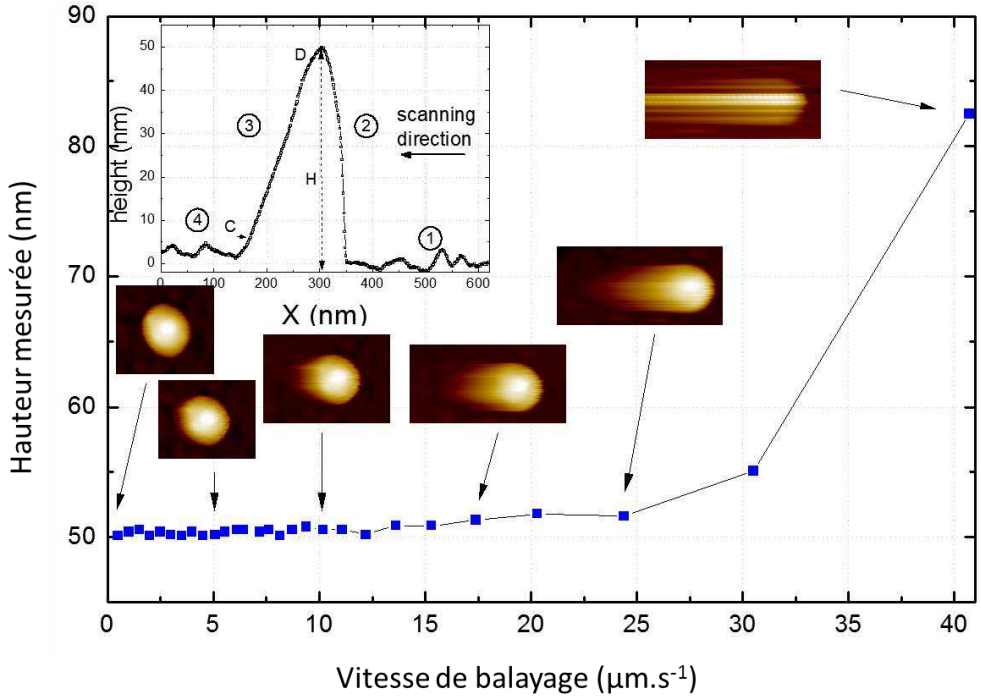


Figure 3-14 : Influence de la vitesse de balayage sur la mesure de hauteur de nanoparticules. En insert, un profil AFM de la particule étudiée pour une vitesse de balayage de 10 µm.s^{-1}

La moyenne des hauteurs mesurées est égale à 50,43 nm avec un écart-type de 0,25 nm dans la gamme de mesure située entre 0,5 µm.s^{-1} et 15,3 µm.s^{-1}. Pour des vitesses de balayage supérieures, la hauteur

mesurée augmente fortement pour atteindre un maximum de 82,6 nm pour 40,7 µm.s^{-1}. Lorsque la vitesse de balayage est faible, la pointe peut suivre correctement la topographie de l'échantillon et donc les contours de la particule. Ce n'est pas le cas lorsque la vitesse de balayage est élevée comme nous pouvons l'observer sur le profil représenté en insert Figure 3-14. En effet, la pointe dépasse le maximum de la particule sur le profil, phénomène qu'on appellera par la suite « overshoot ». De plus, un phénomène de trainée est visible sur les images AFM de la nanoparticule d'or. Ce profil a été mesuré avec une vitesse de balayage de 10 µm.s^{-1} et quatre zones sont remarquables:

- Zone 1 : étape de balayage du substrat
- Zone 2 : étape d'ascension de la particule par la pointe
- Zone 3 : étape de descente de la pointe à partir du maximum de la particule jusqu'au substrat
- Zone 4 : étape de balayage du substrat.

Lors de l'étape 3, à partir d'une certaine vitesse de balayage, la pointe dévie du contour de la particule, (différence de pente entre la zone 2 et la zone 3), et suit une trajectoire linéaire. Mais la pente de la trajectoire varie avec la vitesse de balayage. Pour une meilleure compréhension de ce phénomène, la vitesse de déplacement verticale V_za été calculée à partir, d'une part, de la trajectoire qui s'étend du point de hauteur maximale sur la particule (noté point D sur la Figure 3-14) jusqu'au point de contact de la pointe avec le substrat (point C) et, d'autre part, du tempsT_{CD}qui s'est écoulé entre ces deux points. T_{CD} est donné par la relation suivante :

$$T_{CD} = \frac{|X_c - X_D|}{V_{scan}}$$

oùV_{scan} est la vitesse de balayage, X_C et X_D les coordonnées horizontales des points C et D. La vitesse de déplacement vertical est exprimée par :

$$V_z = \frac{|Z_c - Z_D|}{T_{CD}} = \frac{|Z_C - Z_D|}{|X_C - X_D|}.V_{scan}$$

Le Tableau 6 reporte la vitesse de déplacement vertical de la pointe calculée en fonction de sa vitesse de balayage à partir du moment où le phénomène de trainée est visible (5,09 µm.s^{-1}).

Tableau 6 : Vitesse de déplacement vertical de la pointe calculée en fonction de la vitesse de balayage

Vitesse de balayage (µm.s^{-1})	**5,09**	**5,55**	**6,10**	**6,42**	**7,18**	**7,63**	**8,14**	**8,72**	**9,39**
Vitesse de déplacement vertical V_z(µm.s^{-1})	5,99	6,05	5,87	5,78	5,78	5,90	5,90	5,78	5,33
Vitesse de balayage (µm.s^{-1})	**10,2**	**11,1**	**12,2**	**13,6**	**15,3**	**17,4**	**20,3**	**24,4**	
Vitesse de déplacement vertical V_z(µm.s^{-1})	5,41	5,64	5,38	5,69	5,59	5,54	5,59	5,41	

Nous remarquons que la vitesse de déplacement vertical de la pointe est relativement constante (Tableau 6) quelle que soit de la vitesse de balayage. En moyenne, elle est égale à (5,68 ± 0,21)µm.s^{-1} et représente la vitesse maximale pour laquelle la boucle d'asservissement est capable de contre-réagir et de suivre la topographie de l'échantillon pour des valeurs de gain fixes. Au-delà de cette valeur limite, le phénomène de trainée se produit. La mesure latérale du diamètre est donc impactée au-delà du phénomène de convolution de la pointe par le phénomène de trainée et dépend donc fortement de la vitesse de balayage. Comme observé sur la Figure 3-14, le diamètre mesuré verticalement - la hauteur - est également impacté par la vitesse de balayage.

Dans notre cas, le phénomène de trainée est visible à partir de 5,09 µm.s^{-1} bien que la valeur théorique se situe à 5,68 µm.s^{-1}. Cependant, nous nous placerons à 4 µm.s^{-1}, qui est une valeur de compromis.En effet, nous devons balayer à une vitesse assez rapide pour minimiser les phénomènes de dérives (paragraphe 2.2.2) sans atteindre la vitesse où les phénomènes de trainées et d'*overshooting* apparaissent. De plus nous avons vérifié qu'en balayant la surface de l'échantillon à une vitesse de 4 µm.s^{-1}, les particules ne sont jamais déplacées par la pointe.

3 ETABLISSEMENT DU BILAN D'INCERTITUDE DE LA MESURE DE HAUTEUR DE NANOPARTICULE PAR AFM

Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 1, l'établissement du bilan d'incertitude consiste à évaluer toutes les sources d'incertitudes afin de combiner les composantes individuelles en une seule incertitude globale. Cette incertitude globale sera associée à la mesure et donnera un « niveau de confiance » à la valeur de cette mesure. Cependant, même si la plupart des sources d'erreur ont été recensées dans la partie précédente, l'évaluation de celles-ci ne peut être réalisée que dans le cas particulier de la méthode que nous décrivons dans ce manuscrit. Cette évaluation est ainsi dépendante de la composition chimique de la nanoparticule, du substrat, de la taille de la nanoparticule, de la résolution de l'image et d'autres facteurs relatifs à l'instrument et à l'image acquise.

Nous donnons dans cette partie un exemple précis pour illustrer le processus d'évaluation de ce bilan d'incertitude. Les calculs seront donc effectués dans le cadre spécifique de la métrologie de nanoparticules sphériques par mesure de la hauteur du maximum sur une particule de silice de 79,05 nm déposée sur un substrat de mica. Les paramètres d'imagerie utilisés par la suite, et considérés comme étant les paramètres adéquats à l'imagerie de telles nanoparticules, sont listés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Tableau récapitulant les paramètres caractéristiques relatifs à l'échantillon et à l'instrument pouvant influer sur la mesure d'incertitude.

Paramètres relatifs à l'échantillon	Nature chimique de la particule	SiO_2
	Taille de la particule	79,05
	Substrat	Mica
Paramètres relatifs à l'instrument	Mode	Tapping
	Taille du scan	5 µm x5 µm
	Vitesse de balayage	4 µ.s^{-1}
	Résolution de l'image	1024 x 1024 pixels

Ce bilan d'incertitude peut être pris comme exemple et certains termes seront donc à modifier en fonction de l'équipement et de l'échantillon imagé.

3.1 Sources d'incertitudes liée à l'étalonnage de l'instrument

Comme indiqué en paragraphe 2.1, l'étalonnage de l'équipement se fait avec une incertitude suivant l'axe Z qui impacte directement toute mesure de hauteur. Cette incertitude appelée $u_{étalonnage}$est égale à 0,7 nm. Elle dépend de l'étalon utilisé (VLSI dans notre cas) et du certificat d'étalonnage. Comme nous l'avons vu précédemment, ce terme d'incertitude sera sensiblement diminué lorsque l'AFM métrologique du LNE sera opérationnel.

De plus, lors du suivi d'étalonnage de l'instrument (paragraphe 2.1), nous avons pu observer que l'étalon n'était pas homogène suivant les trois axes. Ces inhomogénéités ont également un impact sur l'étalonnage de l'instrument et donc sur toute mesure qui sera réalisée par la suite. Concernant la mesure de hauteur, seule l'inhomogénéité suivant l'axe Z estimée à $u_{homogéneité_std}$= 0,12 nm aura une influence directe sur notre incertitude de mesure. Les inhomogénéités suivant les axes X et Y n'ont pas d'impact.

3.2 Sources d'incertitudes liées à l'échantillon

3.2.1 Rugosité

La rugosité impacte directement la mesure de hauteur des nanoparticules en biaisant la mesure du point bas (nommé B dans la figure I-1 du Chapitre 2 – Paragraphe I). Une étude a préalablement été effectuée afin d'éviter cette source importante d'incertitude dans le Chapitre 2 –Paragraphe II. L'utilisation du mica ou du silicium est alors préconisée comme substrat du fait de leur faible rugosité RMS avec respectivement$S_{q\text{-}Mica}$ =0,08 nm et $S_{q\text{-}Si}$ = 0,028 nm. Cependant, ces valeurs sont indicatives, et doivent être mesurées pour chaque substrat utilisé. Dans le bilan d'incertitude donné en exemple, nous utiliserons du mica.

3.2.2 Déformation des particules

a. Dilatation de la particule

L'échantillon est soumis à une température T= 32°C dans le caisson à cause de l'électronique du système et il subit donc une dilatation thermique. Dans cette thèse, nous avons souhaité estimer la dilatation d'une nanoparticule de silice de 79,05 nm. Il est fortement probable qu'à cette échelle, la particule ne se comporte pas tout à fait comme un matériau brut, cependant, il n'existe pas d'abaque contenant le facteur de dilatation pour les nanoparticules et il n'a pas été trouvé de publications concernant cette valeur. Nous estimons donc la mesure de dilatation de la particule de silice Δh_T avec le facteur de dilatation du matériau brut α égal à $5.10^{-7}K^{-1}$ (à 20°C) :

$$\Delta h_T = \alpha \cdot \Delta T \cdot h$$

$$\Delta h_T = 5.10^{-4}\ nm$$

b. Déformation de la particule lors du dépôt

Une déformation de la particule peut se produire lors du dépôt de la particule sur le substrat, du fait des forces de contact[82]. Il existe une formule permettant de calculer l'aire de contact *a*d'une sphère en contact avec une autre. Cependant, nous souhaitons dans notre cas connaître l'aire de contact $a_{particule\ -substrat}$ d'une sphère avec le substrat. Nous appliquons la formule suivante en considérant que le substrat est une sphère de rayon infinie[82,83]:

$$a_{particule\ -substrat} = \sqrt[3]{\frac{RF_a}{E_{tot}}}$$

où*R* est le rayon de la particule considérée en contact avec le substrat, F_a la force d'adhésion entre la particule et le substrat et E_{tot}est le module d'Young réduit. Ce dernier est défini comme[82,83,84] :

$$\frac{1}{E_{tot}} = \frac{3}{4}\left(\frac{1-\nu_1^2}{E_1} - \frac{1-\nu_2^2}{E_2}\right)$$

oùν_1, E_1 et ν_2, E_2sont respectivement les coefficients de Poisson et les modules d'Young du substrat et de la particule. La déformation δ suivant l'axe perpendiculaire à l'aire de contact des deux entités est déduite :

$$\delta = \frac{a^2}{R}$$

Les coefficients de Poisson et module d'Young des différents matériaux mis en jeu sont tirés d'études bibliographiques[82,85,86] et sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Paramètres utilisés pour calculer la déformation des particules lors du dépôt sur le substrat

	Module d'Young *E*	**Coefficient de Poisson *v***
Silice	107GPa[c]	0,225
Mica	34 GPa	0,3

Le module d'Young réduit est donc égal à 74,5GPa. Malgré les recherches bibliographiques, la force d'adhésion dans l'air entre des nanoparticules de silice et une surface de mica n'est pas connue, ni même estimée. Afin d'avoir un ordre de grandeur des forces mises en jeu et des déformations subies suivant l'axe vertical, nous proposons de faire le calcul avec la force d'adhésion de nanoparticules de Al_2O_3, qui est également un oxyde, sur une surface de mica[87]. Cette force d'adhésion appelée F_{adh} est estimée grâce à la relation de Deryagin :

[c] Les valeurs n'étant pas disponible pour des nanoparticules isolées, la valeur indiquée est celle correspondante à la silice brute.

$$F_{adh} = 4\pi R.E_{adh}$$

oùE_{adh}est l'énergie d'adhésion entreles particules et le substrat, ayant été estimée, pour des particules de Al_2O_3 et une surface de mica[88] à $1{,}6.10^{-3}$ J.m^{-2}. Nous obtenons donc une force d'adhésion égale à 0,79 nN, soit une déformation verticale égale à $1{,}1.10^{-2}$ nm.

Bien que ces estimations ne puissent être comprises dans le bilan d'incertitude puisqu'elles sont basées sur des données de particules différentes que du SiO_2, nous constatons que ces déformations sont d'un ordre de grandeur nettement inférieur à l'incertitude due à l'étalonnage de l'instrument (2%) par exemple. Il n'est donc pasincohérent de ne pas tenir compte de cette source d'erreur dans le bilan d'incertitude.

c. Déformation de la particule sous contrainte de la pointe

De la même façon que précédemment, la particule peut être déformée sous la contrainte de la pointe[82,89,90], même si l'image s'effectue en mode intermittent. Pour une pointe en silicium orienté, on prendra le coefficient de Poisson égal à 0,28[91] et le module d'Young égal à 180 GPa[91], et l'apex de la pointe sera considéré comme étant une sphère. Les formules données précédemment sont adaptées à notre cas d'étude. Les valeurs de l'aire de contact $a_{pointe\ -parti\ cule}$ entre deux sphères ainsi que la déformation suivant l'axe vertical$\delta_{pointe\text{-}particule}$ sont calculées comme suit :

$$a_{pointe\ -particule} = \sqrt[3]{\frac{F_{appui}}{E_{tot}} \times \frac{D_1 D_2}{(D_1 + D_2)}};\ \delta_{pointe\ -particule} = \frac{4a^2_{pointe\ -particule}}{D_1 D_2}\ (D_1 + D_2)$$

oùF_{appui}est la force d'appui de la pointe sur la particule sur la surface, D_1 le diamètre de la pointe, et D_2 le diamètre de la particule.

La force d'appui peut être évaluée grâce à la résolution de l'équation d'un oscillateur harmonique amorti dont le système levier-pointe fait l'objet. Aussi, F_{appui} est déterminée grâce à la formule suivante[92,93] :

$$F_{appui} = \frac{1}{2}\frac{k_{raideur}}{Q}\left[1 - \frac{A_{setpoint}}{A_0(f_0)}\right] A_0(f)\beta$$

$k_{raideur}$ correspond à la constante de raideur du levier, Q est le facteur de qualité du système pointe-levier, et f_0 sa fréquence de résonance. Ces paramètres sont uniquement dépendants du système levier-pointe utilisé.

$A_{setpoint}$ correspond à l'amplitude d'oscillation du système pointe-levier lorsque la pointe est au contact de l'échantillon, $A_0(f_0)$ est l'amplitude d'oscillation libre à la fréquence de résonance, et $A_0(f)$ l'amplitude d'oscillation à la fréquence f de travail (*ie* lorsque la pointe est asservie en amplitude et en fréquence). β correspond quant à lui au rapport entre l'amplitude d'oscillation libre à la fréquence de résonance et l'amplitude d'oscillation à la fréquence de travail.

Afin d'obtenir l'amplitude d'oscillation lorsque la pointe est asservie, une courbe d'approche-retrait est effectuée sur une nanoparticule (Figure 3-15). Ceci nous permet également de connaitre le coefficient d'étalonnage en tension du système. Ainsi, nous pouvons donc effectuer la conversion entre l'amplitude en millivolts et l'amplitude en nanomètre.

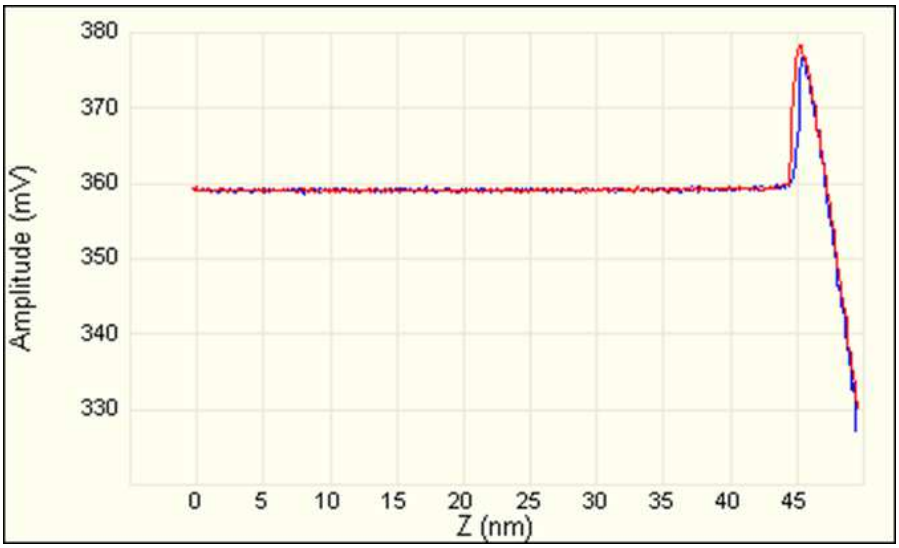


Figure 3-15 : courbe d'approche retrait d'une pointe de silicium OTESPA-R3 sur une particule de SiO_2.

Les paramètres précédents sont donc reportés dans un tableau:

Tableau 9 : paramètres expérimentaux mesurés à partir des courbes de résonances du système pointe-levier et de la courbe d'approche-retrait sur une particule.

$k_{raideur}$ N.m^{-1}	f_0 kHz	Q	f kHz	$A_0(f_0)$ mV	$A_0(f_0)$ nm	$A_0(f)$ mV	$A_0(f)$ nm	$A_{setpoint}$ mV	$A_{setpoint}$ nm	β
26	311,485	536	311,267	485	40,4	400	33,3	330	27,5	1,21

Nous pouvons donc en déduire la force d'appui :

$$F_{appui} = 0{,}31\ nN$$

Ainsi, pour une particule de 79,05 nm de SiO_2 imagée dans les conditions citées précédemment, avec une pointe dont le diamètre de l'apex est estimé à 20 nm, la déformation suivant l'axe perpendiculaire à la surface de contact des deux entités, la déformation $\delta_{pointe\text{-}particule}$ est égale à :

$$\delta_{pointe\ -particule} = 1{,}4.10^{-2}\ nm$$

3.3 Sources d'incertitudes liées à l'instrument

3.3.1 Sources d'incertitude directement liées à l'axe Z

La caractérisation de l'instrument nous a permis de lister différents paramètres influençant la mesure de hauteur suivant l'axe Z. Ces paramètres sont le bruit, la dérive et la répétabilité de l'instrument suivant cet axe. La vitesse de balayage peut également être une source d'erreur. Les estimations de ces différents paramètres ont été faites dans le paragraphe 2.2. Le bruit et la répétabilité suivant l'axe Z impactent directement la mesure et sont reportés ci-après :

- $u_{bruit/Z}$= 0,14 nm
- $u_{répéta/Z}$= 0,04 nm

La vitesse de balayage et la dérive de l'instrument n'ont pas impact direct sur la mesure. Cependant, l'impact indirect induit par ces facteurs peut être calculé. De plus l'erreur due à la résolution numérique de l'instrument peut être estimé.

a. Influence des dérives thermiques et électroniques sur la mesure de hauteur

Les dérives suivant l'axe Z $D_Z$ont été estimées à 6 nm.min^{-1} sur le plateau de température, c'est-à-dire lorsque la stabilité en température de l'instrument est atteinte (paragraphe 2.2.2). Pour une vitesse de balayage de 4 µm.s^{-1}, une fenêtre de balayage égale à 5 µm x 5 µm et une résolution de 1024 x 1024 pixels, le temps de balayage sur une ligne est de t = 1,25 s.

La contribution sur la mesure d'incertitude de la dérive se calcule donc :

$$u_{derive\ /Z} = \frac{D_Z}{t}$$

$$u_{derive\ /Z} = \frac{6\ \times 1{,}25}{60} = 0{,}125\ nm$$

b. Influence de la vitesse de balayage sur la mesure de hauteur

Nous avons pu constater que la vitesse de balayage possède une influence certaine sur la mesure de hauteur d'une nanoparticule à cause d'un phénomène d'« *overshoot* » (paragraphe 2.2.3). Pour une vitesse de balayage de 4 µm.s^{-1}, la mesure de hauteur d'une nanoparticule d'or a été estimée à 50,43 nm. La valeur de hauteur extrapolée pour une vitesse de balayage tendant vers 0 est égale à 50,23 nm. En conséquence, cette différence de 0,20 nm (soit 0,3%) représente l'impact de la vitesse de balayage sur la mesure de hauteur. En considérant que l'impact de la vitesse de balayage est indépendant de la composition chimique de la particule et qu'il est proportionnel à la taille de la nanoparticule, on calcule l'incertitude relative à une nanoparticule de silice de 79,05 nm, $u_{balayage}$:

$$u_{balayage} = \frac{0{,}3}{100} \times 79{,}05 = 0{,}25\ nm$$

c. Limite de résolution suivant l'axe Z

La gamme de déplacement suivant l'axe Z est égale à 7620 nm. Cette gamme de déplacement est choisie de façon à éviter un éventuel « *crash* » de la pointe sur un objet de taille importante. La limite de résolution suivant l'axe Z $S_Z$est donnée par la formule suivante :

$$S_Z = 1{,}5\ \times LSB$$

où LSB est la valeur du bit de poids le plus faible. Ce dernier est égal au rapport de la gamme de déplacement sur 2^{16}. En conséquence :

$$S_Z = \frac{7620}{2^{16}} \times 1{,}5 = 0{,}17\ nm$$

La distribution de la résolution numérique étant rectangulaire, l'impact réel de la résolution suivant l'axe Z est estimée comme suit :

$$u_{S_Z/Z} = \frac{S_z}{2\sqrt{3}} = 0{,}05\ nm$$

3.3.2 Sources d'incertitude sur la mesure de hauteur liées au plan XY

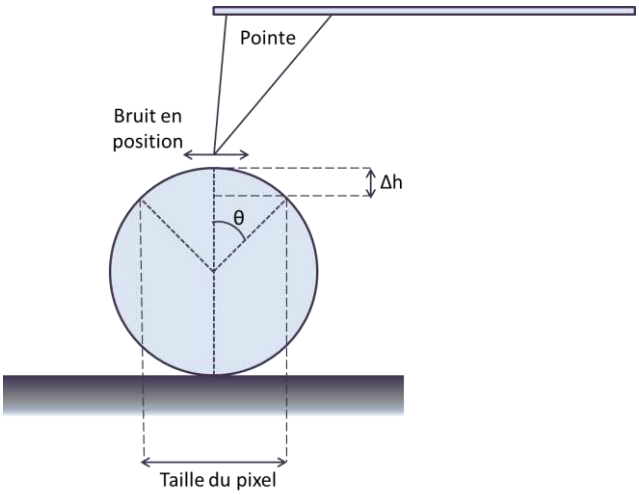


Figure 3-16 : Schéma représentant l'influence d'un mouvement de la pointe dans le plan sur la mesure de hauteur d'une nanoparticule sphérique.

Le bilan d'incertitude ne doit pas tenir compte uniquement des sources d'incertitudesqui proviennent directement de l'axe Z mais aussi des sources du plan XY qui ont une composante suivant Z. Celles-ci peuvent être liées à la position de la particule comme le bruit en XY, ou la résolution de l'image. Afin de minimiser l'impact de cette dernière, elle est fixée à 1024 x 1024 pixels pour une image de 5 µm x 5 µm. De cette façon, la taille de pixel,*pixel_size* est égale à 4,9 nm et la particule de 79,05 nm est composée approximativement de 250 pixels. La taille du pixel induit une erreur sur la mesure de hauteur suivant l'équation suivante, qui est déductible de la Figure 3-16 :

$$u_{pixelsize\ /Z} = R\ (1 - \cos\left(\arcsin(\frac{-Pixel_size}{2 \times 2R})\right)) = 9{,}49\ .10^{-3}\ nm$$

où*R* correspond au rayon de la nanoparticule.

De la même façon, le bruit en position de la pointe a un impact sur la mesure de hauteur de la nanoparticule. Il est donné par le fabricant (voir paragraphe 2.2.1) et, dans le cas de notre instrument, est égal à 6 nm pic à pic. Grâce à la formule donnée précédemment, on calcule également son impact sur la mesure de hauteur $u_{BruitXY/Z}$.

$$u_{BruitXY\ /Z} = R\ (1 - \cos\left(\arcsin(\frac{-Bruit_XY}{2R})\right)) = 5{,}69\ .10^{-2}\ nm$$

Pour conclure, la limite de résolution S_{XY} suivant les axes X et Y a également une influence sur la mesure de hauteur. Elle est calculée, pour une image de 5 µm x 5 µm :

$$S_{XY} = \frac{5000}{2^{16}} \times 1{,}5 = 0{,}11\ nm$$

Et l'impact de la limite de résolution suivant les axes X et Y $S_{XY/Z}$ peut être calculée comme suit :

$$S_{XY/Z} = R\ (1 - \cos\left(\arcsin(\frac{-S_{XY}}{2R})\right)) = 1{,}91\ .10^{-5}\ nm$$

La contribution totale des paramètres du plan XY à l'incertitude sur la mesure de hauteur d'une nanoparticule peut être englobée dans l'incertitude $u_{XY/Z}$:

$$u_{XY/Z} = \sqrt{u^2_{pixelsize\ /Z} + u^2_{BruitXY\ /Z} + S^2_{XY/Z}} = 5{,}8.\ 10^{-2}\ nm$$

3.4 Bilan d'incertitude

Dans le tableau ci-après sont récapitulées toutes les sources d'incertitudes évoquées précédemment. Elles sont classées par ordre d'importance. On rappelle que le bilan d'incertitude a été effectué pour une particule de 79,05 nm déposée sur du mica. Cette particule est mesurée dans une image de 5 µm x 5 µm, avec une résolution de 1024 x 1024.

Le terme le plus important contribuant à l'incertitude correspond à l'étalonnage de l'instrument suivant l'axe Z, et est estimé à 0,7 nm. Le deuxième facteur déterminant est l'influence de la vitesse de balayage sur la mesure de hauteur. L'inhomogénéité de l'étalon, la dérive de l'instrument suivant l'axe vertical et le bruit contribuent de la même manière avec des incertitudes respectives de 0,12 nm, 0,125 nm et 0,14 nm. Les autres facteurs ont un impact bien moins important avec des termes d'incertitudes inférieur à 0,1 nm.

L'incertitude totale (k=2, 95 %) associée à la mesure de la particule et imagée pour une fenêtre d'observation de 5 µm x 5 µm (1024 x1024 pixels) est calculée comme étant la somme quadratique des contributions[94]et est estimée à 0,8 nm.

Rang	Terme	Estimations	Distribution	Contribution
	Type B			
1	Certificat d'étalonnage de l'étalon STS2-440P	0,7 nm		0,7 nm
2	Influence de la vitesse de balayage (4 µm.s^{-1})	0,24 nm		0,24 nm
3	Bruit suivant l'axe Z	0,14 nm		0,14 nm
4	Dérive suivant l'axe Z après stabilisation thermique	6 nm.min^{-1}		0,125 nm
5	Inhomogénéité de l'étalon suivant l'axe Z	0,12 nm	N	0,12 nm
6	Contribution des facteurs du plan sur la mesure de hauteur : - Limite de résolution suivant les axes XY - Taille du pixel - Bruit suivant les axes XY	 - 0,11 nm - 4,9 nm - 6 nm pic à pic		0,058nm
7	Contribution de la force d'appui de la pointe en tapping sur la déformation de la particule	0,26nN		0,05 nm
8	Limite de résolution suivant l'axe Z (1,5 LSB/16 bit, gamme de mesure 7,62 µm)	0,17 nm pic à pic	R	0,05 nm
9	Rugosité	0,05 nm	N	0,05 nm
10	Répétabilité de l'instrument suivant Z	0,04 nm		0,04 nm
11	Dilatation de la particule (mesure à 32°C au lieu de 20 °C)	500 nm.m^{-1}.K^{-1}		0,0005 nm
	Incertitude totale			0,8 nm

[78] « *Vocabulaire International des termes fondamentaux et généraux de métrologie* » (VIM), Edition 1993

[79] I. Horcas, R. Fernandez, J. M. Gomez-Rodriguez, J. Colchero, J. Gomez-Herrero, et A. M. Baro, Review of Scientific Instrument 78, 013705 (2007)

[80] F. Marinello, M. Balcin, P. Schiavuta, S. Carmignato, E. Savio, « *Thermal drift study on different commercial scanning probe microscopes during warming up phase* », Meas. Sci. And Tech., 22, 3.22, 094016, 2011

[81] F. Marinello, M. Balcon, S. Carmignato, E. Savio, « *Long term thermal drift studu on SPM scanners* », Mechatronics, 2011, 1272-1278

[82] J. Garnaes, « *Diameter measurements of polystyrene particles with atomic force microscopy* », Meas. Sci. Technol, 22 (2011) 094001

[83] Hans-Jurgen Butt et coll, « *Force measurement with atomic force microscope : Technique, interpretation and applications* », Surface Science Reports, 59, 2005, 1-152

[84] M. J. Puttock and E. G. Thwaite, « *Elastic compression of spheres and cylinders at point and line contact* », National Standards Laboratory Papers N°25, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, 1969

[85] I. Misumi, K. Takahata, K. Sugawara, S. Gonda, K. Ehara, « Extension of the gravity center method for diameter calibration of polystyrene standard particles with metrological AFM », Proc. Of SPIE Vol. 8378, 2012

[86] J. Malzbender, J. M. J. den Toonder, A. R. Balkenende, G. de With, *« Measuring mechanical properties of coatings : a methodology applied to nanparticle-fillled sol-gel coatings on glass* », Materials Science and Engineering R 36 (2002), 47-103

[87] A. Thill et O. Spalla, « *Aggregation due to capillary forces during drying of particle submonolayers* » Colloids and surfaces A :Physicochem. Eng. Aspects 217, 2003, 143-151.

[88] O. Spalla, S. Desset, «*Direct evidence of lateral migration of mineral colloids aborbed at solid-water interface* » Langmuir 16, 2000,2133

[89] F. Meli, « *Lateral and vertical diameter measurements on polymer particles with a metrology AFM* », dans « Nanoscale calibration standards and methods : dimensional and related measurements in the micro- and nanometer range », Ed. by G Wilkening and L. Koenders, 2005.

[90] Bo-Chen He et coll, « *Deformation of polystyrene nanoparticles under different AFM tapping loads* » , Proc. Of SPIE, Vol 8378, 83780G, 2012

[91] Min Feng Yu et coll., *« Investigation of the radial deformability of individual carbon nanotubes under controlled indentation forces* », Physical Review Letters, 2000, Volume 85, Number 7

[92] C. H. Lei etcoll, *« Probing particle structure in waterborne pressure sensitive adhesives with atomic force microscopy* », Journal of colloid Interface Science, 307, 2007, 56-63.

[93] C. Gaillard et B. Cathala, « *Etude par microscopie à force atomique de l'organisation cœur couronne de nanoparticules hétéroxylane-lignine de synthèse, modèles des parois végétales lignifiées* », Des développements méthodologiques en imageries à l'Inra, Numéro spécial, 2009.

[94] « *Evaluation des données de mesures - Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure* », JCGM 100:2008(F), 2008.

CHAPITRE 4

INCERTITUDES ASSOCIEES A LA MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES IMAGEES PAR MEB

Dans ce chapitre, nous décrirons l'instrument utilisé dans cette thèse. Nous aborderons l'étalonnage de celui-ci. Enfin, nous listerons quelques sources d'incertitudes liées à la mesure de taille de nanoparticules par MEB.

1 DESCRIPTION DU SYSTEME UTILISE ET PRECAUTIONS ENVIRONNEMENTALES

Le MEB utilisé dans ces travaux est un MEB-FEG Zeiss Ultra Plus (Figure 4-1). Il s'agit d'un microscope électronique à balayage à émission de champ (MEB-FEG) permettant d'obtenir une sonde électronique de très faible diamètre (1,7 nm pour une tension d'accélération entre 0,2 kV et 1 kV et 1 nm pour des tensions d'accélération situées entre 1kV et 15kV – données constructeur et pour une distance de travail de 2 mm). Il est équipé d'un compensateur de charges (voir chapitre 2 paragraphe 1.2) qui permet de s'affranchir des phénomènes de charge relatifs au balayage d'échantillons peu ou non conducteurs électriquement. Le logiciel SmartSEM permet de piloter le MEB grâce à une interface humain-machine. Il permet de contrôler le faisceau d'électrons envoyé sur l'échantillon et de visualiser les données reçues par les détecteurs. Le MEB est pourvu de quatre détecteurs électroniques :

- **Détecteur In-Lens :** Situé au-dessus de la lentille objectif, directement dans l'axe du faisceau d'électrons primaires, ce détecteur permet de capter les électrons secondaires caractérisés par des énergies faibles. Sa position axiale permet à ce détecteur d'avoir un très haut rendement. Les images obtenues seront des images de topographie et sont particulièrement adaptées à l'imagerie de structure de surface.
- **Détecteur SE2 :** Le détecteur SE2, de type Everhart-Thornley, détecte les électrons secondaires et les électrons rétrodiffusés issus de l'interaction électron-matière. Seuls les électrons secondaires, de basse énergie, sont ensuite collectés. Ce détecteur est positionné sur le côté de la chambre à échantillon.
- **Détecteur EsB®(EnergyselectiveBackscattered):** Ce détecteur, placé dans la colonne électronique au-dessus du détecteur In-Lens, collecte uniquement les électrons rétrodiffusés, caractérisés par la même énergie que celle du faisceau électronique primaire. Ce détecteur permet une imagerie de contraste chimique de bonne qualité.
- **Détecteur AsB® (AngularselectiveBackscattered) :** Le détecteur d'électrons rétrodiffusés à discrimination angulaire AsB® est placé à l'extrémité de la colonne électronique. Les électrons rétrodiffusés sont sélectionnés grâce à leur angle d'incidence. Ils sont appelés électrons rétrodiffusés de grand angle. La position du détecteur permet d'imager en contraste chimique avec des distances de travail très courtes.

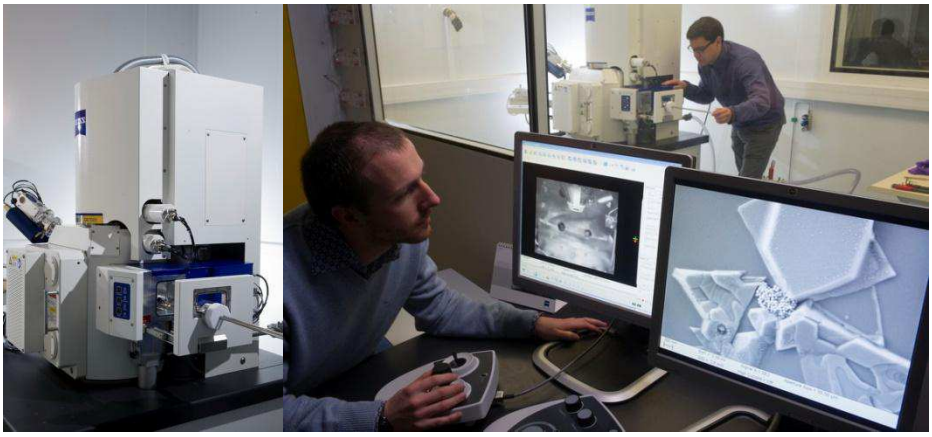


Figure 4-1 : Photographie du MEB Zeiss Ultra Plus. Le poste de contrôle est placé à l'extérieur de la pièce où se trouve l'instrument.

De la même façon que pour l'AFM décrit en chapitre 3, des protections vibrationnelles et acoustiques ont été mises en place pour le MEB. En effet, la première des protections mise en œuvre est la déportation du système de contrôle du MEB (ordinateur, et donc des utilisateurs de l'instrument - Figure 4-1) et de la pompe à vide engendrant des vibrations. L'instrument est également placé sur un massif en béton découplé du bâtiment. Ces conditions environnementales permettent une grande stabilité de l'instrument en termes de dérive et de bruit.

2 ETALONNAGE

Dans cette partie, nous souhaitons vérifier l'étalonnage du MEB qui est un étalonnage « fabricant ». Cet étalonnage est effectué avec le même réseau étalon que l'AFM, ce qui pose un problème majeur : la valeur du pas de ce réseau est nettement supérieure à la taille des nano-objets que nous souhaitons caractériser. Pour résoudre ce problème, nous avons développé dans le cadre d'une collaboration avec le LPN (Laboratoire Photonique et nanostructure, Marcoussis) un réseau, avec un pas dans la gamme de taille des objets que nous souhaitons mesurer. Enfin, dans cette partie, nous mettrons en œuvre des expériences afin de caractériser métrologiquement le MEB.

2.1 Utilisation du réseau VLSI

Le MEB Zeiss Ultra Plus est un équipement qui a été installé juste avant le début de ces travaux sur la plateforme CARMEN du LNE. Après la prise en main de l'instrument, la première étape a été la vérification de l'étalonnage de l'appareil. Cette étape a été effectuée grâce à la mise en œuvre du même étalon que celui qui est utilisé pour l'AFM et dont les caractéristiques sont rappelées en Annexe 4.

2.1.1 Mise en évidence du phénomène appelé « LeadingEdge Distorsion »

L'étalon de transfert utilisé afin de vérifier l'étalonnage du MEB est un étalon périodique VLSI (STS2-440P – Annexe 4) qui a été caractérisé par l'AFM métrologique du LNE et qui possède un pas de 1803 nm. La

même zone de cet étalon a été imagée (détecteur In-Lens) avec différentes résolutions et différentes vitesses d'acquisition. Une image de cet étalon acquise au MEB est montrée en Figure 4-2.

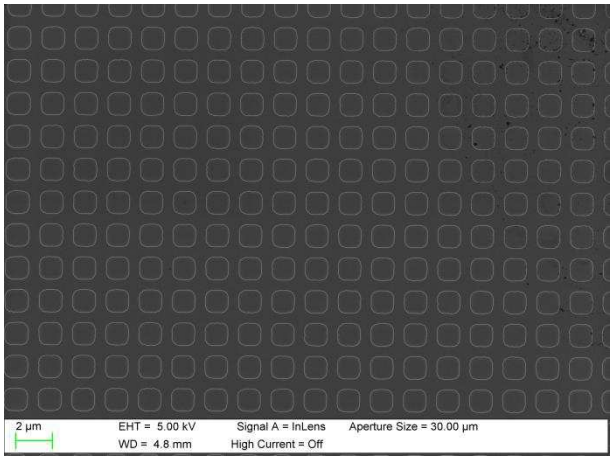


Figure 4-2 : Cliché MEB de l'étalon STS2-440P.

Les paramètres d'imagerie sont une tension d'accélération de 5kV et une distance de travail de 4,8 mm. La zone imagée est de taille assez importante de façon à imager 20 motifs du réseau suivant l'axe X (34,6µm). Trois séries d'images avec trois résolutions différentes ont été acquises pour deux vitesses de balayage différentes (vitesses notées 5 et 7 dans l'interface MEB SmartSEM):

- Basse résolution : 1024 x 768 pixels, taille du pixel égale à 33,82 nm
- Résolution intermédiaire : 2048 x 1536 pixels, taille du pixel égale à 16,22 nm
- Haute résolution : 3072x2304, taille du pixel égale à 10,81 nm. Pour cette résolution, seule l'image avec une vitesse de balayage notée vitesse 5 est acquise, la vitesse 7 étant trop lente et met en évidence les dérives de l'instrument sur l'image.

La mesure du pas de réseau sur les images acquises s'est faite suivant les deux axes, « manuellement », *via* l'édition de profils. Les bords des motifs de l'étalon sont repérés sur le profil grâce à un pic du niveau de gris à ces endroits, comme montré en Figure 4-3.

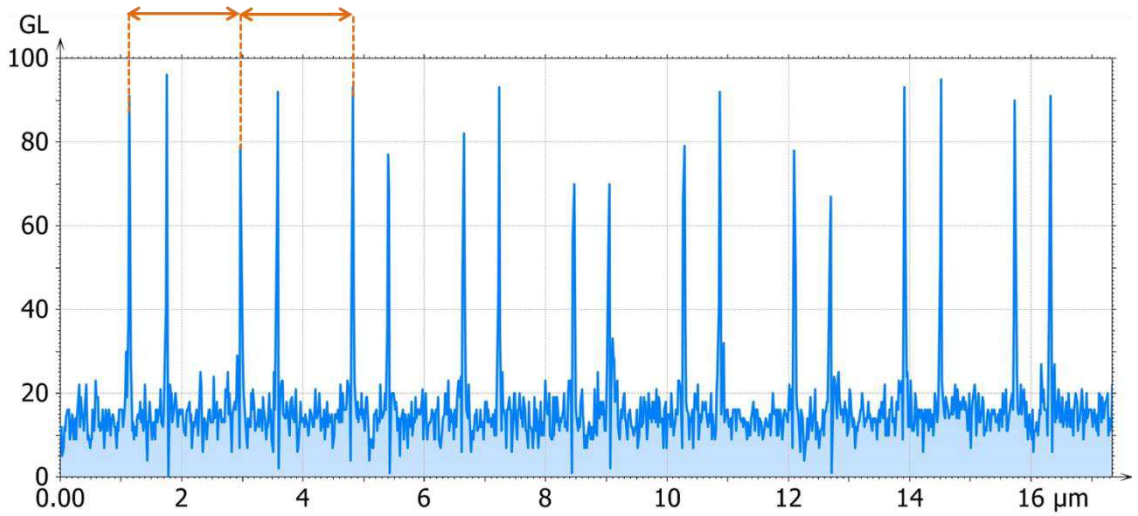


Figure 4-3 : Profil d'une image MEB d'un réseau étalon avec l'apparition de pics en niveau de gris sur les bords des motifs. La mesure d'un pas de réseau correspond à la distance entre deux pics non consécutifs.

La mesure est répétée sur toutes les lignes de motifs de l'image (13 lignes) pour chaque motif numéroté comme indiqué en Figure 4-4. Une moyenne est faite pour chaque colonne de motif.

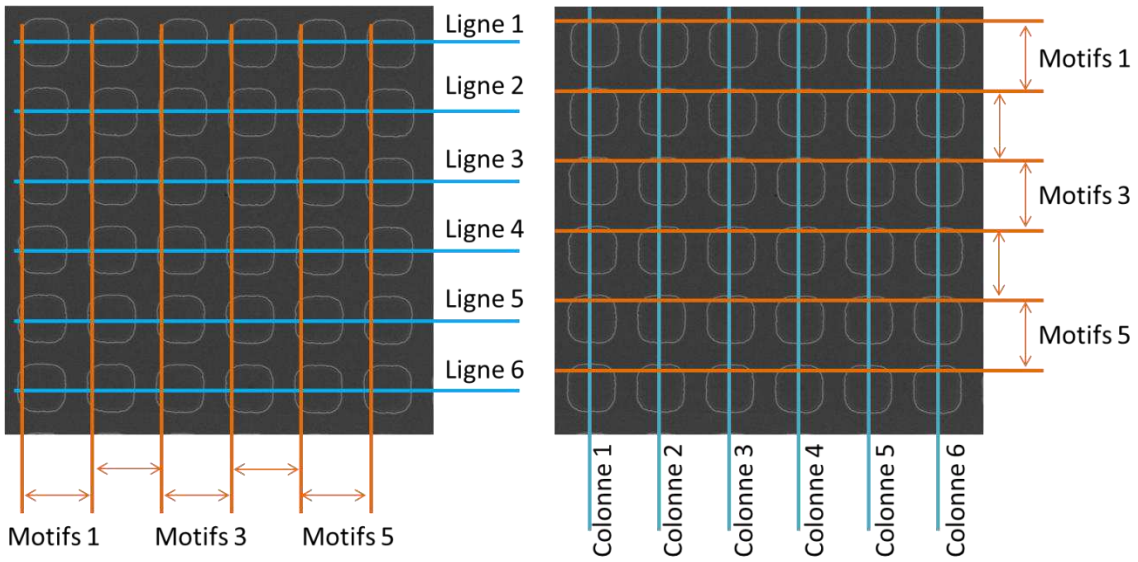


Figure 4-4 : Méthode de mesure du pas de réseau moyen suivant l'axe X (gauche) et suivant l'axe Y (droite) pour chaque colonne et ligne de motifs respectivement. Les colonnes de motifs sont numérotées de gauche à droite et les lignes de motifs sont numérotées de haut en bas. Les moyennes de pas de réseau sur chaque colonne sont calculées pour connaitre les pas de réseau moyens en fonction du numéro de motifs.

De la même façon, le pas du réseau est mesuré et moyenné suivant l'axe Y. Les résultats sont reportés dans les graphiques ci-dessous :

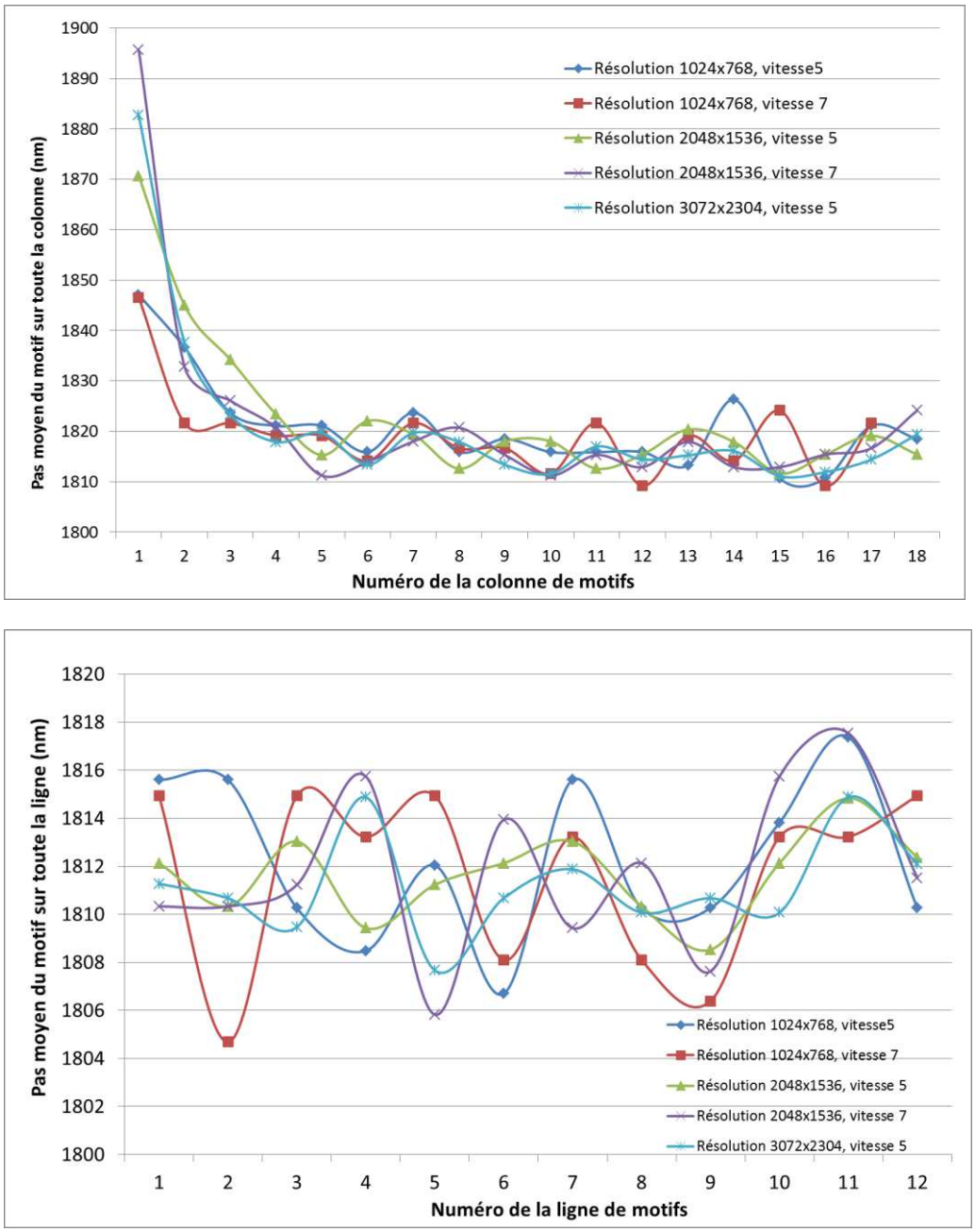


Figure 4-5 : Mesure du pas de réseau moyen suivant les axes X (haut) et Y (bas) et en fonction du numéro de la colonne (suivant X) ou de la ligne (suivant Y) de motifs dans l'image. Les motifs sont numérotés de gauche à droite sur l'image suivant l'axe X et de haut en bas sur l'image suivant l'axe Y.

Suivant l'axe X, on observe que sur les premiers pas de réseau moyen, donc sur le côté gauche de l'image, la valeur du pas de réseau diverge nettement par rapport aux valeurs du pas de réseau des autres motifs. Cette distorsion sur le côté gauche de l'image est appelée « Leadingedge distorsion »[95]. La taille mesurée du pas de réseau est augmentée sur une longueur de 3 pas de réseau (5,4 µm) pour les résolutions hautes et intermédiaires et 2 pas de réseau (3,6 µm) pour les résolutions basses. De plus, on observe que la distorsion est plus importante pour les résolutions intermédiaire et haute avec en moyenne un pas de réseau égal à 1885 nm contre un pas de réseau moyen de 1847 nm pour la résolution basse. Concernant le pas de réseau moyen suivant l'axe Y, aucune distorsion n'est observée.

L'origine de cette distorsion peut être attribuée aux variations de vitesses importantes du faisceau sur ce bord de l'image provoquées par son changement de direction. Le déclenchement de l'acquisition étant périodique, ces variations de vitesses provoquent une dilatation ou bien une contraction des pixels sur le bords de l'image amenant des distorsions à même de modifier la mesure des dimensions latérales des objets observés suivant l'axe de balayage rapide X. Afin de ne pas prendre en compte cette distorsion lors de l'étalonnage et des mesures, les mesures effectuées par la suite ne comporteront que la partie non distordue des images, et 100, 300 et 400 pixels seront soustraits systématiquement, respectivement aux images initiales de basse, moyenne et haute résolution.

2.1.2 Résultat de la mesure de l'étalon sur le côté non distordu de l'image

En reprenant les résultats du paragraphe précédent, on peut calculer la moyenne et l'écart type suivant les deux axes du pas de réseau pour les différentes résolutions et les différentes vitesses. Les résultats sont reportés sur le Tableau 10.

Tableau 10 : Mesures du pas de réseau imagé avec trois résolutions différentes (basse, intermédiaire et haute) et deux vitesses en excluant le côté de l'image distordu. La moyenne du pas de réseau moyen et son écart-type sont calculés.

Résolution	**Basse**		**Intermédiaire**		**Haute**		
Suivant l'axe X							
Vitesse de balayage	5	7	5	7	5	Moyenne	Ecart-type
Pas de réseau moyen (nm)	1818,0	1817,3	1817,1	1815,9	1815,5	1816,8	1,0
Ecart-type (nm)	16,4	15,8	10,3	12,8	9,0	x	x
Suivant l'axe Y							
Vitesse de balayage	5	7	5	7	5	Moyenne	
Pas de réseau moyen (nm)	1812,0	1811,7	1811,6	1811,8	1811,2	1811,6	0,3
Ecart-type (nm)	16,7	14,2	9,8	10,2	9,0	x	x

D'une part, nous observons un écart de 5,2 nm en moyenne entre le pas mesuré suivant l'axe X et suivant l'axe Y avec une moyenne de 1816,8 nm (écart-type = 1 nm) et 1811,6 nm (écart-type = 0,3 nm) respectivement. Cependant, nous observons que, pour une vitesse de balayage et une résolution fixée, l'écart-type semble être conservé suivant les directions. Une rotation de 90° de l'étalon nous a permis de montrer que l'écart de pas de réseau moyen mesuré n'était pas dû à l'inhomogénéité suivant les deux directions de l'étalon mais provenait bien de l'instrument. En conclusion, nous observons un écart de 0,4% entre les mesures suivant X et suivant Y par rapport à l'étalonnage.

D'autre part, l'écart-type diminue avec l'augmentation de la résolution quel que soit l'axe de mesure. Il est en moyenne égal à 15,8 nm, 10,8 nm et 9,0 nm pour les images de basse, moyenne et haute résolution, la vitesse de balayage n'ayant que très peu de répercussion sur la mesure.Lors de l'étalonnage de l'AFM utilisant ce même réseau, une estimation de l'inhomogénéité suivant les axes X et Y avait été faite. Celle-ci avait été estimée à 0,81 nm (avec l'incertitude due à la mesure AFM), ce qui est bien inférieur à l'écart-type obtenue par MEB à la plus haute résolution, 9,0 nm. Cependant, la taille du pixel lors de cette étude est égale à 10,8 nm pour la haute résolution. Cet écart-type important provient donc de la taille du pixel, et pourrait donc être réduit fortement en minimisant celle-ci. Cependant, il est

difficile de faire un étalonnage de ce réseau avec une taille de pixel réduit.En effet, si nous prenions une taille de pixel égale à 1 nm, avec une résolution maximal (3072 x 2304 pixels), nous ne verrions que 1,8 motif dans la largeur de l'image et 1,2 motif dans la longueur, ce qui n'est pas suffisant pour faire un étalonnage correct.

Enfin, observons que les valeurs moyennes obtenues suivant les deux directions, soit 1816,8 nm (suivant X) et 1811,6 nm (suivant Y) sont plus élevées que la valeur énoncée dans le certificat d'étalonnage(soit 1803 nm, voir Annexe 4) et également que les valeurs obtenues par AFM dans le Chapitre 3, paragraphe 2.1.2. Cependant, le certificat d'étalonnage donne un écart-type de 23 nm sur la mesure du pas de réseau, la mesure de l'étalon étant effectuée par interférométrie, les valeurs mentionnées peuvent être expliquées par cette incertitude.

2.2 Utilisation d'un réseau fabriqué par nos soins

L'étalonnage de l'instrument avec l'étalon VLSI n'est pas envisageable à cause de sa grande incertitude (± 23 nm) par rapport à la taille des objets que nous observons (50nm à 80 nm) ainsi que de la taille de son pas de réseau (1802 nm) qui est nettement supérieure à la gamme de mesure dans laquelle nous souhaitons déterminer la taille des nanoparticules (10 nm – 100 nm). C'est pourquoi nous avons fabriqué avec l'aide du LPN (Laboratoire Nanostructure et Photonique) un réseau afin d'étalonner le MEB par rapport à l'AFM. Cet étalon de transfert possède les caractéristiques suivantes :

- Réseau de carrés creux gravés sur un substrat de silicium
- Pas de réseau égal à 100 nm
- Zone de gravure réduite de façon à imager toujours la même zone en MEB et en AFM, et ainsi éviter les incertitudes dues à l'inhomogénéité de la gravure.

La fabrication de ces réseaux a été réalisée sur des échantillons de silicium semi-isolant orienté 100. La technique mise en œuvre repose sur l'utilisation d'un système d'écriture directe (masqueur électronique vistec-raightebpg 5000+) et d'une résine électronique PMMA dans laquelle les motifs sont ensuite gravés par gravure ionique réactive. Une part importante de la réussite de ce procédé réside dans le nettoyage du masque de gravure. Des bains successifs dans des solutions alcooliques ainsi que l'utilisation du nettoyeur plasma (nanoplas) permettent de retirer toutes les traces résiduelles permettant ainsi d'obtenir une surface de qualité en vue de la caractérisation par AFM et par MEB.

Un schéma de ce réseau ainsi qu'une image MEB sont reportés en Figure 4-6.

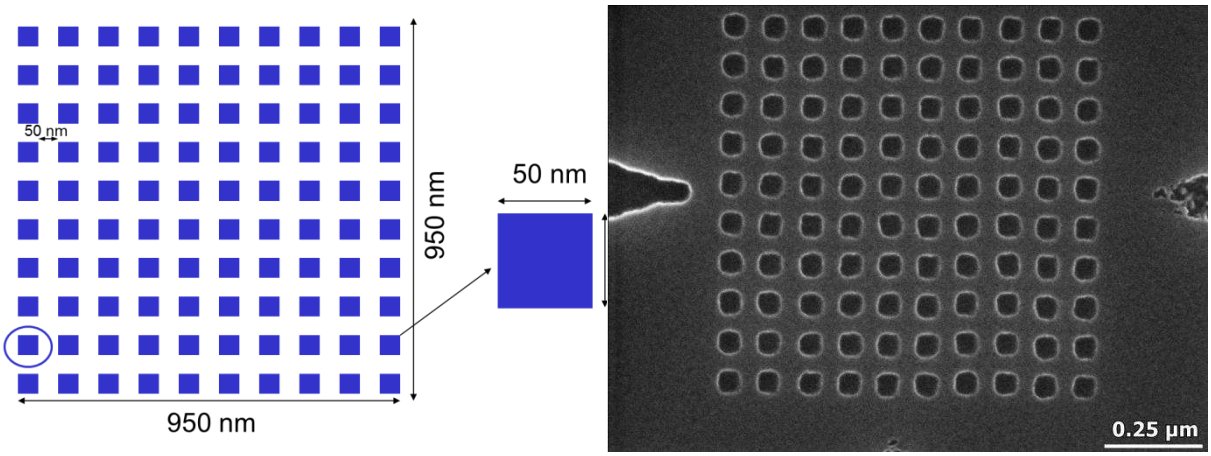


Figure 4-6 : Représentation schématique du réseau fabriqué au LPN, et image MEB du réseau obtenu.

Ce réseau est donc dans un premier temps mesuré avec l'AFM puis avec le MEB. Les résultats obtenus sont reportés dans le Tableau 11. La taille du pixel est ici fixée à 0,75 nm.

Tableau 11 : Pas de réseau moyen du réseau gravé par le LPN mesuré par AFM puis par MEB.

Imagerie	Suivant l'axe X	Suivant l'axe Y	Moyenne	Ecart-type
AFM	100,13 nm	99,47 nm	99,80 nm	2,73 nm
MEB (In-Lens, WD=4 mm, HT=4 kV)	100,95 nm	100,92 nm	100,94 nm	2,09 nm

Les 180 pas de réseaux (90 suivant les deux axes) ont été mesurés sur les images AFM et MEB. Pour chaque motif, la différence entre la mesure AFM et la mesure MEB a été calculée. Or, la différence moyenne des pas de réseaux est égale à 1,14 nm (écart-type= 3,4 nm).

Les résultats obtenus par AFM et par MEB sur ce réseau sont concordants. On peut donc en conclure que toutes les mesures dans plan XY effectuées par MEB et par AFM dans cette gamme de mesure sont comparables sur une même zone d'acquisition.

3 SOURCES D'INCERTITUDES DE LA MESURE DE TAILLE DE NANOPARTICULES PAR MEB

Dans ce paragraphe, nous listerons les paramètres pouvant influencer la mesure de taille de nanoparticules par MEB et évaluerons leurs impacts. La dégradation des échantillons sous le faisceau électronique est un problème auquel nous avons été confrontés dès le début de ces travaux de thèse. Puis nous évaluerons l'impact de l'ajustement de certains paramètres d'imagerie MEB comme le grossissement ou la tension d'accélération du faisceau électronique.

3.1 Dégradation des échantillons sous le faisceau électronique

3.1.1 Dégradation des particules

Dans le cas de l'imagerie AFM de nanoparticules (Chapitre 3), le mode tapping et les paramètres d'asservissement ont été choisis de façon à ne pas dégrader les échantillons. Cependant, pour l'imagerie MEB de nanoparticules, il est difficile de protéger l'échantillon de la dégradation causée par le faisceau d'électrons.

Deux séries d'images ont été effectuées : la première sur un échantillon de nanoparticules d'or de diamètre nominal de 30 nm déposées sur du mica et la seconde sur un échantillon des mêmes nanoparticules d'or déposées sur du silicium.

Les deux séries d'images acquises, effectuées pour une tension d'accélération de 6kV, sont reportées en Figure 4-7.

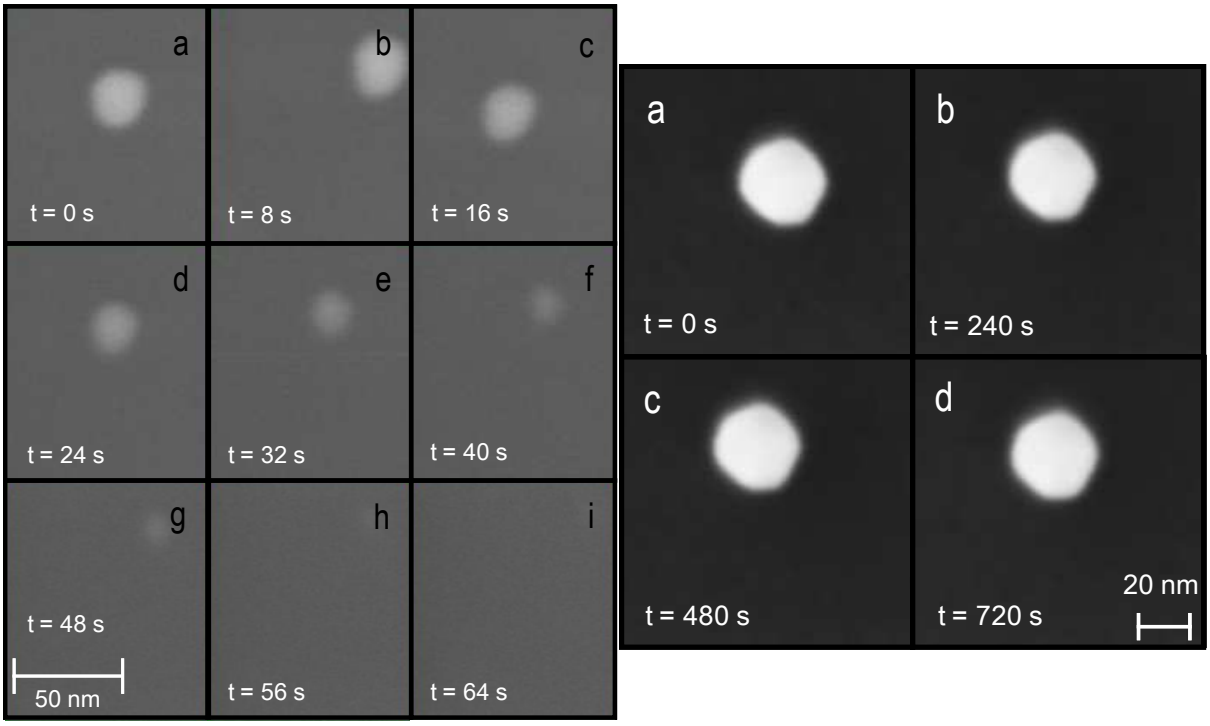


Figure 4-7 : (Gauche) Dégradation et disparition d'une nanoparticule d'or (30 nm) déposée sur du mica, imagée par MEB (6 kV). L'expérience se produit sur une durée totale de 64 secondes. (Droite) Nanoparticule d'or provenant de la même suspension que pour la série d'image précédente et imagée dans les mêmes conditions (6kV), mais déposée sur un substrat de silicium. L'expérience se produit sur une durée totale de 720 secondes.

On observe sur la Figure 4-7 que la particule d'or déposée sur du mica et imagée à 6kV se dégrade rapidement, jusqu'à disparaître complétement après 56 secondes. Ce phénomène correspond à une sublimation[96], et dépend, tout comme la fusion, de la température réelle des nanoparticules et de son substrat[97]. Sur le silicium, le comportement observé est différent : en effet, la particule ne parait pas être dégradée même après 720 secondes de balayage par le faisceau électronique.

Cette différence de comportement peut être expliquée par la nature des substrats. En effet, le mica est reconnu pour ses propriétés d'isolant thermique et électrique. L'énergie du faisceau d'électrons absorbée par l'échantillon sous forme thermique ne peut pas être dissipée correctement. La température de la nanoparticule est considérablement accrue, alors même que lorsque la nanoparticule est de petite taille sa température de fusion est fortement diminuée par rapport à la température de transition de phase de l'or massif (voir Chapitre 1, paragraphe 1.2.2). La nanoparticule est alors dégradée et disparaît sous le faisceau d'électron. Sur le substrat de silicium, même après un balayage du faisceau d'électronsde 12 minutes, la particule n'est pas dégradée. Sur ce substrat, la dissipation de l'énergie thermique est plus efficace que sur le mica ; la température de la nanoparticule ne peut atteindre sa température de sublimation, ni même de fusion, et la taille de la nanoparticule n'est pas impactée.

3.1.2 Dégradation de l'environnement proche de la nanoparticule

L'expérience précédente a été renouvelée à plusieurs reprises sur d'autres types de dépôt de nanoparticules. Nous observons en Figure 4-8, une série d'images acquises pendant un balayage, à 4 kV,continu et sur une longue durée d'une nanoparticule de SiO_2 déposée sur un substrat de silicium :

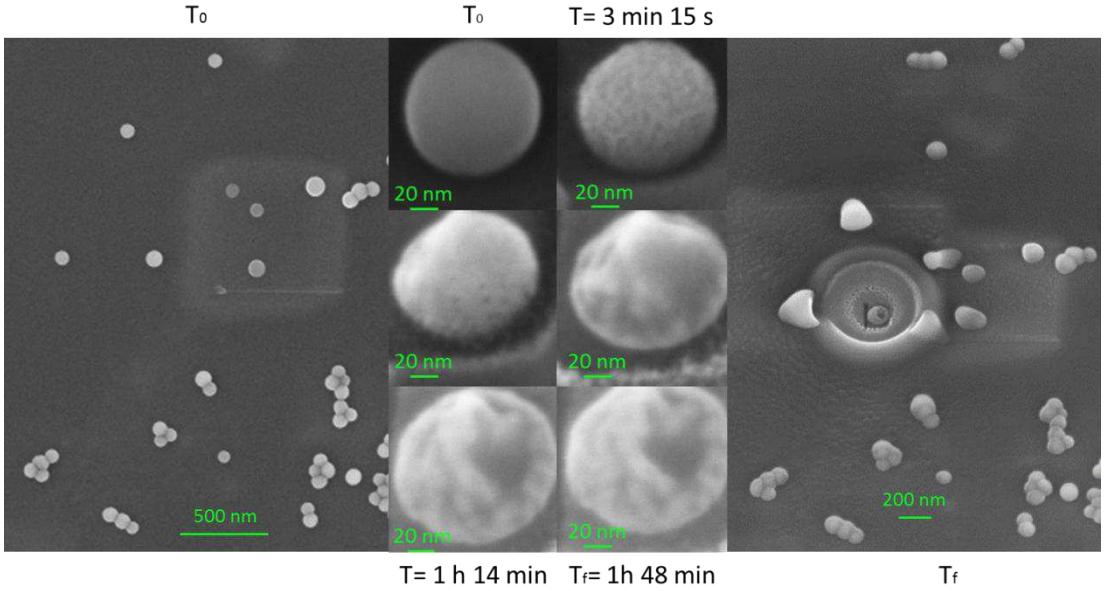


Figure 4-8 : Dégradation d'une nanoparticule de SiO_2déposée sur du silicium et de son environnement proche. Nous pouvons observer que la zone où est posée la particule a également été dégradée.

On remarque que la particule de SiO_2, déposée sur du silicium, a été dégradée dès 3 minutes de balayage par le faisceau d'électrons. Au bout de 20 minutes, on observe que l'environnement proche de la particule est également dégradé. Au bout d'1h 45 min, la zone où est posée la particule est totalement dégradée et on observe un creux autour de celle-ci. Comme discuté dans le paragraphe précédent, cela est dû à la non-dissipation de l'énergie thermique du faisceau d'électrons. Il est cependant étonnant d'observer que la zone où est déposée la particule est également dégradée. En effet, la température de fusion du silicium est de l'ordre de 1500°C. L'explication retenue est que les particules sont déposées sur un « tapis » d'impuretés (plus isolant que le silicium) telles que des surfactants présents dans la solution. Ce sont ces impuretés qui sont dégradées par le faisceau d'électrons.

Enfin, il est exceptionnel d'imager une même zone d'une surface très petite sur une durée aussi longue. La dégradation de l'environnement de la particule ne sera donc pas prise en compte comme une source d'incertitude de mesure, à part dans le cas particulier d'un balayage long et continu.

3.2 Incertitudes liées à l'ajustement des paramètres d'imagerie du MEB

3.2.1 Influence du facteur de grossissement

Dans cette étude, nous souhaitons évaluer l'influence du grossissement sur la mesure latérale d'une nanoparticule imagée par MEB. Pour cela, une série d'image (Détecteur In-Lens) est effectuée avec une tension d'accélération de 4 kV et à une distance de travail de 2,9 nm sur un échantillon de nanoparticules de SiO_2 déposées par « spin-coating » sur un substrat de silicium.

De façon à ce que les mesures ne soient pas biaisées par le traitement des images qui dépend de la taille du pixel, il est important de fixercette taille de pixel sur toute la série d'images. Pour cela, nous imageons une même zone d'intérêt avec des résolutions différentes (trois résolutions sont disponibles à partir du MEB Zeiss Ultra Plus), mais avec une taille de pixel toujours similaire (voirTableau 12).

Tableau 12 : Valeurs des grossissements et des tailles de pixel en fonction de la résolution appliquée lors de l'acquisition des images.

	Grossissement (KX)	Taille du pixel (nm)
Résolution 1024 x 768	52,84	2,113
Résolution 2048 x 1536	26,88	2,077
Résolution 3072 x 2304	18,68	1,992

Ainsi, des images d'une même zone d'intérêt obtenues pour les trois résolutions différentes – et donc pour les trois grossissements différents - sont observées :

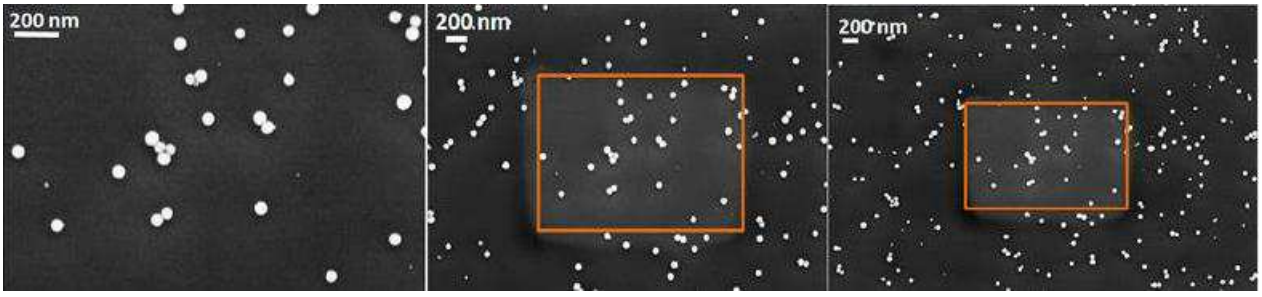


Figure 4-9 : Clichés MEB d'une même zone d'un échantillon de nanoparticules de SiO_2déposé sur du silicium imagée avec trois résolutions différentes en conservant la même taille de pixel : (gauche) résolution de 1024 x 768 pixels, (centre) résolution de 2048 x 1536, et (droite) résolution de 3072 x 2304 pixels.

Peu de nanoparticules isolées sont présentes pour une image avec une résolution de 1024 x 768 pixels. Par conséquent les mesures de cinq zones d'intérêt sont groupées pour obtenir une population totale de 78 nanoparticules. Les mesures sont reportées dans les histogrammes présentés en Figure 4-10.

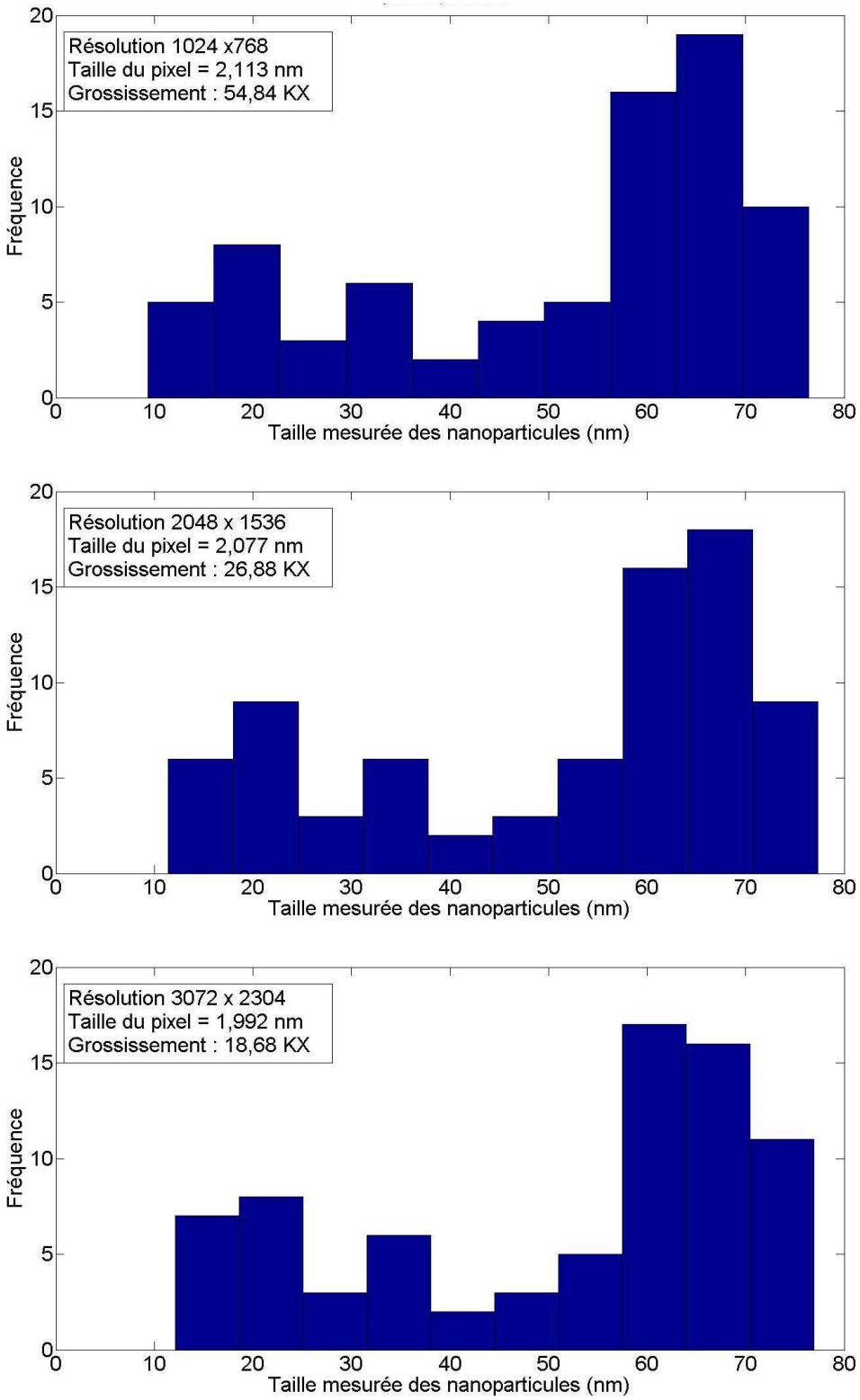


Figure 4-10 : Histogrammes en taille de nanoparticules de SiO2 imagées par MEB avec trois grossissements différents en fixant la taille de pixel(haut).Pour une résolution de 1024 x 768 pixels, (centre) pour une résolution de 2048 x 1536 pixels, et (bas) pour une résolution de 3072 x 2304 pixels.

La moyenne calculée pour chacun des grossissements, et donc pour chacune des résolutions, est reportée dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Moyenne de la distribution obtenue pour chacun des grossissements en fixant la taille de pixel.

	Grossissement (KX)	Moyenne de la population (nm)
Résolution 1024 x 768	52,84	50,97
Résolution 2048 x 1536	26,88	50,94
Résolution 3072 x 2304	18,68	51,22

L'écart maximal entre différentes moyennes obtenues en fonction du grossissementest de 0,28 nm.

3.2.2 Influence de la taille de pixel sur la mesure

Le grossissement n'ayant que très peu d'impact sur la mesure de taille d'une population de nanoparticules, nous souhaitons connaître l'impact de la résolution c'est à dire de la taille du pixel sur la mesure de taille et de distribution en taille de nanoparticule. Pour cela, une population de nanoparticules d'or de taille nominale de 54,9 nm(particules référence du NIST, voir Annexe 2)a été déposée sur un substrat de mica et imagée par MEB (4kV, détecteur In-Lens) avec différentes tailles de pixel, variant de 11,24 nm à 1,02 nm. Le même groupe de74 nanoparticules d'ora donc été imagé pour chaque résolution : pour cela, la zone initiale où se trouvent les 74 nanoparticules a été « découpée » en plusieurs zones.Nous reportons en Figure 4-11 les histogrammes obtenus pour chaque taille de pixel.

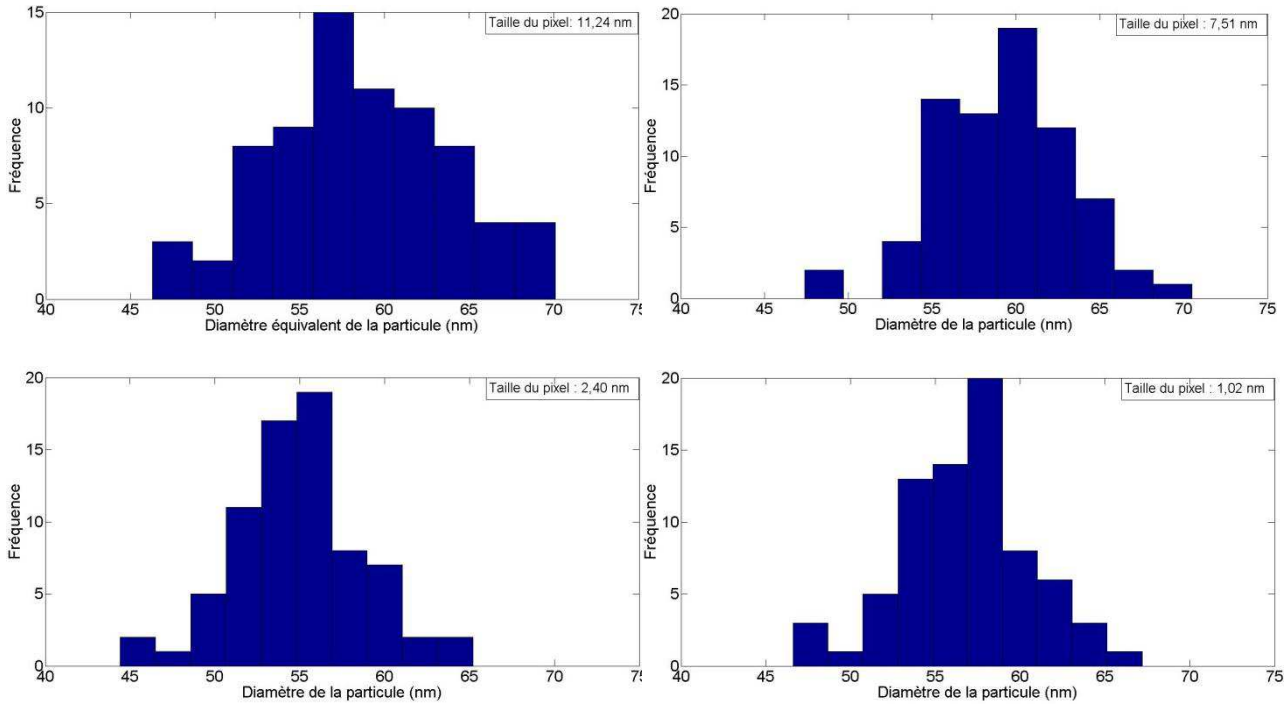


Figure 4-11 : Distribution en taille de 74 nanoparticules d'or imagées avec des tailles de pixel différentes. En haut à gauche, la taille du pixel est égale à 11,24 nm, en haut à droite, la taille du pixel est égale à 7,51 nm, en bas à gauche, elle est égale à 2,40 nm et en bas à droite, elle est égale à 1,02 nm.

Nous remarquons que les modes obtenus pour les grandes valeurs de pixel (11,24 nm et 7,51 nm) sont décalés par rapport à ceux obtenus avec des valeurs de pixel de faible valeur (2,40 nm et 1,02 nm). On observe bien ce phénomène lorsque nous calculons les valeurs moyennes de ces quatre populations, reportées dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Moyenne, écart-type pour la même population de 74 nanoparticules d'or de diamètre nominal égal à 54,9 nm.

	Moyenne de la population (nm)	Ecart-type (nm)
Taille du pixel = 11,24 nm	58,57	5,28
Taille du pixel = 7,51 nm	59,31	4,07
Taille du pixel = 2,40 nm	56,98	3,88
Taille du pixel = 1,02 nm	56,75	3,88

Lesmoyennesdiffèrent respectivement de1,82 nm et 2,56 nm entre les images de la même population acquises avec la taille maximale de pixel égale à 11,24 nm et 7,51 nm et celles acquises avec une taille de pixel égale à 1,02 nm. La taille du pixel a donc une importance essentielle dans la mesure de taille de nanoparticule. De plus, les écart-types des distributions sont également plus élevés lorsque la taille du pixel est plus importante.

Cependant, une différence de 0,23 nm seulement est observée entre le mode pour une taille de pixel égale à 2,40 nm et une taille de pixel égale à 1,02 nm. Les deux distributions associées possèdent le même écart-type : 3,88 nm. En effet, il n'est pas essentiel de réduire la taille du pixel jusqu'à cette valeur, puisque la taille du faisceau électronique est comprise entre 1nm et 2 nm: c'est donc la taille de faisceau qui limitera alors la mesure.

3.2.3 Impact de la défocalisation

La défocalisation augmenteartificiellement la mesure de taille des particules en ajoutant un « flou » autour des particules[98]. Nous observons cet artefact de mesure sur les clichés en Figure 4-12.

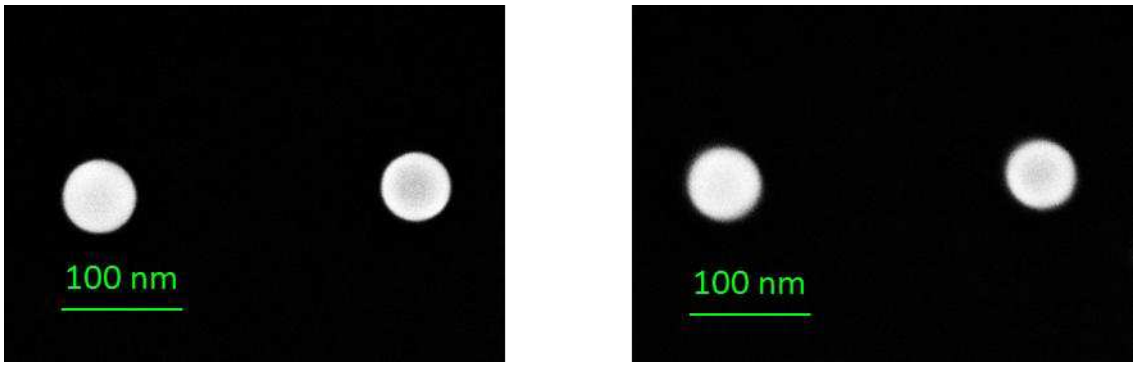


Figure 4-12 : Clichés MEB de nanoparticules de SiO_2. A gauche, le faisceau d'électrons est focalisé sur l'échantillon, à droite, il est défocalisé (1,5 µm de déplacement vertical de la platine par rapport à son plan focal).

Nous avons voulu évaluer l'influence de ce paramètre sur la mesure de taille de nanoparticule. Pour cela, nous avons effectué une série d'images (In-Lens, 4 kV, distance de travail égale à 3 mm), en défocalisant le faisceau d'électrons grâce à une variationpas à pas (positive et négative) dela position de la platine où est placé l'échantillon. La mesure de taille de particule est présentée pour une particule de 56,6 nmen Figure 3-7.

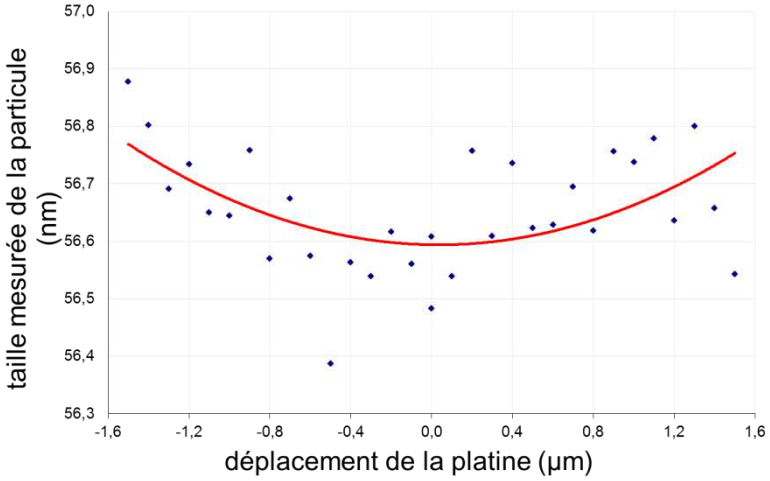


Figure 4-13 : Mesures de taille d'une nanoparticule en fonction de la défocalisation. Cette défocalisation est effectuée en faisant varier la position verticale de la platine porte-échantillon pas à pas (pas de 0,1 µm).

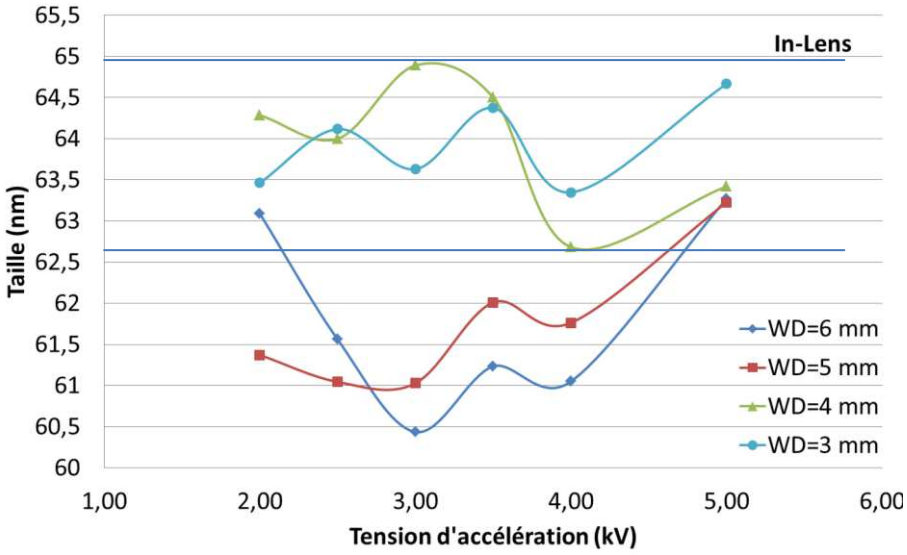
Nous observons, comme attendu, l'augmentation de la mesure de taille de la nanoparticule lorsque la platine est déplacée suivant l'axe vertical (vers le haut ou vers le bas). Cette variation évolue selon une loi polynomiale d'ordre 2, qui peut être décrite par l'équation suivante, où x est l'écart au point de focalisation de la platine :

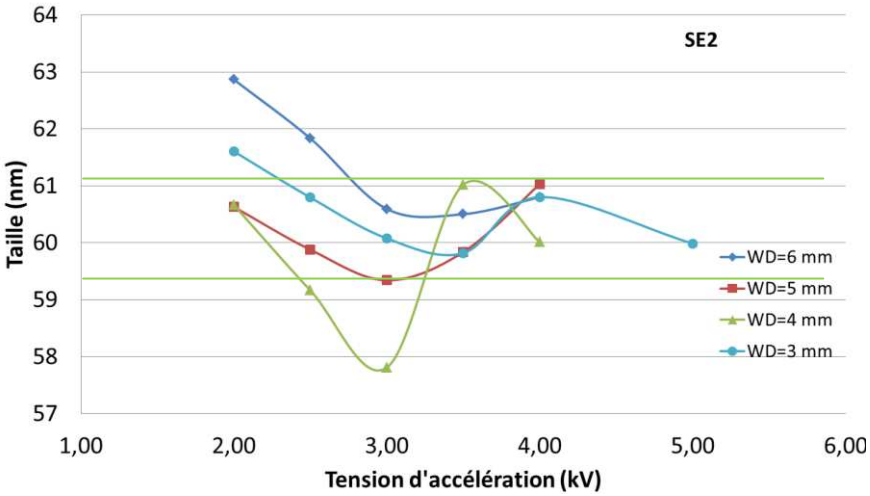
$$Taille_{mesur\ ée}(nm) = 0{,}74\ x^2 - 0{,}0052\ x + 59{,}59$$

3.2.4 Impact de la distance de travail et de la tension d'accélération

L'impact de la tension d'accélération et de la distance de travail sur la mesure de taille des nanoparticules a été évalué simultanément. Des particules de SiO_2 ont été déposées sur une surface de silicium. Une zone de cet échantillon a été repérée et imagée à l'AFM avant d'effectuer l'expérience entreprise pour connaître l'influence de ces paramètres. Plusieurs séries d'images MEB ont été acquises : pour une distance de travail donnée, nous faisons varier la tension d'accélération entre 2 kV et 5 kV. Ces manipulations peuvent prendre du temps.Un contrôle est donc effectué par AFM à la suite de chaque série acquise à une distance de travail donnée pour observer une éventuelle dégradation de la particule et de son environnement dû au faisceau d'électron (paragraphe 3.1 de ce chapitre). Les distances de travail varient entre 3 mm et 6 mm.

Les résultats des mesures de taille des nanoparticules sont reportés dans le graphique ci-après :





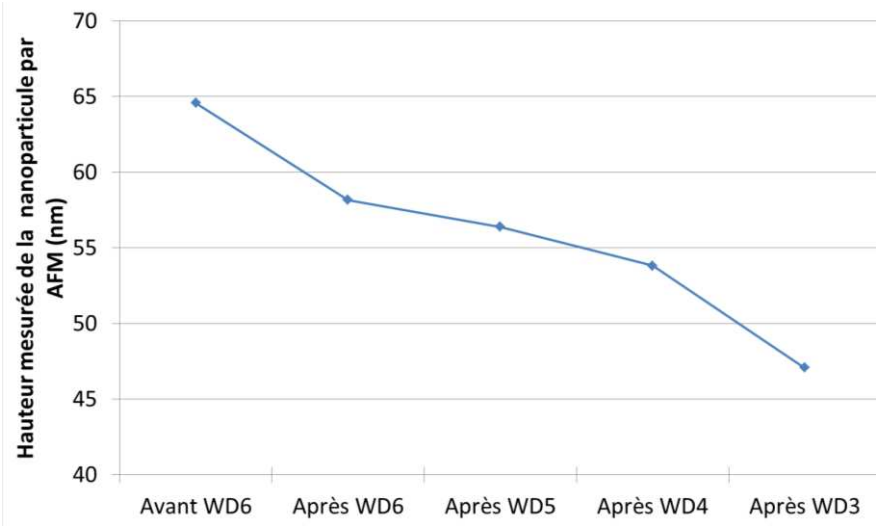


Figure 4-14 : Mesure de taille d'une même nanoparticule par MEB pour différente distances de travail (WD, pour working distance) et différentes tensions d'accélérationavec le détecteur In-Lens(haut) et avec le détecteur SE2 (centre). Contrôle de la dégradation de la nanoparticule ou de son environnement par AFM avant et après chaque série d'images à une distance de travail donnée.

Une première observation est à faire sur ces résultats. Nous remarquons que la hauteur mesurée de la nanoparticule est diminuée après chaque série de mesure effectuée pour une distance de travail donnée. La hauteur mesurée de la particule varie en effet de 64,6 nm à 47,1 nm soit une diminutionde 17,5 nm. Cependant, cette « dégradation » n'est pas observée par MEB. Cette diminution de hauteur mesurée par AFM est due à une dégradation de l'environnement de la particule (voir Figure 4-15). En effet, un creux s'est petit à petit créé au-dessous de la particule, sur le « tapis » d'impuretés, comme observé en Figure 4-8. La mesure de hauteur par AFM est donc biaisée par cette dégradation puisqu'elle s'effectue par la différence entre la valeur du point maximum de la particule et de la valeur du plan de rugosité moyen autour de la particule. Nous choisirons donc comme valeur de référence la valeur effectuée avant toute acquisition d'images au MEB, soit 64,6 nm.

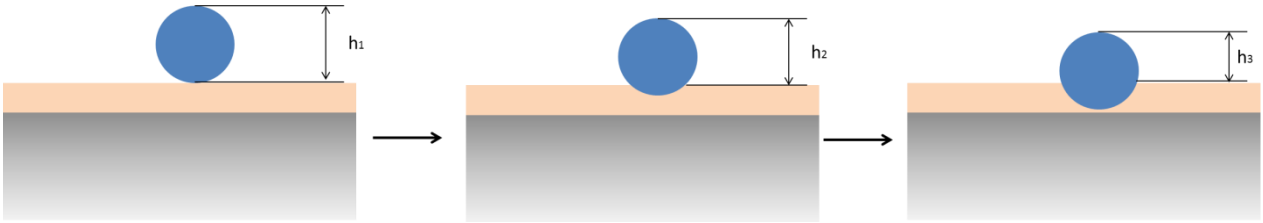


Figure 4-15 : Dégradation du « tapis » d'impuretés et impact sur la mesure de taille de nanoparticules par AFM.

Concernant le détecteur In-Lens, le constructeur indique que pour de telles tensions d'accélération la distance de travail doit être comprise entre 3 mm et 6 mm. Les résultats montrent une dispersion des mesures comprise entre 60,4 nm et 64,9 nm(soit un écart maximal de 4,5 nm) et les séries de mesures peuvent être groupées par deux : les séries de mesureseffectuées à distance de travail égale à 3 mm (WD3) età 4 mm(WD4) et les séries de mesures effectuées à une distance de travail égale à 5 mm(WD5) et à 6 mm(WD6). Le premier groupe de séries (WD3 et WD4) est compris entre les valeurs 62,7 nm et 64,9 nm : les valeurs sont donc toutes incluses dans une bande de 2,2 nm, ce qui est de l'ordre de grandeur de la largeur du faisceau électronique, qui correspond à la limite de résolution maximale de l'instrument. Le deuxième groupe (WD5 et WD6) est quant à lui inclus dans une bande comprise entre 60,4 nm et 63,3 nm, soit dans 2,9 nm. Il est à noter que les valeurs du deuxième groupe semblent rejoindre le premier groupe à une tension d'accélération plus importante et égale à 5 kV. Le premier groupe s'approche de la valeur de référence (64,6 nm) : les paramètres d'imagerie associés, soit une distance de travail comprise entre 3 mm et 4 mm et une tension d'accélération comprise entre 2 kV et 5 kV seront plutôt retenues pour des expériences futures.

Concernant le détecteur SE2, les valeurs sont comprises entre 57,8 nm et 62,9 nm soit dans un écart pic à pic de 5,1 nm. Nous pouvons observer qu'au dessous de 3kV, les valeurs sont plus élevées que le reste des données. Ceci semble confirmer les informations données par le constructeur qui déconseille, pour l'utilisation du détecteur SE2, d'imager avec de telles tensions d'accélération. En excluant la valeur WD = 4 mm, 3 kV, qui semble discordante avec le reste des valeurs, les valeurs mesurées pour des tensions d'accélération supérieures ou égales à 3 kV sont comprises entre 59,3nm et 61,0 nm, soit dans une bande de 1,7 nm. Cette grandeur est à comparer à la largeur du faisceau d'électrons, qui correspond à la limite de résolution maximale que peut atteindre l'instrument.

Enfin, nous remarquons que les valeurs obtenues avec le détecteur In-Lens (en moyenne 64 nm) sont toujours supérieures aux valeurs obtenues avec le détecteur SE2 (en moyenne 60 nm) de 4 nm. Cette

observation est surprenante parce que le même type d'électrons est détecté par les deux détecteurs, et la répartition des électrons secondaires émis est uniforme. La simulation de l'interaction entre les électrons et la matière de la nanoparticule pourraient répondre à cette constatation.

Cependant, deux pistes peuvent être envisagées :

- Les positions différentes des deux détecteurs : comme détaillé en paragraphe 1 de ce chapitre, le détecteur In-Lens est fixé dans l'axe de la colonne au dessus de l'échantillon, alors que le détecteur SE2 est positionné sur une paroi de la chambre. L'efficacité de collecte des deux détecteurs peut expliquer les différences de mesures.
- Le détecteur In-Lens est plus sensible aux effets de surface et d'après notre valeur de référence de 64,6 nm, nous donne la valeur vraie. Le détecteur SE2 pourrait avoir des difficultés à imager la couche superficielle de la nanoparticule.

[95] T. Klein, E. Burh, K-P. Johnsen, C. G. Frase, « *Traceable mesurement of nanoparticles size using a scanning electron microscope in transmission mode (TSEM)* », Meas. Sci. Technol. 22, 2011, 094002.

[96] Michael A. Asoro, DesiderioKovar, Paullo J. Ferreira, « *In-situ Transmission Electron Microscopy Observation of sublimation in Silver Nanoparticles* », ACS Nano, 2013, 7(9), pp 7844–7852

[97] V. G. Gryaznov, A. M. Kaprelov, A. Yu. Belov, « *Real temperature of nanoparticles in electron microscope beams* », Philosophical Magazine Letters, 1991, Vol. 63, N. 5, 275-279

[98] M. N. Filippov, V. P. Gravilenko, V. B. Mityukhlyaev, A. V. Rakov, P. A. Todua, « *Advance in dimensional measurements of nano-object based on defocusiong electron probe of scanning electron microscope* », Proc. Of SPIE Vol 8819, 2013.

CHAPITRE 5

DEVELOPPEMENT D'UN PROGRAMME SEMI-AUTOMATIQUE POUR LA MESURE TRAÇABLE DE TAILLE DE NANOPARTICULES IMAGEES PAR AFM ET MEB

Dans ce chapitre, nous listerons et testerons tout d'abord les différentes techniques disponibles sur les logiciels commerciaux pour détecter et mesurer les nanoparticules imagées par AFM et MEB. Nous nous attacherons à défendre le développement et l'emploi d'un logiciel semi-automatique pour obtenir une mesure traçable. Le développement de ce logiciel sera explicité. Enfin, le logiciel sera testé et comparé aux logiciels existants.

1 OUTILS DE TRAITEMENT DES IMAGES EXISTANTS

Comme nous l'avons précisé précédemment, l'étape de traitement des données est une étape clef de la mesure et peut être une source d'erreurs. Le nombre de nanoparticules nécessaire pour une représentation statistique pertinente, qui est souvent reporté comme étant 250 pour une mesure de dimension moyenne ou de distribution en taille, impose l'utilisation d'un programme informatique. En effet, la mesure « à la main » est une démarche fastidieuse et consommatrice de temps. Cependant les algorithmes des logiciels commerciaux sont souvent des « boîtes noires » et les caractéristiques métrologiques de chaque étape du processus de traitement de données ne sont pas connues. De plus, chaque logiciel possède sa propre spécificité, ses points forts et ses points faibles. Beaucoup d'utilisateurs de microscopes (AFM ou MEB) se contentent d'utiliser le logiciel fourni avec l'instrument.

1.1 Pour la mesure de nanoparticules imagées par AFM

Ce paragraphe décrit les méthodes de détection des objets à mesurer sur une image AFM avec les différents logiciels disponibles.

Les logiciels utilisés dans les paragraphes suivants sont : Gwyddion[a], SPIP©[b] (ImageMet-Digital Surf), et MountainsMap©[c] (Digital Surf).

Pour rappel, dans cette étude, nous souhaitons déterminer la taille de nanoparticules sphériques imagées par AFM en mesurant la hauteur de ces particules (Chapitre 1 –Figure 1-17).

1.1.1 Mesures effectuées « manuellement »

Les mesures de hauteur de nanoparticules peuvent être effectuées manuellement en mesurant la différence de hauteur entre la surface et le point maximum de la particule sur un profil. Cette opération peut être effectuée sur tous les logiciels de traitement d'image AFM grâce à l'édition d'un profil sur la particule. On définit comme profil l'ensemble des valeurs en Z du nano-objet en suivant une droite sur l'image. De façon à éviter les erreurs de mesure induites par l'acquisition et le traitement des images, il est préférable de sélectionner un profil suivant l'axe de balayage. Ainsi, tous les points d'une même ligne subissent le même traitement de redressement.

La difficulté de cette méthode manuelle réside dans le choix de la position du profil où la hauteur maximale de la particule est représentée. En effet, celle-ci est difficilement repérable et il est souvent impossible de déterminer et de tracer avec précision la ligne qui passera exactement par le point maximum de la nanoparticule. Sur la Figure 5-1, un exemple de mesure de hauteur de particule par une méthode manuelle est donné :

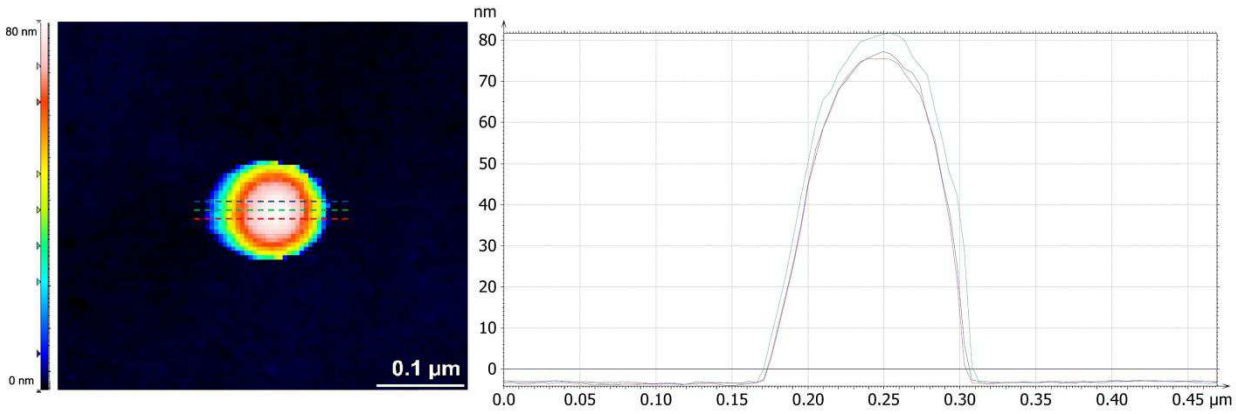


Figure 5-1 : Exemple de mesure manuelle de la hauteur d'une nanoparticule sphérique effectuée grâce au logiciel MountainsMap© : choix du profil (gauche), différents profils sélectionnés (droite). Sur cet exemple l'erreur manuelle faite sur le choix du profil a été surestimée de façon à montrer l'impact de celle-ci sur la mesure de la hauteur.

[a]Gwyddion est un logiciel disponible gratuitement sur internet et développé par le CMI (institut de métrologie tchèque)

[b] SPIP © est un logiciel commercial developpé à l'aide de l'intitut de métrologie danois (DFM) et commercialisé par ImageMet (société danoise). La société française Digital Surf et ImageMet ont récemment fusionné

[c]MountainsMap© est un logiciel commercial développé et commercialisé par Digital Surf (société française). Ce produit s'attache à fournir des mesures sollicitées par des normes, et met l'accent sur l'aspect métrologique de la mesure. Il est habituellement vendu avec des instruments (SPM, profilomètres) sous d'autre noms (PicoImage…)

Dans cet exemple, l'erreur manuelle faite sur le choix des profils a été exagérée et un écart de 5 nm avec la hauteur maximale a été mesuré.

Bien que la détermination du point maximum reste difficile à mesurer avec exactitude, cette technique permet toutefois de gérer et de mesurer les hauteurs de particules agglomérées. Il faut cependant rester prudent sur l'erreur induite par le phénomène d'agglomération (Chapitre 2,Figure 2-2).En effet, lorsque les particules sont agglomérées, on ne sait pas si celles-ci sont en contact avec le substrat, ce qui n'est pas visible sur un profil, et ces particules doivent donc être exclues de la distribution en taille.

1.1.2 Détection des particules par seuillage et filtrage automatique des particules agglomérées

Dans un processus de mesure de diamètre moyen et de comptage des particules, la première étape consiste à détecter et identifier tous les éléments de l'image. Cette étape peut s'effectuer par une mise en place d'un seuil de détection par exemple : tous les éléments au-dessus (ou en dessous) de ce seuil sont considérés comme des éléments à mesurer (Figure 5-2). Cet outil est disponible dans les logiciels SPIP ©, MountainsMap© et Gwyddion.

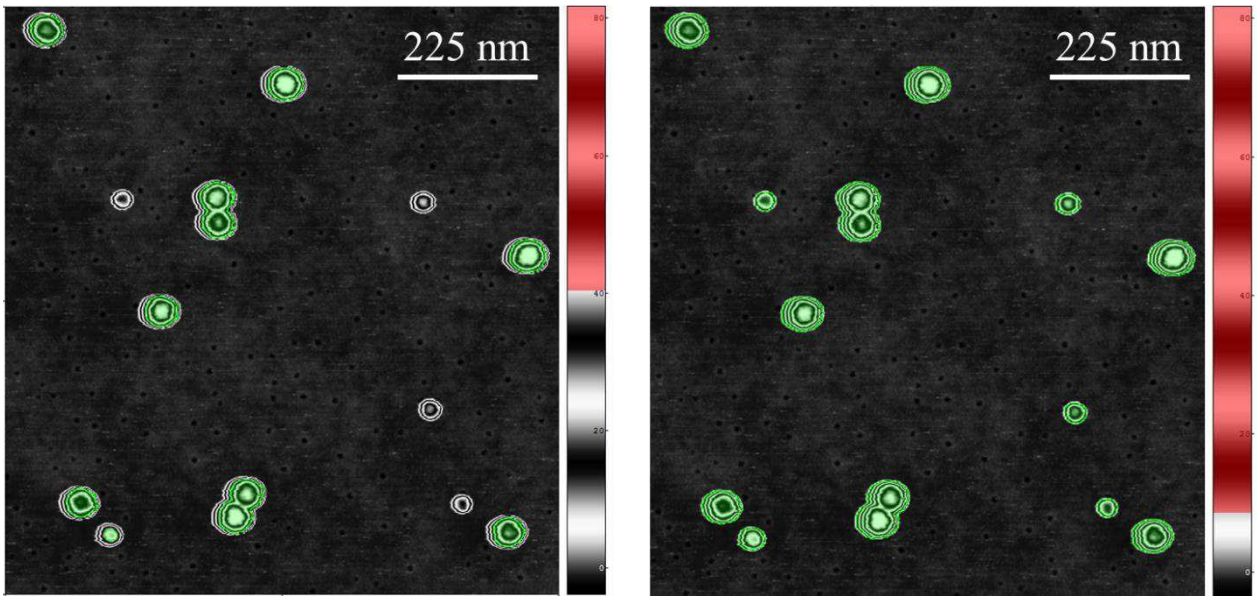


Figure 5-2 : Détection de particules par seuillage (logiciel SPIP©) avec deux valeurs de seuil différentes. Les éléments colorés en vert sont les éléments détectés. A gauche, le seuil a été placé à une valeur de 40 nm, toutes les particules ne sont pas détectées. A droite, le seuil a été placé à environ 10 nm, toutes les particules sont détectées. On notera que les particules agglomérées sont détectées en ne comptant que pour un seul élément.

La détection de particules par cette méthode ne permet pas de séparer les particules agglomérées. De ce fait, si on choisit de mesurer la taille de la particule par la mesure du point maximal, ce sera celui de la plus grosse, ou la plus haute particule de l'agglomérat (dans le cas de nanoparticules sphériques) qui sera considérée. Les erreurs induites sur la mesure du diamètre moyen et de la distribution en taille par la présence d'agglomérats(Chapitre 2, paragraphe 1.1., figure 1.2.) peuvent être réduites grâce à un système de filtrebasé par exemple sur l'aire des nanoparticules qui les éliminera de la distribution. Par exemple, nous pouvons choisir de ne sélectionner que les particules ayant une surface correspondante à

la plus grosse particule d'une population donnée. Cela est réalisable lorsque la population de nanoparticules étudiée est bien monodisperse. Dans le cas contraire, c'est-à-dire dans de nombreux cas, cette méthode ne peut être utilisée. Prenons l'exemple de la population bi-modale, présentée sur la Figure 5-3:

- Si aucun filtre n'est appliqué, toutes les nanoparticules sont prises en compte dans la distribution en taille (nanoparticules surlignées en vert dans la Figure 5-3 en insert du graphe du haut). Nous pouvons voir nettement que les agglomérats seront comptés dans la distribution en taille et apporterons un biais sur la mesure de diamètre moyen et l'écart-type.
- Si on place un filtre correspondant à une aire supérieure aux plus grosses particules du mode 1, c'est-à-dire à droite de la gaussienne (les résultats obtenus avec le filtre 1 sont donnés enFigure 5-3, sur l'histogramme du centre) : les particules agglomérées de ce mode ne seront pas présentes dans la distribution, comme cela est souhaité. Cependant l'aire des particules agglomérées du mode 2 pouvant être inférieure à celle définie par le filtre 1 défini, certains agglomérats compteront tout de même dans la distribution.
- Dans la troisième situation illustrée en Figure 5-3 (histogramme du bas), le filtre est fixé pour une aire supérieure à celle d'une particule de mode 2 (filtre 2). : l'image montre que les particules du mode 1 ne sont pas prises en compte et dans ce cas la population du mode 1 disparaît complétement de l'histogramme de distribution en taille.

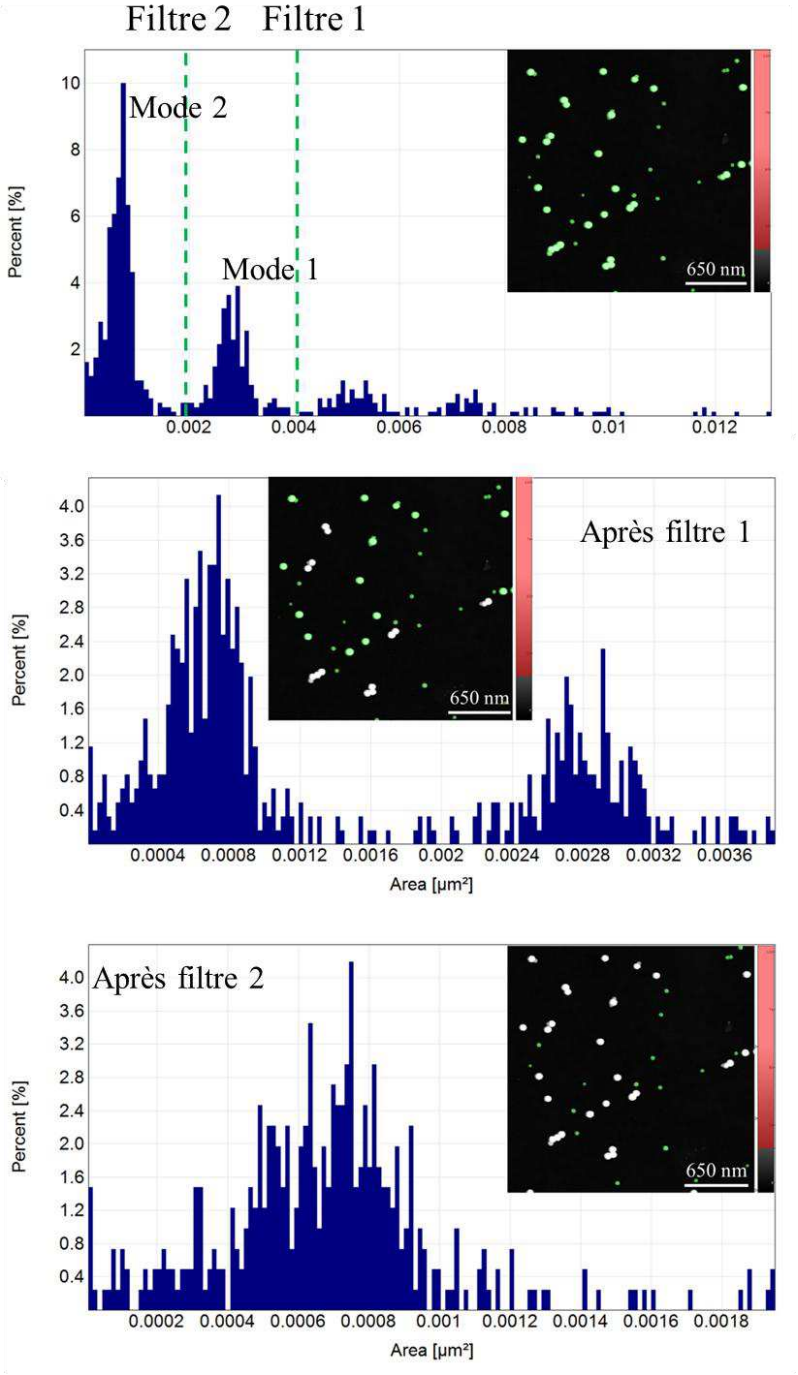


Figure 5-3 : Distribution en aire d'une population bi-modale de nanoparticules sphériques imagées par AFM (image correspondante en insert). Définition de filtre paramétré en fonction de l'aire des éléments afin de sélectionner les particules devant compter dans la distribution (pointillés verts).Sur l'histogramme du haut, aucun filtre n'est appliqué ; sur l'histogramme central, le filtre 1 est appliqué ; sur l'histogramme du bas, le filtre 2 est appliqué.

De la même façon que pour un filtre basé sur l'aire des particules, tous les filtres disponibles (périmètre, diamètre…) induisent le même problème lorsque la population est polydisperse.

Cet outil utilisé de façon automatique peut, dans certains cas précis, être très pratique puisqu'il permet un gain de temps par rapport à la méthode manuelle. Cependant, il n'est pas adapté à l'étude d'une population polydisperse ou multimodale.

1.1.3 Méthode automatique « Watershed » : segmentation par partage des eaux

L'idée principale de cette méthode est de partitionner l'image 3D, en simulant un écoulement d'eau sur la topographie. Seules les parties supérieures des objets de l'image ne sont pas recouverts par l'eau, les lignes composant ces sommets sont les lignes de partage des eaux, définissant des domaines représentant les motifs. Sur un substrat plan, des nanoparticules peuvent être détectées par cette méthode qui permet également de séparer les particules agglomérées (Figure 5-4).

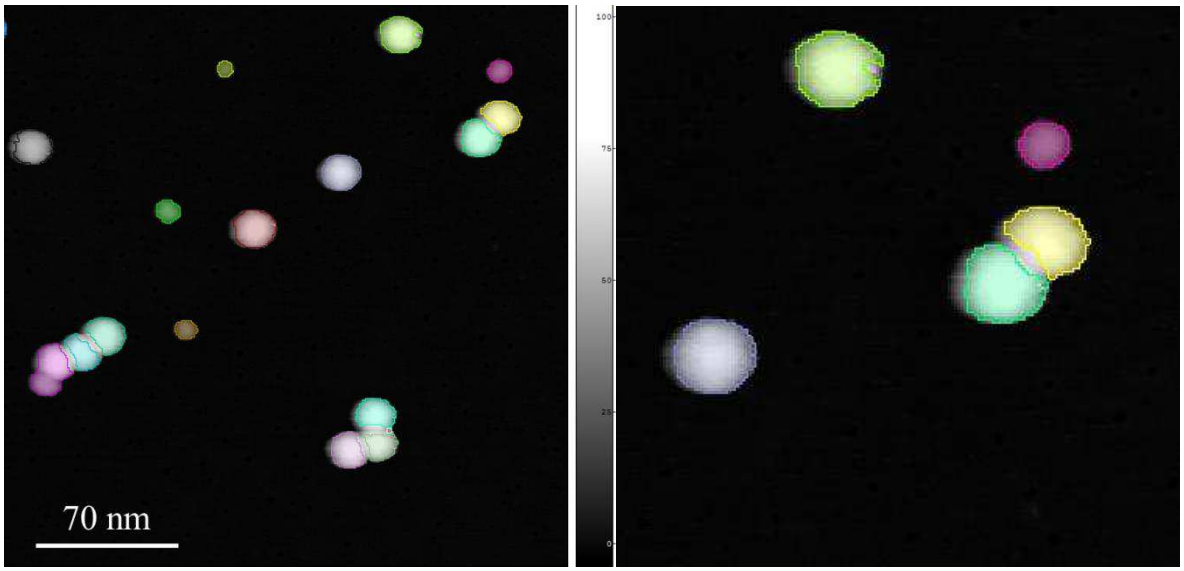


Figure 5-4 : Détection individuelle de particules agglomérées par la méthode de segmentation par partage des eaux (gauche, traitement effectué grâce à SPIP ©) et zoom (droite).

Cette technique permet donc la détection individuelle des particules agglomérées. Cependant, une multitude de variables est disponible pour paramétrer la détection par cette technique et plusieurs essais sont souvent nécessaires pour que la détection soit fructueuse. L'application de filtres préalables est également nécessaire pour éviter que le bruit soit détecté comme un motif. De plus, cette technique de détection est chronophage. Enfin, une fois encore, elle ne permet pas d'éviter les erreurs induites par les nanoparticules qui ne sont pas en contact avec le substrat, au sein des agglomérats.

1.2 Pour la mesure de nanoparticules imagées par MEB

De nombreux logiciels sont également disponibles pour le traitement des images MEB. De la même façon que pour l'AFM, les utilisateurs effectuent les traitements d'image et les mesures avec les logiciels livrés avec l'instrument. Le logiciel ImageJ est également très utilisé, parce qu'il s'agit un logiciel « open source ».

Les trois techniques décrites pour les images AFM sont disponibles mais ne sont pas adaptées aux spécificités de la mesure de taille de nanoparticules par MEB.Pour rappel, dans cette étude, la taille des nanoparticules sphériques est évaluée par le calcul du diamètre, appelé diamètre équivalent D_{eq},qui représente le diamètre d'un cercle possédant la même aire que la particule imagée.

1.2.1 Détermination du diamètre équivalent par une méthode manuelle

De la même façon que pour la mesure AFM, une mesure « manuelle » du diamètre des particules est disponible sur tous les logiciels de traitement d'image. Elle s'effectue de la même façon : l'édition d'un profil. Comme pour les images AFM il est préférable de sélectionner un profil suivant la direction du balayage, bien que les effets soient nettement moins visibles que sur une image AFM. Aussi, les mêmes problématiques sont observables : nous ne savons pas si le profil sélectionné comporte bien le centre de la particule, ou si il est (même légèrement) décentré.

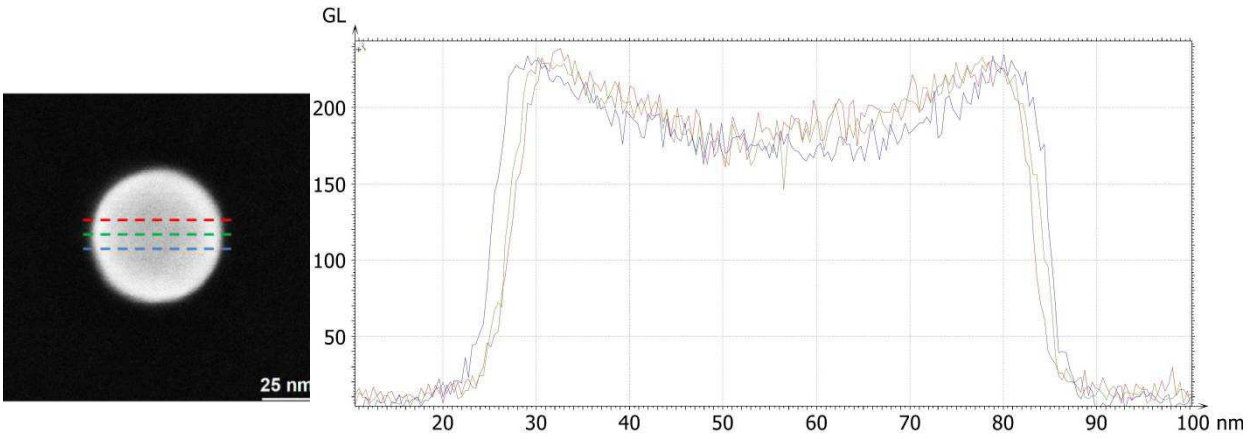


Figure 5-5 : Sélection d'un profil sur une image MEB pour l'obtention du diamètre de la particule de façon manuelle. L'erreur sur le choix du placement des profils a été amplifiée de façon à bien remarquer l'influence de ce dernier sur la mesure de diamètre.

De plus, avec cette méthode, toute l'image de la particule n'est pas utilisée, mais uniquement un profil, ce qui induit une perte d'information.

Enfin, nous pouvons remarquer sur les profils que les bords de la particule ne sont pas totalement verticaux et qu'il est difficile de savoir exactement où l'on doit placer les curseurs pour déterminer le diamètre : on pourrait aussi bien les placer au bas, au centre, au sommet ou sur tout autre point de ce qui représente le bord de la particule (Figure 5-6).

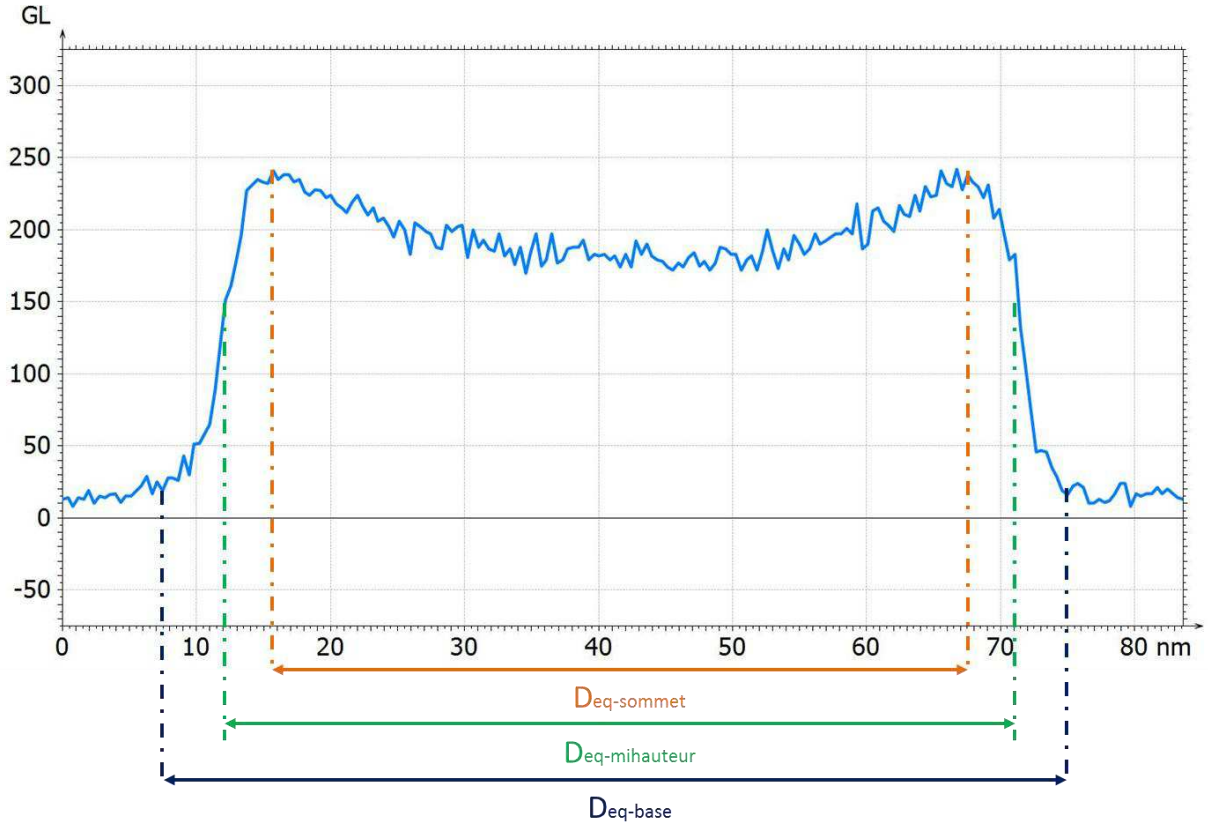


Figure 5-6 : Mesure du diamètre selon 3 critères différents : mesure prise à la base de la nanoparticule (bleu), mesure prise au sommet de la nanoparticule (rouge) et mesure prise à mi-hauteur de la nanoparticule (vert).

Nous observons dans l'exemple Figure 5-6 que la mesure réelle se situe entre les mesures à la base et les mesures au sommet de la nanoparticule, dont l'écart représente 7 nm pour une particule de 59 nm. (24%). Cette différence est très importante. Cette problématique ne peut être résolue de façon simple. En effet, nous pouvons représenter le balayage d'une nanoparticule en 3 temps (Figure 5-7) :

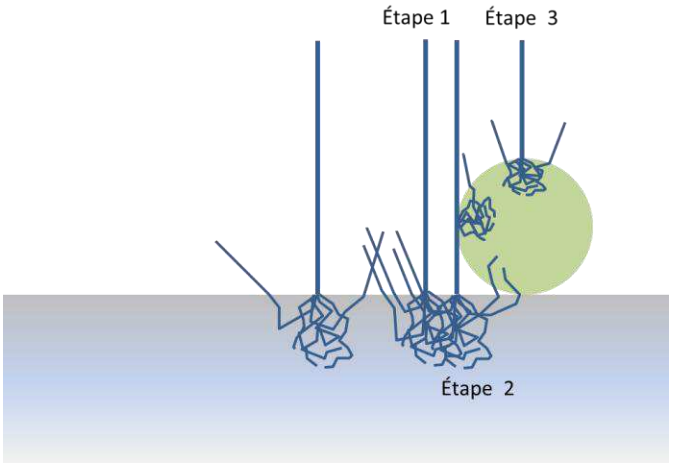


Figure 5-7 : Schéma représentant le balayage d'une particule déposée sur un substrat par un faisceau d'électrons en trois étapes.

- Lors de l'étape 1, le faisceau d'électrons n'a pas encore atteint la particule. Des électrons issus de l'interaction avec le substrat peuvent cependant interagir avec celle-ci au cours de leur trajectoire, dans la limite de leur poire d'interaction. Le détecteur récupèrera donc de l'information attribuable à la nanoparticule (pente observée à la base du profil en Figure 5-6), et cela même si le faisceau d'électrons n'a pas encore balayé la nanoparticule. Ce phénomène affecte donc la détermination exacte des bords de la nanoparticule.
- Lors de l'étape 2, le faisceau d'électrons se trouve au bord de la nanoparticule. Les électrons récoltés par les détecteurs proviennent alors de la particule mais aussi du substrat. La répartition des deux types d'électrons dépend fortement de la composition chimique des deux objets, puisque la poire d'interaction est définie notamment en fonction du libre parcours moyen des électrons, lui-même dépendant de la composition chimique du matériau parcouru.
- Lors de l'étape 3, le faisceau d'électrons entre directement en contact avec la particule. Selon la taille de la poire d'interaction et de la particule, soit les électrons ressortent directement de la matière ou leur trajectoire, soit pénètrent également dans le substrat si le libre parcours moyen de l'électron dans le matériau de la nanoparticule est de l'ordre de grandeur de la taille de la particule.

La trajectoire des électrons, et donc la forme et la taille de la poire d'interaction dépend fortement des matériaux étudiés mais également de la tension du faisceau électronique et de l'angle auquel le faisceau pénètre dans le matériau. Des simulations de ce type de trajectoire, prenant en compte tous ces paramètres, sont donc nécessaires afin de connaître exactement les points définissant les bords de la particule sur un profil. Il n'y a, à notre connaissance aucune étude qui n'ait été entreprise dans ce sens. Des simulations existent sur des structures de référence microscopique et la même équipe (Pr Fräse, PTB, institut de métrologie allemand) a proposé de réaliser des calculs autour de la microscopie à balayage en mode transmission[99] (TSEM).

Devant le manque de résultats théorique, dans la suite du manuscrit, nous avons décidé de mesurer les diamètres équivalents à mi-hauteur du profil ($D_{eq\text{-}mi\text{-}hauteur}$) avec une incertitude maximale correspondant à la différence des valeurs issues de la mesure prise à la base du profil et de celle prise au sommet.

$$\sigma = D_{eq-sommet} - D_{eq-base}$$

1.2.2 Détermination du diamètre équivalent par seuillage de l'image MEB

De la même façon que pour l'AFM, la détection des particules peut s'effectuer par seuillage. Les éléments compris au-dessous de ce seuil sont considérés comme étant le substrat alors que les éléments au-dessus du seuil sont considérés comme étant des objets à analyser. Pour les images MEB, le placement de ce seuil est très important. En effet, l'aire de la particule, et par conséquent son diamètre équivalent est très dépendant de la valeur de ce dernier. Nous pouvons observer l'effet du seuil sur la Figure 5-8 :

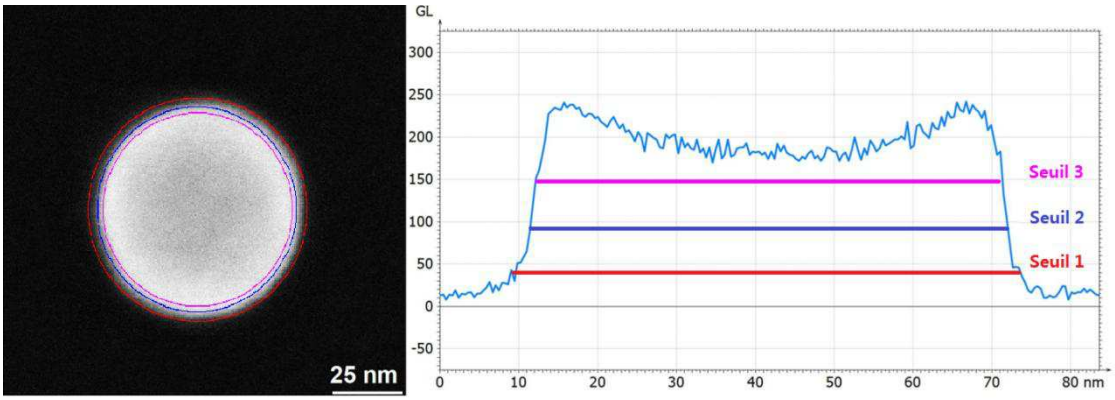


Figure 5-8 : Dépendance du diamètre équivalent en fonction du placement du seuil lors de la détection et de la détermination de la taille de la nanoparticule par seuillage : sur une image MEB (-contraste topographique, détecteur In-Lens, gauche), etsur un profil (droite).

De plus, comme commenté dans le paragraphe précédent, il a été choisi de définir le diamètre équivalent comme la mesure effectuée à la mi-hauteur de la nanoparticule. Il serait donc judicieux de placer ce seuil à la mi-hauteur également pour chaque particule. Cependant, cette opération serait chronophage car un seuil doit être ajusté pour chaque particule. En effet, le même seuil ne peut être défini pour une population entière de nanoparticules pour l'ensemble de l'image. Cette opération introduit donc une incertitude qui au maximum sera, pour chaque particule, égale à la différence de la valeur prise à la base et de la valeur prise entre les sommets de la particule (7 nm dans le cas du profil donné en Figure 5-8). Cette valeur d'incertitude est difficilement estimable pour la population entière puisqu'il faudrait également la déterminer pour chaque particule.

Enfin, comme pour l'AFM, les particules agglomérées ne sont pas détectées individuellement par cette méthode. Cela nécessite l'application de filtres (de façon à les exclure) qui ne sont pas adaptés en cas de population polydisperse (voir paragraphe 1.1.2).

1.2.3 Détermination du diamètre équivalent par la méthode de segmentation par partage des eaux

Encore une fois, la même méthode de détection des nanoparticules que pour l'AFM est utilisable, en considérant que le niveau de gris représente la topographie de l'échantillon. Cette dernière permet de détecter individuellement les particules, même agglomérées. Cependant les zones détectées représentant des nanoparticules agglomérées sont rarement sphériques avec cette méthode (comme le montre clairement la Figure 5-9). Or, nous déterminons dans ces travaux le diamètre équivalent d'une particule avec la même aire qu'une particule sphérique. Les particules agglomérées sont donc encore une fois à exclure de la population.

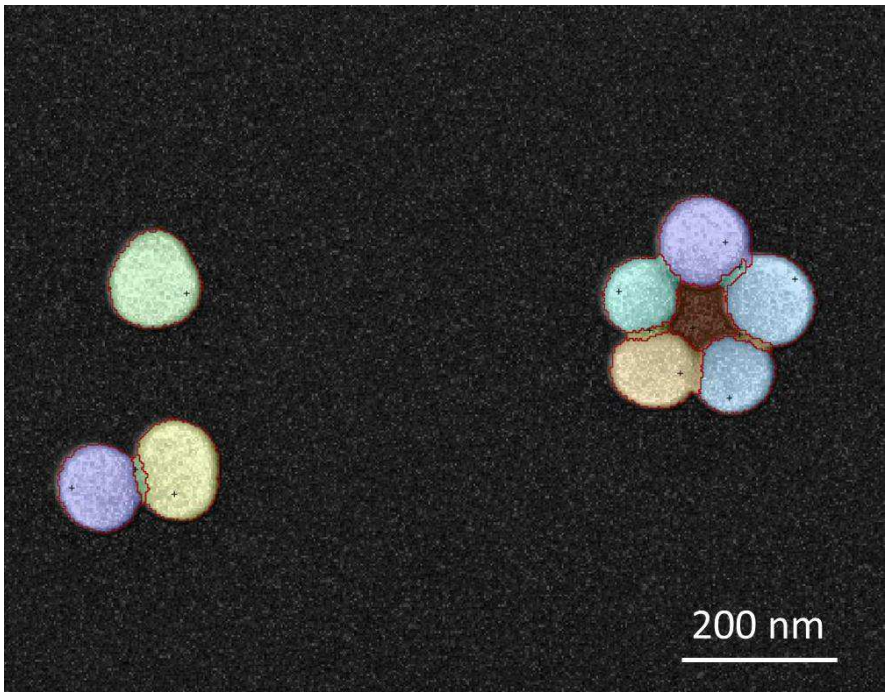


Figure 5-9 : Détection individuelle des nanoparticules agglomérées sur une image MEB convertie en luminance (MountainsMap©). On observera que le contour détecté pour les particules agglomérées ne correspond pas bien aux contours des particules.

1.3 Utilité du développement d'un programme semi-automatique spécifique

Dans les paragraphes précédents, les outils « manuels » et automatiques disponibles pour la détection et la mesure des nanoparticules imagées par AFM et MEB ont été décrits. Ils présentent leurs avantages et leurs inconvénients. Les méthodes manuelles comportent peu d'avantages, puisqu'elles sont sources d'erreurs et qu'elles demandent beaucoup de temps. Cependant, elles permettent d'exclure totalementles particules agglomérées des distributions. Les méthodes automatiques ont l'avantage d'être rapides, mais elles entrainent aussi des erreurs dues à l'incorporation dans les distributions des nanoparticules agglomérées. De plus, elles se comportent comme des « boîtes noires » qui ne permettent pas de comprendre le calcul effectué pour obtenir le résultat.

C'est pourquoi il a été décidé dans ces travaux de développer un programme dit semi-automatique pour la détection et la mesure des nanoparticules imagées par AFM et par MEB. Ce programme tire parti des avantages des techniques manuelles c'est-à-dire l'exclusion des éléments à ne pas compter dans la distribution (artefacts de mesures, agglomérats,…). Il tire également avantage des techniques automatiques c'est-à-dire la détection et la mesure automatique des éléments de l'image. Ce dernier point évite à l'utilisateur de perdre du temps, même si la technique semi-automatique développée prend plus de temps que les techniques automatiques classiques. Enfin, la détermination automatique de différents paramètres sur la particule évite les erreurs de mesures induites par l'utilisateur, erreurs que l'on retrouve lors de l'utilisation de techniques « manuelles ». Ce logiciel est appelé dans la suite du manuscrit « Nanoselect ». Ce logiciel intéresse les sociétés Digital Surf et Pollen Technology.

2 DEVELOPPEMENT D'UN PROGRAMME SEMI-AUTOMATIQUE SOUS MATLAB ©

2.1 Cahier des charges du processus semi-automatique à développer

Le cahier des charges pour le développement du logiciel semi-automatique est défini ci-dessous :

- Prise en charge différenciée des deux formats d'images AFM et MEB dès le chargement de l'image
- Repérage automatique des éléments de l'image
- Calcul du diamètre automatique et différencié selon le type d'image (AFM ou MEB) et en appliquant les méthodes de mesures décrites dans les paragraphes du Chapitre 1 - 3.2.1 et 3.2.2
- Calcul de la rugosité du substrat en excluant les particules par un système de masque dans le cas des images AFM
- Insertion automatique des paramètres disponibles grâce à Matlab (aire, périmètre,…)
- Sélection manuelle des éléments de l'image à compter dans la distribution en taille
- Distribution en taille automatique et différenciée selon le type d'image
- Ergonomie du logiciel développé

Nous présenterons par la suite le développement du logiciel effectué suivant les directives indiquées.

2.2 Pré-traitement des images AFM sous MountainsMap

Le programme proposé ici aurait pu être entièrement réalisé sous Matlab, mais certaines étapes sont correctement réalisées par des logiciels commerciaux et notre programmation n'aurait apporté aucune amélioration supplémentaire. Par conséquent, le logiciel MountainsMap a été utilisé pour les parties de traitements suivantes.

2.2.1 Etape de redressement de l'image

Les images de topographies AFM brutes présentent une inclinaison générale due à la dérive de l'instrument et au placement de l'échantillon dans l'instrument car la surface imagée n'est jamais complétement horizontale (Figure 5-10). Il est aisé de comprendre que pour être exploitables, ces images doivent donc être redressées, la détermination des hauteurs d'objets pouvant en être fortement impactée.L'image de phase et l'image d'amplitude (Figure 5-10, droite et centre respectivement) sont également disponibles. L'image de phase permet parfois de visualiser correctement des éléments moins visibles sur l'image de topographie.

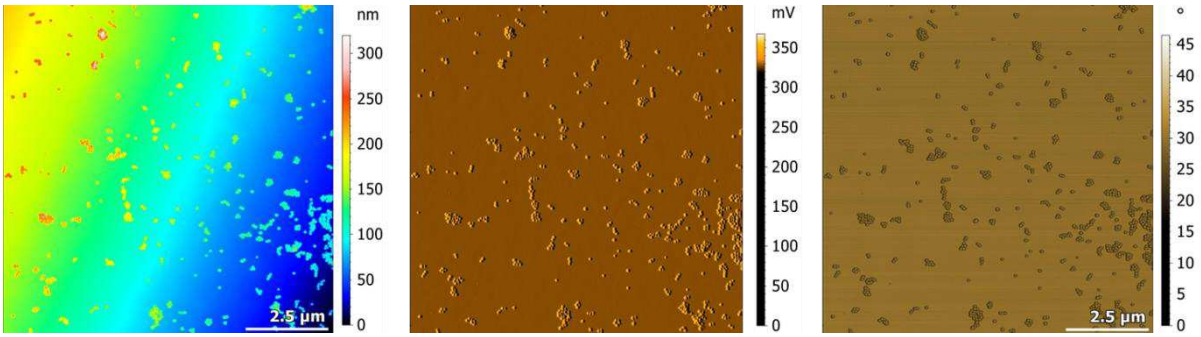


Figure 5-10 : Images AFM brutes. A gauche une image de topographie, la même image en amplitude et l'image de phase.

Pour réaliser ce redressement, la fonction utilisée est la fonction « redressement ligne à ligne » qui permet de déduire et de soustraire l'inclinaison générale de l'image en ne tenant pas compte des structures locales au-dessus et au-dessous du plan principal. LaFigure 5-11 témoigne de l'intérêt d'utiliser une fonction de redressement qui permet l'exclusion automatique des structures. En effet, l'image du haut, ayant été redressée sans exclure les structures, présente des lignes de niveau. De plus, dans notre cas, seul des plans seront soustraits des images de façon à ne pas introduire de biais sur la mesure lors de cette étape.

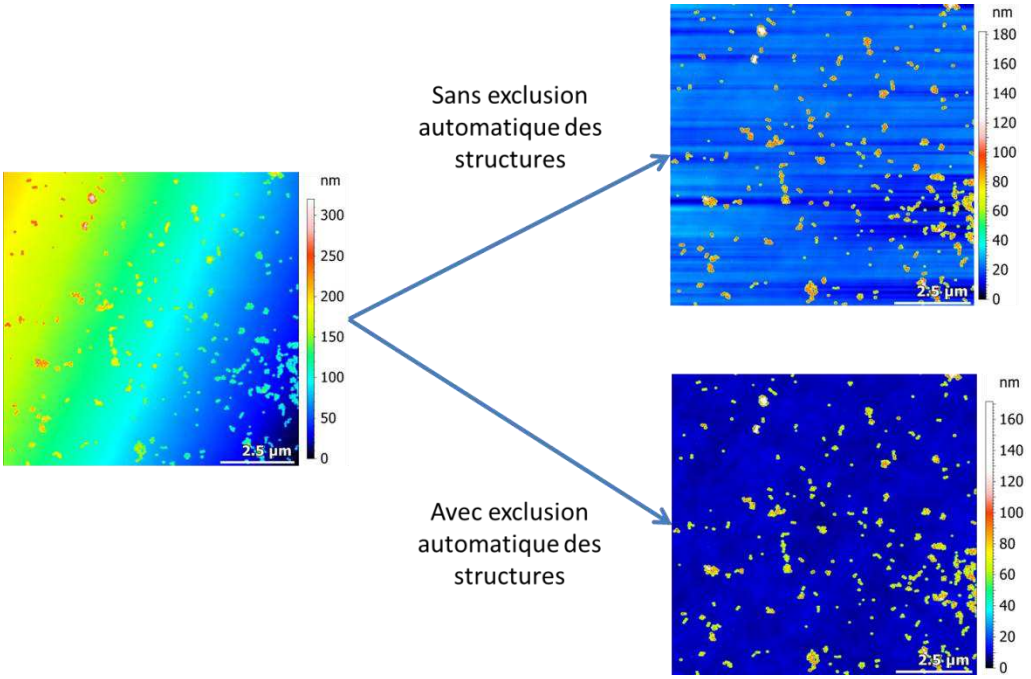


Figure 5-11 : Images topographiques issues de l'AFM. A gauche, l'image brute, à droite, les images redressées. En haut à droite, le redressement a été effectué ligne à ligne, sans exclusion automatique des structures. En bas à droite, le redressement a été effectué ligne à ligne avec exclusion automatique des structures (MountainsMap).

2.2.2 Etape de création de l'image binaire

Un moyen simple d'isoler et d'identifier tous les nano-objets présents sur une image est de partir d'une image binaire comme nous allons le voir dans les parties suivantes. Cette opération de binarisation est

donc également effectuée sous MountainsMap ®. Elle permet de créer une image après définition d'un seuil : tous les éléments au-dessus du seuil sont représentés par le nombre 1, tous les éléments en dessous du seuil sont représentés par le nombre 0 (voir Figure 5-12). Le placement de ce seuil est essentiel pour les raisons indiquées en paragraphe1.1.2 de ce chapitre. Dans le cas où le seuil est placé de manière judicieuse, toutes les structures de l'image qui sont à 1 représentent les nano-objets à mesurer, celles à 0 représentent le substrat.

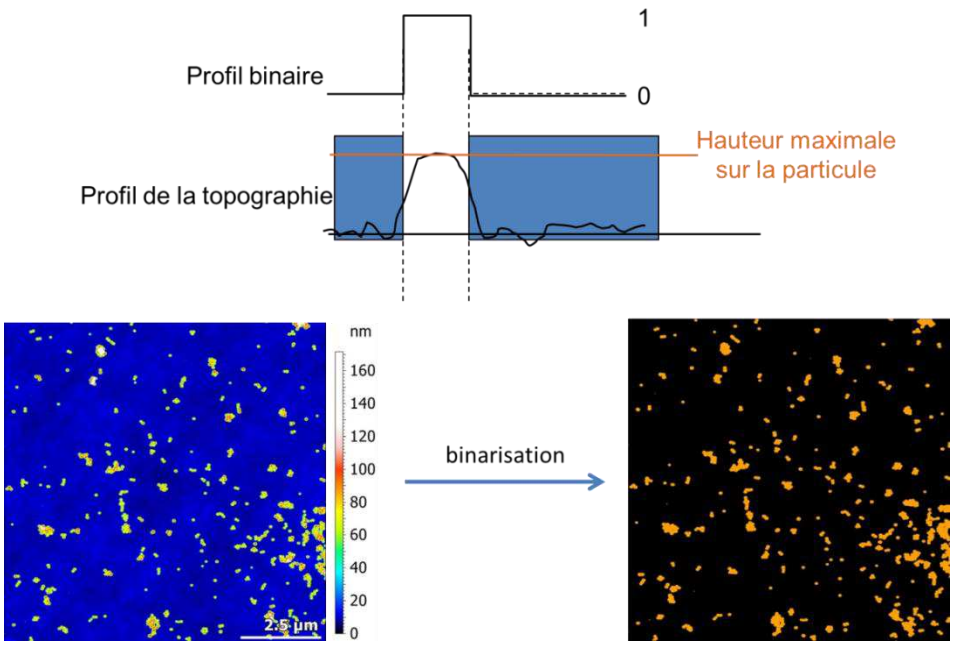


Figure 5-12 : Représentation schématique de la binarisation d'un profil d'une image topographique (haut). Binarisation d'une image topographique de nanoparticules imagée par AFM.

A l'issue de ces deux étapes, trois images (image redressée, image binaire noté *imBW*, image de phase) sont enregistrées en format .txt de façon à pouvoir les charger facilement par la suite dans le programme Matlab développé.

2.3 Description de l'algorithme

2.3.1 Pour les images AFM

Comme indiqué dans le Chapitre 1 – paragraphe 3.2.1 qui explique le principe de mesure d'une nanoparticule sphérique par AFM, nous proposons de mesurer la taille de la particule en soustrayant le plan moyen de rugosité à la hauteur maximale de notre nanoparticule isolée. Tout d'abord, de manière à déterminer ce plan moyen de rugosité qui nous sert de référence pour le calcul, plusieurs étapes sont nécessaires. Ce processus est aussi déterminant pour l'établissement du bilan d'incertitude car il permettra aussi d'évaluer la rugosité qui, pour rappel, est une source importante d'erreur (Chapitre 3). Les étapes sont détaillées :

- Identification et repérage des nano-objets de l'image : le logiciel de programmation Matlab contient un programme, *bwlabel*, qui permet de détecter, séparer, et numéroter les éléments

d'une image binaire. Ainsi, cette fonction est appliquée sur l'image binaire *imBW* enregistrée en .txt à partir du logiciel MountainsMap.

- Elaboration d'un masque : ce masque servira à exclure les nanoparticules de l'image topographique redressée préalablement, afin de déterminer le plan de rugosité moyen et d'estimer la rugosité du substrat. Nous effectuons d'abord une dilatation de l'image binaire *imBW* de façon à créer l'image binaire *imBW2*. Ce traitement permet d'être certain de bien séparer les points appartenant au substrat et les points appartenant aux nanoparticules, quitte à perdre un peu d'information au niveau du substrat. Cela n'aura bien sûr aucune conséquence sur la détermination du plan de rugosité moyen et de la rugosité. Ainsi, l'image binaire *imBW2* sert de masque. La Figure 5-13 (haut) représente cette première étape du processus.

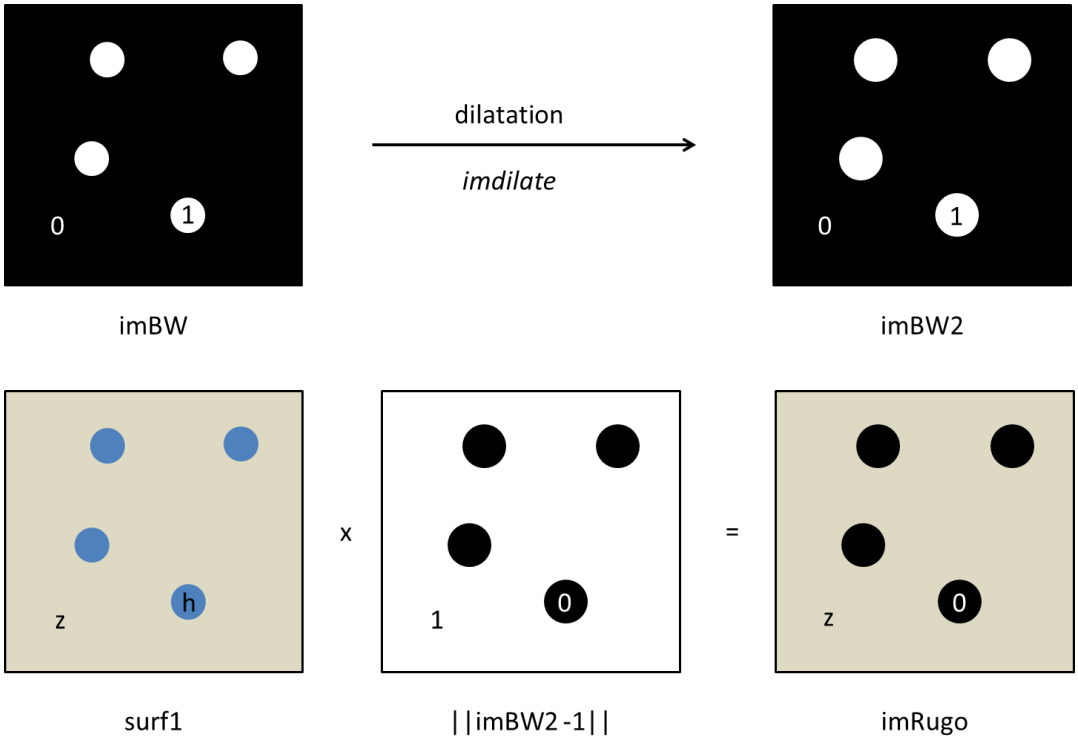


Figure 5-13 : Représentation schématique des calculs permettant d'obtenir une image de la rugosité en excluant les points correspondant aux nanoparticules représentés par des 0.

- Extraction des nano-objets de l'image en topographie :l'image topographique redressée est notée surf1 sur la Figure 5-13. Le produit élément par élément des matrices *surf1* et ||*imBW2*-1|| permet d'exclure de l'image redressée tous les nano-objets qu'elle contient. En effet, l'inversion ||*imBW2*-1|| assigne des 0 à toutes les nanoparticules tandis que des 1 sont assignés aux points représentant le substrat.
- Calcul du plan de référence et de la rugosité du substrat : le substrat ne contenant plus les nanoparticules est noté *imRugo*. La moyenne des points de l'image présentant uniquement la rugosité *imRugo* est alors calculée ainsi que l'écart-type qui représente la rugosité R_q du substrat. La moyenne est alors soustraite à l'image topographie *surf1* de façon à positionner le plan de rugosité moyen à zéro dans l'image appelée alors *surf2*.

- Calcul de la hauteur des nanoparticules :*surf2*correspond à l'image topographique de départ mais dont le plan de rugosité moyen est le plan de référence. Tous les points de ce plan sont égaux à zéros ± la rugosité R_q. Pour obtenir la hauteur de chaque particule, un masque est de nouveau utilisé. Cette fois c'est l'image binaire *imBW* qui est utilisée directement. Une représentation schématique des calculs effectués pour obtenir uniquement une image conservant les particules*imNP* est présentée en Figure 5-14. Les coordonnées des éléments de l'image contenant uniquement les nanoparticules *imNP*, connues grâce à la fonction de Matlab *regionprops*permettent de repérer et visualiser ces éléments un à un dans leur « *BoundingBox* » qui correspond au rectangle le plus petit qui entoure la particule. C'est dans cette « *Bounding Box* » encadrant les éléments de l'image *imNP* que l'on recherche le point maximum de la particule qui sera alors égal à la hauteur de la particule.

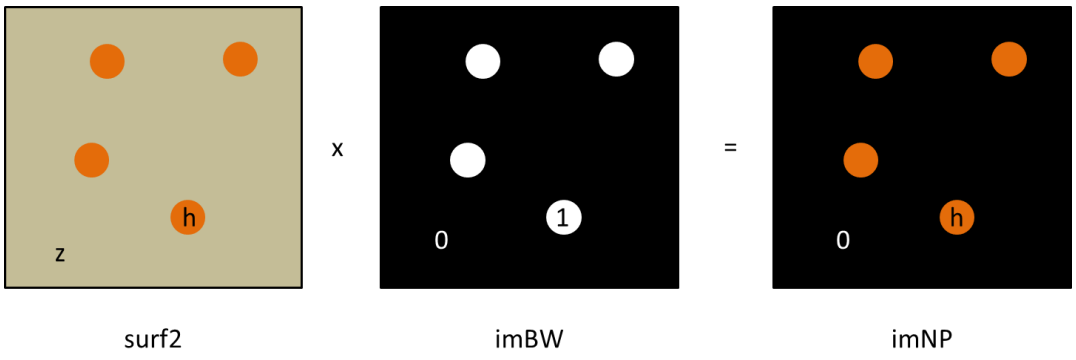


Figure 5-14 : Représentation schématique des calculs permettant d'obtenir une image présentant uniquement des nanoparticules. Les points ne correspondant pas aux particules sont représentés par des 0.

La Figure 5-15 présente les interfaces créées pour le chargement (haut) et la sélection des particules (bas) dans le logiciel Nanoselect. La première interface (haut) appelée *InterfaceInitiale*permet de sélectionner (*pushbutton* « *Load* ») l'image choisie (AFM ou MEB). Si c'est une image AFM, l'image redressée *surf1*est visualisée ainsi que l'image en phase et l'image binaire correspondantes. Le bouton « *Next* » permet d'afficher l'interface du bas présentée en Figure 5-15. Celle-ci permet de visualiser un par un les éléments de l'image en topographie (3 images avec différents niveaux de zoom à gauche de l'interface) eten phase (3 images avec différents niveaux de zoom au centre de l'interface). Trois niveaux de zoom permettent à l'utilisateur de voir la particule (images du bas de l'interface, zoom important), de voir la particule et son environnement (zoom intermédiaire, images du centre de l'interface), et de situer la particule visualisée plus bas sur les images grâce à un rectangle blanc (images en haut de l'interface). L'histogramme en cours de construction est visualisé en haut à droite de l'interface. Un menu déroulant permet de sélectionner le paramètre de l'histogramme à montrer à l'utilisateur (hauteur, diamètre…). Un menu informatif situé au-dessous de l'histogramme permet de savoir le nombre d'éléments de l'image, le nombre d'éléments sélectionnés et le nombre d'éléments restants à visualiser. Dans ce menu, nous trouvons également une « *slide bar* » permettant de contrôler le niveau de zoom des images centrales montrant la particule dans son environnement. Enfin, des « *pushbutton* » permettent de sélectionner (Yes) ou non (No) les particules dans la distribution. Un bouton permet également de revenir en arrière. Des boutons permettent de sélectionner toutes les particules restant à analyser ou non. Enfin, un bouton permet de sauver les données recueillies.

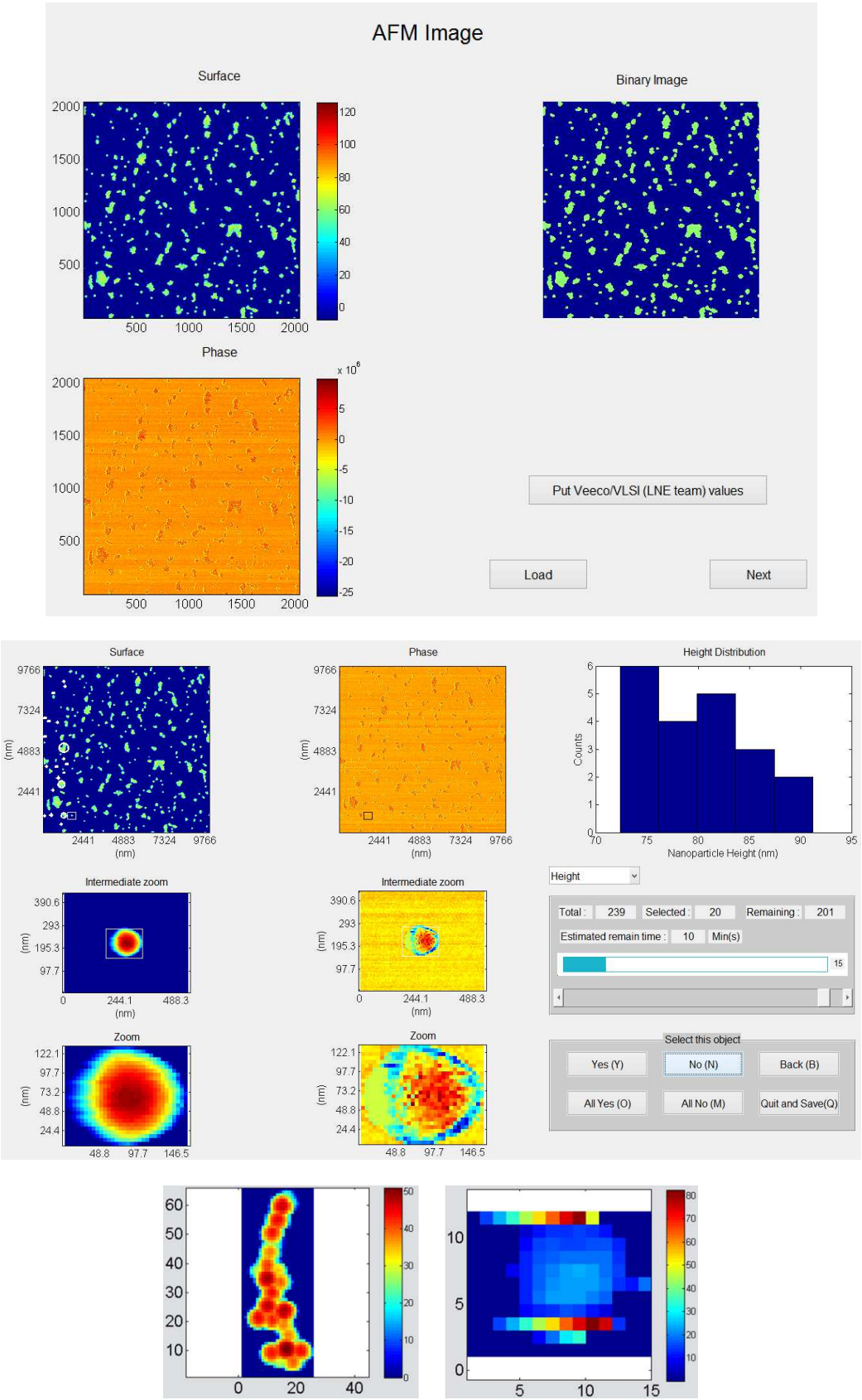


Figure 5-15 : Interfaces du programme Nanoselect : pour le chargement des images pour une image AFM (haut), et pour la sélection des particules une à une (centre), et exemple d'éléments à éliminer de la distribution en taille (bas).

2.3.2 Pour les images MEB

De la même façon que pour les images AFM, une image binaire est nécessaire pour repérer, séparer et compter les éléments de l'image. Cette image binaire est directement créée par seuillage dans le logiciel Matlab développé. Comme expliqué dans le paragraphe 1.2.2, Figure 5-8, la mesure de l'aire de la nanoparticule, directement disponible grâce à la fonction *regionprops* est fortement dépendante du placement du seuil ; ces dernières mesures ne seront donc pas sélectionnées pour la mesure de diamètre de nanoparticules.

Il est donc nécessaire de trouver une façon de détecter les contours de la nanoparticule. La méthode utilisée dans ces travaux est une méthode appelée « *activecontour* »[100,101], méthode des contours actifs ou encore « snakes ».

Les contours actifs sont apparus à la fin des années 1980 à travers les travaux de Kass, Witkin et Terzopoulos[100]. Un contour actif est un ensemble de points placés dans l'image et que l'on va rapprocher autour des éléments de l'image. Ces points vont se déplacer en étant attirés par les zones où l'on trouve des forts gradients, dans notre cas les bords des nanoparticules.

L'évolution des points se fait par itérations et évolue en décrivant plusieurs équations : la courbe se déplace petit à petit et épouse lentement les contours des objets en fonction de divers paramètres choisis comme l'élasticité ou la tolérance au bruit. La courbe est soumise à des forces qui la déforment et la déplacent dans l'image. Cette dynamique est décrite par une énergie totale qui correspond à la somme d'une énergie interne et d'une énergie externe. L'énergie interne régularise le contour et l'énergie externe dépend des contraintes que l'on ajoute. La courbe finale sera obtenue lorsque l'énergie totale sera minimale.

Sous Matlab, la fonction *activecontour*est disponible depuis la version 2013a. Elle permet de détecter le contour de l'objet et renvoie une image binaire. Elle est alors appliquée à chaque élément de l'image visualisé séparément. Lorsque le contour de la particule est déterminé, sa surface est mesurée grâce à la fonction *bwarea.* Cette méthode est très robuste et très stable. Elle parvient toujours à déterminer un contour fermé et le diamètre mesuré ne dépend pas de la valeur de seuil choisi lors de la binarisation initiale.

La Figure 5-16 présente les interfaces créées correspondantes au traitement d'image MEB lors de l'utilisation du logiciel Nanoselect. Comme pour le traitement AFM, la première interface (haut) appelée *InterfaceInitiale*permet de sélectionner (*pushbutton* « *Load* ») l'image choisie (AFM ou MEB). Si c'est une image MEB, elleest visualisée ainsi que l'image binaire correspondante. Au-dessous de l'image, l'histogramme en niveau de gris de celle-ci apparait. Une barre sert à sélectionner le seuil de niveau de gris pour effectuer la binarisation de l'image. Celle-ci est modifiée en temps réel. Le bouton « *Next* » lance le processus qui affiche l'interface du bas présentée enFigure 5-16. Les éléments de l'imagesont alors visualisés un par un avec trois différents niveaux de zoom à gauche de l'interface. Ces trois niveaux de zoom permettent à l'utilisateur de voir la particule (images du bas de l'interface, zoom important), de voir la particule et son environnement (zoom intermédiaire, images du centre de l'interface), et de situer la particule visualisée plus bas sur les images grâce à un rectangle blanc (image en haut de l'interface).Deux images au centre de l'interface permettent également de visualiser la particule, qui a subi un traitement d'image différent (Active contour, simple binarisation…). L'histogramme en cours de

construction est visualisé en haut à droite de l'interface. Un menu déroulant sert à sélectionner le paramètre de l'histogramme à montrer à l'utilisateur (hauteur, diamètre…). Un cadre situé au-dessous de l'histogramme informe l'utilisateur sur le nombre d'éléments de l'image, le nombre d'éléments sélectionnés et le nombre d'éléments restants à visualiser. Dans ce menu, nous trouvons également une « *slide bar* » pour contrôler le niveau de zoom intermédiaire. Enfin, comme pour le traitement AFM, des « *pushbutton* » permettent de sélectionner par (Yes) ou non (No) les particules dans la distribution. Un retour en arrière est également possible avec le bouton « Back ». Des boutons permettent de sélectionner toutes les particules restant à analyser ou non. Enfin, la sauvegarde des données s'effectue grâce au bouton « Quit and save ».

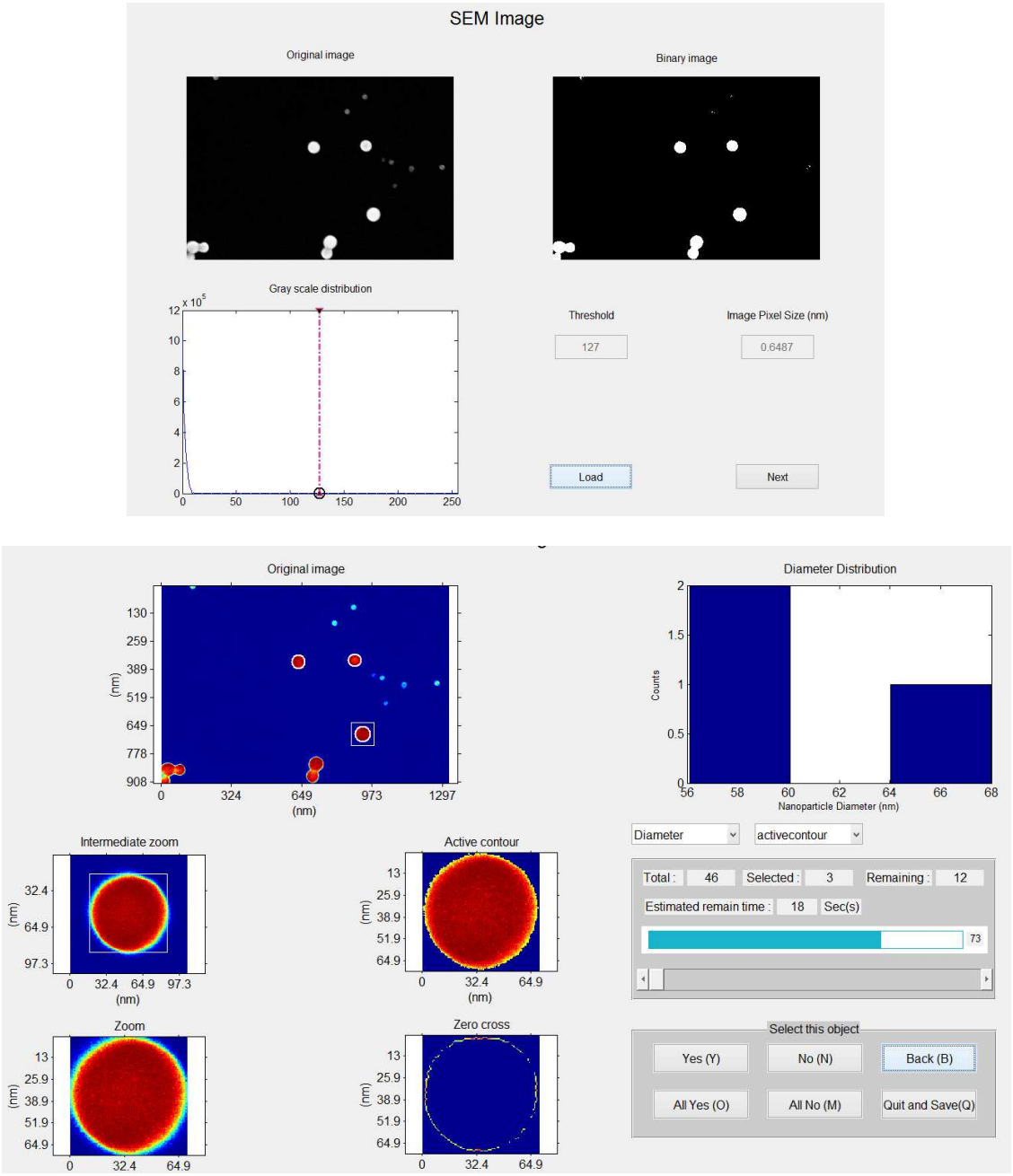


Figure 5-16 : Interfaces du programme Nanoselect : pour le chargement et la binarisationdes images pour une image MEB (contrsate topographique, détecteur In-Lens, haut), et pour la sélection des particules une à une.

2.3.3 Nanoselect : un programme adapté aux deux techniques de mesure

En concordance avec le cahier des charges imposé, le programme est partitionné en quelques étapes principales :

- **Chargement du fichier image :** Dans cette étape, le programme nous permet de sélectionner le fichier image et de le charger pour les étapes suivantes.
- **Test sur le type d'image :** Le programme teste le type d'image sélectionné (AFM ou MEB) de façon à lancer de manière différenciée le processus utilisé par la suite.
- **Binarisation de l'image MEB par seuillage :** Cette étape ne concerne que les images de type MEB. En effet, comme indiqué dans le paragraphe 2.2, les images AFM sont chargées de façon groupées avec une image topographique redressée, une image de phase et une image binaire. Les images binaires sont utilisées pour la séparation des éléments de l'image.
- **Détection et numérotation des particules :** lors de cette étape la fonction bwlabel est utilisée. Tous les éléments de l'image sont pris en compte.
- **Calcul des propriétés des particules :** La fonction *regionprops*est utilisée pour déterminer certaines propriétés des particules (celles qui sont accessibles à partir de l'image binaire), notamment leurs coordonnées. La hauteur des particules pour l'image AFM est calculée comme indiqué dans le paragraphe 2.3.1. Le diamètre équivalent des particules mesurées par MEB, est obtenu via la détermination de l'aire de la particule comme indiqué plus explicitement dans le paragraphe 2.3.2.
- **Sélection des particules :** Les particules sont visualisées une par une sur l'écran via une interface homme-machine. L'interface développée est ergonomique et présente de nombreuses fonctionnalités : elle permet tout d'abord de sélectionner les particules qui doivent être incluses dans la distribution finale. Les critères de non-sélection d'un élément de l'image sont l'agrégation des particules, la pollution, les défauts d'imagerie, ou les particules tronquées. L'interface permet également de visualiser les histogrammes de divers paramètres en cours de construction, de connaitre le nombre total d'éléments sur l'image, le nombre d'éléments restant à analyser (ainsi que le temps), et de retourner en arrière.
- **Enregistrement des données :** le programme permet d'enregistrer les paramètres de chaque particule sélectionnée dans un fichier de type .txt.

La Figure 5-17 présente le processus principal du programme développé :

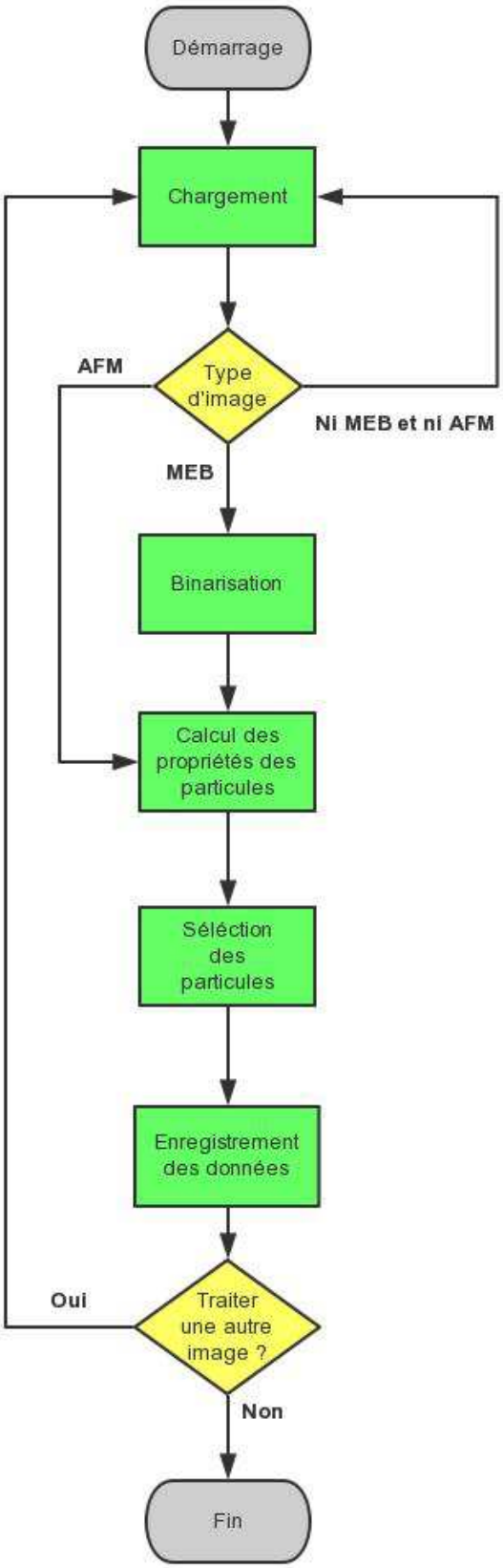


Figure 5-17 : Processus principal du programme Nanoselect.

3 VALIDATION DU PROGRAMME NANOSELECT ET COMPARAISON AVEC DES LOGICIELS EXISTANTS

Nous souhaitons tester le logiciel développé pour la mesure de taille de nanoparticules par MEB et AFM. Deux tests sont possibles :

- Tests avec des images simulées AFM et MEB
- Tests avec des images réelles.

Nous comparerons également dans cette partie les résultats de mesure de taille de nanoparticules obtenus avec les résultats obtenus avec les logiciels Gwyddion, SPIP et MountainsMap.

3.1 Tests avec une image AFM simulée

3.1.1 Dépôt sur une surface simulée sans rugosité

Nous générons une image topographique simulée aléatoirement sous Matlab sans rugosité, avec les propriétés suivantes :

- Image de 2500 x 2500 pixels
- Particules déposées : les hauteurs de ces particules suivent une distribution gaussienne dont les paramètres demandés sont les suivants : rayon moyen = 25 nm, écart-type du rayon = 3 nm.
- 1000 particules déposées. Ces particules ne sont pas en contact et ne touchent pas les bords.

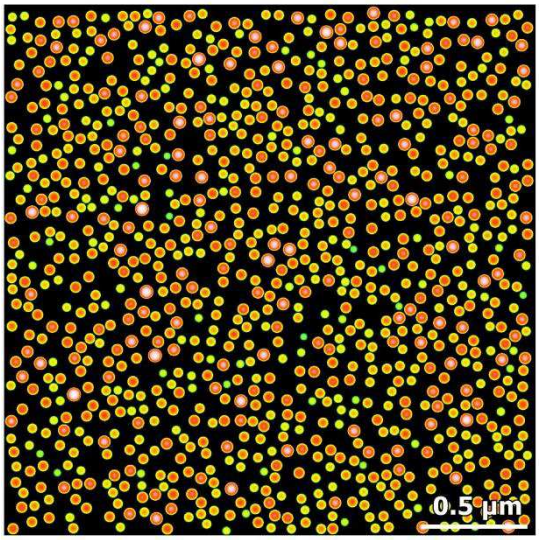


Figure 5-18 : Dépôt de nanoparticules simulé sur un plan sans rugosité.

Quatre logiciels (MountainsMap, SPIP, Gwyddion et Nanoselect) sont utilisés pour mesurer la hauteur des nanoparticules déposées par simulation sur un substrat non rugueux. Cette étape nous permettra de vérifier la robustesse de notre logiciel et de comparer celui-ci aux autres logiciels pour une image avec le moins de paramètres possibles pouvant influencer la mesure.

Le tableau ci-dessous reporte les moyennes et les écarts-types de la distribution simulée et traitée par les différents logiciels cités.

Tableau 15 : Diamètre moyen et écart type de la population de nanoparticules simulées et déposées sur un substrat non rugueux et traitées par différents traitements.

	Données simulées	MountainsMap©	Gwyddion	SPIP	Nanoselect
Nombre de particules	1000	1000	1000	1000	1000
Diamètre moyen (nm)	50,39	50,39	50,39	50,39	50,39
Ecart type (nm)	5,81	5,81	5,81	5,81	5,81
Traitement utilisé	-------	Détection de pics	Détection des grains par seuillage	Détection de particules par seuillage	Détection des éléments par seuillage

Les résultats correspondent aux données d'entrée et ne montrent aucune différence entre les traitements comme attendu. La robustesse de notre traitement est donc validée dans le cas d'une image où les particules ne sont pas agglomérées et déposées sur un substrat non rugueux.

3.1.2 Dépôt sur une surface simulée avec rugosité

Une distribution simulée similaire de nanoparticules est déposée sur une surface simulée avec de la rugosité. La rugosité RMS de cette surface est de 0.7 nm. La fréquence spatiale de cette rugosité est assez importante pour que les particules soient déposées dans les creux et sur les pics de la surface. La Figure 5-19 montre la surface rugueuse simulée ainsi que le dépôt de la population simulée sur celle-ci.

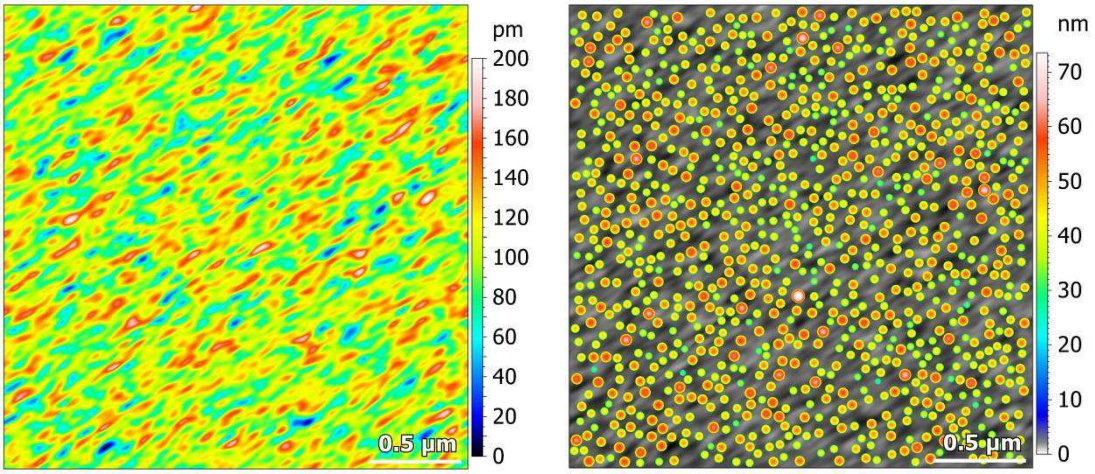


Figure 5-19 : Image simulée de la surface avec de la rugosité (2,5 µm x 2,5 µm – 2500 x 2500 pixel) (gauche) et image simulée du dépôt de particules sur cette surface simulée (droite).

De la même façon que dans le paragraphe précédent, nous souhaitons connaitre l'influence des différents traitements utilisés (MountainsMap, Gwyddion, SPIP et Nanoselect) sur la mesure du diamètre moyen et son écart-type, et effectuer la comparaison avec les données d'entrée qui correspondent au diamètre des particules simulées.

Tableau 16 :Diamètre moyen et écart type de la population de nanoparticules simulées et déposées sur un substrat rugueux (Sq= 0,77 nm) et traitée par différents logiciels.

	Données simulées	MountainsMap©	Gwyddion	SPIP	Nanoselect
Nombre de particules	1000	1000	1000	1000	1000
Diamètre moyen (nm)	50,07	50,06	50,17	50,17	50,17
Ecart type (nm)	5,98	6,03	6,03	6,03	6,03
Traitement utilisé	-------	Détection de pics	Détection des grains par seuillage	Détection de particules par seuillage	Détection des éléments par seuillage
Mesurande utilisé	-------	Valeur maximale Z	Z maximum	Z maximum	Z maximum

La hauteur moyenne de la population simulée obtenue après traitement est comprise entre 50,06 nm (MountainsMap) et 50,17 nm (Gwyddion, SPIP, et NanoSelect) pour une donnée d'entrée égale à 50,07 nm avec un écart-type égal à 6,03 nm pour tous les traitements, pour une donnée d'entrée égale à 5,98 nm en écart-type. La différence de moyenne entre la valeur obtenue grâce à MountainsMapest donc un décalage du mode, et non une différence dans la distribution obtenue. Cela est dû à la différence dans le mode de détection des grains : en effet, pour les trois autres traitements, dont Nanoselect, la détection est faite par seuillage, tandis que pour MountainsMap, la détection est effectuée par détection des pics après mise à niveau du plan de rugosité moyen, qui a une importance primordiale dans le calcul indiqué au paragraphe2.3.1.

3.2 Tests avec une image AFM réelle

Afin de valider le logiciel développé, et de montrer la performance de la méthode semi-automatique par rapport aux autres logiciels, une étude sur une image AFM réelle est réalisée. Le test des logiciels automatique et du logiciel semi-automatique s'effectue comme le ferait un utilisateur lambda, sans précaution particulière. Nous proposons également de montrer les résultats obtenus avec Nanoselect sans sélection manuelle de l'utilisateur (dans ce cas, l'utilisateur sélectionne tous les éléments présentés à l'image).

La population de nanoparticules déposée possède une distribution en taille très resserrée. L'image réelle utilisée est montrée en Figure 5-20 et les différents résultats des logiciels utilisés pour la traiter sont reportés dans le Tableau 17.

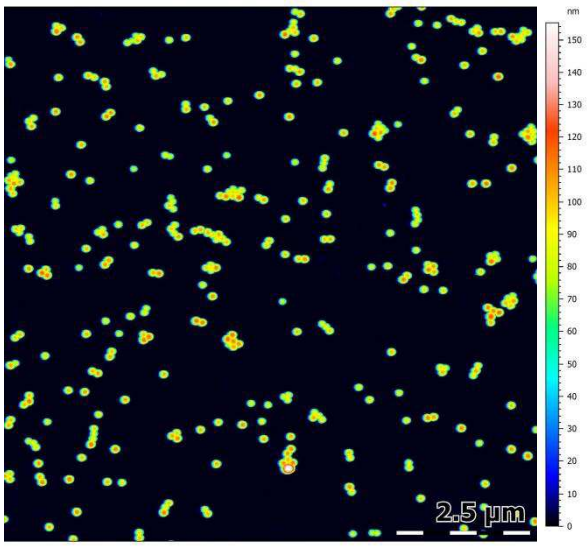


Figure 5-20 : Image AFM (topographie redressée) réelle utilisée pour montrer la performance de la méthode semi-automatique. La population de particules de SiO_2 déposée est monodisperse.

Tableau 17 : Diamètre moyen et écart type de la population monodisperse de nanoparticules de SiO_2traitée par différents logiciels.

	MountainsMap	SPIP	Gwyddion	Nanoselect « All yes »	NanoSelect Particules selectionnées
Nombre de particules	554	437	194	177	96
Diamètre minimum de la population (nm)	5,8	7,8	24,3	83,1	81,0
Diamètre maximum de la population (nm)	120,7	154,2	153,8	153,8	118,2
Mode (nm)	75,5	101,2	105,9	105,9	102,3
Ecart type (nm)	10,4	13,2	10,9	10,9	12,2
Détection utilisée	Détection des formes	Watershed « Dispersed »	Détection par seuillage	Détection par seuillage	Détection par seuillage + sélection manuelle des particules
Mesurande utilisé	« Hauteur »	Z max	Z max	Z max	Z max

Une très grande disparité des résultats est observée. Cela provient du fait que pour les techniques automatiques, les éléments agglomérés, qui sont sources d'incertitude sur la mesure, sont comptabilisés dans la distribution. Aussi des différences dans les méthodes de détections et de calculs utilisés insèrent des écarts de mesures. De ce fait, les valeurs minimales et maximales obtenues par les logiciels semi-automatiques sont très éloignées l'une de l'autre (jusqu'à 146,4 nm pour SPIP).

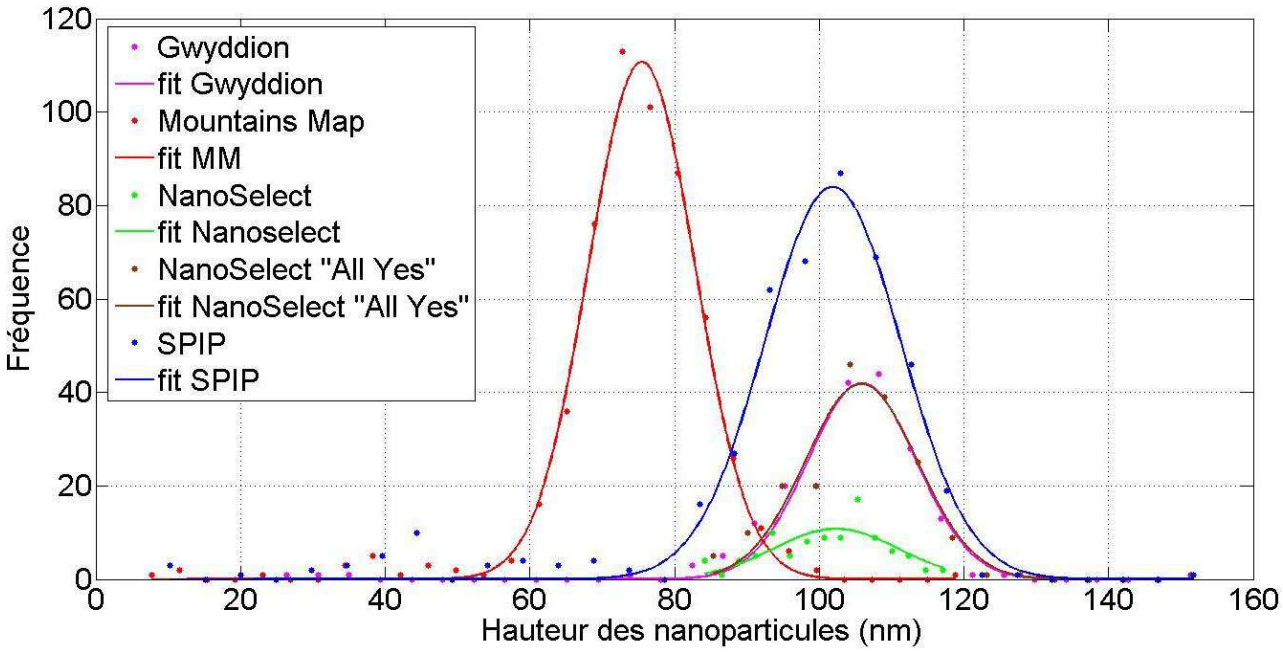


Figure 5-21 : Distributions en taille de la même image d'une population monodisperse de nanoparticules de SiO_2obtenues par différents logiciels.

Sur les distributions en taille issues de chaque logiciel représentées Figure 5-21, nous observons bien que l'étendue des mesures est nettement réduite pour la technique semi-automatique. Les mesures de très faibles valeurs sont des artefacts dus à différents phénomènes tels que le bruit de l'instrument, des impuretés de très petites tailles présentes sur le substrat ainsi que des défauts de détection lors de l'utilisation des logiciels automatiques. Les mesures de grande valeur sont dues à des agglomérats de particules en 2 dimensions (particules qui ne touchent pas le substrat) ou en 3 dimensions (particules sur d'autres particules). Le logiciel NanoSelect, par sélection manuelle des particules, permet bien d'éliminer tous ces artefacts.

De plus, nous observons un décalage, vers le bas (mode observé à 75,5 nm), du mode principal obtenu grâce au logiciel Mountain'sMap. En effet, comme vu pour l'image simulée, pour obtenir les valeurs maximales en Z avec référence le plan de rugosité moyen, il est nécessaire au préalable d'appliquer une fonction qui permet la mise à niveau du plan de rugosité. De plus, nous rappelons qu'ici nous montrons les résultats obtenus pour un utilisateur non averti : le mesurande « hauteur » étant disponible, ce manipulateur le sélectionnerait pour effectuer sa distribution en taille. Ce décalage n'est pas observé si une étape de remise à niveau est effectuée, et en choisissant de sélectionner le mesurande « Z maximum ». Cependant, l'étendue des mesures reste la même puisque cette étape ne permet pas d'éliminer les particules présentes dans les agrégats 2D ou 3D, ni les artefacts de mesure tels que le bruit ou les sauts d'asservissement. De plus, la méthode de détection de motifs (peu paramétrable), qui utilise

la segmentation par partage des eaux, introduit également des artefacts : des motifs supplémentairesapparaissent entre les particules agglomérées : ceux-ci correspondent aux creux entre les particules, et sont donc forcément de hauteur plus faible.

Avec le logiciel SPIP, le mode est détecté à 101,2 nm. Nous observons également une grande étendue de mesure. Ceci est, comme pour MountainsMap dû notamment au bruit, aux défauts de l'image et aux particules agglomérées. De la même façon que pour MountainsMap, les creux entre les particules sont détectés en tant que motifs lorsque la fonction Watershed (segmentation par partage des eaux) est utilisée. Dans ce logiciel, cette fonction est paramétrable : ceci implique encore plus de difficultés pour l'utilisateur lambda, qui peine à choisir ces paramètres (six paramètres en tout).

Avec le logiciel Gwyddion, nous observons que le mode principal déterminé est plus grand que celui obtenu grâce à NanoSelect. La fonction de détection par « Watershed » est disponible, mais les paramètres sont également nombreux, plusieurs tentatives sont souvent nécessaires pour obtenir un résultat correct, et les calculs liés à celles-ci sont très longs. Nous choisissons donc de détecter les particules par seuillage, même si cette méthode ne permet pas de discriminer les particules à l'intérieur des agglomérats. Nous observons que nous obtenons exactement les mêmes résultats qu'avec NanoSelect (modes à 105,9 nm, écart-types à 10,9 nm), qui utilise également une détection des particules par seuillage, lorsque nous choisissons d'inclure manuellement tous les éléments de l'image dans la distribution. Cependant, nous pouvons voir qu'avec NanoSelect, par seuillage, nous éliminons d'office les petites impuretés présentes à l'image : il n'y a pas de « petites » particules contrairement à Gwyddion. De plus, nous observons que des valeurs importantes (jusqu'à 153 nm) avec Gwyddion et NanoSelect « All yes » également. La sélection manuelle permet d'éliminer tous ces défauts, nous permettant ainsi d'obtenir une valeur fiable.

En comparaison, MountainsMap donne un mode décalé à 75,5 nm avec un écart type de 10,4 nm, alors que les autres logiciels donnent un mode compris entre 101,2 nm (SPIP) et 105,9 nm (Gwyddion et NanoSelect « All yes »). Les écart-types sont compris entre 10,4 nm (MountainsMap) et 13,2 nm (SPIP).

Nous pouvons nous étonner que l'écart-type de NanoSelect, lorsque les particules sont sélectionnées manuellement, est supérieur à celui obtenu quand tous les éléments de l'image sont sélectionnés. Ceci est dû à un effet de statistique : lorsque nous sélectionnons les particules manuellement, beaucoup moins de particules sont sélectionnées (96 particules seulement pour une image), l'écart-type est donc plus grand. De façon à comparer les résultats obtenus pour une statistique équivalente, trois images de la même population sont analysées. Nous obtenons un mode égal à 103,5 nm, et un écart-type réduit à 7,5 nm pour une population de 246 nanoparticules. Cela montre bien l'intérêt du logiciel NanoSelect, qui permet alors de réduire l'écart-type de mesure.

3.3 Test avec une image MEB simulée

De la même façon que pour les images AFM, un test de robustesse sur une image simulée est nécessaire pour connaître la fiabilité des résultats obtenus pour les images MEB.

3.3.1 Simulation du dépôt de particules imagées par MEB

Lorsque qu'une nanoparticule est imagée par MEB deux comportements « types » peuvent être observés. Les profils extraits peuvent être de type gaussien ou de type gaussien sur les bords de la nanoparticule avec un creux sur le centre.

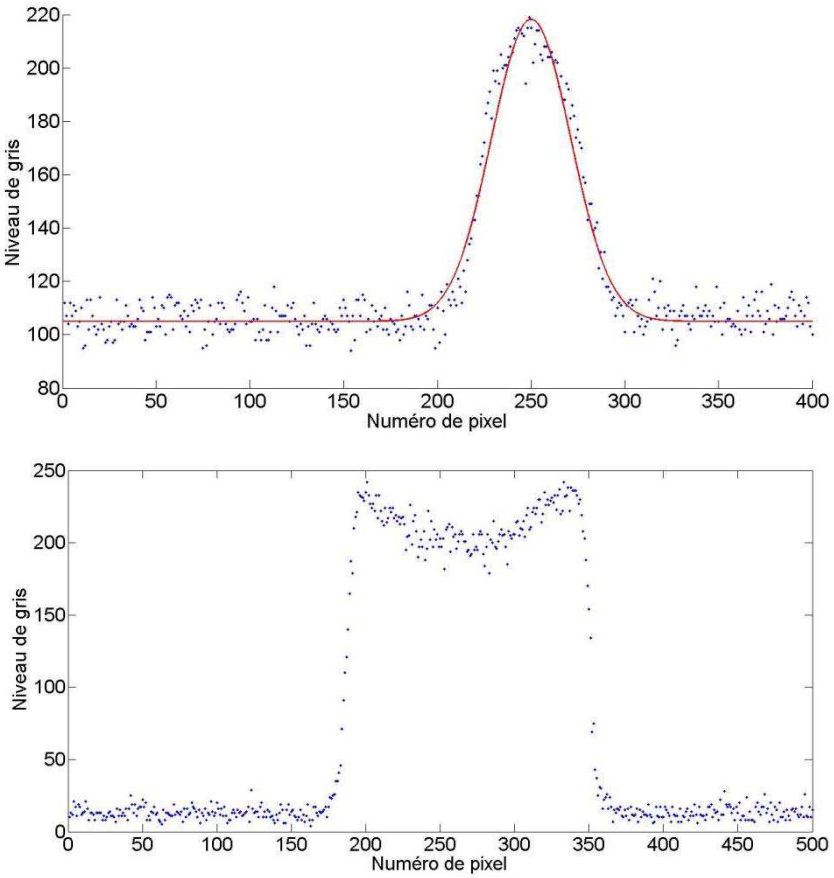


Figure 5-22 : Profil expérimental (point) d'une nanoparticule imagée par MEB (détecteur SE2) et fit gaussien associé (haut) et profil expérimental « creusé » d'une nanoparticule imagée par MEB (détecteur In-Lens) (bas).

Il est à noter que le premier comportement se rencontre plus régulièrement sur des images acquises avec le détecteur SE2, tandis que le deuxième comportement, que l'on appellera « gaussienne creusée » se retrouve plutôt sur les images acquises avec le détecteur InLens.

Par manque de modèle simulant l'interaction électron-matière, l'image modèle utilisée pour tester le logiciel Nanoselect sera simulée de la façon suivante : le dépôt de nanoparticules consistera à additionner des gaussiennes de diamètre aléatoire sur un substrat plan. La modélisation utilisée n'est clairement pas parfaitement représentative d'une image réelle mais représente la forme globale d'une nanoparticule imagée par MEB. Des besoins concernant la modélisation de l'interaction faisceau d'électrons-particules sont de nouveau mis en évidence.

3.3.2 Résultats

L'image simulant le dépôt des nanoparticules est représentée en Figure 5-23. Neuf particules sont déposées.

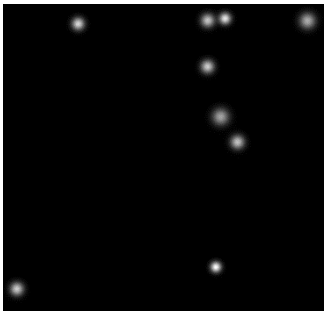


Figure 5-23 : Simulation de nanoparticules sphériques imagées par MEB. La largeur et la longueur de l'image simulée est fixée à 2 µm avec une taille de pixel égale à 1 nm.

Les diamètres des particules simulées et les valeurs obtenues après traitement sont reportés ci-après.

Tableau 18 : diamètre des particules simulées (MEB) et diamètre des mêmes particules ayant subi le traitement NanoSelect

Numéro de la particule	Diamètre de la particule simulée (mi-hauteur, nm)	Diamètre de la particule traitée (nm)	Différence entre la simulation et le traitement (nm)
1	48,13	48,17	-0,04
2	52,60	52,58	0,02
3	56,71	54,96	1,75
4	60,24	57,61	2,63
5	60,36	58,00	2,36
6	61,27	58,27	3,00
7	62,80	59,10	3,70

Nous pouvons constater que la différence entre le diamètre simulé des particules et le diamètre obtenu après traitement se situe entre -0,04 nm et 3,70 nm. Cet écart a tendance à augmenter avec la taille des nanoparticules. L'écart le plus important, égal à 3,70 nm, représente 5,8 % de la taille simulée.

Cependant, cette différence peut être expliquée par le fait qu'il a été très difficile de placer le seuil de binarisation de l'image. En effet, comme montré en Figure 5-24, sur une image réelle, le seuil est placé après le pic qui correspond aux pixels imageant le substrat sur la distribution en niveau de gris (trait rose sur la distribution de gauche). Sur l'image simulée (distribution de droite), ce pic est un Dirac placé à 0 GL (gray level). Le placement du seuil est donc extrêmement sensible dans ce cas, car tous les pixels ayant une valeur supérieure à ce pic de Dirac appartiennent aux nanoparticules.

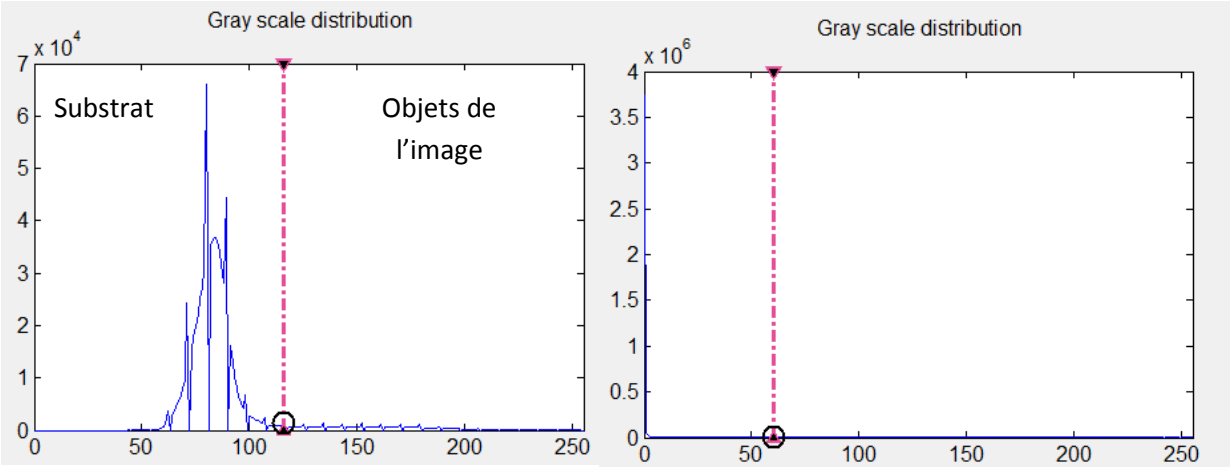


Figure 5-24 : Distribution en niveau de gris d'une image MEB réelle (gauche) et de l'image simulée droite. Le trait rose en pointillé représente le seuil qui permet la génération de l'image binaire (voir paragraphe 2.3.2)

Or, comme expliqué précédemment (paragraphe 2.3.2) le placement du seuil est une étape essentielle pour la suite du traitement de l'image. Il peut donc être à l'origine des écarts observés pour les particules les plus importantes. Cependant, dans le cas réel (avec bruit), ce problème devrait être moins important car la limite entre la zone des pixels correspondant au substrat et celle qui définit les nanoparticules sur la distribution en niveau de gris est plus marquée.

[99] T. Klein, E. Burh, K-P. Johnsen, C. G. Frase, « *Traceable mesurement of nanoparticles size using a scanning electron microscope in transmission mode (TSEM)* », Meas. Sci. Technol. 22, 2011, 094002.

[100] Michael Kass, Andrew Witlin, Demetri Terzopoulos, « *Snakes : active contour model* », International Journal of Computer Vision, 321-331, 1998

[101] Xavier Bresson, Selim, Esedoglu, Pierre Vandergheynst, Jean Philippe Thiran, Stanley Osher, « *Fast Global Minimization of the Active Contour /Snake Model* », Journal of Mathematical Imaging and Vision, 2005

CHAPITRE 6

COMPARAISON DE MESURES AFM ET MEB DE TAILLE DE NANOPARTICULES SPHERIQUES

Dans ce chapitre, nous expliquerons l'intérêt du développement d'un substrat marqué pour la comparaison de mesure de taille de nanoparticules imagées par AFM et par MEB. De plus, des comparaisons entre les mesures AFM et MEB de taille de nanoparticules sphériques d'or et de silice seront effectuées.

1 VERS UNE METROLOGIE DIMENSIONNELLE HYBRIDE POUR LES NANOPARTICULES

Comme nous l'avons vu précédemment, les mesures effectuées par AFM et par MEB sont complémentaires. En effet, le MEB ne donne aucune information quantitative sur la hauteur des nano-objets alors que l'incertitude associée à la mesure AFM suivant l'axe vertical est sub-nanométrique. A l'inverse, les dimensions latérales de l'objet caractérisé par AFM sont entachées d'une incertitude trop importante due à la convolution pointe-surface alors que les MEB modernes peuvent atteindre des résolutions proches de 1 nm dans le plan XY. Par conséquent, nous proposons le développement d'une métrologie dite *hybride* qui rend possible la mesure des dimensions caractéristiques d'un nano-objet dans les trois dimensions de l'espace, en combinant les mesures issues des deux techniques.

Ce concept de *métrologie hybride* a récemment été défini dans le domaine du semi-conducteur. En effet, les défis que représentent les contraintes imposées par la loi de Moore avec une réduction continue des transistors pour gagner en puissance sont immenses en termes de métrologie. La sortie du tout silicium et l'émergence d'architectures 3D pour micro-processeurs de prochaines générations va entraîner une véritable révolution dans les techniques de mesure liées au développement des nouvelles technologies. La métrologie dimensionnelle qui était la clef de voute de toute la métrologie des micro-dispositifs silicium ne suffit plus aujourd'hui. Les technologues ont besoin de mesures fiables apportant des informations sur les propriétés chimiques, structurelles, ou électriques des nano-dispositifs à l'échelle locale. Dans de nombreux cas, l'instrumentation n'existe pas encore et sur le plan méthodologies, de nouveaux paradigmes vont émerger.

L'ITRS (International TechnologyRoadmap for Semi-conductor, édition 2013, feuille de route exigeante du monde du semi-conducteur introduit la notion de métrologie hybride dans le cadre des défis imposés par les futurs nœuds technologiques (Critical Dimension <12 nm, dimension correspond à la taille du petit objet capable d'être lithographié).

Le concept de métrologie hybride défini notamment par Johann Foucher[102] et par des chercheurs du NIST[103,104] (INM américain) part du principe qu'une seule technique ne pourra pas répondre à elle seule

aux besoins métrologiques nécessaires pour le développement des nœuds inférieurs à 22 nm[105]. Ce nouveau modèle métrologique démontre que la connaissance des points forts de chaque technique de mesure, combinée avec des outils statistiques et des données d'entrée (information sur la chimie, la structure cristallographique,…) permet, après fusion des données, d'atteindre des incertitudes inférieures aux meilleures incertitudes de mesure obtenues avec chaque appareil.

Dans ce travail de thèse, nous avons adapté cette démarche en combinant les mesures AFM et MEB pour une meilleure caractérisation dimensionnelle des caractéristiques morphologiques des nanoparticules. Cependant, l'étude de faisabilité de cette méthode imposait les trois démarches suivantes :

- Le développement d'un étalon spécifique et adapté à l'étude des nanoparticules (dans une gamme comprise entre 1 nm et 100 nm) pour établir une « voie de traçabilité » entre les deux instruments. Ce réseau de référence permet la comparaison des mesures AFM et MEB et dans un futur proche, les mesures associées seront traçables au mètre du SI avec l'étalonnage de celui-ci grâce à l'AFM métrologique du LNE. Ce point a été traité au Chapitre 4, paragraphe2.2.
- Le développement d'un système de repositionnement. En effet, nous devons être capables de mesurer une même population de nanoparticules avec les deux types de microscopes. Cela signifie retrouver une zone d'intérêt de quelques micromètres carré sur un substrat de 1 cm² lorsque l'échantillon est transféré de l'AFM vers le MEB ou inversement.
- Mesurer les nanoparticules sphériques pour étudier les limites de la méthode. En effet, la sphéricité impose que la hauteur des objets soit égale au diamètre mesuré dans le plan. Cela permet de comparer directement les mesures effectuées par AFM et par MEB.

Dans les parties suivantes, nous nous efforcerons de détailler les résultats que nous avons obtenus pour chacune des démarches définies précédemment.

2 DEVELOPPEMENT D'UN SUBSTRAT SPECIFIQUE

Parce qu'aucun instrument unique n'est adapté à la mesure tri-dimensionnelle à l'échelle nanométrique, la combinaison de plusieurs instruments pour décrire entièrement un nano-objet est essentielle. Nous avons choisi pour ces travaux de thèse de travailler sur la complémentarité des deux instruments que sont le MEB et l'AFM. Cependant, de façon à utiliser cette complémentarité, il est nécessaire de pouvoir localiser les nano-objets sur l'échantillon et donc de repérer une zone d'intérêt.

Des solutions commencent à émerger, telles que l'intégration de plusieurs instruments sous un seul bâti ou un positionnement par reconnaissance d'objet.

L'intégration de plusieurs instruments sous un seul bâti[106] comporte plusieurs avantages notamment le fait que l'étude peut se faire simultanément et dans les mêmes conditions environnementales, réduisant ainsi les écarts de mesure entre instruments. Cependant cette solution est réalisable dans certaines limites car tous les types de microscopes ne peuvent pas y être intégrés. De plus, ces réalisations sont extrêmement coûteuses.

La technique de positionnement par reconnaissance d'objet[107] consiste quant à elle à établir une cartographie de motifs géométriques contenus dans l'échantillon étudié préalablement. Cette solution a l'avantage d'être adaptable à tout type de microscope car elle met en œuvre uniquement un logiciel de traitement d'image. Ces logiciels, complexes, comprennent des algorithmes qui comparent une base de données « cartographie » avec les objets ayant subi une rotation, une homothétie et/ou une translation et ayant été imagés dans des conditions variables.

Nous avons choisi d'orienter nos travaux sur le développement de substrats adaptés aux techniques MEB et AFM. Cette solution nous paraissait plus simple et plus versatile. Ainsi, des substrats de silicium gravés spécifiquement dans ce but ont été élaborés en collaboration avec le LPN. Ils permettent un repérage rapide de zones d'intérêt au MEB et à l'AFM et ces substrats sont peu coûteux. Ces substrats doivent être compatibles avec la méthode d'échantillonnage proposée dans cette thèse et qui met en œuvre une tournette pour une bonne dispersion des particules (Chapitre 2). Les résultats de cette méthode d'échantillonnage montrent que la meilleure couverture de nanoparticules sur le silicium se trouve dans une zone intermédiaire entre les bords du substrat et la région centrale, proche de l'axe de la tournette. Par conséquent, nous proposonsde placer des motifs en forme de grilles constitués de croix et de lettres dans cette zone intermédiaire. Douze motifs sont gravés, décrivant un triangle (voir Figure 6-1, haut). Cette forme triangulaire dont un seul côté est parallèle au bord du substrat permet une orientation facile sur la platine de l'AFM.

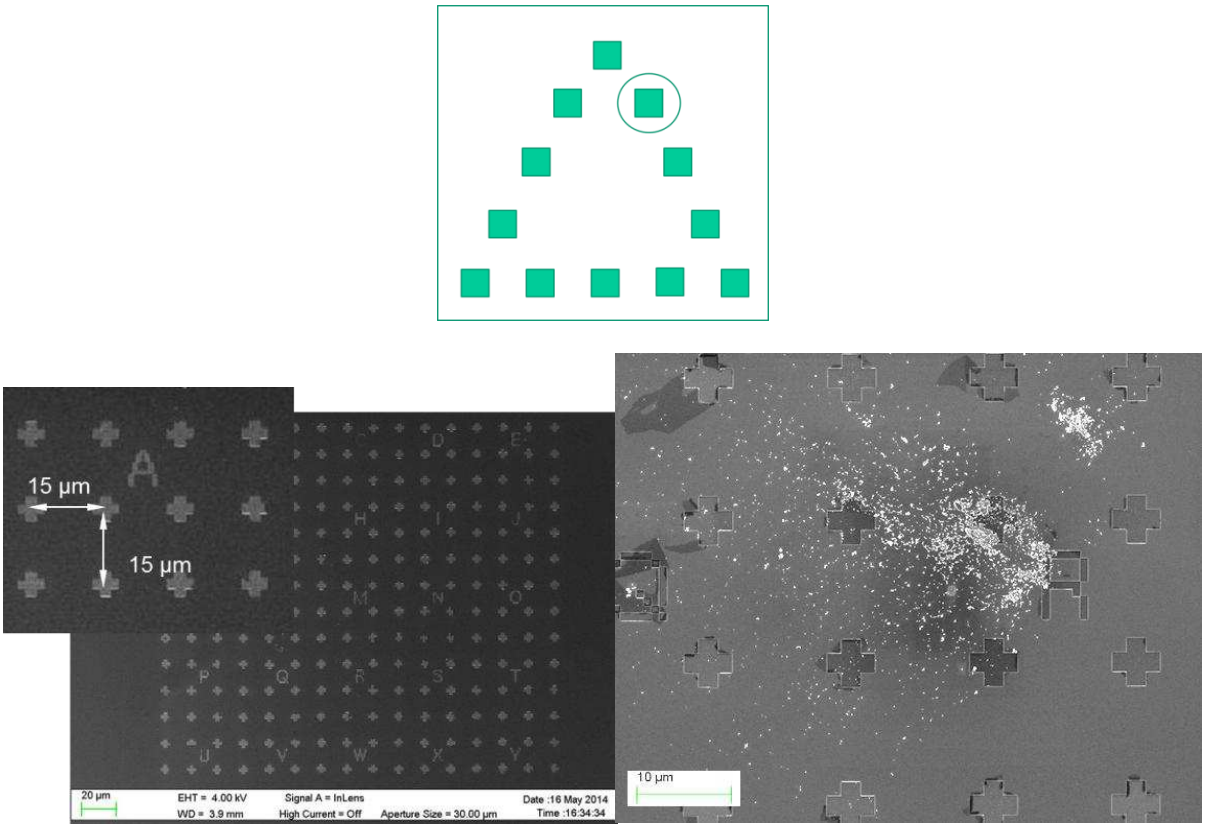


Figure 6-1 : Vue schématique de 12 motifs de localisation sur un substrat de 1 mm x 1 mm de silicium (haut). Image MEB (contraste topographie, détecteur In-Lens)d'une structure de localisation gravée sur un substrat de silicium (bas-gauche). Image MEB (contraste topographie, détecteur In-Lens) d'un dépôt de nanoparticules de SiO_2sur un tel substrat (bas-droite).

La fabrication des échantillons a été réalisée par la même technique de lithographie utilisée pour la fabrication des réseaux nous ayant servi de structure de référence pour le MEB (voir Chapitre 4, paragraphe 2.2). La technique repose sur l'utilisation d'un système d'écriture directe et d'une résine PMMA dans laquelle les motifs sont ensuite soit gravés par gravure ionique réactive, soit utilisés en lift-off pour une déposition métallique. Nous obtenons, avec ces deux méthodes, soit des motifs gravés, soit des structures métalliques déposées. Comme pour la structure référence, le dépôt ultérieur de nanoparticules est fortement dépendant du nettoyage réalisé sur ces deux types de substrats. Des bains acétone/éthanolsuccessifs ainsi qu'un nettoyage plasma sont donc réalisés pour enlever toute trace de masque de gravure ou de trace de lift-off.

3 RESULTATS OBTENUS POUR TROIS POPULATIONS DE NANOPARTICULES ETUDIEES PAR AFM/MEB

3.1 Exemples d'études de mesure de taille de nanoparticules par diverses techniques

De nombreuses études ont été publiées concernant la comparaison de mesures de taille de nanoparticules par diverses techniques[108,109,110,111].

Les travaux référencés en [110] correspondent à une inter-comparaison entre Instituts Nationaux de Métrologie (INM) européens. Cette comparaison repose sur la mesure de taille de nanoparticules similaires à celles étudiées dans nos travaux par les techniques suivantes : SAXS, TSEM, MEB, AFM et DLS (voir Chapitre 1). A titre de comparaison avec notre étude, nous examinerons ici les résultats obtenus dans la publication [110], pour deux populations de référence : une suspension de nanoparticules d'or de diamètre 60 nm (nominal) fournie par le NIST (NIST RM 8013) et une suspension de SiO_2 de 40 nm (nominal), fournies par l'IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements – IRMM 304).

Nous reportons dans le tableau suivant les écarts de mesures obtenus par rapport à la valeur référence pour les différentes techniques sur ces deux échantillons :

Tableau 19 : Tableau reportant les résultats obtenus dans la publication [110] pour deux matériaux de références (Or et SiO_2) de l'ordre de grandeur des particules étudiées dans notre étude.

	Or 60 nm NIST (RM 8013)		**SiO2 40 nmIRMM 304**	
Valeur référence (nm)	54,55		25,72	
	Ecart à la valeur référence (nm)	Ecart à la valeur référence (%)	Ecart à la valeur référence (nm)	Ecart à la valeur référence (%)
SAXS	-1,75	3%	0,02	0,07%
TSEM	-2,55	4,5%	-1,8	7%
MEB	-0,25	0,4%	9,58	37%
AFM1	-1,25	3%	-1,68	7%
AFM2	2,9	5%	0,28	1,1%
AFM3	5,15	9%	-1,8	7%
DLS	11,12	20%	15,11	58%

La première remarque à faire à propos de ces résultats est la différence entre les résultats obtenus pour les techniques indirectes SAXS et DLS. En ce qui concerne le SAXS, et bien que la mesure soit une mesure d'ensemble, la valeur obtenue est proche de la valeur de référence pour les deux échantillons (<3% par rapport à la valeur référence). Les valeurs obtenues pour la DLS sont quant à elles très éloignées de la valeur référence dans les deux cas : 20 % et 58% de différence pour, respectivement, l'or et le SiO_2. Ces résultats sont explicablescar la DLS ne mesure pas le diamètre de la particule mais son diamètre hydrodynamique, c'est-à-dire son diamètre avec sa couche ionique.

Les mesures MEB sont très contrastées : pour l'or, nous observons très peu de différence avec la valeur de référence, tandis que pour le SiO_2, les résultats montrent 37% d'écart à la valeur de référence. Il est à noter que sur les 7 échantillons analyséspar MEB dans la publication étudiée, cette dernière mesure est la seule à montrer un écart aussi important (les autres mesures montrent un écart inférieur à 5 %).

Les mesures AFM, données pour des instruments et des méthodes de mesures différentes, sont plutôt homogènes et varient entre 3% et 11% d'écart à la valeur de référence. La mesure nommée AFM2 (MIKES, Centre for Metrology and Accreditation, Finland) dans ce rapport est celle qui est la plus comparable à notre méthode de mesure, puisque celle-ci reporte la mesure de hauteur de nanoparticules isolées.

Il est intéressant de noter les écarts entre les mesures AFM (AFM2) et les mesures MEB. Pour l'or, avec une valeur proche de la référence pour la mesure MEB, nous calculons 5,7 % par rapport à la valeur référence. Pour le SiO_2, l'écart entre les valeurs mesurées avec le MEB et celles mesurées avec les AFM est de 36% de la valeur référence, du fait de la grande différence de la valeur MEB mesurée par rapport à la valeur de référence.

Rappelons ici que les travaux de thèse mettent en œuvre la comparaison de taille de nanoparticules d'or et de SiO_2 de l'ordre de grandeur des particules étudiées dans cette publication. Les nanoparticules d'or étudiées notamment sont identiques à celles analysées dans l'étude de F. Meli.

3.2 Populations étudiées lors de ces travaux de thèse

Les deux populations comparées dans ce chapitre sont des populations de nanoparticules d'or et de silice. Nous appellerons par la suite :

- Echantillon A, un échantillon de nanoparticules de SiO_2synthétisées par méthode Stöber et de diamètre indicatif de 80 nm et déposées par spin-coating (méthode développée en Chapitre 2) sur du mica.
- Echantillon B, un échantillon de nanoparticules d'or provenant d'une solution de référence fournie par le NIST et ayant pour diamètre nominal 60 nm (RM8013), déposées sur du mica.
- Echantillon C, un échantillon de nanoparticules de SiO_2synthétisées par méthode Stöber et déposées sur un substrat de silicium dopé.

L'étude de chacun de ces échantillons a un objectif bien précis. Tout d'abord, nous avons réalisé des mesures AFM sur l'échantillon A, c'est-à-dire que ce ne sont pas exactement les mêmes particules qui ont été analysées, ni le même nombre de particules. Le but était de connaître l'influence de la statistique

sur la comparaison AFM-MEB. EN revanche, les mesures effectuées sur les échantillonsB et C ont été réalisées exactement sur les mêmes nanoparticules. Cela nous a permis de confirmer la cohérence des résultats obtenus par AFM et par MEB. De plus, l'utilisation de particules de référence certifiées par le NIST de l'échantillon B a pour but de confirmer l'exactitude des résultats obtenus pas AFM et par MEB. Enfin, l'avantage des nanoparticules de SiO2 synthétisées par la méthode Stöber est la qualité de leur morphologie sphérique.

3.3 Résultats obtenus par AFM et par MEB sur l'échantillon A

L'échantillon A correspond à une population de nanoparticules de SiO_2synthétisées par méthode Stöber et de diamètre indicatif de 80 nm. Cet échantillon a été déposé sur du mica à l'aide d'une tournette. Cet échantillon a été analysé par AFM et par MEB. Le traitement des images a été effectué pour les deux types d'image grâce au logiciel développé au cours de ces travaux de thèse et présenté au Chapitre 5. Ainsi, la hauteur des nanoparticules sphériques, et correspondant donc au diamètre, est mesurée par AFM et comparée à la mesure du diamètre équivalent (correspondant au diamètre d'un cercle de même aire que la nanoparticule imagée) des nanoparticules obtenue par MEB dans le plan XY.

Quatre images AFM ont été analysées pour obtenir une population totale de 389 nanoparticules isolées. Seulement une image a été analysée pour obtenir les mesures de 757 nanoparticules isolées par MEB. Les histogrammes des distributions en taille sont reportés en Figure 6-2.

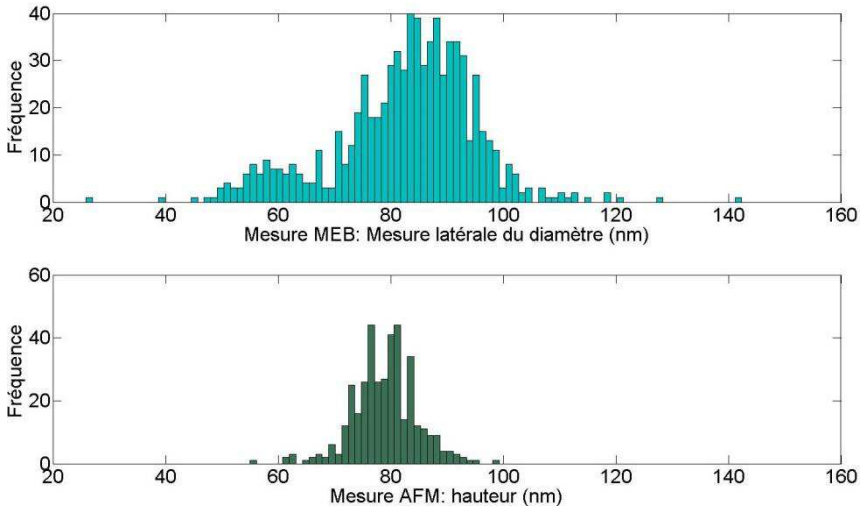


Figure 6-2 : Distribution en taille de nanoparticules de l'échantillon A obtenu par MEB (haut) et par AFM (bas).

La valeur du diamètre moyen a été trouvée à 85,5 nm avec un écart-type de 9,1 nm pour la technique MEB. Nous observons la présence d'un second mode avec cette technique. En ce qui concerne les mesures AFM, le diamètre moyen a été trouvé égal à 79,9 nm avec un écart-type de 5,7 nm.

La différence de 6 nm entre les deux techniques et la présence du second mode non visible sur les résultats obtenus par AFM peuvent être expliquées par la différence de statistique composant les populations. Cela peut également être interprété par le fait que ce ne sont pas exactement les mêmes nanoparticules qui sont imagées et mesurées.

3.4 Résultats obtenus sur l'échantillon B

Comme indiqué pour l'échantillon précédent et pour s'assurer que la différence entre les résultats AFM et MEB ne provient pas des instruments utilisés, le même groupe de nanoparticules est imagé. Cet ensemble de nanoparticules est d'abord étudié par AFM pour éviter toute dégradation par le faisceau d'électronset donc tout impact sur la mesure. La zone d'intérêt est une zone de 15 µm x 15 µm, comprenant 70 nanoparticules isolées et est reportée enFigure 6-3.

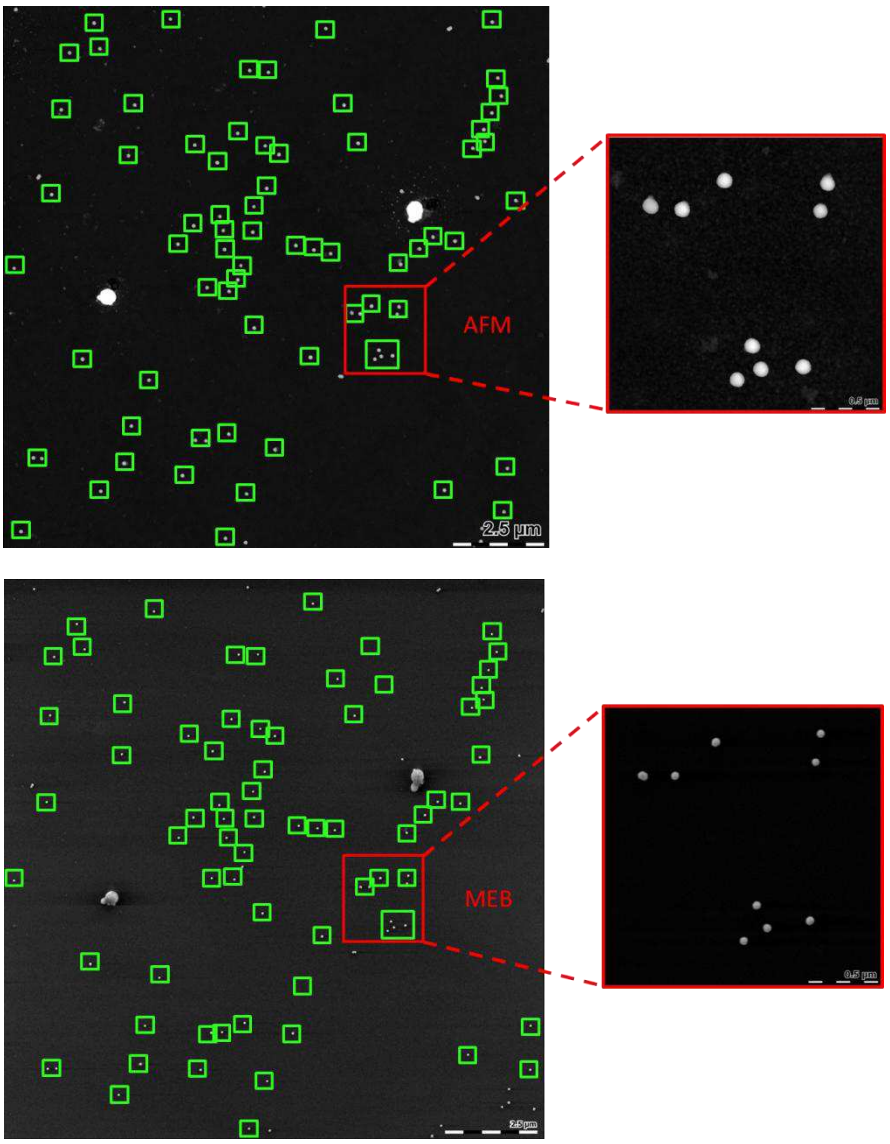


Figure 6-3 : Même groupe de 70 nanoparticules d'or déposées sur du mica (échantillon B), imagées par AFM (haut) et par MEB (bas). Sur la droite, un zoom montrant 9 nanoparticules imagées par AFM (haut) et par MEB (bas).

Les histogrammes de distribution en taille pour les deux techniques sont reportés ci-dessous :

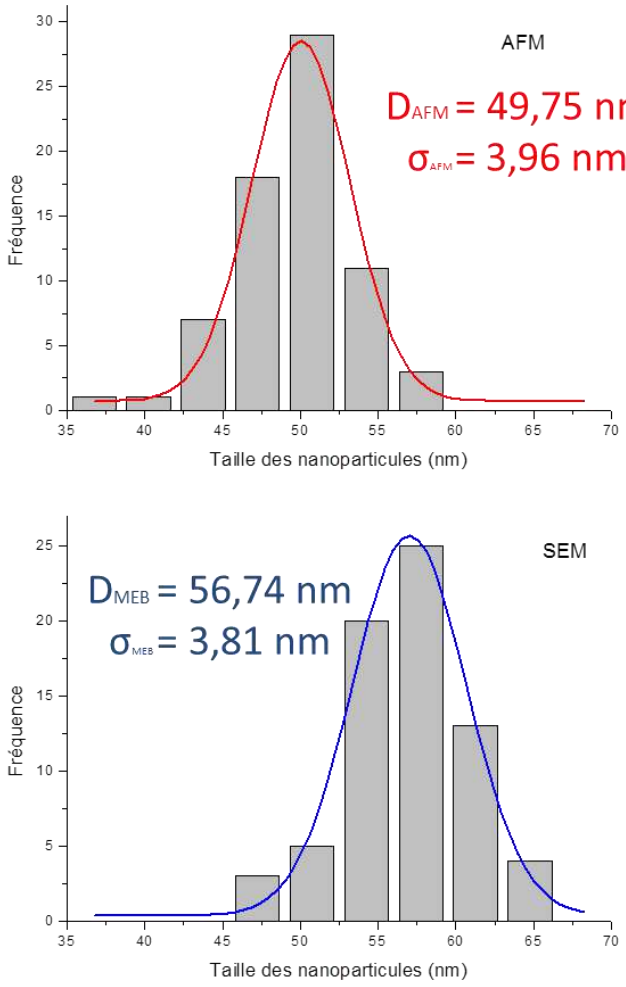


Figure 6-4 : Histogrammes de distribution en taille construits à partir des mesures obtenues par AFM et par MEB sur la population d'un même groupe de 70 nanoparticules d'or isolées (échantillon B).

Une seule image AFM a été acquise sur la zone complète avec une résolution égale à 2048 x 2048 pixels (soit une taille de pixel égale à 7,3 nm). La hauteur moyenne des nanoparticules imagées par AFM est $D_{AFM\text{-}Au}$ = 50,05 nmavec un écart-type de 3,96 nm correspondant à la distribution en taille.

19 images MEB d'une surface totale 3,1 µm x 2,35 µm ont été acquises, avec une résolution de 3072 x 2304 pixels. Ces paramètres permettent d'obtenir une taille de pixel réduite à 1,02 nm, et donc de réduire l'incertitude liée à la taille du pixel. Le diamètre équivalent mesuré par MEB grâce au logiciel Nanoselect$D_{MEB\text{-}Au}$(détection des contours grâce à la fonction active contour, voir Chapitre 5, paragraphe 2.3.2) est égal à 56,74 nm, avec un écart-type de 3,81 nm.

Nous noterons que la valeur obtenue avec le MEB est concordante avec la valeurréférence MEB donnée par le certificat d'étalonnage des particules (54,9 ±0,4 nm). Notre mesure est supérieure de 1,8 nm à la valeur de référence. Nous observons cependant un écart de 5,6 nm entre la valeur référence AFM (55,4 ± 0,3nm) et nos résultats.

De plus, la différence de taille mesurée entre les deux techniques est égale à 7,0 nm, soit 14% de la taille de la particule mesurée par AFM. La différence entre les mesures donnée par le certificat d'étalonnage n'est pourtant que de 0,5 nm (soit 1% de la valeur AFM référence). Cependant,bien que plus faible, un écart entre les deux valeurs est également observé dans la comparaison de la publication référencée [110]. Cet écart estde 5,5 % par rapport à la valeur AFM publiée.

Nous pouvons expliquer les écarts constatés pour les participants de l'intercomparaison citée en [110], ainsi que par nous-même, par le défaut de sphéricité des particules, qui sont octaédriques et icosaédriques (voir Chapitre 1, paragraphe1.2.6). La méthode utilisée pour la mesure AFM dans les deux cas est la mesure de hauteur de particules. Il n'est pas précisé de méthode de mesure par AFM des particules d'or sur le certificat d'étalonnage où il n'est pas constaté de telles différences. La méthode de mesure AFM du NIST permet donc de s'affranchir de l'incertitude posée par la forme.

3.5 Résultats obtenus sur l'échantillon C

De façon à s'affranchir de l'influence de la forme des nanoparticules comme montré dans le paragraphe précédent pour les nanoparticules d'or, nous avons choisi de faire de nouveau la même expérience sur des particules de SiO_2synthétisées par méthode Stöber qui sont très sphériques. Une zone d'intérêt (montrée en Figure 6-5) de 10 µm x 10 µm a été sélectionnée sur l'échantillon C, qui correspond à un dépôt de nanoparticules de SiO_2par spin-coating sur un substrat marqué fabriqué avec le LPN. Elle comporte 55 nanoparticules isolées.

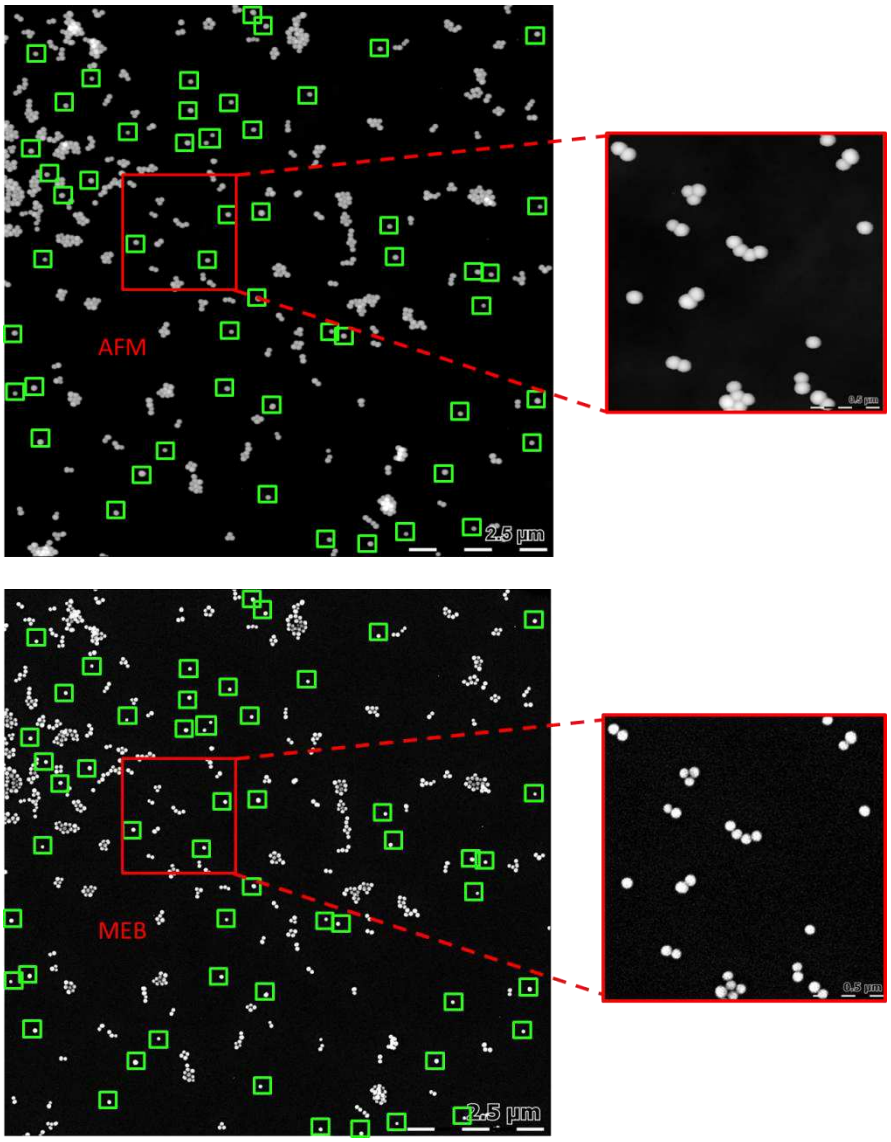


Figure 6-5 : Même groupe de 55 nanoparticules de SiO_2 déposées sur du silicium (échantillon B), imagées par AFM (haut) et par MEB (bas). Sur la droite, un zoom montrant 29 nanoparticules imagées par AFM (haut) et par MEB (bas).

Avant d'établir les histogrammes de taille de cette population de nanoparticules par les deux techniques, nous proposons dans la partie ci-dessous une méthode nouvelle qui permet la propagation de la valeur d'étalonnage de l'AFM vers le MEB grâce à la mesure de distance entre nanoparticules.

3.5.1 Mesure des distances entre particules sur l'échantillon C

Bien que la vérification de l'étalonnage du MEB ait été effectuée avec un réseau étalon certifié (voir Chapitre 4, paragraphe 2.1) cet étalonnage reste insuffisant puisque, pour rappel, la mesure est faite sur un pas de réseau de 1803 nm avec une incertitude de 23 nm. La gamme de certification ne correspond donc pas à la gamme dans laquelle nous faisons nos mesures (<100 nm). Nous avons, pour s'affranchir de cette limitation, fabriqué un réseau « étalon » qui nous a permis d'affirmer que la comparaison entre les mesures latérales à l'AFM et au MEB dans cette gamme de mesure était faisable et réaliste.

Cependant, la mesure MEB de nanoparticules dépend de beaucoup de paramètres qui n'ont pas été étudiés, notamment l'influence des paramètres dépendants de l'échantillon.

C'est pourquoi nous devons confirmer que les mesures latérales sont comparables avec un échantillon de nanoparticules. Pour effectuer cela, nous choisissons de mesurer les distances qui séparent le centre de gravité (2D) de particules.

En effet, à l'instar de la mesure d'un pas de réseau périodique, la mesure de distance entre nanoparticules n'est pas impactée par les convolutions pointe/surface en AFM et faisceau d'électrons/particule pour le MEB.

Cette expérience n'a pas pu être faite sur une grande échelle puisque les dérives XY de l'AFM ne le permettent pas. Trois particules de la zone d'intérêt montrée en Figure 6-5 ont été choisies et imagées à l'AFM avec une plus grande résolution (taille du pixel = 0,65 nm). Une image MEB (taille du pixel = 0,39 nm)de ces trois mêmes particules est également présentée Figure 6-6.

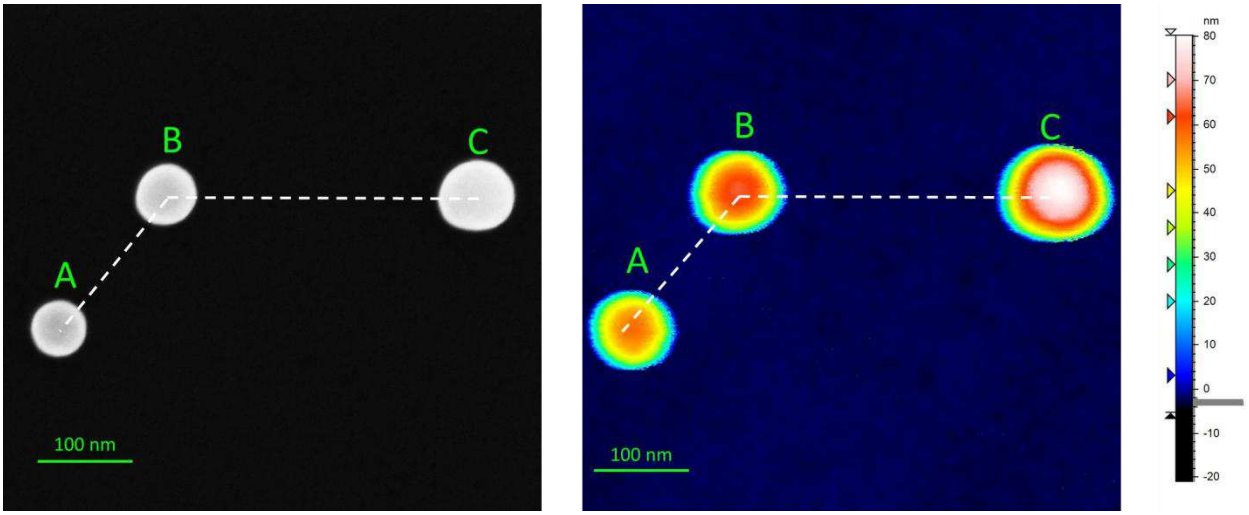


Figure 6-6 : Image MEB (gauche) et image AFM (droite) de trois mêmes nanoparticules de SiO_2.

Le Tableau 20 reporte les mesures de distance entre les particules.

Tableau 20 : mesures de distances entre trois particules de SiO_2 imagées par MEB et AFM.

	Distance A-B (nm)	Distance B-C (nm)
AFM	183,2	336,0
MEB	185,1	335,6
Différence AFM-MEB	1,9	0,4

La mesure de la distance entre les particules A et B est égale à 183,2 nm par AFM et à 185,1 nm par MEB, soit une différence de 1,9 nm. La distance mesurée entre les particules B et C est de 336,0 nm par AFM et 335,6 nm par MEB, soit une différence de 0,4 nm. Cet écart est inférieur à la taille du pixel de l'image AFM. Nous pouvons conclure et dire que les mesures sont donc comparables.

L'écart de mesure constaté pour la distance A-B est plus important que celui constaté pour la distance B-C. Ceci est explicable par le fait que l'acquisition des deux positions des centres par AFM entre les

particules B et C s'effectue en quelques secondes de différence tout au plus, puisqu'ils sont quasiment à la même position en suivant X, axe de balayage, alors que l'acquisition des positions de la particule A et de la particule B ne s'effectue pas au même moment (quelques minutes). L'appareil a donc eu le temps de dériver. En revanche, nous constatons que malgré cette dérive possible, l'écart de 1,9 nm est de l'ordre de grandeur de la résolution de l'instrument.

Cette méthode d'auto-étalonnage est donc tout à fait prometteuse car, si des solutions sont proposées pour s'affranchir des dérives des instruments, elle permettrait de comparer la mesure des nanoparticules grâce à plusieurs techniques de microscopie sans passer par un étalonnage mettant en œuvre une structure de référence.

3.5.2 Résultats

Les histogrammes de distribution en taille pour les deux techniques sont reportés ci-dessous :

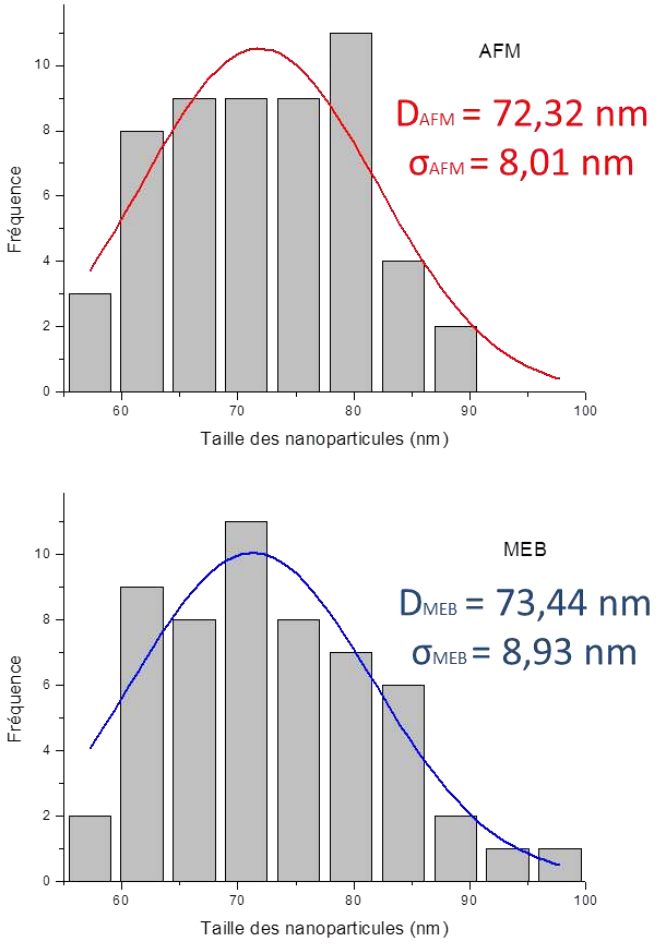


Figure 6-7 : Histogrammes de distribution en taille construits à partir des mesures obtenues par AFM et par MEB sur la population d'un même groupe de 55 nanoparticules de SiO_2 isolées (échantillon C).

Une unique image de 10 µm x10 µm (2048 x2048) a été utilisée pour obtenir les résultats AFM. La même région d'intérêt a été imagée par MEB : 6 images ayant une surface totale de 5,5 µm x 4,1 µm (3072 x 2304 pixels) ont été nécessaires pour conserver une taille de pixel réduite de 1,9 nm.

La hauteur moyenne des nanoparticules mesurée par AFM $D_{AFM\text{-}SIO2}$ est égale à 72,32 nm. Avec le MEB, le diamètre moyen des particules mesuré $D_{MEB\text{-}SIO2}$est égal à 73,44 nm. L'écart entre les deux techniques est donc égal à 1,1 nm (soit 1,5% de la moyenne des particules mesurée par AFM).

Par conséquent, la mesure de taille de nanoparticules sphériques par AFM et par MEB donne des résultats similaires, compte tenu des incertitudes liées à la mesure AFM (0,8 nm) et à la résolution du MEB.

4 CONCLUSION

Nous rappelons ici que la technique AFM permet de mesurer avec précision la hauteur des nano-objets, tandis que la technique MEB permet de mesurer avec précision les dimensionsdisponibles dans le plan du nano-objet. Avec les deux techniques de microscopies et avec l'aide de substrats développés pour le repérage des nanoparticules, nous avons obtenu des mesures de diamètres (hauteur et mesure latérale),d'un même ensemble de nanoparticules. Théoriquement, les résultats obtenus par MEB et ceux obtenus par AFM, et parce que les nanoparticules étudiées sont considérées comme sphériques, ces deux mesures sont égales. Expérimentalement, l'écart constaté pour une population de nanoparticules de SiO_2est de 1,1 nm, nous constatons donc des résultats cohérents, tenant compte des sources d'incertitudes provenant des deux techniques.

Ces résultats nous indiquent qu'il est donc possible de décrire un nano-objet en trois dimensions grâce à l'utilisation combinée de ces deux techniques de mesures. Ceci n'est rendu possible que par l'étalonnage des deux instruments, et la possibilité de repérage facile et pratique du même échantillon de nanoparticules.

[102] J. Foucher, N. Rana, « *3D AFM enhancement for CD metrology dedicated to lithography sub-28-nm node requirements* », Proc of SPIE, 7638, pp763802, 2010, DOI : 10.1117/12.8465550

[103] R. Silver, N. F. Zhang, B. M. Barnes, H. Zhou, A. Heckert, R. Dixson, T. A. Germer, « *Improving optical accuracy using multi-technique nested uncertainties* », Proc. Of SPIE 7272, pp727202, 2009, DOI : 10.1117/12.816569

[104]Vaid A. et coll., « *A holistic metrology approach : hybrid metrology utilizing scaterrometry, CD-AFm and CD-SEM* », Proc of SPIE, Vol. 7971, 2011, 797103-797103-20

[105]Bunday B et coll, « Gaps Analysis for CD metrology beyond the 22 nm Node », Proc of SPIE, Volume 8681, 86813B, 2013

[106] U. Mick, V. Eichhorn, T. Wortmann, C. Diederichs, « *Combined nanorobotic AFM/SEM system as novel toolbox for automated hybrid analysis and manipulation of nanoscale objects* », *2010, IEEE International Conference on* Robotics and Automation (ICRA)

[107]GrigoryBegelman, M. Lifshits, Ehud Rivlin, « *Map-Based Microscope Positioning* », Technion, Computer Science Department.

[108] R. D. Boyd, Siva K. Pichaimuthu, A. Cuenat, « *New approach inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements ; using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis, and dynamic light scattering* », Colloids and Surafces A : Phyisicochem. Eng. Aspects, 387, 2011, 35-42.

[109] C. Motzkus, T. Macé, F. Gaie-Levrel, S. Ducourtieux, A. Delvallee, K. Dirscherl, V.-D. Hodoroaba, I. Popov, O. Popov, I. Kuselman, K. Takahata, K. Ehara, P. Ausset, M. Maillé, N. Michielsen, S. Bondiguel, F. Gensdarmes, L. Morawska, G. R. Johnson, E. M. Faghihi, C. S. Kim, Y. H. Kim, M. C. Chu, J. A. Guardado, A. Salas, G. Capannelli, C. Costa, T. Bostrom, Å. K. Jämting, M. A. Lawn, L. Adlem, S. Vaslin-Reimann, « *Size characterization of airborne SiO2 nanoparticles with on-line and off-line measurement techniques: an interlaboratory comparison study* », J. of Nanoparticle Res., 2013 , 15 :1919

[110] F. Meli, T. Klein, E. Buhr, C. G. Frase, G. Gleber, M. Krumrey, A. Duta, S. Duta, V. Koperlainen, R. Bellotti, G. B. Picotto, R. D. Boyd, A. Cuenat, « *Traceable size determination of nanoparticles, a comparison among European metrology institutes* », Meas. Sci. Technol ., 2012, 23, 125005 (15pp).

[111] V. A. Coleman, A. K. Jämtong, H. J. Catchpoole, M. Roy, J. Hermann, « *Nanoparticles and metrology : a comparison of methods for the determination pf particle size distributions* », Proc. SPIE 8105, Instrumentation, Metrology, and Standards for Nanomanufacturing, Optics, and Semiconductors V, 810504, September 20, 2011.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes efforcés de montrer que la mesure de taille moyenne et de distribution en taille de nanoparticules par deux techniques, AFM et MEB, comprenait trois phases déterminantes d'un point de vue métrologique :

- Echantillonnage
- Evaluation du mesurande
- Traitement des données.

Nous avons tout d'abord présenté l'intérêt majeur de la dispersion des nanoparticules sur le substrat avant toute mesure effectuée par AFM et par MEB. Dans ces travaux de thèse, une méthode de dispersion s'inspirant de méthode de dépôt de monocouches de nanoparticules et utilisant une tournette (spin-coating) a été développée.

L'étape d'évaluation du mesurande consiste à tout mettre en œuvre afin de déterminer la valeur la plus proche possible de la « valeur vraie » et d'estimer les incertitudes associées à la mesure pour connaître un niveau de confiance.

Avant toute chose, une phase d'étalonnage des instruments garantit la traçabilité de la mesure. Ce lien avec une référence reconnue par tous (les unités SI) permet la comparabilité de la mesure avec une mesure effectuée sur cette même population par d'autres laboratoires et/ou d'autres techniques. La traçabilité des grandeurs dimensionnelles à l'échelle du nanomètre est assurée par la mise en œuvre de l'AFM métrologique du LNE et par l'intermédiaire de structures de référence. L'étude de comparabilité des mesures AFM et MEB nous a obligé à développer notre propre étalon. Il s'agit d'un réseau de transfert avec un pas de réseau adapté à notre étude (100 nm). Les réseaux étalons possédant une caractéristique latérale dans cette gamme de mesure (<100 nm) étant très difficiles à produire et à reproduire, peu d'offres commerciales sont disponibles. Dans un futur proche, le LNE souhaite poursuivre la collaboration avec le LPN afin d'exploiter les derniers procédés de nano-fabrication et développer de telles structures en combinant lithographie et dépôt de couches de graphène. Ces couches de graphène auraient plusieurs fonctionnalités. La première est l'évacuation des charges électroniques lors de l'imagerie MEB. La seconde serait la possibilité d'élaborer un étalon multi-échelle en tirant partie de la mesure de la distance entre atomes, connue et invariable, dans le réseau de la mono-couche.

Comme il est montré dans cette thèse, l'évaluation de l'incertitude associée à la mesure est un travail long qui demande une connaissance de l'ensemble des sources d'erreurs.

Dans ce contexte, un bilan d'incertitude complet de la mesure AFM de hauteur de nanoparticule est présenté. Une incertitude totale (k=2) a été évaluée à 0,8 nm. L'étalonnage a été effectué à partir d'une structure commerciale (VLSI-440P) dont la valeur est dépendante du certificat d'étalonnage fourni. La contribution la plus importante dans le bilan d'incertitude provient de cette phase d'étalonnage et représente environ 85 % de la valeur totale. Mais cette composante est amenée à évoluer puisque l'AFM métrologique du LNE sera achevé fin 2015 et pourra fournir une mesure de hauteur de marche avec une incertitude de 0,5 nm.

Quelques pistes ont été exploitées concernant les sources d'erreur de la mesure dimensionnelle par MEB. Cependant, chaque composante du bilan d'incertitude doit être évaluée avant de pouvoir estimer une incertitude totale de mesure.

La phase de traitement des données impose l'utilisation de logiciel dont la pertinence métrologique est assurée à chaque étape.

Le logiciel NanoSelect, développé sous Matlab au cours de cette thèse, s'avère ergonomique et est disponible en .exe. Il permet de mesurer la taille de nanoparticules à partir de clichés AFM et MEB. Les sources d'erreurs provenant des artefacts de mesure et des phénomènes d'agglomération peuvent être éliminées. Ce logiciel a été entièrement développé au laboratoire de façon à éviter l' « effet boite noire » rencontré sur les logiciels commerciaux. Nous avons donc accès à toutes les étapes du calcul et il a été choisi de mesurer pour les images AFM la hauteur maximale de la nanoparticule. Pour les mesures MEB, la fonction *active contour*de Matlab est utilisée. Cependant, comme le point exact du bord de la particule n'est pas connu, cette fonction devra être modifiée/remplacée lorsque la modélisation des interactions entre les électrons du faisceau et la nanoparticule permettra de mieux connaître les phénomènes mis en jeu.

Enfin, la complémentarité des deux techniques de microscopies a pu être étudiée. Pour cela, l'utilisation de nano-objets sphériques nous a permis de tester la cohérence des mesures dimensionnelles de nano-objets effectuées par les deux techniques.

L'objet de cette étude est de poser les bases d'une métrologie hybride qui mélangerait mesures effectuées par AFM et par MEB. Ce nouveau concept permettra de mesurer les trois composantes caractéristiques dimensionnelles (X, Y, Z) d'un nano-objet. Des substrats spécifiques ont été élaborés pour montrer la faisabilité du principe de mesure. Grâce à ces derniers, nous retrouvons facilement une zone d'intérêt ce qui nous a permis de mesurer un même groupe de nanoparticules avec les deux techniques. Des écarts de mesure faibles, de l'ordre de grandeur des incertitudes, ont été mis en évidence entre mesures AFM et MEB.

Cette méthode hybride doit être maintenant mise en œuvre dans le cas de la mesure de dimensions caractéristiques de nanoparticules de forme quelconque. Elle facilitera aussi la mise en place d'une traçabilité concernant la métrologie de la morphologie.

ANNEXE 1

Spécification du produit N°741973, nanoparticules d'or, fournies par la société Sigma Aldrich.

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:

Product Number: **741973** Au

Formula: Au
Formula Weight: 196.97 g/mol
Storage Temperature: 2 - 8 °C

TEST	Specification
Appearance (Color)	Red to Dark Red and Pink
Appearance (Form)	Suspension
Polydispersity Index (PDI)	≤ 0.2
Core Size	28 - 32 nm
Mean Hydrodynamic Diameter (Z)	38 - 46 nm
Particles/ml 1.61E+ 11-1.97E+ 11	Confirmed
Absorption Max	524 - 527 nm
Concentration (OD): 1	Confirmed
Buffer Stabilized suspension in citrate buffer	Confirmed
Product of Supplier CytoDiagnostics, Inc	Confirmed

Specification: PRD.0.ZQ5.10000033129

ANNEXE 2

National Institute of Standards & Technology

Report of Investigation

Reference Material® 8013

Gold Nanoparticles, Nominal 60 nm Diameter

This Reference Material (RM) is intended primarily to evaluate and qualify methodology and/or instrument performance related to the physical/dimensional characterization of nanoscale particles used in pre-clinical biomedical research. The RM may also be useful in the development and evaluation of in vitro assays designed to assess the biological response (e.g., cytotoxity, hemolysis) of nanomaterials, and for use in interlaboratory test comparisons. RM 8013 consists of nominally 5 mL of citrate-stabilized Au nanoparticles in an aqueous suspension, supplied in hermetically sealed pre-scored glass ampoules sterilized by gamma irradiation. A unit of RM 8013 consists of two 5 mL ampoules. The suspension contains primary particles (monomers) and a small percentage of clusters of primary particles.

Expiration of Value Assignment: The reference values for **RM 8013** are valid, within the measurement uncertainty specified, until **25 October 2015**, provided the RM is handled and stored in accordance with the instructions given in this report (see "Notice and Warning to Users"). This report is nullified if the RM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

Maintenance of RM: NIST will monitor this RM over the period of its validity. If substantive technical changes occur that affect the reference values before the expiration of this report, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

The overall technical coordination for material procurement, processing and measurement activities was conducted by V.A. Hackley and J.F. Kelly of the NIST division formerly known as the Ceramics Division.

Reference and informational value measurements were performed at NIST by the following: T.A. Butler, R. Case, K.W. Pratt, L.C. Sander, and M.R. Winchester of the NIST division formerly known as the Analytical Chemistry Division; A.J. Allen, T.J. Cho, J. Grobelny, V.A. Hackley, D.-I. Kim and P. Namboodiri of the NIST division formerly known as the Ceramics Division; J.E. Bonevich and A.J. Shapiro of the NIST division formerly known as the Metallurgy Division; M.L. Becker, D.L. Ho, A. Karim and B.M. Vogel of the NIST division formerly known as the Polymers Division; B. Ming and A.E. Vladár of the NIST division formerly known as the Precision Engineering Division; L.F. Pease III, M.J. Tarlov, D.H. Tsai, M.R. Zachariah and R.A. Zangmeister of the NIST division formerly known as the Process Measurements Division.

Statistical consultation on measurement design and analysis of the reference value data were performed by A.I. Avilés of the NIST Statistical Engineering Division.

Additional technical and coordination aspects were provided by the following: R.F. Cook, W.K. Haller and D.L. Kaiser of the NIST Materials Measurement Science Division.

Support aspects involved in the issuance of this RM were coordinated through the NIST Office of Reference Materials.

RM 8013 was developed at the request of the National Cancer Institute (NCI). Development and production costs were subsidized by NCI.

John A. Small, Chief
Materials Measurement Science Division

Gaithersburg, MD 20899
Report Issue Date: 09 November 2012
Report Revision History on Last Page

Robert L. Watters, Jr., Director
Office of Reference Materials

Reference Values: Reference values are a best estimate of the true value provided by NIST where all known or suspected sources of bias have not been fully investigated by NIST [1]. Dimensional reference values (mean particle diameter in solution, as an aerosol and deposited on a substrate) are reported and are based on the following measurement techniques: atomic force microscopy (AFM), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), electrospray-differential mobility analysis (ES-DMA), dynamic light scattering (DLS) and small-angle x-ray scattering (SAXS). The corresponding reference values and expanded uncertainties are provided in Table 1. A synopsis of the methods used to generate reference values is provided starting on page 7.

Table 1. Reference Value Mean Size and Expanded Uncertainty[a]
Average Particle Size (Diameter), in nm

Technique	Analyte Form	Particle Size (nm)
Atomic Force Microscopy	dry, deposited on substrate	55.4 ± 0.3
Scanning Electron Microscopy	dry, deposited on substrate	54.9 ± 0.4
Transmission Electron Microscopy	dry, deposited on substrate	56.0 ± 0.5
Differential Mobility Analysis	dry, aerosol	56.3 ± 1.5
Dynamic Light Scattering	liquid suspension	
backscatter, 173° scattering angle		56.6 ± 1.4
90° scattering angle		55.3 ± 8.3
Small-Angle X-ray Scattering	liquid suspension	53.2 ± 5.3

[a] The expanded uncertainties, U, are calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined standard uncertainty calculated according to the ISO Guide [2]. The coverage factor, k, for 95 % expanded uncertainty intervals is based on a t multiplier with the appropriate associated degrees of freedom.

Information Values: Information values and associated measurement uncertainties for chemical and electrochemical properties unrelated to particle size are presented in Table 2. NIST information values are considered to be of interest to the RM user, but insufficient information is available to assess adequately the uncertainty associated with the values or a limited number of analyses were performed. Elemental and ion mass fractions and electrochemical properties, including pH, electrolytic conductivity and zeta potential, are listed in Table 2. An optical absorbance spectrum and asymmetric-flow field flow fractionation (AFFF) trace are provided in Figures 1 and 2, respectively. Material sterility and endotoxin content were assessed. Electron microscopy images are provided in Figure 3. Particle size histograms are provided in Figures 4 through 7.

Table 2. Information Value Mean and Measurement Uncertainty[a]
Chemical and Electrochemical Properties

Measurement	Value
Au mass fraction (μg g^{-1}) [b]	51.86 ± 0.64
Cl^- ion mass fraction (μg g^{-1}) [c]	36.3 ± 1.2
citrate ion mass fraction (μg g^{-1}) [c]	< 0.02
Na mass fraction (μg g^{-1}) [d]	--
pH [e]	7.30 ± 0.32
electrolytic conductivity, κ (μS cm^{-1}) [f]	241.6 ± 6.5
zeta potential (mV) [g]	-37.6 ± 3.0
electrophoretic mobility (μm cm V^{-1} s^{-1})	-2.67 ± 0.21

[a] For pH, conductivity and Au mass fraction, the expanded uncertainty (95 % confidence interval) is calculated according to the ISO Guide [2]. Other reported uncertainties are two times the standard deviation of replicate measurements.

[b] Au bound into nanoparticles was determined from separate measurements of total Au and Au dissolved in the solution matrix. Both measurements were made using inductively-coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Total Au was measured after digestion of the particles with a mixture of nitric and hydrochloric acids. Solution matrix Au was measured after removal of Au particles by ultracentrifugation, and

was undetectable at the 3σ detection limit corresponding to 0.07 μg g^{-1} in the undiluted supernatant. The Au mass fraction in the matrix was estimated as 0.5 times the 3σ limit and subtracted from the total Au mass fraction to obtain the reported value for the bound Au mass fraction.

[c] Levels of Cl^- and citrate ($C_3H_5O(COO)_3^{3-}$) ions were determined in native suspensions by ion chromatography with a conductivity detector. Chloride and citrate ions were identified based on the retention times of reference standards. Chloride levels in the water blank used to prepare calibrants were insignificant for this analysis. Citrate was not detectable in the water blank. The levels of Cl^- and citrate ions appear to increase slightly as a consequence of centrifugation, but this effect has not been quantified. The limit of detection for citrate is estimated to be 0.02 μg g^{-1}; the limit of quantitation is estimated to be 0.06 μg g^{-1}. Citrate bound to Au particles will not be detected by this approach.

[d] Na mass fraction was determined in the native suspension using inductively-coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Matrix effects and other factors that may affect metrological validity are unaccounted for in this case. Additionally, Na may leach into solution from the inner surfaces of borosilicate glass ampoules. Ongoing studies at NIST have shown that Na mass fractions in excess of 10 μg g^{-1} may result under acidic conditions. The proportion of the observed Na mass fraction that is attributable to leaching is unknown. Furthermore, changes in the Na mass fraction over time are unpredictable. For RM 8013, the Na level detected was within the range that can occur as a result of leaching, and therefore the Na level is not reported.

[e] The pH was determined at 25.0 °C using a combination electrode with ceramic reference junction and a 2 point calibration referred to SRM 186g (pH 6.864) and SRM 187e (pH 9.186).

[f] Electrolytic conductivity was determined at 25.0 °C at 1 kHz using a dip cell with nominal cell constant of 0.1 cm^{-1}. The cell constant was determined using SRM 3191 (nominal κ, 100 μS cm^{-1}) and SRM 3192 (nominal κ, 500 μS cm^{-1}).

[g] Zeta potential was calculated using the Smoluchowski formula from the mean d.c. electrophoretic mobility measured by Doppler velocimetry. For this purpose, a microelectrophoretic light scattering instrument equipped with a quartz capillary cell was used. Measurements were obtained at the cell stationary layer for native suspensions at 20.0 °C after preconditioning the cell with 2 mmol L^{-1} NaCl. Instrument performance was qualified using a vendor supplied −50 mV transfer standard referred to SRM 1980. Since the Smoluchowski formula is intended for systems obeying the thin double-layer approximation, it may not be appropriate for RM 8013 and therefore the mobility value is also provided.

Optical Absorbance: Optical absorbance spectra were obtained using a double-beam spectrophotometer on native suspensions. Measurements were performed using matched quartz cuvettes (10 mm path length) against a filtered deionized water reference. Scan conditions: slit width, 1 nm; scan rate, 240 nm min^{-1}. The coefficient of variation determined near the plasmon peak center was 0.4 % for spectra obtained from 6 randomly selected ampoules. A representative spectrum is presented in Figure 1.

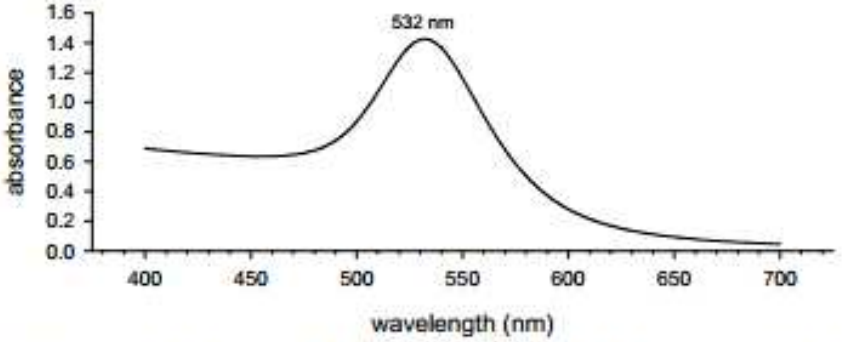


Figure 1. Representative optical absorbance spectrum for the native suspension, centered on the surface plasmon resonance peak for Au. Wavelength of peak maximum is indicated.

Asymmetric-Flow Field Flow Fractionation (AFFF): This representative chromatographic trace was obtained with on-line static light scattering, UV-vis diode array, and DLS detectors under the following conditions: native sample diluted 10-fold in ultrapure deionized water; mobile phase: ultrapure deionized water; membrane: 30 kD polyvinylidenedifluoride (PVDF); channel thickness: 350 μm; channel flow: 0.5 mL min^{-1}; cross flow: 1 mL min^{-1}; injection volume: 100 μL. Peak-center retention time is indicated numerically. Retention time is determined from the endpoint of the focusing step following injection. Duplicate measurements agreed to within 0.01 min peak retention. A representative trace is presented in Figure 2.

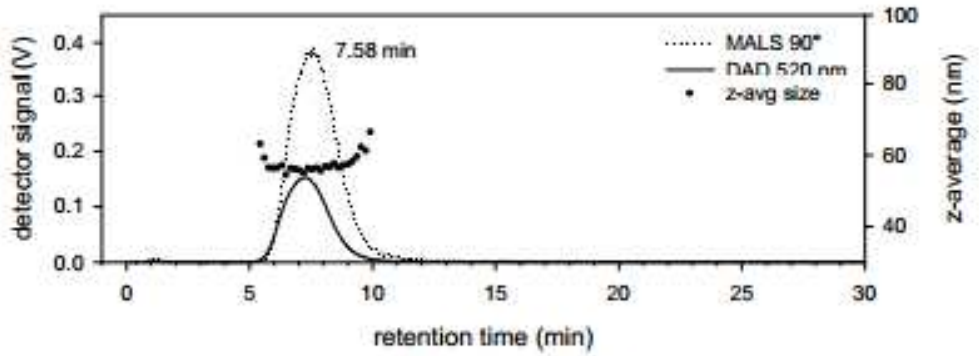


Figure 2. AFFF retention trace showing detector response for 90° light scattering and 520 nm optical absorption. The z-average hydrodynamic diameter values are given across the peak trace.

Sterility and Endotoxin Assessment[1]**:** Sterility was tested by plating RM 8013 on standard Luria-Bertani (LB) culture plates. No colony formation was observed after two days of incubation on LB plates for samples taken before or after sterilization with gamma radiation. Endotoxin was not detected at a level of 2 pg mL^{-1} in samples taken before or after gamma irradiation.[2]

Electron Microscopy Imaging: Representative micrographs are presented in Figure 3.

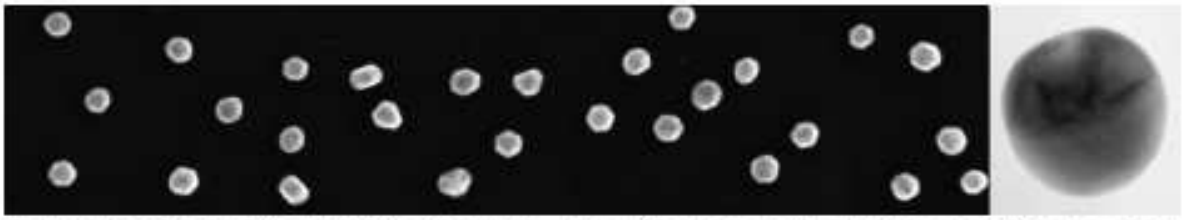


Figure 3. Combined SEM and TEM micrographs. On left: image of Au particles sampled from a single representative SEM scan. On right: high magnification TEM image revealing internal structure and faceting for a single Au particle.

Size Distribution Histograms: Histograms generated by AFM, SEM, TEM and ES-DMA analysis are shown below in Figures 4, 5, 6 and 7, respectively. Binning was performed at a resolution of approximately 1 bin nm^{-1}. Corresponding data sets were used to derive the reported reference values for these methods.

[1] Certain commercial equipment, instruments, or materials are identified in this report in order to adequately specify the experimental procedure. Such identification does not imply recommendation or endorsement by the National Institute of Standards and Technology, nor does it imply that the materials or equipment identified are necessarily the best available for the purpose.

[2] The limulus amoebocyte lysate (LAL) assay was used to detect and measure bacterial endotoxin. Due to interference at the detection wavelength (405 nm) used to quantify the results of the underlying enzymatic reaction, Au particles were removed from the solution by centrifugation at 20,000 g prior to analysis. To test for potential loss of endotoxin due to this procedure, samples of RM8013 were spiked with lipopolysaccharide (LPS). Spiked samples exhibited some retention; detecting a small absorbance value when subtracting a high background is a potential significant source of uncertainty for these test results. Additionally, this assay cannot exclude the presence of endotoxin previously adsorbed to the Au particles and removed during centrifugation. Samples for analysis were prepared from ampoules randomly selected before and after gamma irradiation.

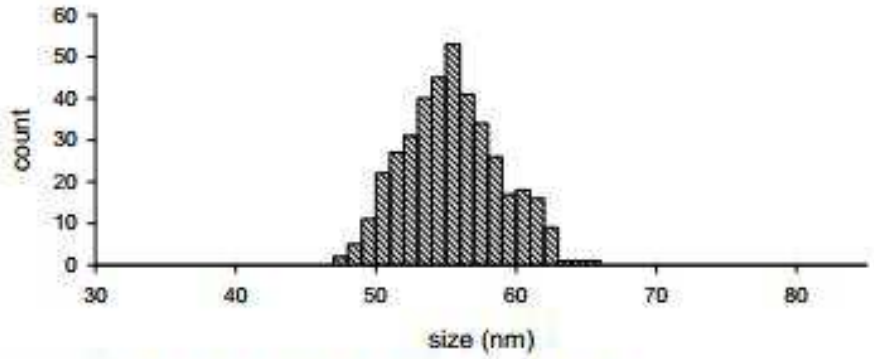


Figure 4 Particle size histogram generated by AFM analysis

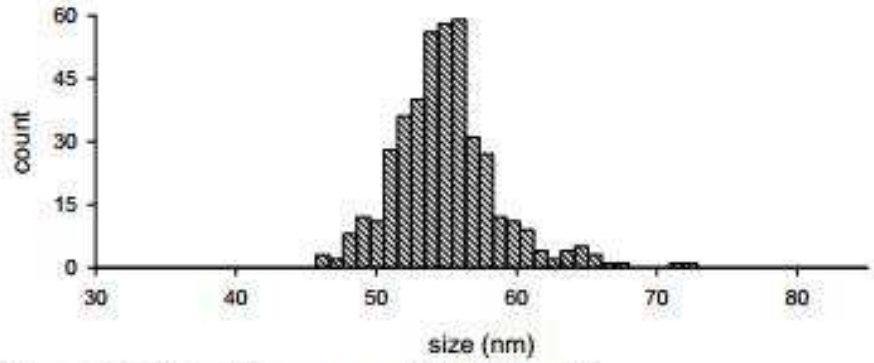


Figure 5. Particle size histogram generated by SEM analysis.

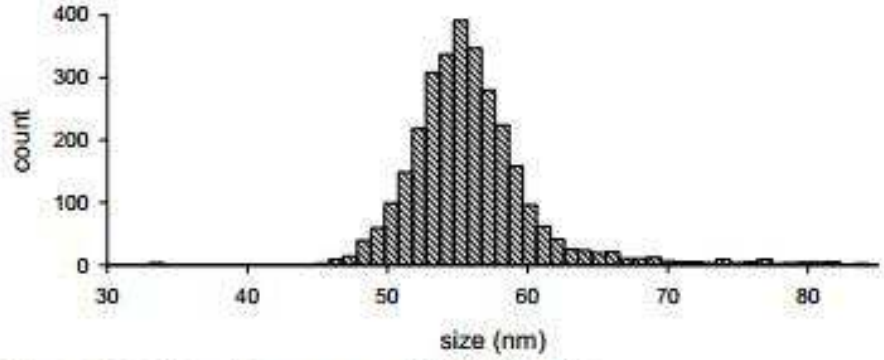


Figure 6. Particle size histogram generated by TEM analysis.

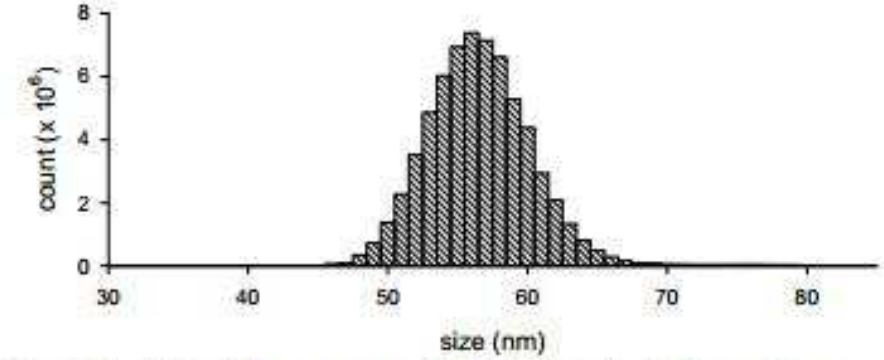


Figure 7. Particle size histogram generated by ES-DMA analysis. Bins containing counts attributable to salt particles have been removed.

NOTICE AND WARNING TO USERS

Handling and Storage: Until required for use, the RM should be **stored at room temperature** in its original ampoule and package, and protected from intense direct light or ultraviolet radiation. Refrigeration is not necessary and is discouraged. Ampoules are best stored long term in a horizontal position. Settling of Au particles is to be expected when the ampoule is left undisturbed for a period of several days or longer, but sediment should resuspend without significantly impacting the size distribution.

Caution: Ampoule contents **should not be allowed to freeze**, as this will permanently compromise the integrity of the material and invalidate reference values. A color change from red-pink to purple or clear indicates that the RM has been compromised. Occasionally, a visible black speck will be observed in an ampoule containing an otherwise translucent red-pink (i.e., normal) solution; this does **not** indicate the sample has been compromised; the specks settle rapidly and can easily be separated from the test material.

Warning: Not for clinical use or human consumption.

INSTRUCTIONS FOR USE

Prior to opening, the glass ampoule containing the RM should be gently inverted several times to insure homogeneity and resuspension of any settled particles. Liquid retained in the upper portion of the ampoule (the nipple), can be dislodged by gently flicking the nipple with forefinger while tilting the ampoule. The ampoule is pre-scored and should be opened by applying moderate pressure with one's thumb to snap off the nipple. It is recommended that the contents of an ampoule be used the same day as opened. Clean laboratory sealing film can be applied to seal a previously opened ampoule for short term storage. If it is necessary to use an ampoule over two or more days, then certain precautions should be taken: opening the ampoule in a clean bench (HEPA filtered) environment using sterile procedures (ethanol rinse), and sealing with ethanol-rinsed laboratory sealing film (optionally, one can transfer the suspension to a clean, sterile plastic or glass vial with a sealing cap), should prolong the useful life of opened ampoules for up to 7 days. Viability after longer term storage cannot be guaranteed, but may be possible if these additional precautions are followed.

PREPARATION AND ANALYSIS

Material Source and Processing: The material used to produce RM 8013 was purchased from BB International of Cardiff, UK. A colloidal Au suspension was prepared to NIST specifications using the citrate-reduction method in a single 8 L batch at their manufacturing facility in the UK. The suspension was shipped in 1 L polycarbonate bottles, and recombined at NIST in a sterile protein-free 10 L borosilicate glass flask. Recombination was performed in a HEPA-filtered clean bench using sterile procedures. The suspension was subsequently flame-sealed into Wheaton 5 mL pre-scored USP Type I glass ampoules using an automated process. Prior to use, the ampoules were cleaned with high pressure deionized water and autoclaved, then flushed with argon gas prior to and during filling. The sealed ampoules containing the Au suspension were sterilized with cobalt-60 gamma radiation to a minimum dose of 31.9 kGy by Neutron Products Inc. of Dickerson, MD.

Heterogeneity Assessment: During the filling process, ampoules were stored in boxes numbered 1 through 11, with box number corresponding to fill order. Heterogeneity testing was performed using measurements of optical density (OD) at 520 nm, hydrodynamic size, and relative Au mass fraction. Measurements of OD and hydrodynamic size (determined by DLS), were performed on native solutions. For these measurements, two samples were extracted from each of 11 randomly selected ampoules (one from each box), for a total of 22 samples for each method. The likelihood ratio [3] (to check if a model that ignores the ampoule effect and a model with the ampoule effect are similar) and ANOVA tests conclude that ampoules are homogeneous for hydrodynamic size and OD.

Au content was evaluated using inductively-coupled plasma optical emission spectrometry performed on 4 samples extracted gravimetrically from each of 11 randomly selected ampoules (one from each box). Analysis followed addition of an internal standard, acid digestion, and dilution with high-purity water. Relative Au mass fraction was calculated as relative instrument sensitivity values. Although likelihood ratio and ANOVA tests, for a level of confidence of 95 %, conclude that there is statistically significant heterogeneity present, the largest and smallest ICP-OES relative sensitivity values differ by only approximately 2 %. Thus, the magnitudes of the observed heterogeneities are probably negligible in relation to the intended use of this material.

Value Assignment and Uncertainty Analysis: Analyses to establish reference values were conducted at NIST using best practices as determined independently for each measurement method. Analyses were performed on replicate (typically two) subsamples drawn from randomly selected (typically four) ampoules of material; subsample sizes and methods were left to the discretion of the expert analyst. For AFM and SEM, the reference values are the

means of the measurement results, and the uncertainty level is based on a confidence interval approach [2], with an expanded uncertainty calculated as $U = ku_c$, where the combined uncertainty (u_c) is calculated as the estimated standard deviation of the mean and the coverage factor (k) is the expansion factor of 2 based on the Student's t multiplier associated with a level of confidence of 95 %. For TEM, ES-DMA, and DLS, reference values were calculated from the ampoule means and the uncertainty level is based on a prediction interval approach [4], where the combined uncertainty is calculated as the standard deviation of the ampoule means multiplied by $\sqrt{1+1/N}$ (N is the number of ampoules analyzed) and the coverage factor is based on a t multiplier with N-1 degrees of freedom, for a 95 % expanded uncertainty interval. For SAXS, the restricted maximum likelihood (REML) estimation method [5] was used to fit a linear mixed-effects model [6] with average size, between-instrument variability, and within-instrument variability as parameters. The REML estimate for the average size is the reference value and the REML estimates for the variation of results between- and within-instruments are combined using a root sum of squares to obtain a combined standard uncertainty, u_c [2]. The expanded uncertainty displayed is a confidence limit calculated as $U = ku_c$, where k is the expansion factor associated with a level of confidence of 95 %.

METHODS FOR REFERENCE VALUE MEASUREMENTS

Atomic Force Microscopy (AFM): AFM probes the surface forces between a cantilever tip and the sample deposited on a flat substrate. The tip is rastered over the analysis area producing a 3D topographic image. Height measurements can be obtained with sub-nanometer precision. A Veeco Multimode AFM was used for measurements. Height measurements were calibrated using a silicon step-height transfer artifact (SH70-C19-R19) with a value of 68.9 nm ± 0.7 nm (NIST Calibrated-AFM, Precision Engineering Division) following the prescribed procedure for calibration. Intermediate contact ("tapping") mode was used with a Veeco RTESP phosphorus (n) doped silicon cantilever for imaging (resonance frequency 300 kHz, spring constant 40 N m^{-1}). Atomically flat polycrystalline Au on mica was used as a substrate in order to provide a consistent baseline for size measurements with minimal interference from surface roughness.

To prepare samples for analysis, approximately 1 mL aliquots of native suspension from 2 randomly selected ampoules were placed into 1.5 mL microtubes and centrifuged at 5 krpm for 5 min. A portion of the supernatant from each microtube was then removed and replaced with deionized water to obtain a 3-fold dilution of the native suspension. No change in stability of the suspension was observed during this process. A droplet of each diluted suspension was then placed on the Au substrate and dried at 70 °C. The maximum height with reference to the baseline substrate was recorded as the size (diameter) of the Au particle. Images were collected from different areas of the deposited substrate. Height profiles representing 300 particles from one ampoule and 100 particles from the second ampoule were individually analyzed to acquire the size distribution and mean.

Scanning Electron Microscopy (SEM): In SEM the sample is imaged using low-energy secondary electrons in a process that employs a raster-scanned primary beam. An FEI Helios Dual-Beam SEM was used for imaging, with the following conditions: 15 keV accelerating voltage, 86 pA beam current, 30 µs beam dwell time for each image pixel, and 3.5 mm sample working distance. Image contrast and brightness were set so that a good balance between detail and distinction from background was achieved. For scale calibrations of X and Y directions a VLSI Standards NanoLattice sample was used. This artifact was calibrated on NIST's Calibrated Atomic Force Microscope (C-AFM) by R.G. Dixson of the NIST Precision Engineering Division, who determined a pitch value of 99.98 nm with an uncertainty of 1.5 nm ($k = 2$). Samples were imaged at 250 k× magnification. A digital capture resolution of (2048 × 1886) pixels was used for all images. Under these conditions, a nominal 60 nm particle will yield an area of roughly (100 × 100) pixels.

The software package ImageJ v1.37 (available from the National Institutes of Health: http://rsb.info.nih.gov/ij/) was used for image processing and data analysis. The Otsu threshold algorithm was implemented to produce a binary image in which the particles are white and the background is black. The outlines of particles as traced by ImageJ were used to check the quality of the particle separation from their background in order to discriminate between single particles and aggregates. The area data for each numbered particle as obtained from ImageJ were first converted to an effective spherical diameter value in pixel units, which was then converted to length units (nm) based on the pitch calibration. A total of 425 particles were analyzed on samples prepared from 3 randomly selected ampoules.

Substrates were prepared by placing a drop of aminopropyldimethylethoxysilane (ADMES) on a clean 5 mm × 5 mm Si substrate cleaved from a 100 mm diameter wafer. The untreated wafer supports a thin, native oxide layer. The ADMES was allowed to react for 2 h to 6 h, after which excess silane was rinsed off with isopropanol followed by deionized water. For analysis, the Au particles were then deposited onto the derivatized substrate by contacting with a droplet of native suspension for a period of 1 h to 2 h. The deposited substrate was

then rinsed with isopropanol followed by deionized water, and dried by gently blowing with filtered dry nitrogen prior to analysis. Samples were analyzed as deposited; a conductive coating was not required.

Transmission Electron Microscopy (TEM): TEM measures the projected image of particles deposited onto an electron-transparent substrate. Internal structure, as well as surface morphology, may contribute to the image appearance. A Philips EM400T TEM, operating at 120 kV and equipped with an Olympus Cantega bottom mount CCD camera, was used for measurement of deposited samples. Frames were captured at an exposure time of 2 s. The magnification of the microscope/camera system was calibrated using negatively stained catalase crystals and analyzed by the CRISP software package (http://www.calidris-em.com/). TEM images were analyzed in the IgorPro (http://www.wavemetrics.com/) software package using custom macros written by B.M. Vogel of the NIST Polymers Division. Particle size was determined by measuring the contiguous area of pixels that fall within the threshold set for a particular micrograph. This area was then used to determine the equivalent diameter assuming a spherical particle. Therefore, the average particle size does not consider any pronounced faceting. The circularity value, defined as $P^2/4\pi A$ (where P is the particle perimeter and A is its area), approaches 1 for an ideal circle. Particles with circularities of 6 or higher were not counted to minimize aggregate/artifact inclusion in the size analysis.

The substrate consisted of a 3 mm Cu grid with a 10 nm continuous film of silicon monoxide that was functionalized with aminopropydimethylethoxysilane (ADMES). The substrate was prepared by contacting a commercial grid with about 20 µL of ADMES while sealed in a glass vial to trap vapor and prevent evaporation. After 1 h the grids were removed and dip-washed in ethanol and allowed to dry. To prepare a sample for analysis, one droplet (roughly 8 µL) of native Au suspension was placed on a functionalized grid presented on a stud suspended above a reservoir containing water. A cover was placed over the assembly to prevent evaporation of the Au suspension. After 1 h the grids were dip-washed in distilled water and then ethanol to remove any remaining suspension. The grids were then dried at room temperature prior to measurement. A total of 3030 particles were analyzed on grids prepared from 4 randomly selected ampoules.

Electrospray – Differential Mobility Analysis (ES-DMA): In ES-DMA the liquid suspension is first conveyed into the gas phase using electrospray ionization. The resulting droplets pass through a neutralizing chamber where collisions with charged ions reduce the charge to a modified Boltzmann distribution [7]. Consequently, most of the positively charged particles left after the droplets evaporate possess a single net charge. As they dry, residual salts or other nonvolatile impurities encrust the surface. Within the analysis chamber charged particles are attracted to a negatively biased center electrode, while being dragged along by a carrier gas. Particles for which the electrical force balances the drag force pass through a collection slit, after which a condensation particle counter enumerates the number of particles passing through the detector per cubic centimeter of gas flow. Stepping through the voltage yields a particle size distribution. The experimental system used in this study consisted of an electrospray aerosol generator (Model 3480, TSI Inc.), a differential mobility analyzer (Model 3080n, TSI Inc.) and a condensation particle counter (Model 3025, TSI Inc.). The following conditions were used: capillary diameter, nominally 25 µm; electrospray voltage, 1.67 kV to 2.78 kV; CO_2 pressure and flow rate, 6.89×10^4 Pa and 0.2 L min^{-1}; air pressure and flow rate, 2.55×10^4 Pa and 1.0 L min^{-1}; sheath/carrier gas flow rate, 10 L min^{-1}; flow entering the particle counter (supplemented by filtered air), 1.5 L min^{-1}. The baseline cut off value was set at 30 counts to ensure clear separation between peaks and to account for baseline noise.

Conversion of DMA voltages to equivalent diameters and generation of the particle size distribution were achieved using equations and parameters specified by the commercial vendor of the ES-DMA instrumentation. To account for the thickness of any nonvolatile salts encrusted on the surface of the particles, the mode diameter of the salt peak was determined and subtracted from the subsequent particle sizes, after which the number average diameter was calculated for each sample.

From each of 4 randomly selected ampoules, 900 µL of native suspension was transferred to low-binding microfuge tubes and centrifuged for 12 min at 7.6 krpm. Afterwards, 850 µL of clear supernatant was removed and 500 µL of 2 mmol L^{-1} ammonium acetate solution at pH 8 was added to the tube. A vortex mixer was used to re-homogenize samples, which were then subjected to ES-DMA.

Dynamic Light Scattering (DLS): DLS, also known as photon correlation spectroscopy (PCS) and quasi-elastic light scattering (QELS) is a technique in which the random fluctuation of scattered light from a suspension of Brownian particles dispersed in a liquid medium is measured on a timescale of µs. Intensity fluctuations arise from the size-dependent thermally induced motion of the particles and the refractive contrast between the particles and medium. Photon counts are collected and then processed by a correlator to generate an autocorrelation function (ACF) expressed as the correlation coefficient versus correlator delay time. Backscatter DLS measurements were performed using a Malvern Zetasizer-Nano ZS. Measurement parameters were as follows: laser wavelength, 633 nm (He-Ne); scattering angle, 173°; number of sub-runs (typically), 12; 50 % of sub-runs with highest intensity

were removed as a dust rejection filter, yielding a total measurement duration for analysis (typically) of 60 s; measurement temperature, 20 °C ± 0.1 °C; medium viscosity, 1.0031 mPa-s, medium refractive index, 1.330. Measurements at 90° scattering angle were performed using a Malvern Zetasizer 3000HS under conditions identical to those described for backscatter measurements, except as follows: automatic dust rejection routine enabled, 200 µm aperture used before detector, total duration (with sub-runs) typically 300 s to 360 s. ACFs were fit using the cumulants method as defined by ISO 13321:1996(E) [8]. Data points used in the analysis were obtained by selecting a sub-set of points logarithmically spaced (weighted quadratically) and normalizing these by subtracting the baseline. A last point cut-off at 10 % of signal was applied to the fit. From this analysis the z-average effective-sphere hydrodynamic diameter and polydispersity index (PI) were calculated. Qualification of instrument performance was checked using NIST SRM 1964 (Nominal 60 nm Diameter Polystyrene Spheres).

All sample preparation steps were performed within a HEPA-filtered clean bench. For analysis, the native material was diluted 10-fold into 2 mmol L^{-1} NaCl solution; preliminary tests indicated a concentration-dependence of the measured size at lower dilution factors. Diluted Au suspension was passed through a 0.45 µm PVDF membrane that exhibits low affinity for Au. The diluted sample was loaded into a quartz microcuvette (3 mm path length) for backscatter measurements or a glass cuvette (10 mm path length) for 90° measurements. For each instrument, 5 replicate measurements were performed on each sample and the mean result was recorded. Two aliquots (samples) were tested from each of 4 randomly selected ampoules for a total of 8 measurement results (40 individual measurements) from which the reference value was determined.

For measurements at 90°, observation of a secondary decay in the correlation function characterized by a relaxation time of between 20 µs and 40 µs, may indicate the presence of rotational diffusion or another yet unidentified artifact. Rotational contributions to the ACF could bias the results toward smaller sizes, but the magnitude of this bias on the z-average diameter is difficult to quantify.

Small-Angle X-ray Scattering (SAXS): In the SAXS technique, when a well-collimated, monochromatic beam of hard X-rays passes through a material, any nanometer-range inhomogeneities in the electron density scatter a small component of the beam into a small solid angle around the incident direction. Scattered intensity, I, is typically presented as a function of the modulus of the scattering vector, $Q = (4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$, where λ is the wavelength and θ is the scattering angle. SAXS data contains information regarding the size, shape, concentration and spatial arrangement of nanoscale inhomogeneities (or particles) present.

SAXS measurements were performed on two instruments that rely on different sample and x-ray optic geometries and x-ray sources. In the first case, measurements were obtained using a customized pin-hole collimated SAXS instrument (Rigaku RA-MICR007) with a Mo rotating anode source (Rigaku, Mo-$K\alpha$, λ = 0.73 Å) and a 2D image plate detector. The configuration produced a beam diameter of 300 µm at the sample plane and provided a Q-range from 0.01 $Å^{-1}$ to 2.0 $Å^{-1}$. Native suspensions from 2 randomly selected ampoules were loaded into static liquid cells with a path length of 2 mm. Two samples were analyzed from each ampoule along with a filtered deionized water blank. The data were reduced by radially averaging the 2D detector image and normalizing the data to the acquisition time. Q was calibrated using silver behenate powder [10], and data were converted to absolute intensity by normalizing with a glassy carbon reference sample (type 2B from Advanced Photon Source, Argonne National Laboratory). The reduced $I(Q)$ data were fit with a hard-sphere model that accounts for polydispersity in the spheres with a Schulz distribution using software available from the NIST Center for Neutron Research [11]. The mean particle diameter was determined from a χ-parameter minimized Levenberg-Marquardt fitting.

In the second case, measurements were obtained using the synchrotron-based double-crystal Bonse-Hart Ultra-SAXS instrument [11] at sector 32-ID of the Advanced Photon Source, Argonne National Laboratory [12]. In the configuration used, this instrument provided a Q-range from 0.0001 $Å^{-1}$ to 1 $Å^{-1}$ and absolute intensity calibration by primary methods. Raw data were collected in slit-smeared configuration at a beam energy of 11.5 keV (λ=1.078 Å). Scattering curves were corrected for background/matrix scattering by subtracting an appropriate water blank measurement. The slit-smeared scattered intensity data, $I(Q)$, were analyzed within the Igor software platform with an entropy maximization method [13] incorporating a spherical form factor. The macro is available as part of the Irena macro package on the APS web site (http://usaxs.xor.aps.anl.gov/index.html). Native suspensions from 2 randomly selected ampoules were loaded into static liquid cells with a path length of 1 mm. The remaining suspension from these ampoules was combined and loaded into a capillary flow-cell (mean path length 1.31 mm) equipped with a peristaltic pump, for analysis of the material under flowing conditions; flow improves statistical sampling and eliminates potential issues related to x-ray beam damage, bubble formation or particle settling. The beam size used for static cells was 0.4 mm × 0.4 mm and for the flow cell 0.4 mm × 0.8 mm.

A robust reference value is obtained by combining results from these two instruments to produce a single value for mean diameter that incorporates uncertainties due to variations in instrumentation, sample cell, x-ray source, and choice of fitting algorithm. The reference value was calculated from the mean primary component peak values generated by fitting the $I(Q)$ data resulting from each measurement with the assumption of a hard sphere.

REFERENCES

[1] May, W.; Parris, R.; Beck II, C; Fassett, J.; Greenberg, R.; Guenther, F.; Kramer, G.; Wise, S.; Gills, T.; Colbert, J.; Gettings, R.; MacDonald, B.; *Definitions of Terms and Modes Used at NIST for Value-Assignment of Reference Materials for Chemical Measurements*; NIST Special Publication 260-136; U.S. Government Printing Office: Washington, DC (2000); available at: http://www.nist.gov/srm/publications.cfm (accessed Nov 2012).

[2] JCGM 100:2008; *Evaluation of Measurement Data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*; (ISO GUM 1995 with Minor Corrections), Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM) (2008); available at http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf (accessed Nov 2012); see also Taylor, B.N.; Kuyatt, C.E.; *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*; NIST Technical Note 1297, U.S. Government Printing Office: Washington, DC (1994); available at http://www.nist.gov/pml/pubs/index.cfm (accessed Nov 2012).

[3] Tamhane, A.C.; Dunlop, D.D.; *Statistics and Data Analysis: From Elementary to Intermediate*; 1st ed., Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ (2000).

[4] Levenson, L.M.; Banks, D.L.; Eberhardt, K.R.; Gill, M.S.; Guthrie, W.F.; Liu, H.K.; Vangel, M.G.; Yen, J.H.; Zhang, N.F.; *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, Vol. 105, pp. 571-579 (2000).

[5] Neter, J.; Kutner, M.H.; Nachtsheim, C.J.; Wasserman, W.; *Applied Linear Statistical Models*; 4th ed., Irwin: Chicago, IL (1996).

[6] Searle, S.R.; Casella, G.; McCulloch, C.E.; *Variance Components*; New York: John Wiley (1992).

[7] Pinheiro, J.C.; Bates, D.M.; *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS;* New York: Springer (2000).

[8] Mulholland, G.W.; Donnelly, M.K.; Hagwood, C.R.; Kukuck, S.R.; Hackley, V.A.; Pui, D.Y.H.; *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, Vol. 111, pp. 257-312 (2006).

[9] ISO; *Particle size analysis - Photon correlation spectroscopy*; IS0 13321:1996(E); International Organization for Standardization: Genève, Switzerland (1996).

[10] Gilles, R., Keiderling, U. and Wiedenmann, A. *J. Appl. Cryst.*, Vol. 31, pp. 957-959 (1998).

[11] Kline, S.R., *J. Appl. Cryst.*, Vol. 39, pp. 895-900 (2006).

[12] Ilavsky, J.; Allen, A.J.; Long, G.G.; Jemian, P.R.; *Rev. Sci. Instrum.*, Vol. 73, pp. 1660-1662 (2002).

[13] Use of the Advanced Photon Source was supported by the U. S. Department of Energy, Office of Science, Office of Basic Energy Sciences, under Contract No. DE-AC02-06CH11357.

[14] Potton, J.A.; Daniell, G.J.; Rainford, B.D.; *J. Appl. Cryst.* Vol. 21, pp. 663-668 (1988).

Report Revision History: 09 November 2012 (Extension of expiration period; editorial changes); 13 December 2007 (Original certificate date).

Users of this RM should ensure that the Report of Investigation in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program: telephone (301) 975-2200; fax (301) 948-3730; e-mail srminfo@nist.gov; or via the Internet at http://www.nist.gov/srm.

ANNEXE 3

Spécification des produits Nexsil, suspension colloïdales de silice, fournies par la société NYACOL. Les suspensions qui ont été utilisées durant ces travaux de thèse sont encadrées en rouge.

NYACOL NANO TECHNOLOGIES, Inc.

NexSil™ Aqueous Colloidal Silica

NexSil™ aqueous colloidal silica products have been developed for use in a wide range of applications. NexSil products are available with a choice of particle sizes, surface areas and pH.

TYPICAL PROPERTIES:

SODIUM-STABILIZED COLLOIDAL SILICA SERIES

PRODUCT	TYPICAL PARTICLE SIZE, nm	TYPICAL SURFACE AREA, m^2/g	WT% SILICA AS SiO_2	pH @25°C	SPECIFIC GRAVITY	% Na_2O	PARTICLE CHARGE
NexSil 6	6	450	17	10.0	1.11	0.45	Negative
NexSil 8	8	330	30	9.8	1.2	0.45	Negative
NexSil 12	12	227	30	9.3	1.2	0.30	Negative
NexSil 12HS	12	227	40	9.8	1.3	0.40	Negative
NexSil 20	20	135	40	8.9	1.3	0.18	Negative
NexSil 85-40	50	55	40	9.5	1.3	0.20	Negative
NexSil 125-40	85	35	40	9.5	1.3	0.20	Negative

POTASSIUM-STABILIZED COLLOIDAL SILICA SERIES

PRODUCT	TYPICAL PARTICLE SIZE, nm	TYPICAL SURFACE AREA, m^2/g	WT% SILICA AS SiO_2	pH @25°C	SPECIFIC GRAVITY	% K_2O	PARTICLE CHARGE
NexSil 20K-30	20	135	30	9.2	1.2	0.10	Negative
NexSil 85K-40	50	55	40	9.8	1.3	0.30	Negative
NexSil 125K-40	85	35	40	8.9	1.3	0.10	Negative

ACIDIC COLLOIDAL SILICA SERIES

PRODUCT	TYPICAL PARTICLE SIZE, nm	TYPICAL SURFACE AREA, m^2/g	WT% SILICA AS SiO_2	pH @25°C	SPECIFIC GRAVITY	COUNTER ION	PARTICLE CHARGE
NexSil 20A	20	135	30	2.8	1.2	NA	Slightly Negative
NexSil 35A	35	80	30	2.8	1.2	NA	Slightly Negative
NexSil 85A	50	55	30	2.8	1.2	NA	Slightly Negative
NexSil 125A	85	35	30	2.8	1.2	NA	Slightly Negative

AMMONIA-STABILIZED COLLOIDAL SILICA SERIES

PRODUCT	TYPICAL PARTICLE SIZE, nm	TYPICAL SURFACE AREA, m^2/g	WT% SILICA AS SiO_2	pH @25°C	SPECIFIC GRAVITY	COUNTER ION	PARTICLE CHARGE
NexSil 20NH4	20	135	40	9.8	1.3	NH_3	Negative
NexSil 85NH4	50	55	40	9.8	1.3	NH_3	Negative
NexSil 125NH4	85	35	40	9.8	1.3	NH_3	Negative

NEXSIL APPLICATIONS:

NexSil colloidal silica was developed to be utilized in a range of applications. These materials may be used in applications related to:

- Production of vacuum-formed fibrous refractory products.
- Binder formulations for the production of materials such as granulated powders.
- Surface modification for anti-slip paper and cardboard coatings.
- Anti-blocking effects for films and coatings, including steel coatings.
- Catalyst production.
- Precision polishing of silicon wafers.
- Precision polishing of semiconductor substrates.
- Binder formulations for precision investment casting.

PACKAGING:

NexSil colloidal silica is offered in pails, drums and totes. Container net weights available upon request.

FOR ADDITIONAL INFORMATION OR TO PLACE AN ORDER:

Nyacol Nano Technologies, Inc.
Megunko Road
P.O. Box 349
Ashland, MA 01721-0349 U.S.A.

Telephone: 508-881-2220 Local Area
800-438-7657 Toll-Free
Fax: 508-881-1855
Internet: www.nyacol.com

Information herein is accurate to the best of our knowledge. Suggestions are made without warranty or guarantee of results. Before using, user should determine the suitability of the product for the intended use and user assumes the risk and liability in connection therewith. We do not suggest violation of any existing patents or give permission to practice any patented invention without a license. 20130206

ANNEXE 4

Certificat d'étalonnage du réseau utilisé pour étalonner l'AFM dans le chapitre 3 puis le MEB dans le chapitre 4, et ses annexes.

VLSI Standards Incorporated

CERTIFICATE OF CALIBRATION

SURFACE TOPOGRAPHY STANDARD

Model Number : **STS2** - 440P

Serial Number : 4531-35-018

Certification Program: sts2-440p-04.0

Substrate Material: Silicon die
Grid Pattern Material: Platinum coated silicon dioxide

CALIBRATED VALUES:

Grid Pattern Nominal Pitch	Mean Pitch	Expanded Uncertainty[1]	Mean Height[2]	Expanded Uncertainty[1]
1.8 µm :	(**1.803** ± **0.023**) µm		(**41.2** ± **0.7**) nm	
3 µm :	(**3.007** ± **0.027**) µm		(**41.2** ± **0.6**) nm	
5 µm :	(**4.991** ± **0.031**) µm		(**41.4** ± **0.6**) nm	

Pitch Reference Standard: NIST SRM 476 / BC-E-023-1-E2
NIST SRM 476 / BC-E-023-1-E7
NIST SRM 476 / BC-E-023-1-E6

Step Height Reference Standard: NIST Test # 821/281555-99 440/4342-12-22

Environmental conditions at the time of measurement:

Temperature: (20 ± 1) °C
Humidity: (55 ± 2) %

This standard is calibrated in compliance with ISO 10012:2003(E) and ANSI/NCSL Z540-1-1994.

Certificate data may not be reproduced, except in full, without authorization from VLSI Standards.

Terry Trinh
Calibration Technician

Paul Konicek
Quality Assurance

Shipment Date:

[1] *At the 95% confidence level, as defined by the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. The expanded uncertainty is obtained by multiplying the combined standard uncertainty by a coverage factor. Please see the Certificate of Calibration, Annex section.*
[2] *The Application Note specifies the location of the certified area.*

Page 1 of 1

VLSI Standards, Inc. Certification Program: sts2-440p-04.0

Certificate of Calibration - Annex 1 of 3

Surface Topography Standard

Model Number : STS2 - 440P
Serial Number : 4531-35-018
Calibration Date : 6/3/2010

Summary of measurand input and output quantities

Lateral (Pitch) Measurement

Input quantity

				Mean value
NISTc2	SRM pitch (NIST certificate)	... nominal pitch 2	µm	2.017 µm
NISTc3	SRM pitch (NIST certificate)	... nominal pitch 3	µm	3.000 µm
NISTc5	SRM pitch (NIST certificate)	... nominal pitch 5	µm	4.801 µm
NISTm2	SRM pitch (VLSI observation)	... nominal pitch 2	µm	2.0106 µm
NISTm3	SRM pitch (VLSI observation)	... nominal pitch 3	µm	2.9963 µm
NISTm5	SRM pitch (VLSI observation)	... nominal pitch 5	µm	4.8036 µm
Ym2	STS pitch (VLSI observation)	... grid pattern 1.8	µm	1.7975 µm
Ym3	STS pitch (VLSI observation)	... grid pattern 3	µm	3.0030 µm
Ym5	STS pitch (VLSI observation)	... grid pattern 5	µm	4.9940 µm

Output quantity

STS pitch (VLSI certificate)			Mean value
*Yc2 = NISTc2 / NISTm2 * Ym2*	... grid pattern 1.8	µm	1.803 µm
*Yc3 = NISTc3 / NISTm3 * Ym3*	... grid pattern 3	µm	3.007 µm
*Yc5 = NISTc5 / NISTm5 * Ym5*	... grid pattern 5	µm	4.991 µm

Vertical (Step Height) Measurement

Input quantity

		Mean value
NIST'c	Step height reference (NIST report of calibration)	46.27 nm
NIST'm	Step height reference (VLSI observation)	46.15 nm

Y'm2	STS step (VLSI observation)	... grid pattern 1.8	µm	41.11 nm
Y'm3	STS step (VLSI observation)	... grid pattern 3	µm	41.13 nm
Y'm5	STS step (VLSI observation)	... grid pattern 5	µm	41.34 nm

Output quantity

STS step height (VLSI certificate)			Mean value
*Y'c2 = NIST'c / NIST'm * Y'm2*	... grid pattern 1.8	µm	41.22 nm
*Y'c3 = NIST'c / NIST'm * Y'm3*	... grid pattern 3	µm	41.24 nm
*Y'c5 = NIST'c / NIST'm * Y'm5*	... grid pattern 5	µm	41.45 nm

Certificate of Calibration - Annex 2 of 3

Surface Topography Standard

Model Number : STS2 - 440P
Serial Number : 4531-35-018
Calibration Date : 6/3/2010

Summary of standard uncertainty components, combined standard uncertainty, degrees of freedom and expanded uncertainty coverage factor[1]

Lateral (Pitch) Measurement

Standard uncertainty of input quantity	Source of uncertainty		Value (μm)	Partial derivative	Combined component (μm)	Degrees of freedom	"Uncertainty of an uncertainty"
	SRM pitch						
Combined	(NIST certificate)						
u(NISTc2)	grid pattern	1.8 μm :	0.0048	0.89396	0.0043	8	25%
u(NISTc3)	grid pattern	3 μm :	0.0048	1.00221	0.0048	8	25%
u(NISTc5)	grid pattern	5 μm :	0.0048	1.03964	0.0050	8	25%
	SRM pitch						
Type A	(VLSI observations)						
u(NISTm2)	grid pattern	1.8 μm :	0.0001	0.89673	0.0001	8	25%
u(NISTm3)	grid pattern	3 μm :	0.0006	1.00344	0.0006	8	25%
u(NISTm5)	grid pattern	5 μm :	0.0003	1.03907	0.0003	8	25%
	STS pitch						
Type A	(VLSI observations)						
u(Ym2)	grid pattern	1.8 μm :	0.0002	1.00311	0.0002	4	35%
u(Ym3)	grid pattern	3 μm :	0.0011	1.00123	0.0011	4	35%
u(Ym5)	grid pattern	5 μm :	0.0004	0.99946	0.0004	4	35%
	STS pitch						
	(VLSI systematic effects of the edge roughness, grid pattern						
Type B	pitch uniformity and the instrument's optical image distortion)						
u(Ys2)	grid pattern	1.8 μm :	0.0087	1	0.0087	5	30%
u(Ys3)	grid pattern	3 μm :	0.0101	1	0.0101	5	30%
u(Ys5)	grid pattern	5 μm :	0.0115	1	0.0115	5	30%

Combined standard uncertainty:

$$u(Yci) = \sqrt{[Ymi / NISTmi * u(NISTci)]^2 + [Ymi * NISTci / NISTmi^2 * u(NISTmi)]^2 + + [NISTci / NISTmi * u(Ymi)]^2 + [u(Ysi)]^2}$$

				u(Yci)	ν(eff)	Coverage factor (95%)
u(Yc2)	grid pattern	1.8 μm :	.....	**0.0097** μm	7	2.36
u(Yc3)	grid pattern	3 μm :	.....	**0.0112** μm	7	2.36
u(Yc5)	grid pattern	5 μm :	.....	**0.0126** μm	6	2.45

[1] *As defined by the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement.*

Certificate of Calibration - Annex 3 of 3

Surface Topography Standard

Model Number : STS2 - 440P
Serial Number : 4531-35-018
Calibration Date : 6/3/2010

Summary of standard uncertainty components, combined standard uncertainty, degrees of freedom and expanded uncertainty coverage factor[1]

Vertical (Step Height) Measurement

Standard uncertainty of input quantity	Source of uncertainty		Value (μm)	Partial derivative	Combined component (μm)	Degrees of freedom	"Uncertainty of an uncertainty"
u(NIST'c)	Step height calibration reference						
Combined	(NIST report of calibration)						
	grid pattern	1.8 μm :	0.2550	0.89079	0.2272	8	
	grid pattern	3 μm :	0.2550	0.89122	0.2273	8	
	grid pattern	5 μm :	0.2550	0.89577	0.2284	8	
u(NIST'm)	Step height calibration reference						
Type A	(VLSI observations)						
	grid pattern	1.8 μm :	0.0867	0.89311	0.0774	8	25%
	grid pattern	3 μm :	0.0867	0.89354	0.0774	8	25%
	grid pattern	5 μm :	0.0867	0.89810	0.0778	8	25%
	STS step height						
Type A	(VLSI observations)						
u(Y'm2)	grid pattern	1.8 μm :	0.1567	1.00260	0.1571	8	25%
u(Y'm3)	grid pattern	3 μm :	0.0767	1.00260	0.0769	8	25%
u(Y'm5)	grid pattern	5 μm :	0.1200	1.00260	0.1203	8	25%
	STS step height						
	(VLSI grid pattern step height uniformity)						
Type B							
u(Y's2)	grid pattern	1.8 μm :	0.1277	1	0.1277	2	50%
u(Y's3)	grid pattern	3 μm :	0.1277	1	0.1277	2	50%
u(Y's5)	grid pattern	5 μm :	0.1277	1	0.1277	2	50%

Combined standard uncertainty:

*u(Y'ci) = sqrt {[Y'mi / NIST'm * u(NIST'c)]^2 + [Y'mi * NIST'c / NIST'm^2 * u(NIST'm)]^2 + [NIST'c / NIST'm * u(Y'mi)]^2 + [u(Y'si)]^2}*

				u(Y'ci)	v(eff)	Coverage factor (95%)
u(Y'c2)	grid pattern	1.8 μm :	.....	**0.3140** nm	17	2.11
u(Y'c3)	grid pattern	3 μm :	.....	**0.2826** nm	13	2.16
u(Y'c5)	grid pattern	5 μm :	.....	**0.2984** nm	15	2.13

[1] *As defined by the ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement.*