

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR des sciences fondamentales et appliquées
Pôle poitevin de recherche pour l'ingénieur en mécanique, matériaux et énergétique - PPRIMME
(Poitiers)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

École doctorale : Sciences et Ingénierie des Matériaux, Mécanique, Énergétique (Poitiers)
Secteur de recherche : Milieux denses et matériaux

Présentée par :
Loïc Crouzier

Développement d'une nouvelle approche hybride combinant AFM et MEB pour la métrologie dimensionnelle des nanoparticules

Directeur(s) de Thèse :
Christophe Tromas, Laurent Devoille

Soutenue le 17 juillet 2020 devant le jury

Jury :

Président	Christophe Petit	Professeur, Sorbonne Université, Paris
Rapporteur	Halima Alem-Marchand	Maître de conférences, ENSIC, Université de Lorraine, Nancy
Rapporteur	Jean-Hervé Tortai	Chargé de recherche CNRS, LTM, Grenoble
Membre	Christophe Tromas	Professeur, Pprime, Université de Poitiers
Membre	Laurent Devoille	Ingénieur de recherche, LNE, Trappes
Membre	David Babonneau	Directeur de recherche CNRS, Pprime, Poitiers
Membre	Emmanuel Flahaut	Directeur de recherche CNRS, CIRIMAT, Toulouse
Membre	Jean-François Hochepped	Maître de recherche, MAT, Mines Paristech, Paris

Pour citer cette thèse :

Loïc Crouzier. *Développement d'une nouvelle approche hybride combinant AFM et MEB pour la métrologie dimensionnelle des nanoparticules* [En ligne]. Thèse Milieux denses et matériaux. Poitiers : Université de Poitiers, 2020. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées

Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016

École Doctorale : SIMME

Secteur de Recherche : Milieux denses et matériaux

Présentée par :

Loïc CROUZIER

Développement d'une nouvelle approche hybride
combinant AFM et MEB pour la métrologie
dimensionnelle des nanoparticules

Directeurs de thèse : Christophe Tromas, Laurent Devoille

Soutenance le 17 Juillet 2020

JURY

Halima ALEM-MARCHAND	Maître de Conférences, Université de Lorraine	<i>Rapporteur</i>
Jean-Hervé TORTAI	Chargé de Recherche CNRS, LTM, Grenoble	<i>Rapporteur</i>
David BABONNEAU	Directeur de Recherche CNRS, Institut Pprime, Poitiers	<i>Examineur</i>
Emmanuel FLAHAUT	Directeur de Recherche CNRS, CIRIMAT, Toulouse	<i>Examineur</i>
Jean-François HOCHÉPIED	Maître de Recherche, Mines ParisTech, Paris	<i>Examineur</i>
Christophe PETIT	Professeur, Sorbonne Université, Paris	<i>Examineur</i>
Laurent DEVOILLE	Ingénieur de Recherche, LNE, Trappes	<i>Examineur</i>
Christophe TROMAS	Professeur, Université de Poitiers	<i>Examineur</i>

RÉSUMÉ

Afin de bénéficier des propriétés uniques des nanomatériaux liées à leur taille mais aussi d'évaluer leurs risques potentiels associés, les acteurs du secteur industriel ont besoin de s'appuyer sur des méthodes de mesure fiables, robustes et permettant d'obtenir l'ensemble des informations dimensionnelles requises. Cependant, il n'existe pas d'instrument capable de mesurer une nanoparticule dans les trois dimensions de l'espace avec une incertitude contrôlée. L'objectif de ces travaux est de combiner les mesures de diamètre par microscopie électronique à balayage (MEB) avec celles de hauteur par microscopie à force atomique (AFM). L'utilisation de particules de silice, supposée sphériques permet de valider cette approche hybride combinant AFM et MEB.

Le bilan d'incertitudes associé à la mesure de nanoparticules par MEB a d'abord été établi. Nous avons mis en évidence que la principale contribution au bilan d'incertitudes est la taille du faisceau électronique, difficilement mesurable.

Deux méthodes, fondées sur la simulation Monte Carlo, ont été mises en place pour évaluer l'influence de ce paramètre sur la mesure MEB. La première est fondée sur la comparaison entre les signaux expérimentaux et simulés. La seconde repose sur la segmentation des images MEB en utilisant un point remarquable, non influencé par les dimensions du faisceau électronique. Ces deux méthodes ont permis de montrer que l'erreur liée à la taille du faisceau était largement surestimée en utilisant les outils de segmentation d'images classiques.

À partir de ces résultats, une comparaison directe des mesures AFM et MEB a été réalisée sur les mêmes particules. Un écart systématique est observé entre les deux techniques pour les plus petites particules lié à leur non-sphéricité. L'utilisation d'une troisième technique, la microscopie électronique en transmission (MET) permet de confirmer ces observations. Enfin, l'approche de métrologie hybride a été mise en œuvre pour la mesure des trois dimensions caractéristiques de nanoparticules de formes complexes dont la morphologie était éloignée de celle de la sphère.

Mots clefs : Nanoparticule, métrologie, propriétés dimensionnelles, microscopie électronique à balayage, microscopie à force atomique, simulation Monte Carlo, microscopie électronique à transmission.

ABSTRACT

In order to take advantages of remarkable properties of the nanomaterials related to their size but also to assess their potential risks, industrial actors need to rely on robust measurement methods that provide all the required dimensional information. However, there is no instrument capable of measuring a nanoparticle in all three dimensions of space with controlled uncertainty. The aim of this work is to combine diameter measurements by scanning electron microscopy (SEM) with height measurements by atomic force microscopy (AFM). The use of silica particles, supposedly spherical, allows to validate this hybrid approach combining AFM and SEM.

First, the uncertainty budget associated with the measurement of nanoparticles by SEM was established. We have demonstrated that the main contribution to the uncertainty budget is the size of the electron beam, which is difficult to measure.

Two methods, based on Monte Carlo simulation, have been developed to evaluate the influence of this parameter on the SEM measurement. The first is based on the comparison between experimental and simulated signals. The second is based on the segmentation of the SEM images using a remarkable point, not influenced by the dimensions of the electron beam. These two methods have shown that the error related to the beam size is largely overestimated using conventional image segmentation tools.

From these results, a direct comparison of AFM and SEM measurements was performed on the same particles. A systematic discrepancy was observed between the two techniques for the smallest particles related to their non-sphericity. The use of a third technique, transmission electron microscopy (TEM), confirms these observations. Finally, the hybrid approach has been implemented for measuring the three characteristic dimensions of the complex-shaped nano-objects with very non-spherical morphology.

Keywords: Nanoparticles, metrology, dimensional properties, scanning electron microscopy, atomic force microscopy, Monte Carlo simulation, transmission electron microscopy

REMERCIEMENTS

Ce manuscrit est le fruit de trois années de recherche au Laboratoire National de métrologie et d'Essais et à l'Institut Pprime. Ces trois années ont été extrêmement enrichissantes mais malheureusement trop courtes. J'ai eu le privilège d'effectuer de nombreuses rencontres et je souhaite, par ces quelques lignes, remercier les personnes qui m'ont permis de faire de cette thèse ce qu'elle est aujourd'hui.

Je souhaite tout d'abord exprimer mes plus profonds remerciements à mes directeurs de thèse Christophe Tromas et Laurent Devoille, pour tous leurs conseils, le soutien qu'ils ont pu m'apporter et toutes les connaissances qu'ils ont partagées avec l'enthousiasme et la bienveillance qui les caractérise. Combien de discussions avons-nous eues ? Je leur témoigne ma plus vive gratitude pour leur appui constant et la richesse qu'ils ont apportée à ce travail.

Je tenais également à remercier Halima Alem-Marchand, maître de conférences à l'Université de Lorraine, et Jean-Hervé Tortai, chargé de recherche au CNRS, pour avoir accepté de rapporter ce manuscrit. Je remercie également, David Babonneau et Emmanuel Flahaut, directeurs de recherche au CNRS, Jean-François Hochepped, maître de recherche au CNRS et Christophe Petit, professeur, pour m'avoir fait l'honneur d'être membres du Jury et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Dans ces remerciements, je ne peux pas oublier Bruno Hay qui a bien voulu m'accueillir au sein de son équipe. Une pensée particulière à Nicolas Feltin pour toutes ces discussions et ces heures à débattre sur le monde si particulier de la métrologie, son soutien au fil de ces années et surtout la confiance qu'il a su m'accorder. Quant à Alexandra Delvallée qui m'a tant aidé et tant supporté, encore merci d'avoir partagé le bureau M101 durant ces années. Je souhaitais aussi remercier l'illustre concepteur de l'AFM métrologique français, Sébastien Ducourtieux, pour tous ses conseils sur l'AFM, ses astuces et sa diplomatie qui m'ont tant servi. Un grand merci encore à tous les collègues de l'équipe CARMEN et du bâtiment Maxwell avec qui j'ai partagé des années riches en apprentissage et en bonne humeur : Nora, Carine, Georges, Najoua, Warda, Dourati et à tous les autres...

Je remercie également Frédéric Pailloux, pour tous ces conseils, son expérience et les magnifiques images de microscopie électronique en transmission. Je le remercie pour l'intérêt sincère qu'il a porté à mes travaux de thèse ainsi que Marc Marteau pour les nombreuses implantations ioniques qu'il a réalisées.

J'exprime toute ma gratitude à John Villarrubia pour les échanges que nous avons eus et sur ces nombreux conseils sur l'utilisation de JMONSEL.

Enfin, les mots les plus simples étant parfois les plus forts, j'adresse toute mon affection à ma famille pour m'avoir fait aimer l'école, les contrôles, et pour m'avoir montré qu'aucune richesse n'équivaut celle du travail.

La liste ne serait sans doute pas complète sans Anne-Sophie, pour m'avoir tant encouragé, soutenu et pour avoir su trouver les mots toutes ces années pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

PRÉAMBULE

Ces travaux de thèse ont été réalisés dans le cadre d'une convention CIFRE (Convention Industrielle de Formation par la REcherche) avec un partenariat entre le Laboratoire National de métrologie et d'Essais (LNE) à Trappes et l'Institut Pprime à Poitiers. Ce partenariat s'est manifesté par une présence sur les deux établissements à hauteur de 80 % au LNE et 20 % à l'Institut Pprime, où plusieurs déplacements sur site de plusieurs semaines à un mois ont été organisés.

Le LNE est depuis 2005 le pilote de la métrologie française. Ses missions sont de réaliser, mettre à disposition et conserver les unités du Système International d'unités (SI) au niveau national. Il doit également développer des outils et des méthodes permettant de rendre les résultats d'un processus de mesurage comparables par tous. Dans le domaine des nanosciences, cette mission passe notamment par le développement de nouveaux étalons spécifiques pour la mesure à l'échelle nanométrique (de 1 nm à 100 nm) ou par le développement de bancs et de méthodes permettant l'évaluation des bilans d'incertitudes associés aux processus de mesurage des propriétés des nanomatériaux.

L'Institut Pprime est une unité propre de recherche du Centre National de la Recherche Scientifique (UPR CNRS 3346) créée en 2010 et située à Poitiers. Une partie des activités de recherche de l'institut se portent sur l'étude des propriétés des matériaux à différentes échelles : du nanoscopique (structure atomique) au macroscopique (composants structuraux). Dans le cadre de ses travaux, l'Institut Pprime a permis lors de cette thèse l'apport de ressources et d'outils complémentaires non présents au sein du LNE : microscopie électronique en transmission, microscope à force atomique (Peak Force), dispositifs d'implantation ionique...

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les acteurs impliqués dans le domaine des nanotechnologies et nanosciences s'accordent sur le manque de métrologie et d'instrumentations adaptées à l'échelle nanométrique. Cette situation freine le développement des nanomatériaux. 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.

Les agences de surveillance et 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 déterminante pour évaluer la dangerosité potentielle des nanomatériaux. Ainsi, il est urgent de développer des instruments capables de mesurer de manière spécifique les nanoparticules.

Dans ce contexte, le LNE développe depuis 2010 une plateforme de CARactérisation MEtrologique des Nanomatériaux (CARMEN) qui permettra 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 la plateforme ont également pour objectif de mettre en place les chaînes de traçabilité des mesurandes (grandeurs soumises à mesurage) liés à la caractérisation des nanoparticules. Cette plateforme, installée dans un environnement contrôlé, est mise au service de l'industrie et du monde académique. Elle est constituée d'un ensemble d'instruments nécessaires pour la mesure des paramètres caractéristiques des nanoparticules définis par les travaux de l'ISO TC 229/SC (comité en charge de la normalisation des nanomatériaux) :

- la taille des particules et la distribution granulométrique.
- l'état d'aggrégation/agglomération dans le milieu considéré.
- la forme.
- l'aire de surface (massique ou volumique) .
- la composition.
- la composition chimique de surface.
- la charge superficielle.
- la solubilité.
- la dispersibilité.

Ainsi, cette plateforme comprend divers instruments tels que : un microscope à force atomique, un microscope électronique à balayage, un diffractomètre à rayons X, un équipement permettant la mesure de surface spécifique par méthode BET (Brunauer Emmett et Teller), un instrument DLS (Diffusion dynamique de la lumière ou Dynamic Light Scattering) permettant également la mesure du potentiel Zêta...

Les paramètres dimensionnels (taille, forme, distribution en taille et état d'agglomération) d'une population de nanoparticules sont ainsi considérés par les experts comme des paramètres clefs à prendre en compte. De plus, la détermination de ces paramètres dimensionnels est également nécessaire pour les aspects réglementaires. Leur caractérisation constitue donc un enjeu majeur pour l'identification des nanoparticules.

Les travaux décrits dans cette thèse ont pour objectif de développer une méthode permettant de déterminer les propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule dans les trois dimensions de l'espace avec une incertitude contrôlée afin d'être en mesure de répondre aux exigences réglementaires. Cependant, aucune technique simple à mettre en œuvre à grande échelle ne permet d'effectuer une mesure des propriétés tridimensionnelles d'une population de nanoparticules.

Ainsi, les travaux menés lors de cette thèse visent à développer une méthode, dite métrologie hybride, permettant d'effectuer une mesure des propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules dans les trois dimensions de l'espace en associant deux techniques jugées complémentaires : la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie à force atomique (AFM). En effet, le MEB ne donne aucune information suivant l'axe Z mais sa résolution dans le plan XY est de l'ordre du nanomètre. A l'inverse, à cause de la convolution entre la pointe de l'AFM et l'échantillon, la technique AFM donne une information entachée d'une forte incertitude dans le plan XY, alors que sa résolution est très bonne suivant l'axe Z.

Le premier chapitre de ces travaux permettra de définir les nanomatériaux, de présenter certaines applications liées aux propriétés spécifiques de ces matériaux mais également les problèmes liés à leur utilisation et les nouvelles réglementations qui en résultent. Le rôle déterminant de la métrologie dans le domaine de la caractérisation des nanomatériaux sera ainsi mis en évidence. Pour finir, ce chapitre dressera une liste des techniques de caractérisation actuellement utilisées pour caractériser les propriétés dimensionnelles des nanomatériaux. Une attention particulière sera portée sur les limites et les incertitudes de mesures associées à chaque technique.

Le deuxième chapitre s'attachera à décrire les différents appareillages et la méthodologie utilisés au cours de cette thèse. Ainsi, les différentes techniques expérimentales de caractérisation utilisées ainsi que les protocoles mis en œuvre seront décrits au travers de quatre étapes fondamentales dans l'analyse dimensionnelle des nanoparticules :

- la préparation des échantillons.
- la qualification et l'étalonnage des instruments.
- l'acquisition des données.
- le traitement des données.

Le troisième chapitre s'attachera à effectuer un bilan d'incertitudes pour les deux techniques de microscopie utilisées dans le cadre de l'approche par métrologie hybride. En effet, seule l'utilisation

de ces bilans d'incertitudes permettra de relier les mesures AFM et MEB afin de donner une information sur la forme et la taille des particules dans les trois dimensions de l'espace. L'évaluation de l'incertitude associée à la mesure des propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule par MEB mettra en évidence le paramètre le plus pénalisant du bilan d'incertitudes : les dimensions du faisceau électronique.

Le quatrième chapitre repose sur la simulation de l'interaction électron/matière du faisceau MEB par la méthode Monte Carlo. L'objectif est d'améliorer le bilan d'incertitudes MEB ainsi que la compréhension du signal mesuré. L'accent sera mis en particulier sur la problématique de la taille du faisceau, paramètre difficilement contrôlable sur le plan expérimental. La simulation du faisceau sera également mise à profit pour tester et valider d'autres méthode de segmentation (analyse d'image).

Le chapitre 5 s'attachera enfin à confronter et combiner les mesures AFM et MEB sur les mêmes particules afin, grâce aux bilans d'incertitudes précédemment réalisés, d'en extraire les informations tridimensionnelles quantitatives pertinentes. Cette approche sera rendue possible grâce à l'utilisation d'un système de repositionnement permettant de repérer avec les deux techniques les mêmes zones d'intérêt sur l'échantillon étudié. Enfin, comme les techniques AFM et MEB donnent deux mesures indépendantes, une troisième technique, moins facile d'accès, sera utilisée dans ces travaux pour faire le lien entre les deux techniques : la microscopie électronique en transmission en mode STEM HAADF. Ainsi, grâce à l'utilisation de cette technique, la complémentarité entre les techniques AFM et MEB sera validée, ainsi que l'approche par métrologie hybride.

La majeure partie de ces travaux a été réalisée sur des particules de silice de forme simple (sphériques). En conclusion, nous mettrons en évidence comment ces travaux ont permis d'arriver à proposer un protocole d'essai qui est d'ores et déjà repris par d'autres études. De plus, au titre de perspectives, les premiers résultats obtenus en utilisant cette approche sur des particules non sphériques seront présentés.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE 1 ÉTAT DE L'ART SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES 16

1	LES NANOMATÉRIAUX	16
1.1	Définition d'un nanomatériau	16
1.2	Utilisation des nanomatériaux/nanoparticules	17
1.3	Problèmes liés aux nanomatériaux	22
1.4	Besoins liés aux nanomatériaux - Le rôle de la métrologie pour l'identification des nanoparticules	26
2	NANOMÉTROLOGIE	26
2.1	La métrologie - Généralités	26
2.2	L'outil de base de la métrologie : le système international d'unités (SI)	27
2.3	Chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles à l'échelle nanométrique.....	28
3	TECHNIQUES DE MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES	30
3.1	Les méthodes de mesures indirectes de taille de nanoparticule	31
3.2	Les méthodes de mesures directes de taille de nanoparticules	36
3.3	Bilan et sélection des méthodes de mesure des paramètres dimensionnels de NP	49
	RÉFÉRENCES.....	52

CHAPITRE 2 DESCRIPTION DES TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES ET PROTOCOLES MIS EN ŒUVRE 63

1	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	63
1.1	Description des particules utilisées.....	63
1.2	Préparation des suspensions colloïdales.....	66
1.3	Dépôt de NP par la méthode de « Spin Coating ».....	69
1.4	Utilisation d'un substrat adapté à la métrologie AFM/MEB - système de repositionnement	77
2	MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE	78
2.1	Qualification du microscope électronique à balayage	78
2.2	Acquisition des images.....	84
2.3	Traitement des images MEB.....	89
3	MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE	92
3.1	Qualification des instruments : microscopes à force atomique.....	92
3.2	Microscopie à force atomique : paramètres expérimentaux et précautions.....	95
3.3	Traitement des images AFM.....	97
4	MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE EN TRANSMISSION.....	98
4.1	Qualification du microscope électronique en transmission	98
4.2	Acquisition des images STEM – Paramètres expérimentaux	100
4.3	Traitement des images STEM.....	101
	RÉCAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	103
	RÉFÉRENCES.....	104

CHAPITRE 3 BILAN D'INCERTITUDES AFM ET MEB POUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES DES NANOPARTICULES 109

1	BILAN D'INCERTITUDES SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS PAR MEB	110
1.1	Évaluation de l'incertitude de mesure.....	110
1.2	Bilan d'incertitudes.....	131
1.3	Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de nanoparticules	134
2	ÉVALUATION DE L'INCERTITUDE ASSOCIÉE À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE	136
2.1	Évaluation de l'incertitude de mesure par AFM	137

2.2	<i>Évaluation de la déformation lors de l'imagerie AFM</i>	138
2.3	<i>Bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de NPs de silice par AFM</i>	144
2.4	<i>Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de nanoparticules</i>	146
3	CONCLUSIONS	146
	RÉFÉRENCES	148
CHAPITRE 4 AMÉLIORATION DES INCERTITUDES ASSOCIÉES À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MEB - UTILISATION D'UN ALGORITHME MONTE CARLO		152
1	LA MÉTHODE MONTE CARLO	153
1.1	<i>Présentation de la méthode Monte Carlo</i>	153
1.2	<i>Modifications apportées au code JMONSEL pour la mesure de NPs par MEB</i>	154
2	MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NANOPARTICULE PAR LA MÉTHODE « MODEL-BASED LIBRARY »	157
2.1	<i>Objectifs de la méthode</i>	158
2.2	<i>Construction de la base de données</i>	160
2.3	<i>Utilisation de la base de données : comparaison des profils MEB expérimentaux</i>	162
2.4	<i>Évaluation de l'incertitude de mesure liée à la mesure du diamètre équivalent d'une population de nanoparticules par la méthode « Model-Based Library »</i>	165
3	NOUVELLE MÉTHODE DE SEGMENTATION DES IMAGES MEB FONDÉE SUR L'UTILISATION D'UN POINT REMARQUABLE POUR MESURER LES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NP	172
3.1	<i>Définition du point remarquable</i>	172
3.2	<i>Procédure expérimentale</i>	174
3.3	<i>Évaluation de l'incertitude associée à la méthode de segmentation utilisant le point invariant</i>	176
4	COMPARAISON ENTRE LES DIFFÉRENTES MÉTHODES	178
4.1	<i>Comparaison des trois méthodes de segmentation (Active Contour, MBL et point invariant) sur une même série d'images MEB</i>	178
4.2	<i>Comparaison diamètre mesuré / diamètre simulé pour les trois méthodes de segmentation (point invariant, Active Contour et segmentation à mi-hauteur) sur les profils simulés</i>	180
5	CONCLUSIONS	185
	RÉFÉRENCES	187
CHAPITRE 5 MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE POPULATION DE NPS DE SILICE DANS LES TROIS DIMENSIONS DE L'ESPACE		190
1	CONFRONTATION DIRECTE DES MESURES AFM ET MEB SUR LES MÊMES POPULATIONS DE NPS	190
1.1	<i>Comparaison directe des mesures AFM et MEB effectuées sur la même population de nanoparticules ERM®-FD304</i>	190
1.2	<i>Comparaison AFM/MEB sur l'ensemble de la gamme nanométrique</i>	193
1.3	<i>Conclusions</i>	198
2	COMPARAISON DIRECTE DES MESURES AFM, MEB ET STEM SUR LES MÊMES POPULATIONS DE PARTICULES	199
2.1	<i>Introduction</i>	199
2.2	<i>Démarche utilisée pour remonter à une information quantitative en Z par STEM-HAADF</i>	200
2.3	<i>Application de la méthode sur les particules non sphériques</i>	210
3	CONCLUSIONS	220
	SYNTHÈSE	223
	BIBLIOGRAPHIE	224
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES		225
	<i>Conclusions</i>	225
	<i>Perspectives : extension aux particules de formes complexes</i>	227

ANNEXE 1 - ADHÉSION LOCALISÉE DE PARTICULES DE SILICE SUR SUBSTRAT DE SILICIUM MODIFIÉ PAR IMPLANTATION IONIQUE 232

1	OBJECTIFS.....	232
2	PRÉSENTATION DE L'IMPLANTEUR EATON TM NV3206	233
2.1	<i>Description de la source Freeman</i>	233
2.2	<i>Caractéristiques de l'implanteur EATONTM NV3206</i>	235
2.3	<i>Préparation des substrats avant implantation</i>	235
3	ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'IMPLANTATION SUR LES PROPRIÉTÉS DES SUBSTRATS DE SILICIUM	236
3.1	<i>Étude de la stabilité du Silicium sous l'effet de l'implantation par simulation : « Stopping and Range of Ions in Matter » (SRIM)</i>	236
3.2	<i>Mesure qualitative de la concentration de dopants par « Scanning Microwave Microscopy » (SMM)</i> 238	
3.3	<i>Influence de l'implantation sur la rugosité des substrats</i>	239
4	EFFET DE L'IMPLANTATION SUR L'ADHÉSION DES NPS	239
4.1	<i>Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté au Bore</i>	239
4.2	<i>Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté par Azote</i>	240
4.3	<i>Mesure des propriétés d'hydrophobicité des substrats</i>	241
4.4	<i>Influence des propriétés d'hydrophobicité sur l'évaporation de la goutte par dépôt statique</i>	244
4.5	<i>Dépôt d'une suspension de silice bi-populée diluée sur substrat implanté</i>	245
4.6	<i>Dépôt de NPs de silice à pH acide</i>	246
5	CONCLUSIONS.....	247
	RÉFÉRENCES.....	249

ANNEXE 2 – INFLUENCE DE LA TENSION D'ACCÉLÉRATION SUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES D'UNE POPULATION DE NANOPARTICULES PAR MEB .. 250

1	INTRODUCTION	251
2	ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D'ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE SILICE	251
3	ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D'ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE COMPOSITIONS CHIMIQUES DIFFÉRENTES	253
3.1	<i>Étude sur des particules d'or</i>	253
3.2	<i>Étude sur des particules de polystyrène Latex (PSL)</i>	254
4	DISCUSSIONS	255
	RÉFÉRENCES.....	258

CHAPITRE 1 ÉTAT DE L'ART SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES	16
1 LES NANOMATÉRIAUX	16
1.1 Définition d'un nanomatériau	16
1.2 Utilisation des nanomatériaux/nanoparticules	17
1.2.1 Propriétés spécifiques des nanomatériaux et « effet nano »	17
1.2.2 Utilisation des nanoparticules dans des produits de consommation courants	21
1.3 Problèmes liés aux nanomatériaux	22
1.3.1 Évaluation des risques liés à l'utilisation des nanoparticules	23
1.3.2 Textes réglementaires : identification d'une nanoparticule	23
1.4 Besoins liés aux nanomatériaux - Le rôle de la métrologie pour l'identification des nanoparticules	26
2 NANOMÉTROLOGIE	26
2.1 La métrologie - Généralités	26
2.2 L'outil de base de la métrologie : le système international d'unités (SI)	27
2.3 Chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles à l'échelle nanométrique	28
2.3.1 Le mètre selon le SI	28
2.3.2 Chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles – mise en place	29
3 TECHNIQUES DE MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES	30
3.1 Les méthodes de mesures indirectes de taille de nanoparticule	31
3.1.1 Diffusion dynamique de la lumière / Dynamic Light Scattering (DLS)	31
3.1.2 Diffusion de rayons X aux petites angles / Small angle X-Ray Scattering (SAXS)	33
3.1.3 Spectromètre de masse à plasma à couplage inductif / Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (sp-ICPMS)	34
3.1.4 Sédimentation par centrifugation en phase liquide / Centrifugation Liquid Sedimentation (CLS)	35
3.2 Les méthodes de mesures directes de taille de nanoparticules	36
3.2.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)	36
3.2.2 Microscopie Electronique à balayage (MEB)	41
3.2.3 Microscopie Électronique en Transmission (MET)	46
3.3 Bilan et sélection des méthodes de mesure des paramètres dimensionnels de NP	49
RÉFÉRENCES	52

CHAPITRE 1 ÉTAT DE L'ART SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES

1 LES NANOMATÉRIAUX

1.1 Définition d'un nanomatériau

Ces dix dernières années, de nombreuses définitions d'un nanomatériau ont vu le jour. Le comité technique en charge de la normalisation (TC229) de l'organisation internationale de normalisation (ISO), en accord avec le comité européen de normalisation (CEN/TC352) a défini un nanomatériau comme un « *matériau ayant une dimension externe à l'échelle nanométrique ou ayant une structure de surface à l'échelle nanométrique* » [1]. La notion d'échelle nanométrique est également définie dans cette norme comme « *l'échelle de longueur s'étendant approximativement de 1 nm à 100 nm* ». Cette gamme a été sélectionnée afin d'exclure de la définition d'un nanomatériau les atomes et certaines molécules par la limite inférieure à 1 nm. Cependant, le choix de la limite supérieure fixée arbitrairement à 100 nm est toujours sujet à débats. En effet, des discussions ont toujours lieu afin de relier (ou d'associer) le terme « nanomatériau » à l'apparition de propriétés spécifiques dès l'échelle submicronique par rapport au matériau massif, sans fixer de limite supérieure absolue sur la taille des objets [2]. Cette proposition permet soit d'inclure dans la définition des matériaux en dehors du domaine nanométrique (typiquement entre 100 nm et 500 nm) présentant des propriétés différentes de l'état massif, soit d'exclure les matériaux du domaine nanométrique ne présentant aucune nouvelle propriété à ces échelles [3].

Cette définition décrit plusieurs types de nanomatériau comme l'explique la norme ISO/TS80004 (Figure 1) :

- Lorsque qu'un nanomatériau présente une ou plusieurs dimensions externes dans la gamme nanométrique, le terme « nano-objet » est utilisé [4]. Ce terme est ensuite affiné en fonction du nombre de dimensions externes dans cette gamme. Ainsi, une nanoparticule est « *un nano-objet dont toutes les dimensions externes sont à l'échelle nanométrique et dont les longueurs du plus grand et du plus petit axes ne diffèrent pas de façon significative* ». Une nanofibre est un « *nano-objet ayant deux dimensions externes à l'échelle nanométrique et la troisième dimension externe significativement plus grande* » et une nanoplaque est un « *nano-objet ayant une dimension externe à l'échelle nanométrique et les deux autres dimensions externes significativement plus grandes* ».

- Dans le cas où aucune des dimensions externes du matériau n'est dans la gamme nanométrique, mais que ce dernier est composé de structures internes ou surfaciques à l'échelle nanométrique, le terme « matériau nanostructuré » est utilisé [5].

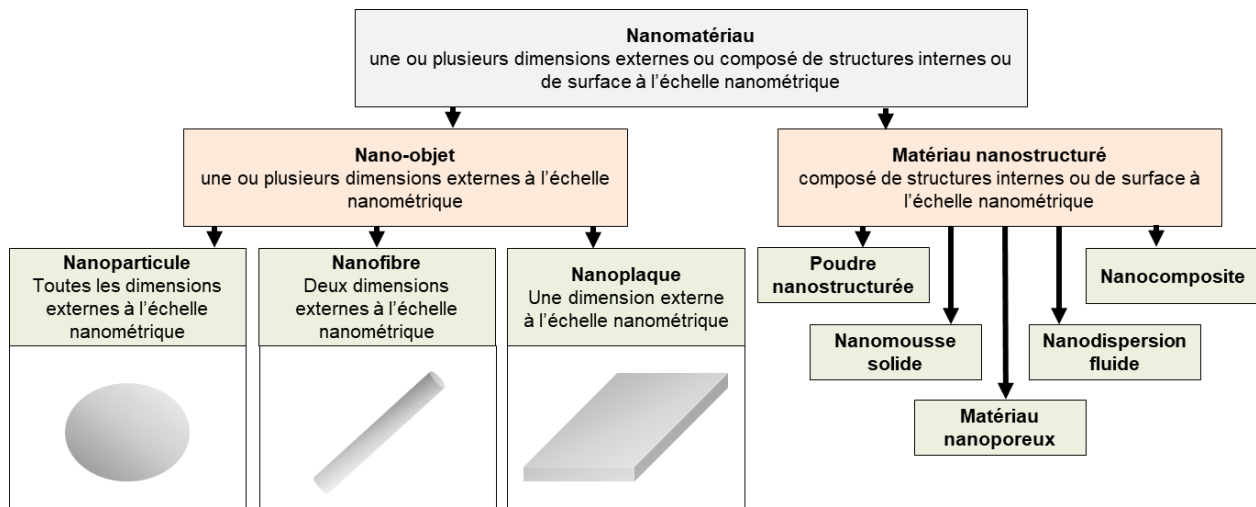


Figure 1 : Classement des nanomatériaux selon les différentes parties de la norme ISO/TS 80004.
Figure tirée de [1, 4, 5].

1.2 Utilisation des nanomatériaux/nanoparticules

1.2.1 Propriétés spécifiques des nanomatériaux et « effet nano »

Les propriétés physico-chimiques d'un nanomatériau sont directement liées à sa taille et sont parfois différentes du matériau de même composition chimique à l'état massif. Par conséquent depuis le début des années 2000 l'intérêt porté à ce sujet par les scientifiques et les industriels n'a cessé d'augmenter. Ainsi, le nombre de publications scientifiques avec le mot « nanoparticule » dans le titre, l'abstract ou les mots-clefs est passé de 2230 publications en 2000 à 62529 en 2019 selon la base de données Scopus (Figure 2).

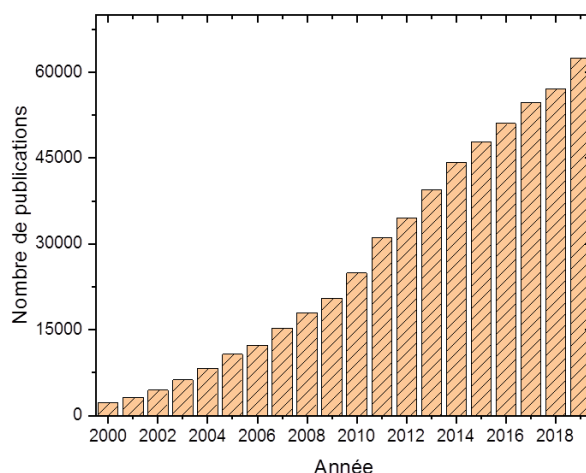


Figure 2 Évolution, entre les années 2000 et 2019, du nombre de publications scientifiques, publiés en français ou anglais ayant le mot « nanoparticule » ou « nanoparticle » dans le titre, l’abstract ou les mots-clés selon la base de données Scopus.

Les changements de propriétés liés à la taille des nanomatériaux étant nombreux, ce chapitre se restreint à présenter quelques exemples de « l’effet nano » liés :

- à l’augmentation du rapport surface/volume
- aux effets de confinements quantiques
- aux résonances plasmons de surface

Le premier exemple de ces nouvelles propriétés concerne la réactivité des nanomatériaux. Du fait de leur taille, le ratio entre le nombre d’atomes de surface par rapport à ceux dans le volume devient considérable en comparaison avec le matériau massif. Ainsi, le rapport du nombre d’électrons non appariés reliés aux atomes de surface par rapport aux nombre d’atomes de volume d’un nano-objet est bien supérieur à son équivalent massif, leur conférant une très grande réactivité avec leur environnement [6]. Ils sont alors largement utilisés pour des applications dans le domaine de la catalyse : réaction d’oxydo-réduction [7], couplage de réaction C-C [8], hydrogénolyse de liaisons C-Cl [9] ou pour les piles à combustible [10].

Les propriétés thermodynamiques sont également très impactées par ce ratio surface/volume important. En effet, lorsqu’un matériau passe de l’état solide à l’état liquide, les atomes le composant deviennent mobiles. Dans une nanoparticule, les atomes de surface ont un nombre de voisins réduits, facilitant alors leurs mobilités. Ainsi, plus la taille des particules diminue, plus l’énergie requise pour déplacer ces atomes est faible et par conséquent plus la température de fusion est faible. Par exemple, la température de fusion d’une nanoparticule d’or de 1,4 nm de diamètre est 25°C plus basse que celle de l’or à l’état massif [11]. Plusieurs études ont mis en évidence cet effet avec une chute drastique de

la température de fusion lorsque la taille des particules est inférieure à 50 nm pour des particules de Fe-C [12] et d'aluminium [13].

La réduction en taille d'une nanoparticule a également une influence sur les propriétés électroniques. L'une des caractéristiques principales des semi-conducteurs est la largeur de leur bande interdite (E_g). Cette dernière représente l'énergie nécessaire pour qu'un électron passe de la bande de valence à la bande de conduction. Pour les semi-conducteurs, cette énergie est faible (quelques eV). Cependant, plusieurs études ont mis en évidence une augmentation de la largeur de la bande interdite lorsque la taille des particules diminue [14–16]. Ce phénomène est appelé effet de confinement quantique et met en relation le diamètre d'une nanoparticule avec le rayon de Bohr, caractérisant la distance moyenne de la paire « électron-trou » (exciton) formée par excitation. Ainsi, lorsque les dimensions d'une nanoparticule deviennent inférieures à cette dimension, l'électron est forcé de se rapprocher du trou. La largeur de la bande interdite étant inversement proportionnelle à la taille de l'exciton, plus les particules sont petites, plus E_g augmente.

Un autre exemple de « l'effet nano » est donné par la variation de la couleur de suspensions de particules métalliques (or, argent...) en fonction de la taille des particules composant ces dernières. Un exemple de la variation de la couleur de suspensions d'or en fonction de la taille des particules est présenté sur la Figure 3.



Figure 3 : Suspensions d'or contenant des particules de tailles 5-100 nm. Figure tirée de [17].

L'oscillation collective des électrons de conduction en surface, appelée plasmons de surface, induite par un champ électromagnétique permet d'expliquer cet effet [18]. Lorsque le rayonnement électromagnétique possède une longueur d'onde bien spécifique, les plasmons de surface peuvent être mis en résonance. Ce phénomène entraîne l'apparition de bandes d'absorption intenses qui s'étendent de l'ultraviolet jusqu'à l'infrarouge et dont la fréquence et l'intensité sont fonction du matériau et de sa taille. Ainsi, par exemple, pour des particules d'or de 30 nm de diamètre, ce phénomène conduit à l'absorption de la partie vert-bleu (proche de 450 nm) du spectre lumineux et à la réflexion de la partie correspondant à la couleur rouge. Lorsque la taille des particules d'or augmente, l'absorption se déplace vers les longueurs d'onde correspondant au rouge : les suspensions ont alors un aspect

bleu/violet, puis à une absorption dans l'infrarouge pour donner un aspect translucide aux suspensions d'or.

Ce phénomène d'excitation des plasmons de surface peut également être employé dans le domaine de la « médication vectorielle ». Il est cependant nécessaire de noter que d'autres dispositifs, basés sur des principes différents, peuvent être employés en ce sens, cependant seul cet exemple sera présenté dans cette étude. Ainsi, un médicament est recouvert d'une couche polymère/nanomatériaux agissant comme une barrière entre ce dernier et le milieu environnant. Une fois introduit dans le corps, lorsque le système a atteint la région souhaitée, il est possible d'exciter les plasmons de surface en irradiant la zone avec des ondes lumineuses ayant la longueur d'onde de ces plasmons. Cette excitation produit une augmentation de la température permettant la fusion du revêtement polymère et la libération du médicament (Figure 4) [19–21].

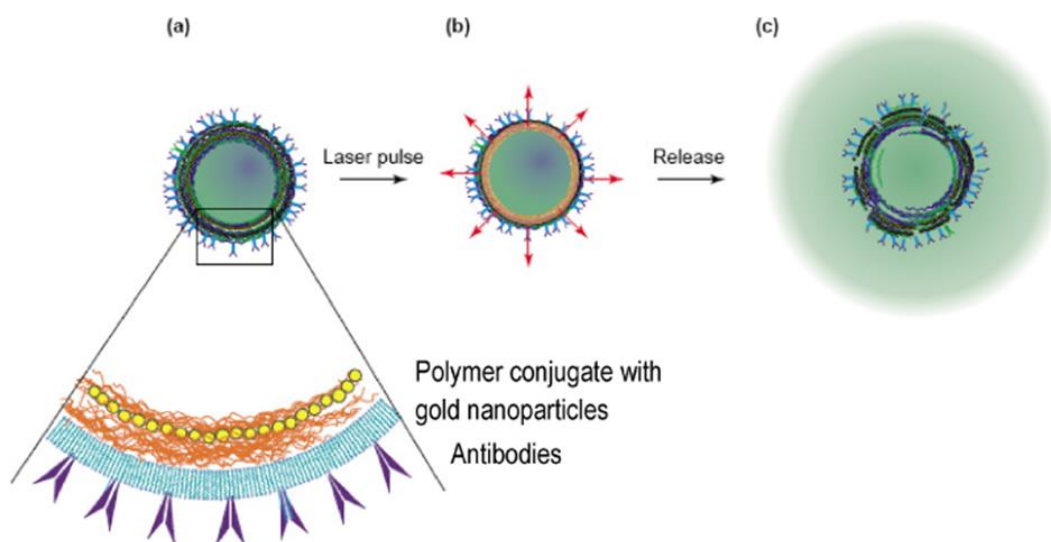


Figure 4 : Exemple de dispositif utilisé dans le cadre de la médication vectorielle : (a) Le médicament est recouvert d'une enveloppe de polymère contenant des NPs d'or et des anticorps pour une absorption spécifique. (b) Lorsque le médicament atteint la cible, les plasmons de surface sont excités par un rayon laser, la chaleur dissipée fait fondre le polymère et (c) libère le médicament dans la région souhaitée. Figure extraite de [22].

D'autres applications tirent parti des changements de propriétés aux échelles nanométriques. Nous noterons que, par exemple, dans le domaine de la biologie, il est désormais courant d'utiliser des particules pour le séquençage de l'ADN [23] et le marquage cellulaire. Le principe est simple : les particules sont fonctionnalisées afin que des molécules d'ADN adhèrent sur celles-ci. Des surfaces de détection, sensibles aux espèces liées aux particules, sont ensuite préparées afin que le système particule/molécule n'adhère qu'à certains endroits. Les zones où les molécules se sont accumulées peuvent ensuite être observées par microscopie optique. Cette méthode est notamment utilisée pour la détection des cellules cancéreuses [24, 25].

1.2.2 Utilisation des nanoparticules dans des produits de consommation courants

Le paragraphe précédent a montré que, grâce à leurs propriétés spécifiques liées à leur taille, les nanomatériaux sont largement utilisés dans de nombreux domaines industriels et scientifiques de premier plan. Ces propriétés spécifiques présentent également un intérêt pour améliorer des produits de consommation courante.

Ainsi, il n'est plus rare de trouver des nanomatériaux dans des produits alimentaires. Par exemple, il est possible de citer la silice amorphe, sous forme d'additif (E551), jouant le rôle d'antiagglomérant pour les préparations en poudre, le dioxyde de titane (E171 couleur blanche) ainsi que le carbonate de calcium (E170) et l'oxyde de fer (E172) utilisés comme un colorant [26]. Des images par microscopie électronique à balayage des additifs E171, E551 et E172 sont présentées sur la Figure 5.

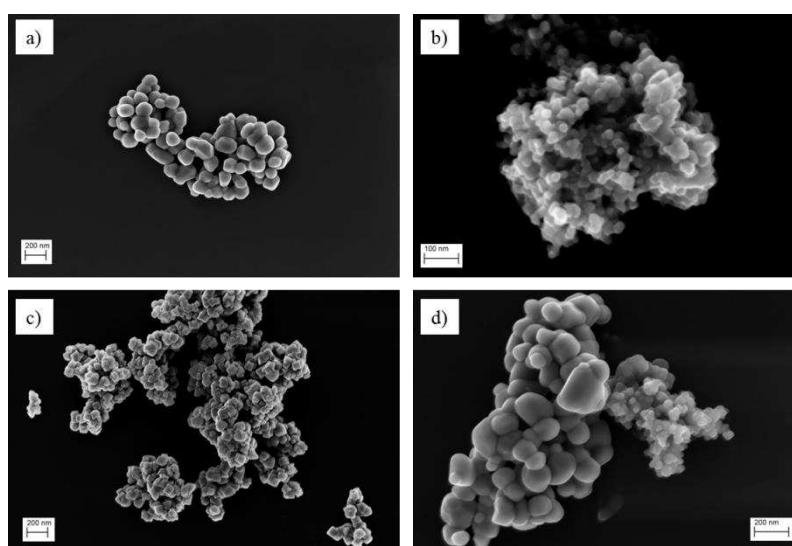


Figure 5 : Images obtenues par microscopie électronique à balayage sur la plateforme CARMEN du LNE des additifs a) E171, b) E551, c) E172 et d) mélange E171+E551.

Dans le domaine des cosmétiques et des produits d'hygiène, les nanomatériaux peuvent être utilisés dans les crèmes solaires pour protéger du rayonnement UV (TiO_2), dans les crèmes de soin comme antibactérien (argent) ou antioxydant (Or). On ajoute également des nanomatériaux dans le maquillage comme pigment (TiO_2 , oxyde de fer...) ou pour apporter de la matité (silice amorphe). Les propriétés antibactériennes des particules d'argent sont aussi utilisées dans les déodorants et les shampoings. Des nanomatériaux peuvent également être présents dans les dentifrices comme agent blanchissant (E171) ou abrasif (E551).

Le domaine des emballages alimentaires est également concerné par l'utilisation de nanomatériaux. Ainsi, l'aluminium ou ses oxydes incorporés, sous une forme « nano », servent de barrière contre l'oxygène et l'humidité afin de conserver les produits. Le TiO_2 peut également être utilisé afin de protéger les emballages du rayonnement UV. L'argent est également utilisé pour ses propriétés

antibactériennes dans les emballages, mais aussi dans les équipements électroménagers, les ustensiles de cuisine, la vaisselle...

La silice amorphe (fluidifiant), le noir de carbone (pigment) ou le TiO_2 (autonettoyant, agent de dépollution) sont également très présents dans le secteur de la construction et des travaux publics. Ils se retrouvent, sous forme « nano », dans le béton, le ciment, dans divers revêtements pour le bois, l'acier, le verre et dans les revêtements routiers. Une très grande quantité de nanomatériaux est également utilisée dans les peintures (intérieures et extérieures) et les vernis : argent, dioxyde de cérium, nanotubes de carbone, nickel, oxyde de fer, silice amorphe, sulfate de baryum...

Le secteur du textile et de l'habillement utilise aussi une grande quantité de produits « nano » afin de modifier les propriétés de ses produits : résistance aux UV (oxyde d'aluminium), résistance mécanique (nanotubes de carbone), hydrophobicité (silice amorphe), propriétés antibactériennes (cuivre, argent) ...

On retrouve également du noir et des nanotubes de carbone, de la silice amorphe, de l'oxyde d'aluminium, de l'oxyde de zinc dans divers caoutchoucs (pneumatiques, câbles...) ou des fullerènes, des nanomatériaux d'argent, de nitrure de titane ou d'hydroxyde d'aluminium dans des emballages pour des équipements divers et variés (automobile, sport, jouets...).

Le secteur de la santé est également concerné par l'emploi de nanomatériaux. On en retrouve ainsi dans les dispositifs médicaux, dans les pansements, les prothèses ou les implants.

Une liste détaillée des nanomatériaux utilisés et de leur emploi en France est consultable dans le rapport R-nano [27].

1.3 Problèmes liés aux nanomatériaux

Les nanomatériaux sont largement utilisés et ajoutés dans les produits de consommation courants. Par conséquent, le corps humain est en interaction permanente avec des particules qui peuvent être ingérées (additifs alimentaires, résidus d'emballages), inhalées ou en contact avec la peau (cosmétiques).

Être capable de déterminer le risque potentiel en lien avec les propriétés des nanomatériaux constitue un véritable enjeu, et de nombreuses études toxicologiques portent sur ce sujet. Comme abordé précédemment, l'effet de taille des nanomatériaux peut être très important, par exemple de très faibles variations de taille, pour une même composition chimique, peuvent avoir des implications biologiques très différentes. Il est donc important de caractériser intégralement les particules impliquées en amont des études toxicologiques.

1.3.1 Évaluation des risques liés à l'utilisation des nanoparticules

Étant donné leur taille et leur présence dans l'environnement, les nanomatériaux ont la possibilité de pénétrer dans le corps via différentes voies et d'être transportés vers différents organes chez l'être humain. La propension de ces nanoparticules à favoriser le développement de certaines maladies représente un axe majeur des études de toxicité.

Ainsi, une étude met en évidence un lien entre l'exposition prolongée des mineurs aux particules métalliques et le développement de cancers au niveau des voies respiratoires [28]. Ces nanomatériaux représentent donc un risque potentiel pour la santé humaine par leur absorption, transport dans l'organisme et rétention. L'apparition d'effets indésirables et inflammatoires, en lien avec la rétention de particules dans certains organes du corps humain a été observée [29].

Une autre étude montre qu'en administrant, par voie intratrachéale, des nanoparticules d'or (diamètre nominal : 30 nm) et de TiO₂ (diamètre nominal : 20 nm) chez le rat, ces dernières peuvent rapidement s'agréger et provoquer la formation de caillots sanguins dans les capillaires pulmonaires [30]. De plus, des études ont mis en évidence un lien entre la propension des particules à être transportées dans le corps et à s'accumuler et la réduction de leur taille [31–33]. Cependant, ces observations nécessitent d'être nuancées, plusieurs études ayant montré l'absence d'effets significatifs en dessous d'une certaine dose [34–37]

Les études se sont ainsi focalisées sur l'interaction entre les nanoparticules et le corps humain. Cependant, une étude bibliographique [38], met en lumière le manque de cohérence des recherches scientifiques concernant la toxicité des nanoparticules de silice en recherchant la réponse donnée à six questions de base sur la génotoxicité dans 38 publications scientifiques. Cette étude montre ainsi que les réponses sont variables, voire contradictoires : dans certaines études, les nanoparticules de silice pénètrent dans les cellules alors que pour d'autres elles ne pénètrent pas. Il est alors essentiel de caractériser les nanoparticules en amont des études toxicologiques pour obtenir des résultats d'ensemble fiables. Ainsi, par la mise en place de méthodes incluant l'étalonnage, la caractérisation instrumentale, le développement et l'application de protocoles adaptés à la mesure, la métrologie a pour objectif d'assurer la comparabilité entre les mesures.

1.3.2 Textes réglementaires : identification d'une nanoparticule

Les propriétés physico-chimiques d'une molécule sont décrites à partir de trois paramètres : son identité chimique, sa configuration et sa conformation moléculaire. Pour les nanoparticules, ces seules informations ne sont pas suffisantes pour les décrire entièrement. En effet, d'autres paramètres tels que la taille, la surface spécifique, la forme ou la structure cristallographique ont une influence sur les propriétés physico-chimiques et toxicologiques de ces dernières. Ainsi, il est difficile de classer les

nanoparticules selon des familles, en se basant uniquement sur des paramètres chimiques, pour déterminer leur impact notamment sur la santé et l'environnement qui s'étudie alors au cas par cas.

Pour définir le système, il est alors nécessaire de décrire en supplément les interactions interparticulaires mais également celles avec le milieu environnant. De nombreuses études ont ainsi été menées pour déterminer quels étaient les paramètres à prendre en compte pour mener une étude toxicologique d'un système « nano » [39–46]. Ces études se rejoignent pour définir une première liste d'une dizaine de paramètres, classée comme prioritaire, pour étudier cette influence. Une liste similaire a été dressée par l'ISO TC 229, comité en charge de la normalisation des nanomatériaux pour décrire une population de particules [47]. Les paramètres de caractérisation à prendre en compte avant évaluation toxicologique ainsi que leurs descripteurs associés selon la norme ISO/TR 13014 [47] sont :

- La taille des particules et la distribution granulométrique : « *Dimensions physiques d'une particule et, pour les mélanges de particules, la distribution des tailles de particules, déterminées par des conditions de mesurage définies.* »
- L'état d'agrégation/agglomération dans le milieu considéré : « *Particules fortement liées ou fusionnées dont l'aire de surface externe résultante peut être significativement plus petite que la somme des aires de surface connues des particules primaires* » pour un agrégat et « *Ensemble de particules ou agrégats, ou les deux, faiblement liés ou lâches dont l'aire de surface externe résultante est similaire à la somme des aires de surface de chacun des composants* » pour un agglomérat.
- La forme : « *Description des contours de la surface des nano-objets ou ensembles de nano-objets, agrégats et agglomérats qui constituent le matériau étudié.* »
- L'aire de surface (massique ou volumique) : « *L'aire de surface est la quantité de surface accessible d'un échantillon exposé à une phase gazeuse ou liquide d'adsorbat. Par convention, l'aire de surface est exprimée sous forme d'aire de surface massique ou d'aire de surface volumique où l'aire totale est rapportée à la masse ou au volume de l'échantillon.* ».
- La composition : « *Information chimique et structure cristalline de la totalité de l'échantillon de nano-objets indiquant : (a) la composition, (b) la structure cristalline – dont les paramètres du réseau cristallin et le groupe spatial – et (c) les impuretés, le cas échéant.* ».
- La composition chimique de surface : « *Nature chimique – composition comprise – des couches les plus externes des NOAA (nano-objets et à leurs agrégats et agglomérats de plus de 100 nm)* »
- La charge superficielle : « *Charge électrique sur une surface en contact avec une phase continue.* ».

- La solubilité : « *Degré selon lequel un matériau (le soluté) peut être dissous dans un autre matériau (le solvant) pour ne former qu'une unique phase homogène* ».
- La dispersibilité : « *Degré selon lequel un matériau particulaire (phase dispersée) peut se répartir uniformément dans un autre matériau (milieu dispersant ou phase continue) en produisant une dispersion qui reste stable (par exemple une heure ou une minute)* ».

Les paramètres dimensionnels (taille, forme, distribution en taille et état d'agglomération) d'une population de nanomatériaux sont ainsi considérés par les experts comme des paramètres clefs à prendre en compte. Leur caractérisation constitue donc un enjeu majeur pour l'identification des nanomatériaux.

Au vu de l'utilisation de plus en plus importante des nanomatériaux, de nombreuses réglementations sur l'utilisation des nanoparticules ont vu le jour depuis une dizaine d'années.

En 2009, l'article 19 du règlement n° 1223/2009 du Parlement Européen oblige les fabricants de produits cosmétiques à faire apparaître le terme [nano] sur les étiquettes pour tout ingrédient présent sous la forme d'un nanomatériau dans leurs produits [48]. Le règlement ne vise alors que les produits cosmétiques, excluant les médicaments, produits biocides ou dispositifs médicaux.

Depuis, de nouveaux règlements ont été mis en place par le Parlement Européen pour étendre cette obligation d'étiquetage aux denrées alimentaires (EC n°1169/2011 [49]) en 2011 et aux produits biocides (EC n° 528/2012 [50]) en 2012.

En 2012, en France, la Réglementation R-Nano oblige les fabricants, importateurs ou distributeurs de substances à l'état nanoparticulaire à effectuer une déclaration annuelle auprès de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). Un rapport est ensuite édité annuellement [27].

En 2015, la réglementation sur les denrées alimentaires (EC n°1169/2011) est modifiée par le règlement EC n°2015/2283 [51]. Ce dernier introduit la notion d'intentionnalité dans la définition d'un nanomatériau manufacturé et applique l'obligation d'étiquetage à « *tout aliment dont la consommation humaine était négligeable au sein de l'Union avant 1997* », au travers du terme de « nouvel aliment ».

En 2017, le règlement Européen EC n°2017/745 étend l'obligation d'étiquetage aux dispositifs médicaux [52].

Pour finir, en 2018, le règlement EC n°2018/1881 inclut les nanomatériaux dans la réglementation REACH [53]. L'évaluation et la gestion des risques des produits chimiques sont placées sous la responsabilité des industriels qui ont pour obligation de transmettre les informations nécessaires pour assurer la sécurité des utilisateurs. Cependant, jusqu'à maintenant, aucune donnée devant être fournie (composition chimique, numéro CE, numéro CAS...) ne permettait d'informer l'utilisateur sur la présence de nanomatériaux dans le produit. Ainsi, au 1^{er} Janvier 2020, chaque producteur de

substances « nano » (pour des volumes supérieurs à une tonne par an) devra désormais apporter des informations supplémentaires sur les nanomatériaux présents dans ses produits avant qu'ils soient enregistrés dans REACH. Ces informations portent par exemple sur la distribution en taille ou encore sur la forme des nanomatériaux présents dans les substances.

1.4 Besoins liés aux nanomatériaux - Le rôle de la métrologie pour l'identification des nanoparticules

Afin d'évaluer les risques potentiels associés aux nanomatériaux et de répondre à l'ensemble des réglementations définies dans la section précédente, les acteurs du secteur industriel ont besoin de caractériser leurs produits contenant des nanomatériaux. Comme présenté dans la section 1.3.2, une population de nanoparticules peut être décrite au travers d'une dizaine de paramètres. De ce fait, les industriels ont besoin de s'appuyer sur des méthodes de mesure fiables, robustes et permettant d'obtenir l'ensemble des informations requises. Cependant, il n'existe pas d'instrument unique capable d'extraire l'ensemble de ces informations. Une caractérisation complète d'un système « nano » passe donc par l'utilisation d'un grand nombre de techniques.

Pour déterminer un seul paramètre, plusieurs techniques différentes, chacune fondée sur un principe physique qui leur est propre, peuvent parfois être utilisées. Les résultats de mesure, pour le même paramètre étudié, en fonction de la technique utilisée, peuvent ainsi être très différents.

Il est donc nécessaire de mettre en place des méthodes incluant l'étalonnage, la caractérisation instrumentale, le développement et l'application de protocoles adaptés à la mesure permettant d'obtenir des résultats comparables entre différents laboratoires et fondés sur des références communes. Tous ces aspects représentent le cœur même de la métrologie, présentée en détail dans la section suivante.

2 NANOMÉTROLOGIE

2.1 La métrologie - Généralités

La métrologie est la science de la mesure. Cette dernière s'intéresse au processus de mesurage d'une grandeur au travers des aspects théoriques de sa description et des moyens mis en œuvre pour sa réalisation expérimentale. Une grandeur est définie, selon le Vocabulaire International de Métrologie (VIM), comme une « *propriété d'un phénomène, d'un corps ou d'une substance, que l'on peut exprimer quantitativement sous forme d'un nombre ou d'une référence* » [54]. La métrologie se focalise entre autres sur deux axes :

- Évaluer et associer une incertitude de mesure à un résultat de processus de mesurage.

- Établir des chaînes de traçabilité afin de rendre les résultats d'un processus de mesurage comparables par tous. La notion de traçabilité est définie comme « *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 chaîne ininterrompue de comparaisons ayant toutes des incertitudes déterminées* » [54].

Le guide pour l'estimation des incertitudes (GUM) [55], texte de référence en métrologie, précise que l'objectif du processus de mesurage est de déterminer la valeur du mesurande, soit la valeur que l'on souhaite mesurer.

Ainsi, la première étape du processus de mesurage consiste à définir précisément le mesurande, soit ce que l'on souhaite mesurer, la méthode de mesure et la procédure associée. La valeur donnée au mesurande par le processus de mesurage est cependant soumise à de nombreuses approximations pouvant être liées à l'instrument, à la méthode, au milieu ou encore à l'opérateur. Par conséquent, le résultat d'un mesurage n'est complet que lorsqu'il est associé à une estimation de l'incertitude de mesure liée à l'ensemble de la procédure de mesure. La définition officielle de ce terme est donnée par le GUM [55] :

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

La notion d'incertitude de mesure traduit donc le doute associé au résultat d'un mesurage. La métrologie permet entre autres d'identifier les sources d'erreurs liées au processus de mesurage, de déterminer leur influence sur la valeur du mesurande puis de combiner l'ensemble de leurs contributions en une incertitude globale (bilan d'incertitudes).

2.2 L'outil de base de la métrologie : le système international d'unités (SI)

Lorsqu'une grandeur est mesurée, son résultat doit être exprimé en fonction d'une grandeur scalaire réelle de même nature, adoptée par convention : on parle alors d'unité de mesure.

Afin que les mesures réalisées soit comparable entre elles, celles-ci doivent être reliées à un référentiel commun : le Système International d'unité (SI). Ce dernier est établi par le Comité International des Poids et Mesures (CIPM) et a été adopté en 1960 [56]. Ce référentiel définit sept unités de base : seconde (s), mètre (m), kilogramme (kg), kelvin (K), ampère (A), mole (mol) (ajoutée en 1971) et candela (cd) se rapportant chacune à une grandeur. Tous les résultats de mesure peuvent être exprimés directement à partir de ces sept unités ou à partir d'unités dérivées de ces dernières. Par exemple, la force est exprimée en Newton (N), qui est traduit en unités de base SI par $1 \text{ N} = 1 \text{ m.kg.s}^{-2}$.

Depuis novembre 2018 et la 26^{ème} réunion de la Conférence Générale des Poids et Mesures (CGPM), chaque unité de base est définie à partir d'une constante fondamentale « *définitivement fixée* » [57].

Cette conférence a permis de redéfinir quatre unités de base (kilogramme, ampère, mole et kelvin) sur la base de constantes et notamment de dématérialiser la référence du kilogramme, qui était jusqu'alors défini à partir d'un prototype physique en platine iridié, qui se dégradait au cours du temps.

Les unités de base ainsi que les constantes qui leur sont associées en vue de leur définition sont présentées sur la Figure 6.

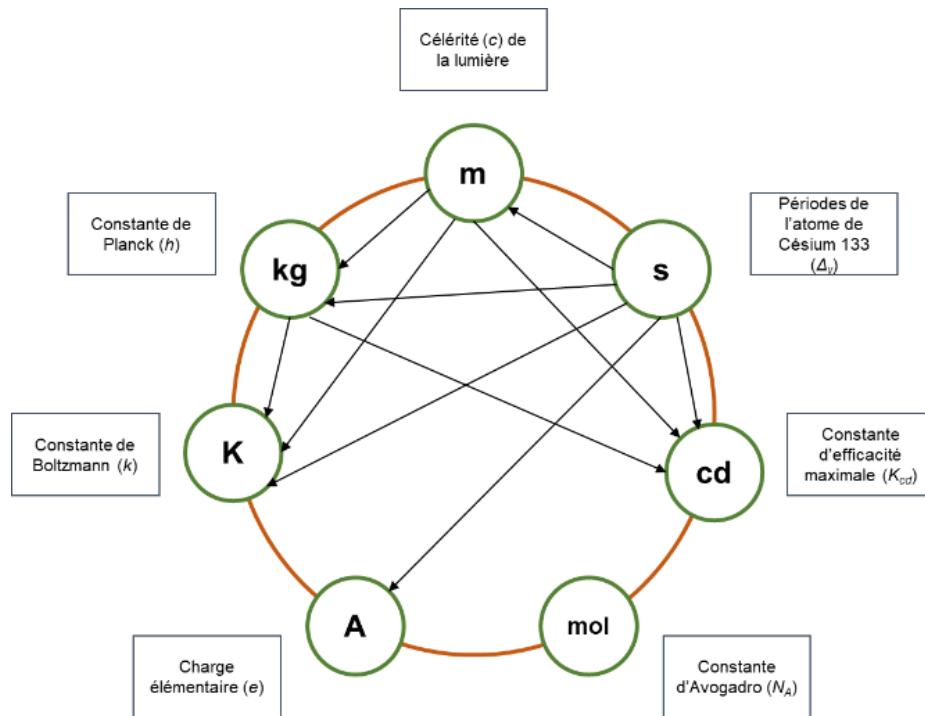


Figure 6 : Les sept unités de base du SI avec la constante fondamentale associée à chacune d'elles. Les flèches présentent l'utilisation d'une unité de base dans la définition d'une seconde unité de base.

2.3 Chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles à l'échelle nanométrique

2.3.1 Le mètre selon le SI

La définition du mètre a été donnée lors de la 17^{ème} Conférence Générale des Poids et Mesures en 1983 [58]. Cette dernière est établie à partir de la définition de la seconde elle-même définie à partir de la transition énergétique entre deux niveaux hyperfins de l'atome de Césium 133. Le mètre correspond ainsi au trajet parcouru par la lumière, dans le vide, pendant une durée de 1/299 792 458 secondes. La vitesse de la lumière dans le vide étant une constante fondamentale dont la valeur a été fixée, la valeur de référence du mètre n'est entachée d'aucune incertitude.

2.3.2 Chaîne de traçabilité pour les mesures dimensionnelles – mise en place

Afin de raccorder une mesure réalisée à l'échelle nanométrique à la définition du mètre selon le SI, une chaîne de traçabilité doit être établie. Un exemple de chaîne de traçabilité est présenté sur la Figure 7.

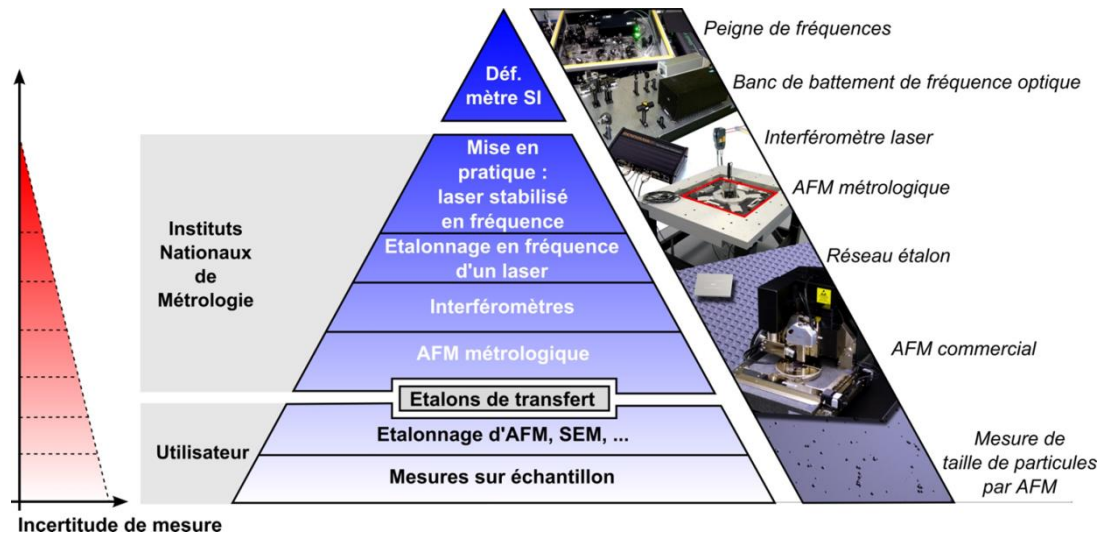


Figure 7 : Pyramide illustrant la notion de traçabilité pour la nanométrie dimensionnelle. Une chaîne ininterrompue est mise en place afin de propager la définition du mètre jusqu'à l'échelle nanométrique.

Au sommet et à la base de la pyramide se trouvent respectivement la définition du mètre SI et la mesure réalisée sur un échantillon par un utilisateur quelconque. Un des objectifs des instituts nationaux de métrologie (INM) est de faire le lien entre ces deux parties. La définition du mètre SI est mise en pratique à partir d'un laser stabilisé en fréquence nommé étalon primaire. Ce dernier est ensuite utilisé pour étalonner en fréquence d'autres lasers, nommés étalons secondaires. Un microscope à force atomique métrologique (mAFM) est alors utilisé pour faire le lien entre l'étalon primaire et la mesure à l'échelle du nanomètre. Le principe de cet instrument est le même qu'un microscope à force atomique classique (Section 3.2.1). Cependant, la position de la pointe au cours du temps est déterminée par des interféromètres laser dont les sources laser sont étalonnées en fréquence comme présenté sur la Figure 8, ce qui assure la traçabilité dans les trois dimensions de l'espace. L'image obtenue avec le mAFM est un nuage de points dont chaque pixel de l'image correspond à des coordonnées (X, Y, Z) traçables.

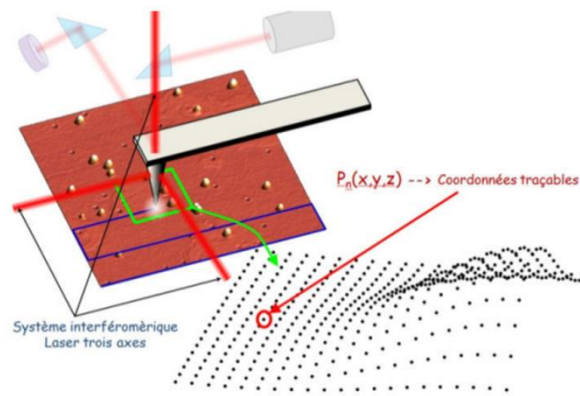


Figure 8 : Mesure sur une surface avec un AFM métrologique. Figure extraite de [59].

Cet instrument permet ainsi de mesurer les caractéristiques dimensionnelles à l'échelle nanométrique d'un étalon de transfert. Ce dernier est généralement constitué d'un réseau de motifs dont un ou plusieurs paramètres (hauteur de marche, pas de réseau) peuvent être déterminés à partir du mAFM. Un exemple d'étalon de transfert utilisé dans cette étude sera présenté dans la section 2.1.3 du Chapitre 2.

Ces réseaux de transfert sont ensuite utilisés pour étalonner les microscopes à force atomiques ou encore les microscopes électroniques à balayage afin de les rendre traçables, permettant ainsi de rendre leurs mesures comparables par l'ensemble de la communauté.

3 TECHNIQUES DE MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS DE NANOPARTICULES

Les techniques de mesures peuvent être définies comme directes ou indirectes. Ainsi, une méthode de mesure directe donne directement accès à la grandeur que l'on souhaite mesurer, appelée mesurande comme présenté dans la section 2.1. Ici, ces méthodes permettent d'obtenir directement une information sur les propriétés dimensionnelles des nanoparticules. Une méthode de mesure indirecte s'appuie sur la mesure de différentes grandeurs permettant de déterminer la valeur de celle que l'on souhaite mesurer *via* une relation mathématique. Le mesurande correspond dans ce cas-là à une propriété de la particule.

Dans le cas de la caractérisation de la taille et de la distribution en taille des particules, les techniques d'analyses peuvent être également classées, selon leur fonctionnement, en trois catégories :

- Les *méthodes individuelles de comptage* permettent d'obtenir une information sur chaque individu dans la population étudiée, celle-ci ne représentant généralement qu'une fraction de l'échantillon.

- Les *méthodes d'ensemble* permettent d'obtenir une information globale sur l'ensemble de l'échantillon.
- Les *méthodes séparatives* permettent d'obtenir une information sur les particules ayant des propriétés similaires dans la population en transformant un mélange en plusieurs composants distincts.

3.1 Les méthodes de mesures indirectes de taille de nanoparticule

Les méthodes de mesures indirectes donnent une information quantitative d'une grandeur physique ou chimique de l'objet ou de la population d'objets observé. Une formule théorique reliant la grandeur physique mesurée avec la taille de l'objet est alors appliquée. Cependant, ces formules sont systématiquement utilisées en faisant une hypothèse forte sur la forme du ou des objets observé(s), donnant ainsi accès à une taille dit « équivalente » correspondant à la taille d'un objet équivalent ayant cette forme.

Dans cette section, plusieurs méthodes de mesures indirectes couramment utilisées dans l'industrie, basées sur des principes physiques différents (diffusion photonique, diffusion X, spectrométrie de masse...), seront présentées.

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

Mesurande : fluctuation d'intensité lumineuse.

La DLS est une méthode d'analyse indirecte des particules en suspension dans un solvant [60–62]. Cette méthode est relativement répandue dans le monde industriel, notamment car la mesure est simple à mettre en place, nécessite un appareillage au coût modeste et une faible quantité de suspension. Cette technique est tout à fait adaptée au suivi qualité ou au suivi de synthèse chimique.

Lorsque le faisceau monochromatique cohérent d'un laser traverse une suspension contenant des nanoparticules, celui-ci est diffusé. Dans un fluide, sous l'effet de l'agitation thermique, les particules sont soumises à un mouvement Brownien. Ce mouvement va induire des fluctuations de la lumière diffusée. Les petites particules ayant un mouvement Brownien rapide diffusent la lumière à des angles importants avec une faible intensité, à l'inverse des grosses particules. Une fonction d'autocorrélation comparant le signal d'entrée avec les variations d'intensité permet d'obtenir un temps caractéristique, noté τ , directement lié à la vitesse des particules en suspensions.

La relation entre le coefficient de diffusion D et ce temps caractéristique s'écrit de la manière suivante :

$$D = \frac{q^2}{\tau} \quad (1)$$

Avec q fonction de l'indice de réfraction du milieu, de la longueur d'onde et de l'angle de diffusion du laser.

Le rayon hydrodynamique des particules en suspension R_H peut ainsi être déduit à partir de la relation de Stokes-Einstein :

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta_s D} \quad (2)$$

Avec k_B la constante de Boltzmann, T la température du milieu et η_s sa viscosité.

R_H correspond au rayon d'une sphère dans laquelle le solvant ne pénètre pas. En comparaison avec le rayon réel des particules, R_H est donc surévalué puisqu'il tient compte du rayon de la particule auquel s'ajoute une partie de la double-couche ionique, présentée sur la Figure 9. Une présentation plus détaillée de la double-couche sera effectuée dans la section 1.2.1 du Chapitre 2.

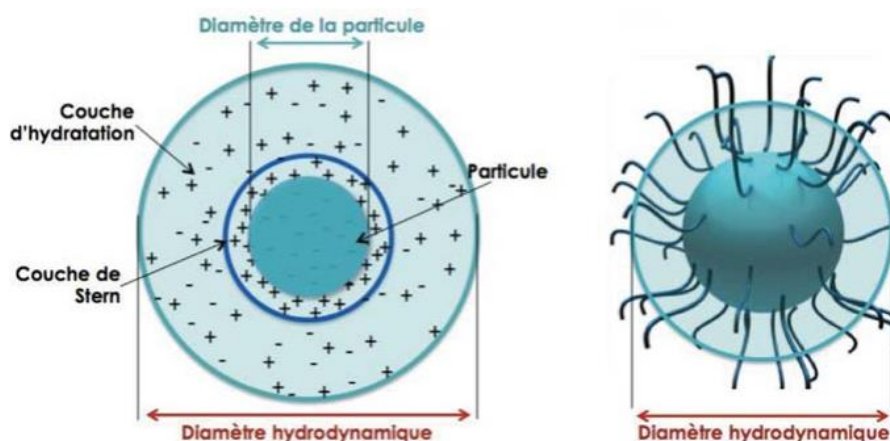


Figure 9 : Représentation d'une particule entourée de la double couche ionique. Figure tirée de [63].

Certaines précautions sont à prendre en compte concernant les échantillons pour la mesure DLS. Les suspensions doivent être transparentes, la présence de contamination doit être limitée au maximum et l'indice de réfraction du liquide doit être connu [64]. De plus, les étapes de préparation des suspensions (dilution, sonication, filtration...) peuvent avoir une influence sur le résultat de la mesure.

Pour finir, il est à noter que lorsque l'échantillon est multimodal, les petites particules diffusent moins la lumière que les plus grosses. Ainsi, le signal provenant des grosses particules masque celui issu des plus petites, la suspension apparaissant alors comme monomodale avec un diamètre hydrodynamique correspondant à celui des grosses particules.

De plus l'instabilité des suspensions peut également avoir une influence sur le résultat de la mesure DLS. Ainsi, Langevin *et al* [65] ont effectués une inter comparaison entre différents laboratoires sur la mesure de nanoparticules (NPs) de silice et de polystyrène par DLS. Leurs résultats soulignent à quel point il est important d'établir des procédures opérationnelles communes adaptées avant les mesures.

En effet, pour des particules de silice de diamètre moyen certifié par DLS égal à $(19,0 \pm 0,6)$ nm, une partie des participants obtenaient une mesure DLS proche de 40 nm. Cet écart entre le diamètre mesuré par DLS et celui certifié était attribué à l'agglomération des particules en suspension.

3.1.2 Diffusion de rayons X aux petites angles / Small angle X-Ray Scattering (SAXS)

Mesurande : intensité de diffusion X.

La technique SAXS est fondée sur la mesure de la diffusion des rayons X à de très faibles angles, généralement entre $0,1^\circ$ et 5° . Le signal SAXS permet de récolter des caractéristiques structurales de l'ordre de la gamme nanométrique, soit de 1 nm à 100 nm. Cette technique est par conséquent particulièrement adaptée pour mesurer des objets ayant des dimensions de cet ordre de grandeur comme des composés biochimiques (protéines [66, 67], molécules [68]...) ou encore des nanoparticules [69–72].

Les courbes représentant l'intensité diffusée $I(q)$ permettent de déterminer l'information liée à la taille des particules selon l'équation :

$$I(q) = c \int_0^\infty n(r)[F(qr)]^2 S(qr)dr \quad (3)$$

Avec c le facteur d'échelle, $n(r)$ la distribution en taille des particules, $F(q)$ le facteur de forme de l'objet et $S(q)$ le facteur de corrélation interparticulaires égal à 1 dans un système suffisamment dilué.

De plus, lorsque l'ensemble des particules constitutives de l'échantillon a la même morphologie, leur forme peut être déterminée au travers du paramètre $F(q)$ soit directement à partir des courbes dans le cadre de forme simples, soit en appliquant une approche dépendante d'un modèle [73].

Cette méthode présente plusieurs avantages : elle nécessite très peu de préparation d'échantillon, notamment pour les suspensions colloïdales qui peuvent être examinées en l'état. De plus, comme présenté par Pauw *et al* [74], la méthode est extrêmement répétable et reproductible. En effet, leurs travaux présentent les mesures réalisées par différents laboratoires sur une même suspension très monodisperse de nanoparticules d'argent par SAXS. En utilisant une méthode de traitement des données commune, l'écart type entre les différentes mesures est évalué à 0,67 nm pour un diamètre moyen de 5,64 nm.

Cependant, cette méthode affiche ses limites lorsque l'on souhaite caractériser des suspensions polydispersées. En effet, de la même manière que la technique de diffusion dynamique de la lumière, la technique est très sensible à la présence de particules avec un diamètre élevé, particulièrement lors de l'évaluation du diamètre moyen. De plus, cette méthode n'est plus utilisable lorsque les dimensions des particules à étudier sont supérieures à 200 nm.

3.1.3 Spectromètre de masse à plasma à couplage inductif / Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (sp-ICPMS)

Mesurande : concentration massique élémentaire.

La méthode sp-ICPMS est une technique d'analyse indirecte individuelle de particules présentes en suspension. La technique consiste à envoyer, au travers d'un capillaire, une faible quantité de suspension dans une torche à plasma afin de vaporiser les éléments présents pour produire un nuage d'ions. Ce plasma est ensuite analysé par spectroscopie de masse pour séparer et quantifier les ions (Figure 10).

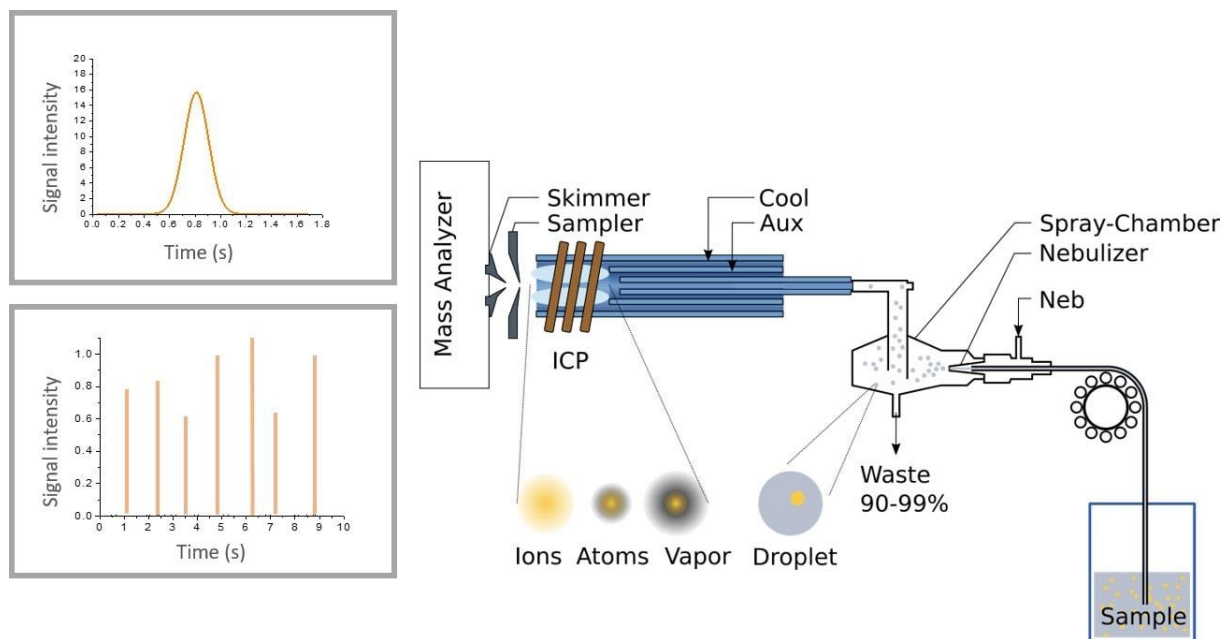


Figure 10 : Principe de la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif. Figure extraite de [75].

Le terme « Single Particle » de la méthode provient du fait qu'en diluant suffisamment la suspension, en utilisant des temps d'intégration courts (< 10 ms) [76] et en n'envoyant qu'une faible quantité de suspension, chaque nuage d'ions provient, théoriquement, de la vaporisation d'une seule particule. Ainsi, en envoyant continûment une partie de la suspension aqueuse dans le système, chaque impulsion sur le signal obtenu par spectrométrie correspond à la vaporisation et l'ionisation d'une « unique particule ». Le nombre d'impulsions pendant le balayage ne doit cependant pas dépasser 1200 impulsions/minutes [77].

L'intensité de chaque pic est directement liée au nombre d'atomes de la particule, permettant, au travers de plusieurs hypothèses, d'en déduire une taille pour chaque objet. La première hypothèse est que la densité des particules est connue. Ensuite, les particules étudiées sont supposées sphériques. Pour finir, il est assumé dans cette technique que chaque pic est attribué à une seule particule.

La taille minimale mesurable avec cette technique est directement liée à la sensibilité du détecteur et à l'élément chimique observé. Dans le cas de l'analyse des particules de SiO₂, des difficultés de mesure, liées à un bruit de fond élevé, apparaissent lorsque la taille des particules est inférieure à 90 nm. Ces difficultés apparaissent en-dessous de 20 nm pour des particules d'or et d'argent [78]. Par exemple, dans l'étude de Linsinger *et al* [79] sur des particules d'argent de différentes tailles, un biais proche de 20 nm est observé sur la mesure des particules de taille 20 nm par SP-ICPMS tandis qu'aucun biais n'est présent pour les particules de 40 nm. De plus cette technique est limitée aux éléments détectables en ICPMS, ce qui exclut par exemple les particules organiques.

3.1.4 *Sédimentation par centrifugation en phase liquide / Centrifugation Liquid Sedimentation (CLS)*

Mesurande : vitesse de sédimentation.

La CLS est une méthode de mesure séparative indirecte fondée sur la vitesse de sédimentation d'objets présents dans un fluide, sous l'effet d'un champ d'accélération centrifuge [80]. Le mesurande, déterminé en CLS, est le diamètre de Stokes d_{stk} correspondant à la vitesse de chute dans un liquide d'une sphère de diamètre équivalent et est égal à :

$$d_{stk} = \sqrt{\frac{18\eta h_{chute}}{(\rho_s - \rho_l)gt}} \quad (4)$$

Avec ρ_s et ρ_l respectivement la masse volumique effective de la particule et celle du liquide, η la viscosité du fluide, h_{chute} la hauteur de sédimentation dans un temps t , et g l'accélération gravitationnelle.

Parmi les différentes méthodes accessibles, la sédimentation centrifuge à disque est la plus répandue [81]. La technique consiste à créer un gradient de densité de saccharose dans le disque centrifuge en introduisant des concentrations de plus en plus faibles au cours du temps. La suspension à étudier est introduite par-dessus ce gradient. Sous l'effet des forces centrifuges et de leur taille, les particules vont se séparer sur le disque. L'évolution de la concentration en particules à une position donnée est suivie à partir d'un détecteur de lumière ou de rayons X.

Cette méthode permet de mesurer des particules de tailles comprises entre 20 nm et 1000 nm. Le principal avantage de cette méthode, en plus de ne nécessiter quasiment aucune préparation d'échantillon (mise en suspension des particules) est que la présence d'agrégats/agglomérats ne perturbe pas la mesure.

La limite principale de la méthode, comme pour la plupart des méthodes indirectes, est qu'une morphologie non sphérique introduit un biais sur la mesure. De plus, il est impossible de mesurer la taille des particules dans les agrégats/agglomérats.

3.2 Les méthodes de mesures directes de taille de nanoparticules

Mesurande : dimension.

Les méthodes de mesures directes, traçables au mètre SI, permettent de déterminer les paramètres dimensionnels d'une ou plusieurs particules directement sur une image prise par un microscope et analysée par l'intermédiaire d'un programme de traitement d'images. Avec ces méthodes, le nombre de particules étudié reste limité, pouvant ainsi introduire un biais sur la mesure si la population imagée n'est pas représentative de l'ensemble de l'échantillon. Il n'existe pas de méthode directe d'ensemble.

Dans cette section, trois techniques directes de résolution nanométrique sont présentées : la microscopie à force atomique (AFM), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie électronique en transmission (MET).

Ces différentes techniques seront décrites plus précisément dans la suite de ce chapitre car celles-ci seront utilisées dans ces travaux de thèse.

3.2.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)

Développée en 1986 par G. Bining, C. Quate et C. Gerber [82], la microscopie à force atomique est utilisée pour visualiser la topographie d'un échantillon. Un levier micrométrique souple, caractérisé par sa constante de raideur k , et muni d'une pointe effilée à son extrémité libre, est utilisé pour balayer la surface d'un échantillon. Lorsque la pointe est amenée à proximité de la surface, des forces, pouvant être attractives ou répulsives, apparaissent, provoquant la déflexion du levier. Ces dernières sont fonction de nombreux paramètres tel que la nature du milieu dans lequel les mesures sont effectuées (vide, air, liquide...), la pointe utilisée ou l'échantillon (Figure 11).

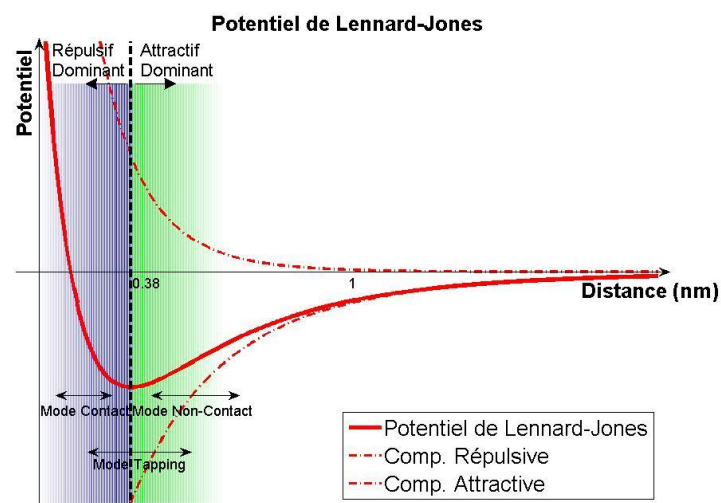


Figure 11 : Évolution similaire au potentiel de Lennard-Jones de l'énergie potentielle entre la pointe et la surface de l'échantillon en fonction de la distance les séparant. Figure issue de [83].

Ces forces sont cependant dépendantes d'un paramètre clef : la distance entre la pointe et l'échantillon. Ainsi, ces interactions peuvent être décrites au travers de l'énergie potentielle, E_p , entre deux atomes situés à une distance L par le modèle de Lennard-Jones [84] :

$$E_p(L) = 4.E_0 \left[\left(\frac{L_0}{L} \right)^{12} - \left(\frac{L_0}{L} \right)^6 \right] \quad (5)$$

Le terme à la puissance 12 est dominant à courte distance et correspond à un régime répulsif. Ce dernier est principalement dû au principe de répulsion de Pauli, c'est-à-dire aux forces répulsives électrostatiques apparaissant lorsque les nuages électroniques des deux atomes s'interpénètrent [85]. Le second terme, à la puissance 6, tient compte de l'interaction attractive, portée par les forces de Van der Waals, dominante à plus grande distance.

En plus de ces forces, la présence d'une couche d'eau sur la surface de l'échantillon peut conduire à la formation d'un ménisque liquide entre la surface et la pointe et générer ainsi des forces de capillarité attractives sur cette dernière [86]. Les forces électrostatiques causées par la présence d'une pointe ou d'une surface chargée, sont également à considérer lors du bilan des forces sur le levier.

Le levier, caractérisé par sa constante de raideur k , agit comme un capteur de force en subissant une déflexion Δz proportionnelle à la force F qui s'exerce sur la pointe :

$$\Delta z = \frac{F}{k} \quad (6)$$

Afin de convertir la déflexion du levier en signal électrique, un système de détection est utilisé au niveau de la tête AFM (Figure 12). Plusieurs techniques peuvent être utilisées (interférométrie, piézo-électrique, capacitive, piézorésistive). Cependant celle la plus couramment mise en place est la méthode du levier optique [87]. Pour cette technique, un faisceau laser focalisé est réfléchi sur la face arrière du levier. Le spot est ensuite projeté sur une photodiode à quatre quadrants qui analyse les déplacements de l'extrémité du levier en détectant les variations d'intensité lumineuse entre les différents quadrants.

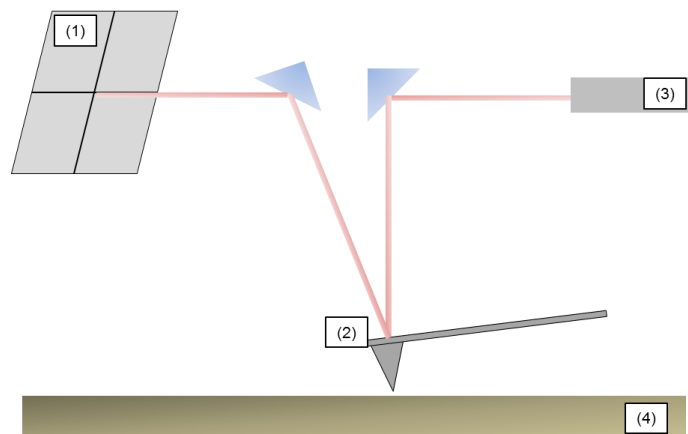


Figure 12 : Principe de détection de la déflexion de la pointe sur l'échantillon. (1) Photodiode quatre cadrans, (2) levier avec la pointe en son extrémité libre, (3) source laser et (4) surface de l'échantillon.

L'instrument intègre un système de balayage (piézoélectrique) générant un déplacement de la pointe sur l'échantillon.

Dans le mode « contact », un système d'asservissement agit au cours du balayage sur le déplacement vertical de l'ensemble pointe-levier afin de maintenir la déflexion du levier, et donc la force pointe-surface à une valeur de consigne. Le mouvement ainsi généré permet de reconstruire une image de la surface en trois dimensions.

Dans le cas de l'analyse de nanoparticules, cette méthode présente un inconvénient majeur. En effet, les forces de friction qui s'exercent entre la pointe et la surface peuvent provoquer une dégradation de la pointe, mais également déplacer les nanoparticules présentes à la surface de l'échantillon.

Au début des années 90 ont été développés plusieurs modes « dynamiques ». Un actuateur piézoélectrique supplémentaire est ajouté sous le substrat portant l'ensemble pointe levier afin de faire osciller ce dernier à une fréquence proche de sa fréquence de résonance (quelques dizaines ou centaines de kHz). Lorsque la pointe est approchée de la surface, les forces d'interaction pointe-surface ont pour effet de décaler la fréquence de résonance du système et modifient donc l'amplitude d'oscillation pour une fréquence d'excitation donnée. L'asservissement au cours du balayage s'effectue donc non plus sur la déflexion du levier, mais sur son amplitude d'oscillation. Ce mode permet de ne travailler qu'en contact intermittent, voire sans contact, entre la pointe et la surface, et de s'affranchir des forces de friction et des forces de capillarité. Les temps d'acquisition sont en revanche beaucoup plus longs qu'en mode contact (quelques dizaines de minutes contre quelques minutes).

Lors de l'imagerie de nanoparticules déposée sur une surface par AFM, une convolution entre la forme de la pointe, ayant généralement un rayon de 10 nm à 15 nm, et celle des particules est observée (Figure 13). Ainsi, le diamètre latéral mesuré d'un objet de taille comparable à celle de la pointe AFM, comme une nanoparticule, se retrouve élargi par rapport à son diamètre réel sur une image AFM.

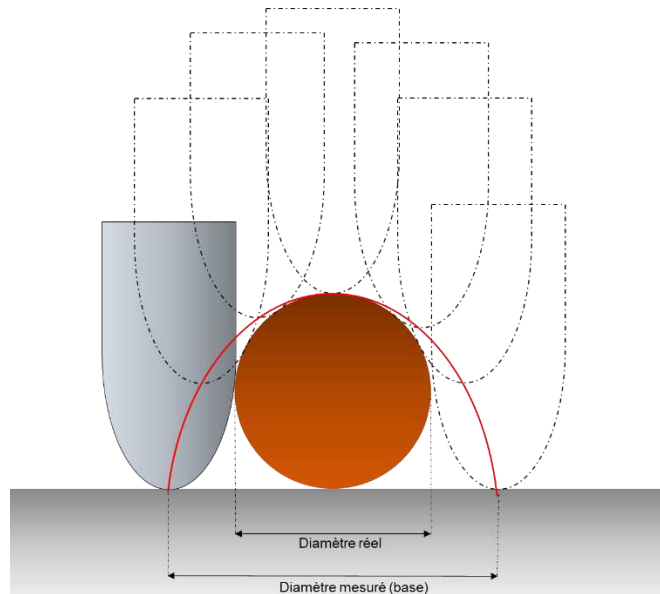


Figure 13 : Principe de la convolution entre la pointe et l'échantillon pour l'imagerie d'une nanoparticule. Le trait rouge correspond au profil obtenu sur l'image AFM.

Cependant, au prix de certaines hypothèses, il est possible de tenter d'évaluer le diamètre réel des particules en utilisant des méthodes ou des algorithmes de déconvolution de l'image. Par exemple, Wong *et al* [88] ont proposé de déconvoluer la forme de la pointe en effectuant un balayage sur une nanoparticule sphérique pré-caractérisée avant d'imager des particules inconnues. Les travaux de Cannet-Ferrer *et al* [89] ont permis de démontrer que pour un rayon de pointe constant, l'erreur de convolution augmente avec la hauteur de l'objet, principalement pour les motifs les plus étroits. Ces derniers ont alors développé un algorithme pour étudier l'influence de la taille, de la forme et du rapport d'aspect de différents motifs nanométriques sur la convolution entre la forme de la pointe et celle de l'objet.

Cependant, l'utilisation de tels algorithmes introduit des sources d'incertitudes supplémentaires puisque ces derniers nécessitent de connaître la taille et la forme de la pointe pour être utilisés. En effet, une étude montre que, lors de l'utilisation d'une pointe AFM avec un rayon de courbure inférieur à 5 nm, soit une pointe de très bonne qualité, l'erreur liée à la déconvolution est de l'ordre de 4 nm environ [90]. De plus, la géométrie de la pointe évolue au cours du temps. Cependant, sur une particule, le point correspondant au sommet de la particule n'est pas impacté par cet effet (Figure 13). Il est donc préférable d'utiliser des principes de mesure différents, ne tenant pas compte de cet effet de convolution pointe/surface.

Ainsi plusieurs méthodes peuvent être mise en place pour mesurer les propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule en n'utilisant que ces points. La première d'entre-elles consiste à mesurer le pas du réseau formé par l'agglomération 2D de nanoparticules sur la surface (Figure 14). Garnaes [91] et Misumi *et al* [92] ont ainsi utilisé cette méthode pour mesurer les propriétés dimensionnelles de nanoparticules de polystyrène organisées sous forme de réseau 2D.

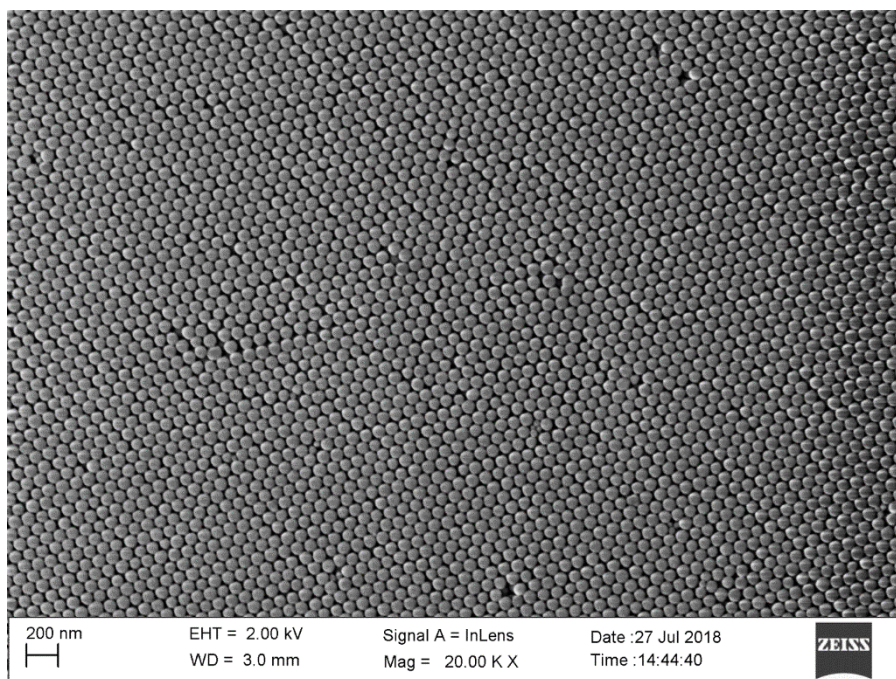


Figure 14 : Exemple d'organisation sous la forme d'un réseau 2D de particules de silice de 80 nm.

La mesure est alors effectuée dans le plan XY entre les sommets ou entre les centres de gravité des particules. Cette méthode présente cependant plusieurs inconvénients :

- le premier est que les particules doivent former un réseau 2D sur le substrat. Ainsi, la préparation des échantillons (dépôt des NPs sur la surface) représente une étape essentielle à maîtriser pour appliquer cette méthode.
- le second est que la population de particules en question doit être monomodale et monodispersée afin de pouvoir former un réseau 2D régulier sur la surface.

Le bilan d'incertitudes associé à cette méthode a été donné par Meli *et al* [93] pour la mesure de particules de polystyrène de 100 nm. L'incertitude de mesure associée à cette méthode est évaluée à 1,1 nm ($k = 1$) avec six sources d'erreurs identifiées. Le terme k correspond au facteur d'élargissement c'est-à-dire au nombre par lequel on multiplie une incertitude-type composée pour obtenir une incertitude élargie.

La seconde méthode consiste à mesurer le diamètre d'une sphère idéale, via la méthode de la « calotte sphérique » en ajustant les points du dessus de la particule avec la forme d'une sphère comme présenté sur la Figure 15 [94].

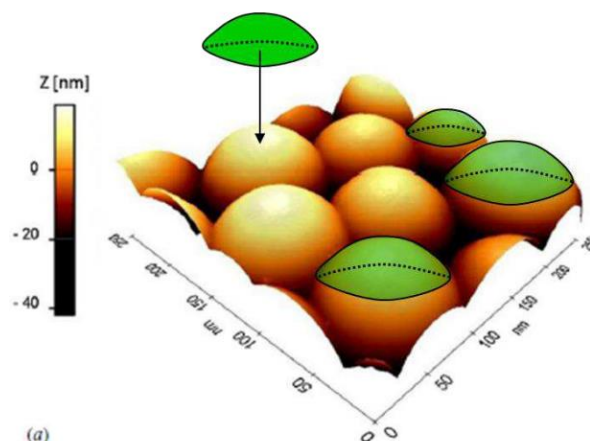


Figure 15 : Méthode de mesure des paramètres dimensionnels d'une particule à partir de la méthode de la calotte sphérique. Figure extraite de [95].

La dernière méthode, développée par Boyd *et al* [96] repose sur la mesure de la hauteur maximale d'une nanoparticule. Pour cela, deux points sont requis (voir section 3.3.1 du Chapitre 2) : un point correspondant au sommet de la particule et un second au pied de celle-ci, défini à partir du plan moyen de rugosité du substrat. La hauteur maximale de la particule est ainsi définie comme étant la différence en Z entre les deux points. Cette méthode n'est cependant applicable que sur des particules isolées.

L'incertitude associée à la mesure de hauteur de NPs par cette méthode a été évaluée dans plusieurs études. Ainsi, Delvallée *et al* [97] estiment que l'incertitude est égale, pour leur instrument, à 0,8 nm ($k = 1$) pour des particules de silice de 80 nm. Deux autres laboratoires ont estimé l'incertitude dans le cadre de l'imagerie par AFM de particules de polystyrène de 100 nm [93]. Pour le premier, neuf sources d'erreurs ont été identifiées et évaluées pour une incertitude combinée égale à 1,91 nm ($k = 1$). La contribution principale au bilan d'incertitudes dans cette étude correspond à la planéité du substrat. Le second estime l'incertitude comme étant égale à 3,6 nm ($k = 1$) avec comme contribution principale l'étalonnage en Z des interféromètres.

Ces divers résultats mettent en évidence le fait qu'un bilan d'incertitudes est évolutif et fonction à la fois de l'objet étudié, de l'équipement utilisé ainsi que des conditions dans lesquelles les mesures sont réalisées.

3.2.2 Microscopie Électronique à balayage (MEB)

Développés dans les années 30, les premiers microscopes électroniques à balayage ont été commercialisés dans les années 60 par la société Cambridge Instrument [98]. Depuis, la méthode n'a cessé de se développer pour devenir une technique incontournable pour l'imagerie d'échantillons dans des domaines divers (biologie, industrie des semi-conducteurs, géologie...). La microscopie électronique à balayage est une méthode d'observation directe de la surface d'un objet avec une résolution de quelques nanomètres dans le plan XY .

Un faisceau électronique focalisé « excite » localement l'échantillon et parcourt sa surface *via* un balayage ligne à ligne. L'interaction entre le faisceau incident et les atomes constitutifs de l'échantillon produit plusieurs types de signaux : électrons secondaires, électrons rétrodiffusés, électrons Auger ou Rayons X (Figure 16) [99]. Différents types de détecteurs peuvent alors être utilisés afin de récolter les différents signaux réémis par l'échantillon au cours du balayage.

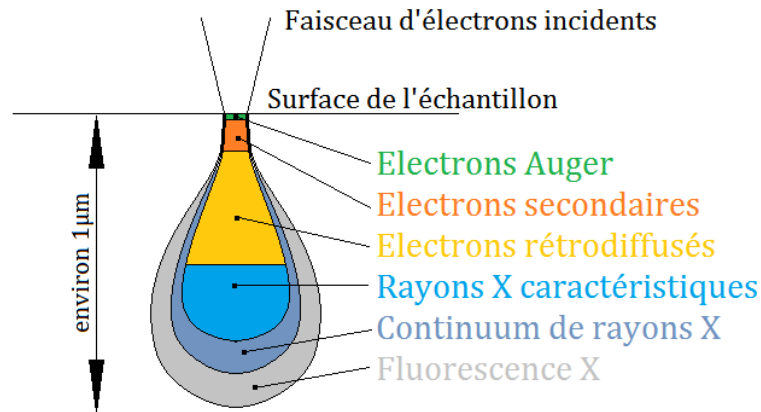


Figure 16 : Provenance des différentes émissions ayant lieu à la suite de l'interaction entre le faisceau électronique incident et l'échantillon. Figure tirée de [100].

De nombreux modes d'imagerie peuvent être utilisés en microscopie électronique à balayage en fonction du type d'émission électronique et/ou électromagnétique que l'on souhaite collecter. Chacune de ces émissions apporte une information spécifique sur l'échantillon étudié. Par exemple, l'émission des électrons secondaires permet d'obtenir une information sur la topographie de l'échantillon. En revanche, la sensibilité au numéro atomique de l'émission des électrons rétrodiffusés permet plutôt de distinguer des phases de compositions chimiques différentes sur l'échantillon.

Avec les microscopes de dernière génération, la mesure MEB donne une information très résolue, de l'ordre du nanomètre dans le plan XY mais aucune information quantitative suivant l'axe Z. Il est donc possible d'obtenir une mesure du diamètre latéral d'une nanoparticule déposée sur un substrat avec une faible incertitude.

Cependant, une étude menée par Hughes *et al* [101] met en avant le fait qu'une attention toute particulière doit être portée sur le traitement des images MEB. Ainsi le choix de la méthode utilisée pour extraire les paramètres dimensionnels d'une ou plusieurs particules à partir d'images MEB est une étape déterminante dans le processus de mesure des NPs avec cette technique.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour mesurer les paramètres dimensionnels d'une NP par MEB. La première d'entre-elles consiste à déterminer directement la taille d'une particule en mesurant la longueur d'une ligne tracée le long de l'objet. Un exemple d'application de cette méthode sur une particule de silice par le logiciel Platypus® est présenté sur la Figure 17.

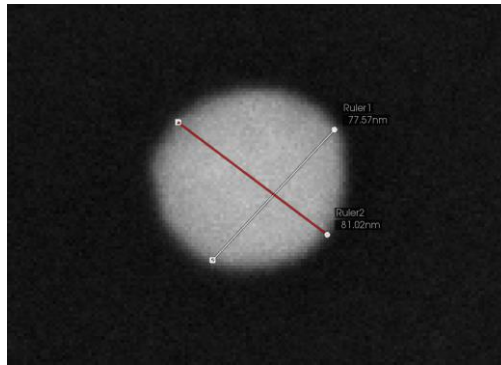


Figure 17 : Exemple d'application de la méthode consistant à tracer une ligne le long de la particule pour mesurer son diamètre. Sur l'image d'une particule de silice, la première mesure (Ruler 1) est volontairement décalée afin de mettre en évidence le biais potentiel pouvant être introduit par cette méthode. La seconde mesure (Ruler 2) est placée au centre de la particule.

Cette approche a été utilisée par Eaton *et al* [102] afin de mesurer le diamètre moyen de populations de particules de tailles et de compositions chimiques différentes (or, silice et polystyrène). Cependant, bien que cette méthode soit simple à mettre en œuvre, elle s'accompagne de nombreuses sources d'erreurs qu'il est nécessaire de prendre en compte. Dans un premier temps, comme présenté par Eaton *et al* [102], une précaution possible est de réaliser deux mesures au minimum sur une même particule, dans des directions opposées, afin d'obtenir une information sur la forme de l'objet. De plus, cette méthode dépend fortement du niveau d'expertise de l'opérateur : la manière dont est réalisée la mesure (position de la ligne sur la particule, ajustement des bords de la ligne avec ceux de la particule) sont autant de paramètres pouvant introduire des biais sur le résultat final.

Une seconde méthode, plus répandue, consiste à effectuer un seuillage de l'image MEB à un niveau défini pour extraire une image binaire (Figure 18) [103].

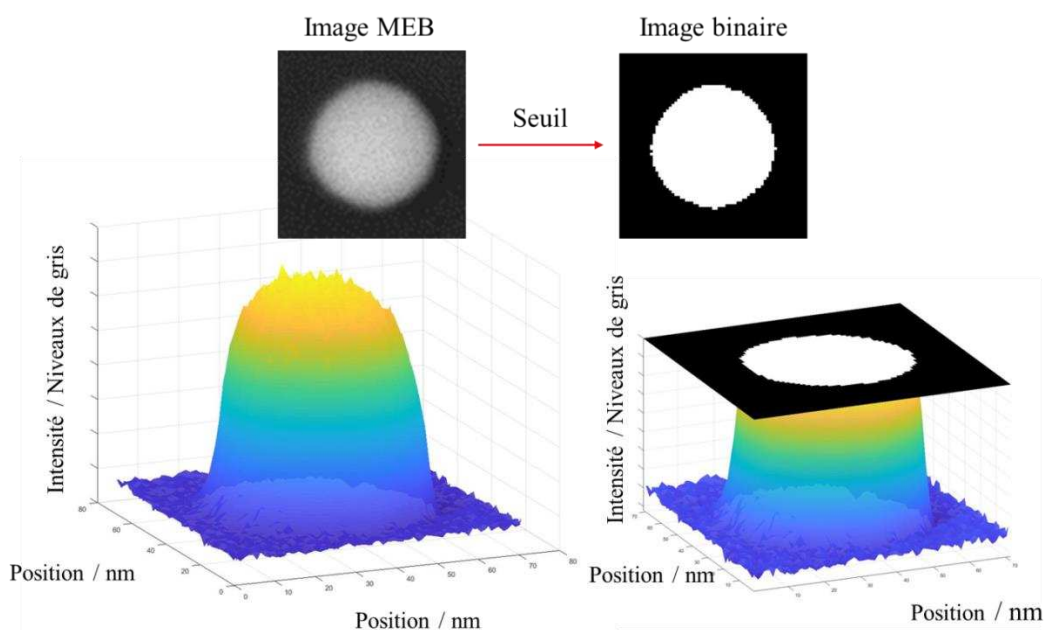


Figure 18 : Méthode de segmentation des particules par seuillage sur les images MEB. Un seuil est placé à un niveau défini par l'opérateur. Pour chaque pixel sur l'image MEB, si l'intensité en niveaux de gris est supérieure à la valeur du seuil le pixel est égal à 1 sur l'image binaire, sinon il est égal à 0.

L'aire de l'image binaire, évaluée en comptant le nombre de pixels, permet d'obtenir l'aire de l'objet observé. La mesure du diamètre d'une sphère équivalente (nommé diamètre équivalent), soit le diamètre d'une sphère ayant la même aire que l'objet en question, peut être effectuée. Il est également possible d'extraire les dimensions maximale et minimale (nommées diamètres de Feret min et max) pour une particule afin de déterminer le rapport d'aspect de cette dernière dans le plan XY [104].

L'image binaire peut également être créée à partir de méthodes consistant à détecter les contours de la particule comme celle dite des « contours actifs » ou « snakes » [105]. Cette méthode a été utilisée dans plusieurs études afin de déterminer les paramètres dimensionnels d'une population de particules par MEB. Lu *et al* [106] ont appliqué cette méthode pour la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de particules de ZnO. Sur leurs images MEB, la segmentation est réalisée automatiquement *via* le logiciel ImageJ®. Les auteurs apportent certaines recommandations pour réduire l'incertitude sur la mesure MEB : les particules se chevauchant ou se touchant sur les images doivent être exclues. Delvallée *et al* [107] et Underwood *et al* [108] ont également utilisé cette technique pour la segmentation d'images MEB de particules d'or, d'argent et de silice. Les auteurs apportent cependant un argument sur les limites de la méthode : à cause de la convolution entre le faisceau électronique et les bords des particules, la position du seuil a une forte influence sur le résultat de la mesure comme présenté sur la Figure 19.

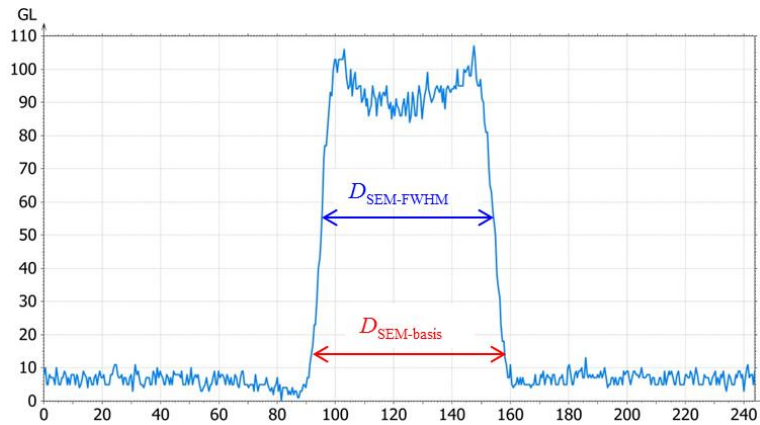


Figure 19 : Influence de la position du seuil sur la mesure d'une nanoparticule par MEB. Exemple sur un profil d'intensité en électrons secondaires extrait le long d'une particule de silice. Image tirée de [107].

L'incertitude associée à la mesure de nanoparticules par MEB a été estimée dans plusieurs études. Ainsi, Kestens *et al* [109] ont mené une « intercomparaison » sur la mesure par microscopie électronique du diamètre moyen d'une population bimodale de particules de silice (ERM-FD102). Dans cette étude, il a été demandé aux différents participants d'estimer l'incertitude élargie relative ($k = 2$) associée à leur mesure. Cette dernière s'étend ainsi de 5 % à 20 % entre les différents laboratoires participants. Cependant, il est nécessaire de nuancer ces résultats. Aucune information n'est donnée sur la méthode utilisée par chaque laboratoire pour estimer son incertitude de mesure (facteurs d'influences pris en compte...). De plus, les mesures MEB et MET (Microscopie Électronique en Transmission) étant regroupées sous le terme « microscopie électronique », il est impossible de faire la distinction entre les deux techniques, y compris pour les incertitudes annoncées.

Un bilan d'incertitudes, comprenant 4 paramètres, a été réalisé sur la mesure de particules de polystyrène de 100 nm par Meli *et al* [93]. L'incertitude combinée ($k = 1$) est évaluée comme étant égale à 2,51 nm. Parmi les différents facteurs d'influence évalués, « l'évaluation de l'image » représente la contribution majeure au bilan d'incertitude. En effet, l'incertitude associée à ce paramètre est égale à 2,31 nm quand les trois autres facteurs d'influence (répétabilité de la mesure, étalonnage de l'instrument et « conditions de mesure ») ont chacun une incertitude de l'ordre de 0,5 nm. Aucun détail n'est donné sur la méthode utilisée pour estimer l'incertitude et les paramètres associés à chaque facteur d'influence.

Enfin, Vladár et Hodoroaba [110] ont évalué l'influence de plusieurs paramètres d'imagerie sur la mesure de particules par MEB. Par exemple, un écart relatif pouvant atteindre jusqu'à 7,3 % est observé en modifiant le focus sur les images. L'influence d'autres paramètres comme la tension d'accélération, le courant du faisceau électronique, l'inclinaison de l'échantillon ou le grandissement de l'image a également été évaluée. La variation de l'ensemble de ces paramètres provoque un écart

sur le résultat pouvant atteindre jusqu'à 10 % de la mesure. Cependant, aucun bilan d'incertitudes regroupant la contribution de l'ensemble de ces paramètres n'est donné dans l'étude.

3.2.3 Microscopie Électronique en Transmission (MET)

La MET est une méthode directe permettant de visualiser un échantillon. La structure d'un microscope électronique en transmission est similaire au MEB en beaucoup de points : un faisceau électronique, produit par un canon à électrons, est focalisé perpendiculairement au plan de l'échantillon et envoyé sur celui-ci. En entrant en interaction avec l'échantillon, le faisceau électronique produit plusieurs types de rayonnements qui sont par la suite récoltés par l'intermédiaire de détecteurs et retranscrits à l'utilisateur sous forme d'images contrastées. Cependant, en comparaison avec la technique MEB, la MET utilise des énergies de faisceau primaire largement supérieures pouvant atteindre plusieurs centaines de kV. Cette haute tension permet d'obtenir des résolutions inférieures au nanomètre. La méthode impose également l'utilisation d'un échantillon extrêmement fin (épaisseur inférieure au micromètre). En effet, les différents détecteurs étant situés sous l'échantillon, le signal collecté est fonction des électrons ayant traversé l'échantillon. Plusieurs modes d'imageries sont disponibles en MET selon le type d'électrons collectés.

Lorsque les électrons sont collectés par un détecteur situé sous l'échantillon dans l'axe du faisceau, on parle d'imagerie en champ clair (BF – Bright Field). En effet, dans ce mode, seuls les électrons n'ayant pas été déviés par des interactions élastiques sont collectés. Ainsi, en l'absence d'échantillon, l'ensemble du faisceau est transmis et l'image apparaît claire, donnant son nom à la technique. Un exemple d'imagerie en champ clair de nanoparticules d'argent est présenté sur la Figure 20-a.

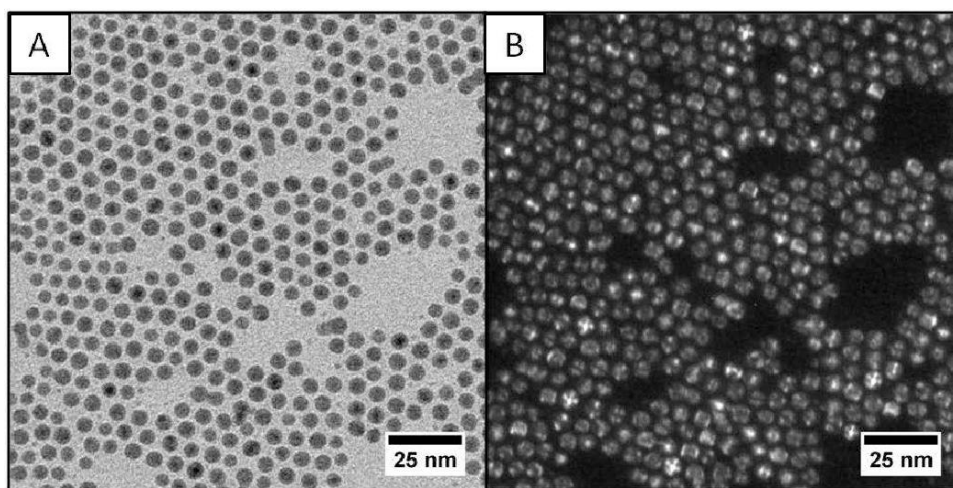


Figure 20 : Image MET (A) en champ clair et (B) en champ sombre de nanoparticules d'argent. Figure extraite de [111].

Il est également possible de ne collecter que les électrons diffractés en plaçant le détecteur à un angle particulier. Dans ce cas, en l'absence d'échantillon, aucune diffraction ne se produit et l'image

apparaît sombre. Cette méthode porte ainsi le nom de champ sombre (DF – Dark Field). Un exemple d'image MET-DF réalisée sur des particules d'argent est présenté sur la Figure 20-b.

La méthode STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy) est une autre méthode opérée dans un MET. L'échantillon est balayé par un faisceau focalisé. Ainsi, pour ce mode d'imagerie, le signal transmis est fonction de l'emplacement du faisceau lors du balayage sur l'échantillon (Figure 21).

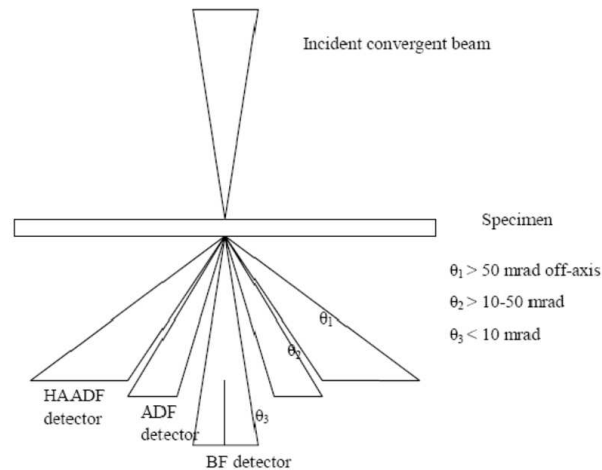


Figure 21 : Détecteurs STEM BF, ADF et HAADF et leurs portées annulaires. Figure extraite de [112].

Les modes champ clair (BF) et champ sombre (ADF : Annular Dark Field) sont utilisables comme dans le cas du MET et sont fonction de l'angle de collection des électrons. Pour ce dernier mode, il est possible de collecter les électrons jusqu'à un angle de 50 mrad. Pour des angles supérieurs, un autre type de détection est disponible : le mode champ sombre annulaire à angle élevé (HAADF – High Angle Annular Dark Field). Cette dernière méthode est très sensible aux variations du numéro atomique et à l'épaisseur de l'échantillon.

Grâce à la taille du faisceau électronique extrêmement faible, la technique MET présente une meilleure résolution que le MEB. Ainsi, il est possible d'obtenir une information très résolue sur les dimensions d'une particule dans le plan XY.

Les méthodes de traitement des images MET afin de mesurer les paramètres dimensionnels des particules sont similaires à celles utilisées pour la technique MEB. En effet, Eaton *et al* [102] utilisent également la méthode consistant à mesurer la longueur d'une ligne tracée le long de la particule sur des images BF-MET pour divers types de particules (or, silice et polystyrène). Les problématiques liées à cette méthode sont les mêmes que celles rencontrées pour le MEB à savoir qu'il est nécessaire de tracer plusieurs droites dans des directions différentes pour obtenir une information sur la forme des particules ou que la manière dont la ligne est tracée influe fortement sur le résultat de mesure.

Ainsi, comme pour le MEB, la méthode généralement utilisée consiste à segmenter l'image MET avec un certain seuil, en utilisant des logiciels automatisés, pour extraire l'aire ou le contour de la particule (Figure 22) [113, 114].

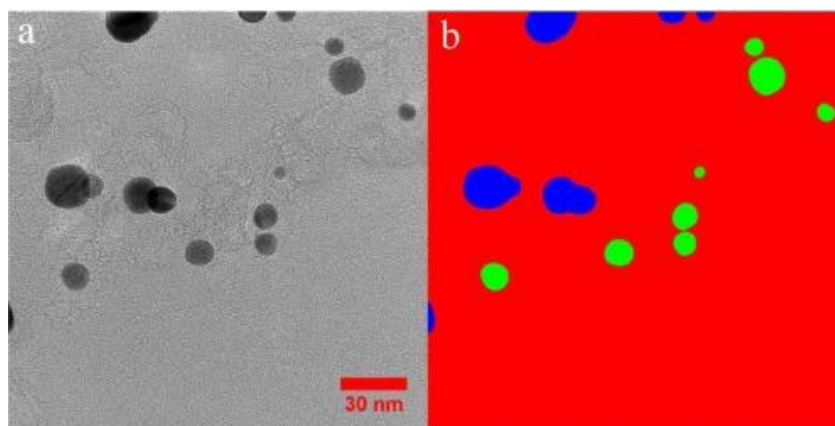


Figure 22 : a) Image MET en champ clair de nanoparticules de platine déposées sur un film carbone. b) Tâches associées à la segmentation des particules. La couleur rouge représente le fond, la couleur bleue représente les régions associées aux NPs exclues, la couleur verte représente les particules isolées. Figure tirée de [113].

Ensuite de la même manière, des informations sur la taille (diamètre équivalent, diamètres de Féret) ou sur la forme (rapport d'aspect...) peuvent être mesurées. Les limites de ces méthodes sont les mêmes que pour la technique MEB : la position du seuil influe sur le résultat de la mesure et peut potentiellement introduire un biais sur le résultat final. De plus, la présence d'agglomérats peut entraîner des difficultés sur la segmentation des images. Il est ainsi nécessaire d'effectuer les mesures sur les particules isolées.

Plusieurs bilans d'incertitudes associés à la mesure de nanoparticules par MET ont été évalués. Ainsi, De Temmerman *et al* [115] évaluent l'incertitude de mesure à 3,1 nm ($k = 1$) pour des particules de silice dont le diamètre moyen est mesuré à 19,4 nm. Dans cette étude, les auteurs se sont uniquement focalisés sur l'erreur statistique (mesure de répétabilité, reproductivité) ainsi que sur l'erreur liée à l'étalonnage de l'instrument pour établir leur bilan d'incertitudes.

Verleysen *et al* [116] ont évalué l'incertitude associée à la mesure à partir d'images MET de divers types de particules (silice, or et argent) de tailles différentes en utilisant le logiciel de segmentation automatique « ParticleSizer » développé au cours du projet NanoDefine [117] et utilisable sous ImageJ®. Dans cette étude, la méthode de segmentation des particules sur les images varie en fonction du recouvrement des particules entre elles. Ainsi, lorsque les particules sont isolées, la méthode « par défaut » est utilisée. Le principe de celle-ci n'est pas précisé dans l'étude. Lorsque les particules se recouvrent partiellement ou totalement, des méthodes de segmentation par « Watershed » [118] ou par ajustement d'une ellipse sont utilisées. L'incertitude relative combinée ($k = 1$) est comprise entre

3,4 % et 13,1 % selon le type de particule analysée. Selon les auteurs, les résultats dépendent peu de la méthode de segmentation utilisée.

3.3 Bilan et sélection des méthodes de mesure des paramètres dimensionnels de NP

Comme nous venons de le voir, de nombreuses techniques de caractérisation peuvent être utilisées pour mesurer les paramètres dimensionnels d'une nanoparticule. Un bilan est présenté sur le Tableau 1.

Tableau 1 : Synthèse des méthodes de mesure présentées pour caractériser les propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule

Méthode de mesure	Classification	Milieu	Forme	Exemple d'étude sur des NP
DLS	Ensemble indirecte	Liquide	Sphérique	[60–62, 65]
SAXS	Ensemble indirecte	Liquide Poudre	Toute forme (à condition de la connaître)	[74, 119]
SP-ICPMS	Individuelle indirecte	Liquide Poudre	Sphérique	[79, 120]
CLS	Séparative indirecte	Liquide Poudre	Sphérique	[121]
AFM	Individuelle directe	Poudre	Toute forme (mais mesure uniquement de la hauteur)	[92–94, 97, 122]
MEB	Individuelle directe	Poudre	Toutes formes (mais mesure uniquement dans le plan XY)	[93, 102, 106–110]
MET	Individuelle directe	Poudre	Toutes formes (mais limitée pour la hauteur)	[102, 115, 116]

L'objectif de ces travaux est de déterminer les propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule dans les trois dimensions de l'espace avec une incertitude contrôlée afin d'être en mesure de répondre aux

exigences réglementaires. Pour cela, les techniques de mesure indirectes peuvent être écartées. En effet, à l'exception de la technique SAS (Small Angle Scattering), celles-ci ne sont pas directement traçables au mètre SI et l'information sur la forme des particules est extrêmement limitée voire nulle.

Concernant les techniques directes MEB et AFM, celles-ci apparaissent comme étant complémentaires. En effet, le MEB ne donne aucune information suivant l'axe Z mais la résolution dans le plan XY est de l'ordre du nm. Avec la technique AFM, à cause de la convolution pointe/surface, celle-ci donne une information entachée d'une forte incertitude dans le plan XY, alors que dans la direction Z celle-ci est très résolue.

Plusieurs études ont été portées sur la comparaison entre les mesures de la taille de nanoparticules par AFM et MEB. Par exemple, Teulon *et al* [123] ont comparé les mesures AFM et MEB réalisées sur plusieurs types de nanoparticules (polystyrène, SiO₂, argent et TiO₂). Leurs résultats montrent que l'écart entre les mesures AFM et MEB est fonction de la composition chimique et de la taille des nanoparticules. Eaton *et al* [102] ont également comparé les mesures issues de ces deux techniques sur des particules d'or, de silice et de polystyrène de tailles différentes. La conclusion est similaire à la première étude. Delvallée *et al* [107] ont comparé les mesures AFM et MEB réalisées sur des particules de silice de 60 nm déposées sur un substrat de silicium. Ces derniers observent un écart systématique entre les deux mesures avec la mesure MEB supérieure à la mesure AFM. Cette observation est en contradiction avec les résultats de Eaton *et al* [102] pour qui la mesure AFM donnait un résultat supérieur à la mesure MEB pour des particules de silice de taille comparable. Cette contradiction entre les résultats des deux études peut être expliquée par plusieurs points :

- Dans un premier temps, dans l'étude de Delvallée *et al* la traçabilité des mesures dimensionnelles à l'échelle nanométrique est directement assurée par un processus d'étalonnage mettant en œuvre un microscope à force atomique métrologique (mAFM) tandis que Eaton *et al* expliquent que l'ensemble des techniques de microscopie ont été étalonnées selon des matériaux de référence, mais que ceux-ci ne sont pas traçables.
- Dans chacune des études, les mesures AFM et MEB ont été réalisées sur des populations différentes. Par conséquent, l'écart observé entre les résultats issus des deux mesures peut potentiellement s'expliquer par le fait que la population imagée par AFM présente une taille moyenne différente de celle de la population imagée par MEB.

Les travaux décrits dans cette thèse visent à lever le doute sur cette composante. En effet, en couplant la mesure MEB avec la mesure AFM, pour une même population de nanoparticules, il est possible de déterminer les propriétés dimensionnelles d'une particule dans les trois dimensions de l'espace. Afin de mettre en évidence la faisabilité de ce concept, les mesures doivent être réalisées sur des particules sphériques pour obtenir une mesure AFM égale à la mesure MEB, l'objectif étant, à terme, de mesurer

des NPs de forme plus complexe. La technique MET, plus résolue mais plus difficile à mettre en œuvre, sera utilisée comme méthode de contrôle.

RÉFÉRENCES

1. ISO/TS 80004-1 :2015, Nanotechnologies – Vocabulaire – Partie 1 : Termes « cœur »
2. Programme de normalisation de l'AFNOR relatif aux nanotechnologies « AFNOR/X457 »
3. Boverhof DR, Bramante CM, Butala JH, Clancy SF, Lafranconi M, West J, Gordon SC (2015) Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. *Regul Toxicol Pharmacol* 73:137–150 . <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.06.001>
4. ISO/TS 80004-2 :2017, Nanotechnologies – Vocabulaire – Partie 2 : Nano-Objets
5. ISO/TS 80004-4 :2015, Nanotechnologies – Vocabulaire – Partie 4 : Matériaux nanostructurés
6. Xu L, Liang H-W, Yang Y, Yu S-H (2018) Stability and Reactivity: Positive and Negative Aspects for Nanoparticle Processing. *Chem Rev* 118:3209–3250 . <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00208>
7. Roucoux A, Schulz J, Patin H (2002) Reduced Transition Metal Colloids: A Novel Family of Reusable Catalysts? *Chem Rev* 102:3757–3778 . <https://doi.org/10.1021/cr010350j>
8. Beller M, Fischer H, Kühlein K, Reisinger C-P, Herrmann WA (1996) First palladium-catalyzed Heck reactions with efficient colloidal catalyst systems. *Journal of Organometallic Chemistry* 520:257–259 . [https://doi.org/10.1016/0022-328X\(96\)06398-X](https://doi.org/10.1016/0022-328X(96)06398-X)
9. Buil ML, Esteruelas MA, Niembro S, Oliván M, Orzechowski L, Pelayo C, Vallribera A (2010) Dehalogenation and Hydrogenation of Aromatic Compounds Catalyzed by Nanoparticles Generated from Rhodium Bis(imino)pyridine Complexes. *Organometallics* 29:4375–4383 . <https://doi.org/10.1021/om1003072>
10. Moshfegh AZ (2009) Nanoparticle catalysts. *Journal of Physics D: Applied Physics* 42:233001 . <https://doi.org/10.1088/0022-3727/42/23/233001>
11. Schmid G, Corain B (2003) Nanoparticulated Gold: Syntheses, Structures, Electronics, and Reactivities. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2003:3081–3098 . <https://doi.org/10.1002/ejic.200300187>
12. Jiang A, Awasthi N, Kolmogorov AN, Setyawan W, Börjesson A, Bolton K, Harutyunyan AR, Curtarolo S (2007) Theoretical study of the thermal behavior of free and alumina-supported Fe-C nanoparticles. *Phys Rev B* 75:205426 . <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.75.205426>
13. Sun J, Simon SL (2007) The melting behavior of aluminum nanoparticles. *Thermochimica Acta* 463:32–40 . <https://doi.org/10.1016/j.tca.2007.07.007>
14. Singh M, Goyal M, Devlal K (2018) Size and shape effects on the band gap of semiconductor compound nanomaterials. *Journal of Taibah University for Science* 12:470–475 . <https://doi.org/10.1080/16583655.2018.1473946>
15. Barnard AS (2009) Shape-Dependent Confinement of the Nanodiamond Band Gap. *Crystal Growth & Design* 9:4860–4863 . <https://doi.org/10.1021/cg900680e>
16. Li L, Hu J, Yang W, Alivisatos AP (2001) Band Gap Variation of Size- and Shape-Controlled Colloidal CdSe Quantum Rods. *Nano Lett* 1:349–351 . <https://doi.org/10.1021/nl015559r>

17. nanoComposix - Gold Nanoparticles: Spheres. <https://nanocomposix.eu/pages/gold-nanoparticles-spheres>
18. Link S, El-Sayed MA (1999) Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles. *J Phys Chem B* 103:4212–4217 . <https://doi.org/10.1021/jp984796o>
19. Kuo T-R, Hovhannisyany VA, Chao Y-C, Chao S-L, Chiang S-J, Lin S-J, Dong C-Y, Chen C-C (2010) Multiple Release Kinetics of Targeted Drug from Gold Nanorod Embedded Polyelectrolyte Conjugates Induced by Near-Infrared Laser Irradiation. *J Am Chem Soc* 132:14163–14171 . <https://doi.org/10.1021/ja105360z>
20. Yavuz MS, Cheng Y, Chen J, Cobley CM, Zhang Q, Rycenga M, Xie J, Kim C, Song KH, Schwartz AG, Wang LV, Xia Y (2009) Gold nanocages covered by smart polymers for controlled release with near-infrared light. *Nat Mater* 8:935–939 . <https://doi.org/10.1038/nmat2564>
21. Garcia MA (2011) Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics* 44:283001 . <https://doi.org/10.1088/0022-3727/44/28/283001>
22. Pissuwan D, Valenzuela SM, Cortie MB (2006) Therapeutic possibilities of plasmonically heated gold nanoparticles. *Trends in Biotechnology* 24:62–67 . <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.12.004>
23. Hainfeld JF, Powell RD (2000) New Frontiers in Gold Labeling. *J Histochem Cytochem* 48:471–480 . <https://doi.org/10.1177/002215540004800404>
24. Yezhelyev MV, Gao X, Xing Y, Al-Hajj A, Nie S, O'Regan RM (2006) Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *The Lancet Oncology* 7:657–667 . [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70793-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70793-8)
25. Mohd-Zahid MH, Mohamud R, Che Abdullah CA, Lim J, Alem H, Wan Hanaffi WN, Z. A. I (2020) Colorectal cancer stem cells: a review of targeted drug delivery by gold nanoparticles. *RSC Adv* 10:973–985 . <https://doi.org/10.1039/C9RA08192E>
26. INRS Aide au repérage des nanomatériaux en entreprise. <http://www.inrs.fr/accueil/dms/inrs/CataloguePapier/ED/TI-ED-6174/ed6174.pdf> 4
27. Éléments issus des déclarations des substances à l'état nanoparticulaire, Rapport d'étude 2017
28. Sivulka DJ, Seilkop SK (2009) Reconstruction of historical exposures in the US nickel alloy industry and the implications for carcinogenic hazard and risk assessments. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 53:174–185 . <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.01.006>
29. Chang LY, Overby LH, Brody AR, Crapo JD (1988) Progressive lung cell reactions and extracellular matrix production after a brief exposure to asbestos. *Am J Pathol* 131:156–170
30. Peana M, Medici S, Nurchi VM, Crisponi G, Zoroddu MA (2013) Nickel binding sites in histone proteins: Spectroscopic and structural characterization. *Coordination Chemistry Reviews* 257:2737–2751 . <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.02.022>
31. Oberdörster G, Ferin J, Lehnert BE (1994) Correlation between particle size, in vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect* 102 Suppl 5:173–179 . <https://doi.org/10.1289/ehp.102-1567252>
32. Nabeshi H, Yoshikawa T, Matsuyama K, Nakazato Y, Arimori A, Isobe M, Tochigi S, Kondoh S, Hirai T, Akase T, Yamashita T, Yamashita K, Yoshida T, Nagano K, Abe Y, Yoshioka Y,

- Kamada H, Imazawa T, Itoh N, Tsunoda S, Tsutsumi Y (2010) Size-dependent cytotoxic effects of amorphous silica nanoparticles on Langerhans cells. *Pharmazie* 65:199–201
33. Pan Y, Neuss S, Leifert A, Fischler M, Wen F, Simon U, Schmid G, Brandau W, Jahn-Dechent W (2007) Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small* 3:1941–1949 . <https://doi.org/10.1002/sml.200700378>
 34. Sung JH, Ji JH, Yoon JU, Kim DS, Song MY, Jeong J, Han BS, Han JH, Chung YH, Kim J, Kim TS, Chang HK, Lee EJ, Lee JH, Yu IJ (2008) Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles. *Inhal Toxicol* 20:567–574 . <https://doi.org/10.1080/08958370701874671>
 35. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM (2008) Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicol Lett* 179:93–100 . <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.04.009>
 36. Samberg ME, Oldenburg SJ, Monteiro-Riviere NA (2010) Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin in vivo and keratinocytes in vitro. *Environ Health Perspect* 118:407–413 . <https://doi.org/10.1289/ehp.0901398>
 37. Mironava T, Hadjiargyrou M, Simon M, Jurukovski V, Rafailovich MH (2010) Gold nanoparticles cellular toxicity and recovery: Effect of size, concentration and exposure time. *Nanotoxicology* 4:120–137 . <https://doi.org/10.3109/17435390903471463>
 38. Schrurs F, Lison D (2012) Focusing the research efforts. *Nature Nanotechnology* 7:546–548 . <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.148>
 39. Zhang J, Tang H, Liu Z, Chen B (2017) Effects of major parameters of nanoparticles on their physical and chemical properties and recent application of nanodrug delivery system in targeted chemotherapy. *Int J Nanomedicine* 12:8483–8493 . <https://doi.org/10.2147/IJN.S148359>
 40. Modena MM, Rühle B, Burg TP, Wuttke S (2019) Nanoparticle Characterization: What to Measure? *Advanced Materials* 31:1901556 . <https://doi.org/10.1002/adma.201901556>
 41. Stone V, Nowack B, Baun A, van den Brink N, von der Kammer F, Dusinska M, Handy R, Hankin S, Hassellöv M, Joner E, Fernandes TF (2010) Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation. *Science of The Total Environment* 408:1745–1754 . <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.035>
 42. Oberdorster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, Yang H (2005) Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol* 2:8 . <https://doi.org/10.1186/1743-8977-2-8>
 43. Powers KW, Brown SC, Krishna VB, Wasdo SC, Moudgil BM, Roberts SM (2006) Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part VI. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation. *Toxicol Sci* 90:296–303 . <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj099>
 44. Thomas T, Thomas K, Sadrieh N, Savage N, Adair P, Bronaugh R (2006) Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials, Part VII: Evaluating Consumer Exposure to Nanoscale Materials. *Toxicological Sciences* 91:14–19 . <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj129>
 45. Warheit DB (2008) How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? *Toxicol Sci* 101:183–185 . <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm279>

46. Klaine SJ, Alvarez PJJ, Batley GE, Fernandes TF, Handy RD, Lyon DY, Mahendra S, McLaughlin MJ, Lead JR (2008) Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ Toxicol Chem* 27:1825–1851 . <https://doi.org/10.1897/08-090.1>
47. ISO/TR 13014 :2012, Directives relatives à la caractérisation physico-chimique des nano-objets manufacturés soumis aux essais toxicologiques.
48. Règlement (UE) n° 1223/2009 du Parlement Européen du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques (refonte)
49. Règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement Européen du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires
50. Règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement Européen du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des biocides
51. Règlement (UE) n° 2015/2283 du Parlement Européen du 25 novembre 2015 relatif aux nouveaux aliments
52. Règlement (UE) n° 2017/745 du Parlement Européen du 5 avril 2017 relatif aux dispositifs médicaux
53. Règlement (UE) n° 2018/1881 de la commission du 3 décembre 2018 modifiant les annexes I, III, VI, VII, VIII, IX, X, XI, et XII du règlement (CE) n° 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), aux fins de couvrir les nanoformes des substances
54. (2012) International vocabulary of metrology - Basic and General concepts and associated terms (VIM)
55. JCGM 100 (2008) Evaluation des données de mesure - Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure
56. BIPM (1960) Résolution 12 de la 11ème CGPM. <https://www.bipm.org/fr/CGPM/db/11/12/>
57. BIPM (2018) 26ème CGPM – Résolutions adoptées
58. BIPM (1983) Résolution 1 de la 17ème CGPM. <https://www.bipm.org/fr/CGPM/db/17/1/>
59. Boukellal Y, Wilde YD (2015) Contribution to the development of metrological atomic force microscope (mAFM) : design of a metrological AFM head and metrological characterization of the instrument. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan
60. Takahashi K, Kato H, Saito T, Matsuyama S, Kinugasa S (2008) Precise Measurement of the Size of Nanoparticles by Dynamic Light Scattering with Uncertainty Analysis. *Particle & Particle Systems Characterization* 25:31–38 . <https://doi.org/10.1002/ppsc.200700015>
61. Lim J, Yeap SP, Che HX, Low SC (2013) Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering. *Nanoscale Res Lett* 8:381–381 . <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-381>
62. Langevin D, Raspaud E, Mariot S, Knyazev A, Stocco A, Salonen A, Luch A, Haase A, Trouiller B, Relier C, Lozano O, Thomas S, Salvati A, Dawson K (2018) Towards reproducible measurement of nanoparticle size using dynamic light scattering: Important controls and considerations. *NanoImpact* 10:161–167 . <https://doi.org/10.1016/j.impact.2018.04.002>

63. Mainard M, Jacob D (2016) Comprendre. La mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. *Photoniques* 40–44
64. ISO 22412 :2017-02 Particle Size analysis- Dynamic light scattering (DLS)
65. Langevin D, Lozano O, Salvati A, Kestens V, Monopoli M, Raspaud E, Mariot S, Salonen A, Thomas S, Driessen M, Haase A, Nelissen I, Smisdom N, Pompa PP, Maiorano G, Puentes V, Puchowicz D, Stępnik M, Suárez G, Riediker M, Benetti F, Mičetić I, Venturini M, Kreyling WG, van der Zande M, Bouwmeester H, Milani S, Rädler JO, Mülhopt S, Lynch I, Dawson K (2018) Inter-laboratory comparison of nanoparticle size measurements using dynamic light scattering and differential centrifugal sedimentation. *NanoImpact* 10:97–107 . <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.12.004>
66. Lipfert J, Doniach S (2007) Small-Angle X-Ray Scattering from RNA, Proteins, and Protein Complexes. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 36:307–327 . <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.36.040306.132655>
67. Mertens HDT, Svergun DI (2010) Structural characterization of proteins and complexes using small-angle X-ray solution scattering. *J Struct Biol* 172:128–141 . <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.06.012>
68. Svergun DI, Koch MHJ (2003) Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution. *Reports on Progress in Physics* 66:1735–1782 . <https://doi.org/10.1088/0034-4885/66/10/R05>
69. Beaucage G, Kammler HK, Mueller R, Strobel R, Agashe N, Pratsinis SE, Narayanan T (2004) Probing the dynamics of nanoparticle growth in a flame using synchrotron radiation. *Nature Materials* 3:370–374 . <https://doi.org/10.1038/nmat1135>
70. Mitchell JBA, LeGarrec JL, Sztucki M, Narayanan T, Dikhtyar V, Jerby E (2008) Evidence for Nanoparticles in Microwave-Generated Fireballs Observed by Synchrotron X-Ray Scattering. *Phys Rev Lett* 100:065001 . <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.065001>
71. Wyslouzil BE, Wilemski G, Strey R, Seifert S, Winans RE (2007) Small angle X-ray scattering measurements probe water nanodroplet evolution under highly non-equilibrium conditions. *Phys Chem Chem Phys* 9:5353–5358 . <https://doi.org/10.1039/B709363B>
72. Pauw BR, Smith AJ, Snow T, Terrill NJ, Thünemann AF (2017) The modular small-angle X-ray scattering data correction sequence. *Journal of Applied Crystallography* 50:1800–1811 . <https://doi.org/10.1107/S1600576717015096>
73. ISO 17867:2015 Analyse granulométrique – Diffusion des rayons X aux petits angles
74. Pauw BR, Kästner C, Thünemann AF (2017) Nanoparticle size distribution quantification: results of a small-angle X-ray scattering inter-laboratory comparison. *J Appl Crystallogr* 50:1280–1288 . <https://doi.org/10.1107/S160057671701010X>
75. TOFWERK What is Single Particle ICP-MS? <https://www.tofwerk.com/single-particle-icp-ms>
76. Mitrano DM, Barber A, Bednar A, Westerhoff P, Higgins CP, Ranville JF (2012) Silver nanoparticle characterization using single particle ICP-MS (SP-ICP-MS) and asymmetrical flow field flow fractionation ICP-MS (AF4-ICP-MS). *J Anal At Spectrom* 27:1131–1142 . <https://doi.org/10.1039/C2JA30021D>

77. Laborda F, Jiménez-Lamana J, Bolea E, Castillo JR (2013) Critical considerations for the determination of nanoparticle number concentrations, size and number size distributions by single particle ICP-MS. *J Anal At Spectrom* 28:1220–1232 . <https://doi.org/10.1039/C3JA50100K>
78. Degueldre C, Favarger P-Y, Wold S (2006) Gold colloid analysis by inductively coupled plasma-mass spectrometry in a single particle mode. *Analytica Chimica Acta* 555:263–268 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.09.021>
79. Linsinger TPJ, Peters R, Weigel S (2014) International interlaboratory study for sizing and quantification of Ag nanoparticles in food simulants by single-particle ICPMS. *Anal Bioanal Chem* 406:3835–3843 . <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7559-9>
80. ISO 13318-1:2001: Détermination de la distribution granulométrique par les méthodes de sédimentation centrifuge dans un liquide – Partie 1 : Principes généraux et lignes directrices
81. ISO 15824:2004, Rubber compounding ingredients – Carbon black – Determination of aggregate size distribution by disc centrifuge photosedimentometry
82. Binnig G, Quate CF, Gerber Ch (1986) Atomic Force Microscope. *Phys Rev Lett* 56:930–933 . <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.56.930>
83. Poyet B (2010) Conception d'un microscope à force atomique métrologique. Université de Saint Quentin
84. Jones JE, Chapman S (1924) On the determination of molecular fields. —II. From the equation of state of a gas. *Proceedings of the Royal Society of London Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character* 106:463–477
85. Pauli W (1946) Exclusion principle and quantum mechanics
86. Schenk M, Fütting M, Reichelt R (1998) Direct visualization of the dynamic behavior of a water meniscus by scanning electron microscopy. *Journal of Applied Physics* 84:4880–4884 . <https://doi.org/10.1063/1.368731>
87. Alexander S, Hellemans L, Marti O, Schneir J, Elings V, Hansma PK, Longmire M, Gurley J (1989) An atomic-resolution atomic-force microscope implemented using an optical lever. *Journal of Applied Physics* 65:164–167 . <https://doi.org/10.1063/1.342563>
88. Wong Ch, West PE, Olson KS, Mecartney ML, Starostina N (2007) Tip dilation and AFM capabilities in the characterization of nanoparticles. *JOM* 59:12–16 . <https://doi.org/10.1007/s11837-007-0003-x>
89. Canet-Ferrer J, Coronado E, Forment-Aliaga A, Pinilla-Cienfuegos E (2014) Correction of the tip convolution effects in the imaging of nanostructures studied through scanning force microscopy. *Nanotechnology* 25:395703 . <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/39/395703>
90. Wan J, Xu L, Wu S, Hu X (2014) Investigation on blind tip reconstruction errors caused by sample features. *Sensors (Basel)* 14:23159–23175 . <https://doi.org/10.3390/s141223159>
91. Garnaes J (2011) Diameter measurements of polystyrene particles with atomic force microscopy. *Measurement Science and Technology* 22:094001 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/22/9/094001>
92. Ichiko Misumi, Keiji Takahata, Kentaro Sugawara, Satoshi Gonda, Kensei Ehara (2012) Extension of gravity center method for diameter calibration of polystyrene standard particles with a metrological AFM

93. Meli F, Klein T, Buhr E, Frase CG, Gleber G, Krumrey M, Duta A, Duta S, Korpelainen V, Bellotti R, Picotto GB, Boyd RD, Cuenat A (2012) Traceable size determination of nanoparticles, a comparison among European metrology institutes. *Measurement Science and Technology* 23:125005 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/23/12/125005>
94. Couteau O, Roebben G (2011) Measurement of the size of spherical nanoparticles by means of atomic force microscopy. *Measurement Science and Technology* 22:065101 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/22/6/065101>
95. Delvallée A (2014) Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB
96. Boyd RD, Cuenat A (2011) New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images. *Journal of Nanoparticle Research* 13:105–113 . <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0007-2>
97. Delvallée A, Feltin N, Ducourtieux S, Trabelsi M, Hocheplé JF (2015) Toward an uncertainty budget for measuring nanoparticles by AFM. *Metrologia* 53:41–50 . <https://doi.org/10.1088/0026-1394/53/1/41>
98. Electron microprobe analysis : Merging of discoveries in physics, chemistry and microscopy
99. Mott NF (1929) The Scattering of Fast Electrons by Atomic Nuclei. *Proceedings of the Royal Society of London Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character* 124:425–442
100. Haye É (2016) Substitutions anioniques et cationiques de films minces d'orthoferrite de lanthane LaFeO₃ élaborés par pulvérisation cathodique magnétron
101. Hughes A, Liu Z, Raftari M, Reeves ME (2014) A workflow for characterizing nanoparticle monolayers for biosensors: Machine learning on real and artificial SEM images. *PeerJ PrePrints* 2:e671v2 . <https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.671v2>
102. Eaton P, Quaresma P, Soares C, Neves C, de Almeida MP, Pereira E, West P (2017) A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles. *Ultramicroscopy* 182:179–190 . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2017.07.001>
103. Senthilkumaran N, Vaithegi S (2016) Image segmentation by using thresholding techniques for medical images. *Computer Science & Engineering: An International Journal* 6: . <https://doi.org/10.5121%2fcseij.2016.6101>
104. ISO 19749 :2019, Nanotechnologies -Détermination de la taille et de la distribution en taille des nano-objets par microscopie électronique à balayage
105. Kass M, Witkin A, Terzopoulos D (1988) Snakes: Active contour models. *International Journal of Computer Vision* 1:321–331 . <https://doi.org/10.1007/BF00133570>
106. Lu P-J, Fu W-E, Huang S-C, Lin C-Y, Ho M-L, Chen Y-P, Cheng H-F (2018) Methodology for sample preparation and size measurement of commercial ZnO nanoparticles. *Journal of Food and Drug Analysis* 26:628–636 . <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.07.004>
107. Delvallée A, Feltin N, Ducourtieux S, Trabelsi M, Hocheplé JF (2015) Direct comparison of AFM and SEM measurements on the same set of nanoparticles. *Measurement Science and Technology* 26:085601 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/26/8/085601>

108. Underwood SJ, Gorham JM Challenges and approaches for particle size analysis on micrographs of nanoparticles loaded onto textile surfaces. NIST Special Publication. <https://doi.org/10.6028/NIST.SP.1200-22>
109. Kestens V, Roebben G, Herrmann J, Jämting Å, Coleman V, Minelli C, Clifford C, De Temmerman P-J, Mast J, Junjie L, Babick F, Cölfen H, Emons H (2016) Challenges in the size analysis of a silica nanoparticle mixture as candidate certified reference material. *Journal of Nanoparticle Research* 18:171 . <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3474-2>
110. Vladár AE, Hodoroaba V-D (2020) Chapter 2.1.1 - Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy. In: Hodoroaba V-D, Unger WES, Shard AG (eds) *Characterization of Nanoparticles*. Elsevier, pp 7–27
111. Andrieux - Ledier A, Courty A (2012) Elaboration of silver nanoparticles by reduction of metallo-organic salts : size-control, stability, organization and physical properties. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI
112. Nukala H (2008) Quantitative Thickness Mapping In High-angle Annular Dark-field (haadf) Scanning Transmission Electron Microscopy (stem). University of Central Florida
113. Groom DJ, Yu K, Rasouli S, Polarinakis J, Bovik AC, Ferreira PJ (2018) Automatic segmentation of inorganic nanoparticles in BF TEM micrographs. *Ultramicroscopy* 194:25–34 . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2018.06.002>
114. Cervera Gontard L, Ozkaya D, Dunin-Borkowski RE (2011) A simple algorithm for measuring particle size distributions on an uneven background from TEM images. *Ultramicroscopy* 111:101–106 . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2010.10.011>
115. De Temmerman P-J, Lammertyn J, De Ketelaere B, Kestens V, Roebben G, Verleysen E, Mast J (2013) Measurement uncertainties of size, shape, and surface measurements using transmission electron microscopy of near-monodisperse, near-spherical nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research* 16:2177 . <https://doi.org/10.1007/s11051-013-2177-1>
116. Verleysen E, Wagner T, Lipinski H-G, Kägi R, Koeber R, Boix-Sanfeliu A, De Temmerman P-J, Mast J (2019) Evaluation of a TEM based Approach for Size Measurement of Particulate (Nano)materials. *Materials (Basel)* 12:2274 . <https://doi.org/10.3390/ma12142274>
117. NanoDefine Development of an Integrated Approach Based on Validated and Standardized Methods to Support the Implementation of the EC Recommendation for a Definition of Nanomaterial. FP7-NMP-2013-LARGE-7: NMP.2013.1.4-3 2013-2016.
118. Najman L, Schmitt M (1994) Watershed of a Continuous Function. *Signal Processing* 38:99–112
119. Gleber G, Cibik L, Haas S, Hoell A, Müller P, Krumrey M (2010) Traceable size determination of PMMA nanoparticles based on Small Angle X-ray Scattering (SAXS). *Journal of Physics: Conference Series* 247:012027 . <https://doi.org/10.1088/1742-6596/247/1/012027>
120. Montoro Bustos AR, Purushotham KP, Possolo A, Farkas N, Vladár AE, Murphy KE, Winchester MR (2018) Validation of Single Particle ICP-MS for Routine Measurements of Nanoparticle Size and Number Size Distribution. *Anal Chem* 90:14376–14386 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03871>
121. Kestens V, Coleman VA, De Temmerman P-J, Minelli C, Woehlecke H, Roebben G (2017) Improved Metrological Traceability of Particle Size Values Measured with Line-Start Incremental

Centrifugal Liquid Sedimentation. *Langmuir* 33:8213–8224 .
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b01714>

122. Schäffer T (2006) Nanoscale Calibration Standards and Methods. Dimensional and Related Measurements in the Micro- and Nanometer Range. Edited by Günter Wilkening and Ludger Koenders. *ChemPhysChem* 7:274–274 . <https://doi.org/10.1002/cphc.200500543>
123. Teulon J-M, Godon C, Chantalat L, Moriscot C, Cambedouzou J, Odorico M, Ravaux J, Podor R, Gerdil A, Habert A, Herlin-Boime N, Chen S-WW, Pellequer J-L (2018) On the Operational Aspects of Measuring Nanoparticle Sizes. *Nanomaterials* (Basel) 9:18 .
<https://doi.org/10.3390/nano9010018>

CHAPITRE 2 DESCRIPTION DES TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES ET PROTOCOLES MIS EN ŒUVRE 63

1	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	63
1.1	<i>Description des particules utilisées.....</i>	63
1.2	<i>Préparation des suspensions colloïdales.....</i>	66
1.3	<i>Dépôt de NP par la méthode de « Spin Coating ».....</i>	69
1.4	<i>Utilisation d'un substrat adapté à la métrologie AFM/MEB - système de repositionnement</i>	77
2	MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE	78
2.1	<i>Qualification du microscope électronique à balayage</i>	78
2.2	<i>Acquisition des images.....</i>	84
2.3	<i>Traitement des images MEB.....</i>	89
3	MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE	92
3.1	<i>Qualification des instruments : microscopes à force atomique.....</i>	92
3.2	<i>Microscopie à force atomique : paramètres expérimentaux et précautions.....</i>	95
3.3	<i>Traitement des images AFM.....</i>	97
4	MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE EN TRANSMISSION.....	98
4.1	<i>Qualification du microscope électronique en transmission</i>	98
4.2	<i>Acquisition des images STEM – Paramètres expérimentaux</i>	100
4.3	<i>Traitement des images STEM.....</i>	101
	RÉCAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL.....	103
	RÉFÉRENCES.....	104

CHAPITRE 2 DESCRIPTION DES TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES ET PROTOCOLES MIS EN ŒUVRE

Ce chapitre s'attache à décrire les différentes techniques expérimentales de caractérisation utilisées lors de cette thèse ainsi que les protocoles mis en œuvre. Une étude précédente a permis d'identifier quatre étapes importantes dans l'analyse dimensionnelle de nanoparticules, utiles à chaque technique de caractérisation, permettant d'assurer la fiabilité de la mesure [1] :

- (1) La préparation des échantillons : description des méthodes employées pour (i) assurer la stabilité des suspensions (ii) réduire le taux d'agglomération lors du dépôt (iii) optimiser la concentration surfacique en particules isolées sur le substrat.
- (2) La qualification et l'étalonnage des instruments : présentation des instruments et des modes d'imagerie utilisés, ainsi que des outils utilisés pour étalonner les instruments.
- (3) L'acquisition des données : description des paramètres utilisés pour l'acquisition des images pour chaque technique avec les précautions associées.
- (4) Le traitement des données : présentation des méthodes de mesure et des logiciels utilisés pour chaque technique afin de déterminer les paramètres dimensionnels sur les images.

Ce chapitre sera ainsi articulé de la manière suivante : dans un premier temps la méthode de dépôt de particules sur substrat sera présentée. Par la suite, les détails techniques associés aux étapes (2), (3) et (4) du protocole expérimental pour chacune des techniques de microscopie utilisées dans ces travaux seront détaillés.

1 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le dépôt des nanoparticules en suspension sur un substrat constitue une étape fondamentale dans le cadre de ces travaux. En effet, comme présenté dans le chapitre précédent, la comparaison entre les mesures MEB, AFM et MET doit être appliquée uniquement sur des particules isolées sur le substrat. Ainsi, la mise en place de méthodes de préparation et de dépôt de suspensions colloïdales est nécessaire. Ces méthodes ont pour objectif de répondre aux problématiques suivantes : assurer la stabilité des particules en suspension, réduire le taux d'agglomération des particules lors du dépôt et optimiser la concentration surfacique en particules isolées sur le substrat.

1.1 Description des particules utilisées

Ce travail de thèse repose sur le développement d'une métrologie hybride permettant de mesurer les propriétés dimensionnelles d'une NP dans les trois dimensions de l'espace, en combinant les mesures

AFM et MEB et avec un contrôle via la technique MET. Comme présenté dans le chapitre précédent, il est nécessaire d'utiliser des particules sphériques afin de mettre en évidence la faisabilité de ce concept, l'objectif étant, à terme, de mesurer des NPs de formes plus complexes. Le choix des suspensions utilisées dans cette étude s'est ainsi porté sur des NPs sphériques ou quasi sphériques : les particules de silice amorphe [2, 3]. Afin d'étendre l'étude à l'ensemble de la gamme nanométrique, plusieurs suspensions ont été sélectionnées. L'ensemble des suspensions colloïdales utilisées dans ces travaux de thèse est référencé dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Liste des suspensions utilisées dans le cadre de cette étude

Suspension	Provenance	Diamètre(s) / nm	Incertitude / nm ($k = 2$)	Diamètre certifié
ERM®-FD102	Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)	18,2	1,6	Oui
		84,0	2,1	Oui
ERM®-FD101b	IRMM	83,7	2,2	Oui
ERM®-FD304	IRMM	27,8	1,5	Non (diamètre indicatif)
OT R3	CEA LIONS NIMBES	100,0	-	Non
Klebosol® 30R50	Commerce	40,0	-	Non
		80,0	-	Non

Trois suspensions de référence nommées ERM® pour « European Reference Material » ont été sélectionnées : ERM®-FD102 [4], ERM®-FD101b [5] et ERM®-FD304 [6].

Les certificats de référence sur la taille des nanoparticules présentes dans les suspensions colloïdales sont établis au travers d'intercomparaisons entre laboratoires répondant à la norme « ISO/IEC 17025 » spécifiant les exigences sur la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais [7]. Les bilans d'incertitudes liés aux mesures de référence sont établis selon la méthode présentée dans le « Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure » (GUM) établi par le Groupe de travail 1 du comité commun pour les guides en métrologie (JCGM/WG 1) [8].

Le premier matériau de référence certifiéⁱ, ERM®-FD102, est composé d'une suspension de silice avec une répartition en taille bimodale dont les dimensions de chacune des populations sont certifiées. La certification est établie sur le mode de distribution, pondéré en nombre, pour le diamètre équivalent en surface projetée et est évaluée au travers de la microscopie électronique à balayage et de la microscopie électronique en transmission. Le diamètre de référence pour chacune des populations est évalué à 18,2 nm avec une incertitude élargie de 1,6 nm ($k = 2$) et à 84,0 nm avec une incertitude de 2,1 nm ($k = 2$) pour respectivement la première et la seconde population [4]. Cependant, la certification est réalisée par la mesure des propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules avec différentes techniques de microscopie électronique. Comme nous le verrons dans les chapitres suivants, plusieurs éléments pouvant introduire une incertitude sur la mesure (paramètres expérimentaux utilisés pour acquérir les images, logiciel pour traiter les données) ne semblent pas pris en compte lors de l'établissement de la valeur de référence. La méthode d'étalonnage utilisée par les participants peut également introduire un biais sur le résultat et sera discutée dans l'Annexe 2. Ainsi, dans le cadre de ces travaux, ces résultats sont considérés à titre indicatif.

Le deuxième matériau de référence, ERM®-FD101b, est également composé d'une suspension de silice bimodale. Le certificat de référence sur le mode de distribution, pondéré en nombre, pour le diamètre équivalent en surface projetée est uniquement établi pour la seconde population et donne un diamètre de référence de $(83,7 \pm 2,2)$ nm ($k = 2$). Afin de distinguer la population de référence de celle non certifiée, le certificat préconise de ne sélectionner que les particules dont le diamètre équivalent est supérieur à 60 nm [5].

Le dernier matériau de référence, ERM®-FD304, est composé d'une suspension de silice monomodale. Cependant, la certification ne couvre que les mesures de diffusion dynamique de la lumière (DLS) et de sédimentation liquide centrifuge par centrifugation en phase liquide (CLS) puisque seul le diamètre moyen harmonique pondéré en intensité de diffusion est certifié $(42,1 \pm 0,6)$ nm ($k = 2$). Le mode de distribution, pondéré en nombre, pour le diamètre équivalent en surface projetée, utilisé pour la microscopie électronique, est seulement donné à titre indicatif et est égal à 27,8 nm avec une incertitude élargie de 1,5 nm ($k = 2$) [6].

Plusieurs autres suspensions de silice colloïdales, issues de diverses provenances, ont également été utilisées dans ces travaux de thèse. Dans un premier temps, une suspension monomodale, nommée OTR3, ayant un diamètre nominal de 100 nm a été produite au sein du laboratoire du CEA LIONS NIMBES par l'équipe de O. Taché en utilisant la méthode de synthèse Stöber [9]. Une seconde suspension de silice non certifiée a également été utilisée. Cette suspension est disponible commercialement sous l'appellation Klebosol® 30R50 et est habituellement utilisée pour des

ⁱ « Matériau de référence, accompagné d'une documentation délivrée par un organisme faisant autorité et fournissant une ou plusieurs valeurs de propriétés spécifiées avec les incertitudes et les traçabilités associées, en utilisant des procédures valables »

applications dans les domaines du traitement du cuir, de la peinture, des textiles ou de la catalyse. Ce produit est composé d'une suspension de silice bimodale dont les diamètres indicatifs pour chaque population sont estimés à 40 nm et 80 nm respectivement.

1.2 Préparation des suspensions colloïdales

1.2.1 Stabilité des suspensions

La dispersibilité (capacité à se disperser) et la stabilité (capacité à rester dans le même état) dans le temps d'une suspension colloïdale sont régies par un équilibre entre les forces attractives de Van der Waals et les forces électrostatiques répulsives (théorie DLVO (Derjaguin et Landau [10], Verwey et Overbeek [11])). Les forces attractives dépendent de la nature de la phase dispersée, du milieu de dispersion, de la taille des particules et de la distance entre elles.

Les forces supplémentaires répulsives viennent contrebalancer les effets des forces de Van der Waals à chaque collision, limitant l'agglomération des NPs. On parle alors de forces répulsives électrostatiques. Or, toute particule chargée en suspension est entourée d'ions organisés selon une double couche de solvation. La première couche est constituée d'ions de charges opposées à la charge de la surface de la particule et se déplaçant avec celle-ci comme présenté sur la Figure 23 (couche compacte ou couche de Stern). La seconde couche est composée d'ions moins fortement liés (couche diffuse) [12]. Au sein de la couche diffuse, il existe une limite théorique au sein de laquelle les ions et les particules forment une entité stable. Ainsi, lors du mouvement Brownien d'une particule, seuls les ions situés à l'intérieur de cette limite se déplacent avec cette dernière. Cette limite est appelée plan de glissement.

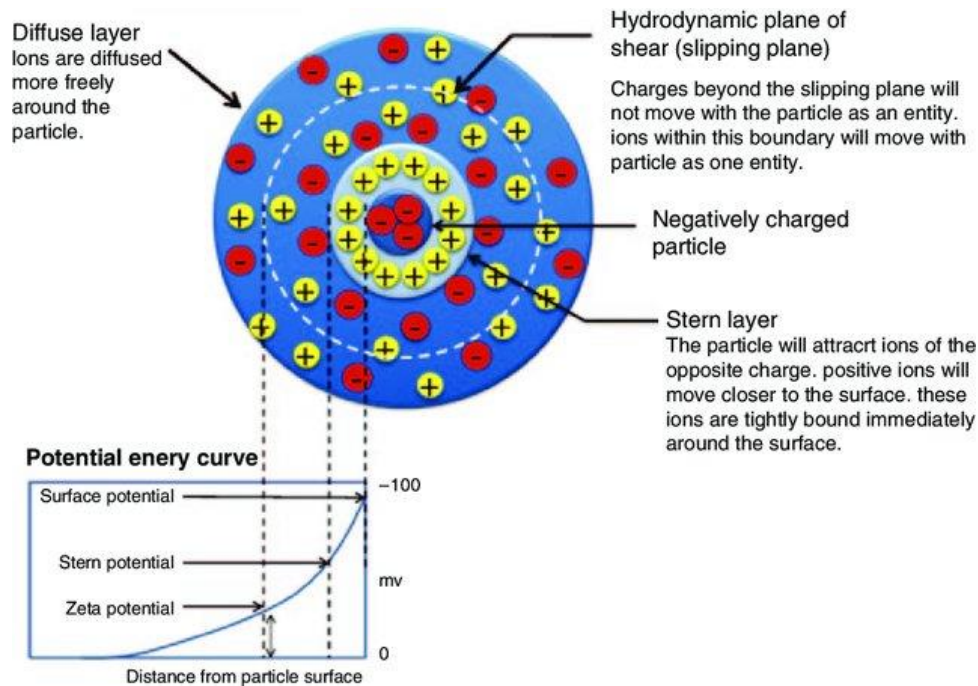


Figure 23 : Schéma de la double couche de solvation et du potentiel Zêta. Figure extraite de [13].

En milieu liquide, lorsque deux particules de charges identiques s'approchent, ces dernières vont se repousser. Cette charge dépend du pH et de la nature du site acido-basique en surface des particules. Il existe ainsi une valeur de pH, nommé point isoélectrique (PIE), pour laquelle la nanoparticule est électriquement neutre. Comme l'état d'agglomération est fonction de l'intensité des forces répulsives, donc des charges en surface des particules, la caractérisation de ces dernières permet de maîtriser la stabilité de la suspension avant dépôt.

Il existe une méthode, nommée la Zétamétrie, permettant de mesurer le potentiel au niveau du plan de glissement. La mesure du potentiel Zêta correspond à la mesure de la différence de potentiel entre ce plan et un potentiel nul situé à l'infini.

Généralement, une valeur absolue élevée du potentiel Zêta signifie que les forces de répulsion sont suffisamment importantes pour éviter le rapprochement des nanoparticules, donc leur agglomération [14]. À proximité du PIE, pour lequel le potentiel Zêta est nul, les particules auront tendance à s'agglomérer. Afin d'obtenir une suspension relativement stable, il est admis que la valeur absolue du potentiel Zêta doit être supérieure à 30 mV [15, 16].

1.2.2 Potentiel Zêta associé à chaque suspension étudiée

Pour les échantillons Klebosol® 30R50 et OT R3, la mesure du potentiel Zêta a été effectuée avec l'aide d'un ZetaSizer Nano ZS produit par Malvern. 5 mesures ont été réalisées, au pH d'origine, sur les deux suspensions afin d'évaluer l'écart type et le potentiel Zêta moyen. Pour les échantillons

ERM[®]-FD102, ERM[®]-FD304 et ERM[®]-FD101b, une valeur du potentiel Zêta est fournie dans le certificat de référence. Les résultats sont présentés sur le Tableau 3.

Tableau 3 : Potentiel Zêta associé à chaque suspension. Les résultats sont issus de mesures réalisées sur le Malvern ZetaSizer Nano ZS ou du certificat de référence si disponible. Les mesures ont été réalisées sans modification du pH des nanoparticules en suspension dans une eau désionisée.

Échantillon	Potentiel Zêta (moyenne réalisée sur 5 mesures) / mV	Écart-type / mV	Valeur de référence sur le potentiel Zêta / mV
ERM [®] -FD102	-	-	-52
ERM [®] -FD101b	-	-	-49
ERM [®] -FD304	-	-	-48
OT R3	-42,68	2,5	-
Klebosol [®] 30R50	-47,54	0,39	-

Ainsi, les valeurs du potentiel Zêta permettent de qualifier chacune des suspensions comme étant stable ($> |30|$ mV).

1.2.3 Dispersion des particules en suspension par la méthode d'ultra-sonication

Comme décrit en 1.2.1, la mesure du potentiel Zêta qualifie l'état d'agglomération des particules en suspension. Ainsi, même si la mesure du potentiel Zêta permet de qualifier une suspension comme étant stable (valeur absolue du potentiel Zêta $> |30|$ mV), des agglomérats stables peuvent être présents au sein de la suspension. Il est donc nécessaire de briser les liaisons faibles entre les particules des agglomérats avant dépôt afin d'optimiser la qualité de la suspension.

Pour cela, la méthode largement répandue pour rompre ces liaisons consiste à apporter de l'énergie mécanique à un milieu sous forme sonique par la méthode d'ultrasonication.

Dans cette étude, la dispersion des particules en suspension a été effectuée en utilisant un sonicateur à ultrasons Vibra-Cell 75043 (750 W, 20 kHz, Fischer Bioblock Scientific) équipé d'une sonde de 13 mm.

Afin d'éviter que les suspensions ne soient contaminées par des métaux ou oxydes métalliques issus de l'érosion de la sonde du sonicateur, la sonde n'est pas directement plongée dans la suspension. Ainsi, un tube en plastique, pouvant se refermer hermétiquement, est rempli de la suspension à disperser et plongé dans un b cher d'eau avec la sonde [17]. De plus, durant cette étape, le b cher est placé dans un bain glacé pour limiter l'augmentation de la température de la suspension.

Les paramètres de sonication utilisés dans le cadre de ces travaux ont précédemment été optimisés lors du projet NANOMET [1]. Les paramètres appliqués sont les suivants :

- Temps de sonication : 20 minutes par cycle de 10 s ON et 20 s OFF
- Energie de sonication : 378 J/mL (amplitude de 20%)

1.3 Dépôt de NP par la méthode de « Spin Coating »

Afin de déposer des nanoparticules en suspension stable sur un substrat, plusieurs méthodes peuvent être employées comme par exemple l'évaporation simple ou celle forcée grâce à un flux d'air comprimé. En s'appuyant sur les travaux de thèse précédemment menés sur la plateforme CARMEN, la solution privilégiée pour le dépôt des suspensions colloïdales sur substrat est la méthode appelée « Spin Coating » ou dépôt avec une tournette [18].

1.3.1 Présentation de la méthode de « Spin Coating »

Le « Spin Coating » ou dépôt avec une tournette est une technique très utilisée pour le dépôt de films minces sur des substrats dans le secteur de la micro-lithographie [19]. Cette méthode a été adaptée par la suite pour le dépôt de suspensions colloïdales. Le substrat est maintenu sur le support de la tournette par aspiration.

Le dépôt s'effectue en deux étapes comme présenté sur la Figure 24 :

- Dans un premier temps, une gouttelette (7,5 μ L) est étalée sur le substrat à faible vitesse de rotation (entre 300 et 1200 tours/minutes). Au cours de cette étape, les particules sont soumises à un mouvement de type Brownien. Le mouvement aléatoire des particules en suspension est tel qu'une proportion de particules va se déposer sur le substrat.
- Dans un second temps, le substrat est soumis à une très haute vitesse de rotation (8000 tours/minutes). Au cours de cette étape, le solvant ainsi que les particules n'ayant pas interagi avec le substrat sont alors éjectés du substrat.

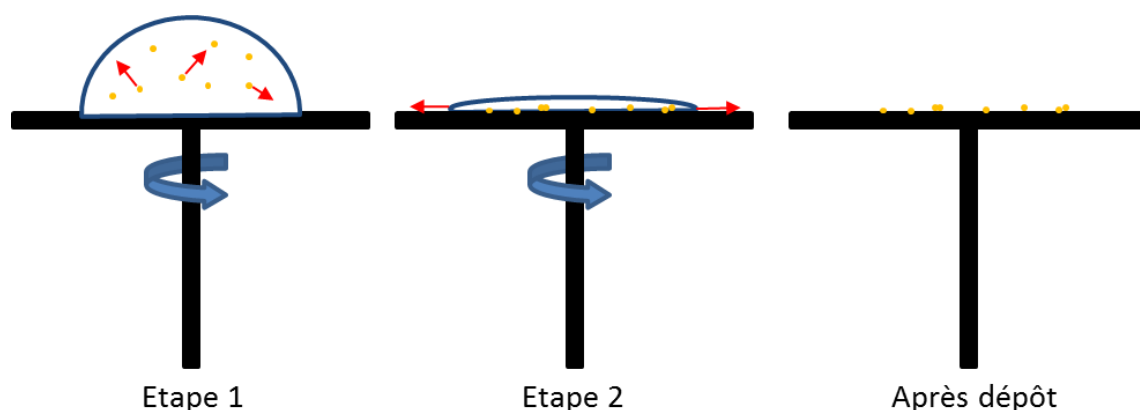


Figure 24 : Principe du dépôt de nanoparticules par la méthode de « Spin Coating ».

L'instrument utilisé pour la préparation d'échantillons par « Spin Coating » est un LabSpin 6 SUSS Microtec.

1.3.2 Dépôt sur substrat Silicium

1.3.2.1 Choix du substrat

Le choix du substrat doit répondre à plusieurs critères. Tout d'abord, afin de réduire l'incertitude liée à la mesure de nanoparticules par AFM (voir section 2.1 du Chapitre 3 pour plus de détails), il est nécessaire de sélectionner un substrat dont la rugosité est la plus faible possible. Le second critère consiste à utiliser un substrat ayant une bonne conductivité électrique afin de limiter les effets de charge pouvant apparaître lors de l'acquisition des images par MEB. Pour cela, les études précédentes menées sur la plateforme CARMEN ont montré qu'un compromis entre bonne rugosité (environ 0,2 nm Root Mean Square) et conductivité orientait vers l'utilisation d'un substrat de silicium (Substrats Si de 5 mm x 5 mm , Référence G3390-10, Agar Scientific) [18].

Afin de limiter les éventuelles traces de contamination en surface, les substrats sont nettoyés en les plongeant successivement dans l'acétone puis dans l'éthanol, tout en étant placés au bain à ultrasons pendant 15 minutes.

1.3.2.2 Exemple de dépôt sur substrat Silicium

Un exemple de dépôt de NPs de silice Klebosol 30R50 sur substrat de silicium par Spin Coating est présenté sur la Figure 25. Les paramètres de dépôt utilisés sont les suivants :

- Phase 1 : Rotation 300 tours/minutes pendant 60 s avec une accélération de 500 tours/minutes²
- Phase 2 : Rotation de 8000 tours/minutes pendant 10 s avec une accélération de 4000 tours/minutes²

Une inspection de la qualité du dépôt a par la suite été effectuée par MEB. Comme présenté sur la Figure 25, l'ensemble des NPs déposées sont organisées sur le substrat en formant des disques de quelques dizaines de micromètres de diamètre. Au bord des cercles, les NPs sont agglomérées en monocouches voir multicouches tandis qu'au centre des cercles les NPs sont majoritairement isolées.

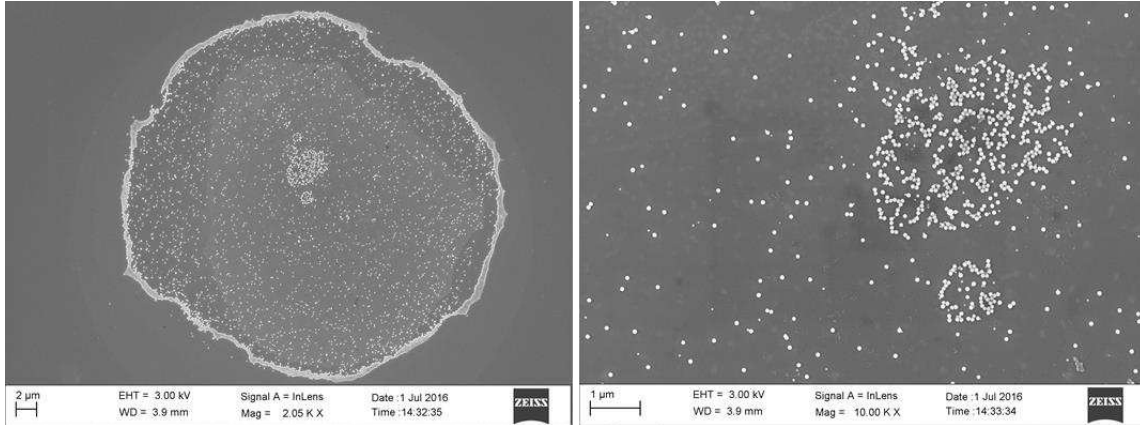


Figure 25 : a) Image MEB d'un cercle de NPs formé lors du dépôt de Klebosol 30R50 par Spin Coating sur substrat Silicium (b) Image MEB de l'intérieur du cercle de NPs.

Ce phénomène a été mis en évidence lors des travaux de thèse de A. Delvallée [18] et peut être expliqué par la présence de microgouttelettes en surface après séchage. Les mécanismes d'évaporation du solvant au sein de ces dernières sont alors les mêmes que dans le cadre de l'évaporation simple d'une goutte déposé sur un substrat : l'écoulement par capillarité et l'effet Marangoni présentés sur la Figure 26 [20].

Ces deux mécanismes peuvent être décrits de la manière suivante :

- Le flux Marangoni provoque le mouvement du fluide vers l'intérieur de la goutte. Il a été démontré que la tension superficielle décroît lorsque la température augmente. Ainsi, comme dans une gouttelette la température à la base est plus faible qu'au niveau de l'apex (sommet), un gradient de tension superficielle apparaît. Cette dernière étant plus élevée à la base provoque un mouvement du fluide du haut vers le bas et crée ainsi des mouvements circulaires au sein de la goutte [21].
- En écoulement par capillarité, il est admis que l'évaporation se produit à la base du bord de la goutte (au niveau du point triple). Le fluide présent dans la goutte s'écoule ainsi radialement vers l'extérieur pour remplacer le fluide évaporé. Dans ce régime, le diamètre de la gouttelette reste constant et l'angle de contact de la goutte diminue. Ce régime est généralement nommé CRR (Constant Radium Regime) [22]. La prédominance des forces de capillarité tend à concentrer la majorité des NPs à la base du bord de la goutte. Le dépôt des particules au bord de la goutte crée le phénomène généralement nommé « Coffee-ring effect » [23, 24]. L'intensité de ce phénomène est proportionnelle au taux d'évaporation de la gouttelette.

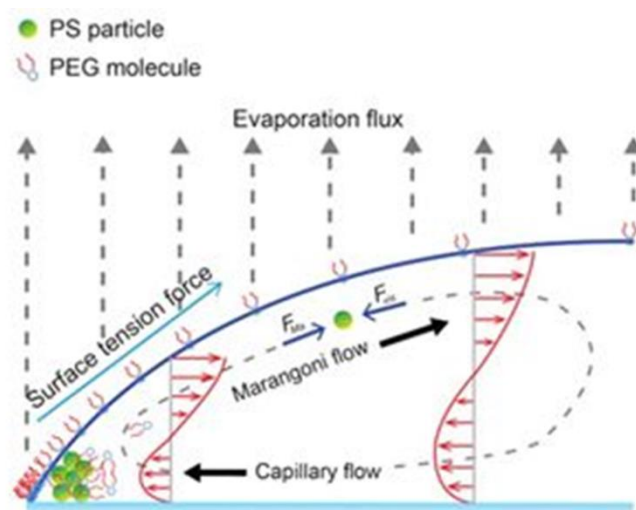


Figure 26 : Schéma des particules en suspension et du mouvement fluide dans le système de gouttelettes. Figure tiré de [20].

Cependant, en dehors de ces disques, la présence de nanoparticules est quasi-nulle. Ce phénomène est expliqué par la nature de la surface du substrat. En effet, il existe une couche native de SiO_2 de quelques nm à la surface du substrat due à l'oxydation du Si au contact de l'air. Ainsi, la charge en surface du substrat est négative. Les particules étant elles-mêmes chargées négativement, les forces électrostatiques répulsives empêchent les NPs d'adhérer sur le substrat, sauf sur les zones où des microgouttelettes se retrouvent isolées, potentiellement à cause d'une impureté/contamination bloquant une partie de la goutte lors de l'évacuation du solvant au cours de l'étape 2 de Spin Coating.

Ainsi, deux solutions peuvent être envisagées pour améliorer le dépôt : soit modifier la charge en surface des NPs, soit celle du substrat.

1.3.2.3 Changement du pH de la suspension

Comme énoncé dans la section 1.2.1, le pH joue un rôle important sur la stabilité d'une suspension. Pour la silice, le point isoélectrique se situe autour de pH 2 comme présenté sur la Figure 27.

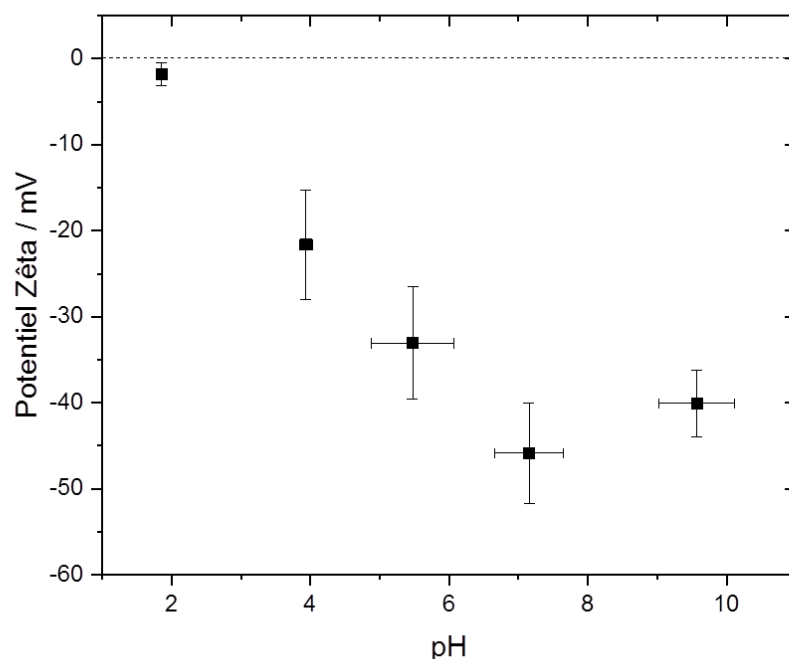


Figure 27 : Variation du potentiel Zêta en fonction du pH pour des nanoparticules de silice référence OT R3. Mesures réalisées à quatre reprises. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart type entre les différentes mesures.

En modifiant le pH autour de pH 2, il est possible d'inverser la charge en surface des particules de silice et ainsi d'améliorer leur adhésion sur le substrat. Cependant, cette modification peut s'effectuer au détriment de la stabilité de la suspension.

Dans ce but, quelques gouttes d'acide chlorhydrique ont été ajoutées à la suspension de Klebosol 30R50 pour l'amener à pH 1. Un dépôt de cette suspension a été réalisé par Spin Coating en utilisant les paramètres présentés précédemment. La qualité du dépôt a été contrôlée par MEB et une image de la surface est présentée en Figure 28. Les résultats montrent un meilleur recouvrement du substrat par les particules isolées.

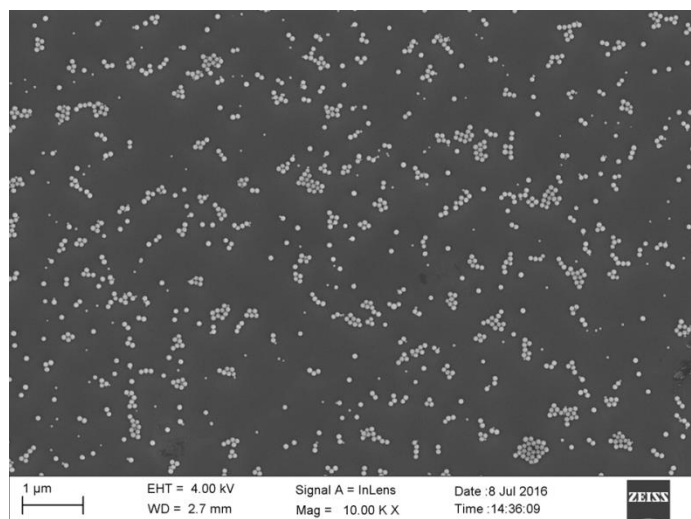


Figure 28 : Image MEB d'un dépôt de suspension de Klebosol 30R50 à pH = 1 déposée par Spin Coating.

1.3.2.4 Utilisation de la Poly-L-lysine

La seconde option permettant d'améliorer l'adhésion des particules de silice sur substrat Silicium est de modifier la charge en surface du substrat. Pour cela, un polymère cationique, la poly-L-lysine (PLL) est utilisée afin de recouvrir le substrat. La nature cationique permet (1) au polymère de s'adsorber aisément sur la couche d'oxyde native des substrats Silicium (2) de favoriser l'adhésion des particules chargées négativement. De ce fait, par cette méthode, il n'est pas nécessaire de modifier le pH des suspensions colloïdales avant dépôt.

La couche de PLL est déposée sur les substrats en utilisant la méthode de Spin Coating. La quantité d'adsorption ainsi que la stabilité de la couche de PLL pouvant être faibles, les paramètres de dépôts ont été ajustés et sont égaux à :

- Phase 1 : 300 tours/minutes pendant 60 s.
- Phase 2 : 8000 tours/minutes pendant 30 s.

Une goutte de suspension colloïdale est ensuite déposée sur le substrat par Spin Coating en utilisant les paramètres décrits dans la section 1.3.1. Le MEB est par la suite utilisé pour contrôler la qualité du dépôt (Figure 29).

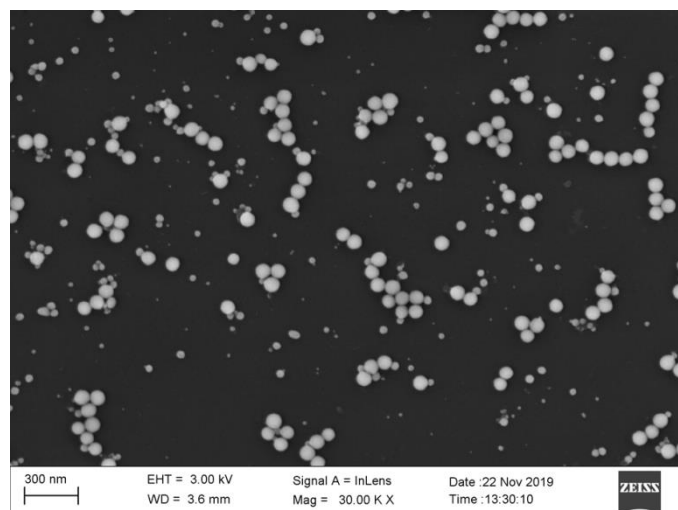


Figure 29 : Image MEB d'un dépôt de suspension de référence ERM[®]-FD101b déposée par Spin Coating sur un substrat silicium recouvert d'une couche de PLL.

Ainsi, l'ajout de PLL permet de rendre la concentration surfacique en NPs homogène sur l'ensemble de la surface de la goutte déposées et d'obtenir de nombreuses particules isolées. Cependant, le dépôt d'une couche polymère risque de modifier la rugosité du substrat. Afin d'évaluer l'influence de ce dépôt, 7 images AFM de dimension 2,5 μm x 2,5 μm ont été réalisées sur un substrat silicium après dépôt de PLL. Pour rappel, la rugosité RMS a été évaluée comme étant proche de 0,2 nm sur ces substrats [18]. Les résultats sont présentés sur le Tableau 4.

Tableau 4 : Rugosité (RMS) du substrat après dépôt de PLL.

Image	Rugosité RMS / nm
1	0,45
2	0,64
3	0,71
4	0,74
5	0,58
6	0,75,
7	0,42
Moyenne	0,61
Écart-type	0,14

La rugosité moyenne évaluée à partir de 7 images 2,5 μm x 2,5 μm est égale à 0,61 nm pour un écart type de 0,14 nm. Ainsi, l'ajout de PLL sur la surface de l'échantillon modifie la rugosité du substrat dans des proportions acceptables dans le cadre de cette étude.

Ainsi, parmi les deux solutions proposées, l'utilisation de la PLL a été choisie car celle-ci présente l'avantage de ne pas altérer la stabilité de la suspension.

1.3.3 Dépôt sur grille de microscopie

1.3.3.1 Présentation des substrats utilisés

Dans le cadre de la comparaison entre les techniques AFM/MEB/MET, présenté au chapitre 5, les suspensions doivent être déposées sur un substrat transparent aux électrons à cause des limitations du MET.

Par conséquent, des grilles de microscopie référence AGS160 commercialisées par la société Agar Scientific ont été utilisées. Ces dernières sont composées d'un film carbone de quelques dizaines de nanomètres d'épaisseur déposé sur une grille en cuivre. La taille des motifs définis par la grille de Cuivre est approximativement de $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$. Un repère est placé au centre de la grille afin de repérer le motif d'intérêt.

1.3.3.2 Description de la méthode de dépôt sur grilles de microscopie

Le dépôt par Spin Coating a été utilisé pour déposer une goutte de suspension sur les grilles de microscopie utilisées pour la comparaison AFM/MEB/MET. Cette méthode a été préférée au dépôt par évaporation classique afin de limiter les effets de l'agglomération ainsi que la présence sur la grille d'éventuels résidus présents dans la suspension.

Afin de maintenir la grille lors du Spin Coating, un montage a été réalisé et est présenté en Figure 30. La grille est fixée sur un substrat Silicium par l'intermédiaire d'un film de paraffine (Parafilm® M). Le substrat est ensuite placé sur le système d'aspiration afin d'être maintenu lors du Spin Coating.

Le dépôt est réalisé sur la face sombre de la grille, correspondant à la face sur laquelle le film Carbone est déposé.

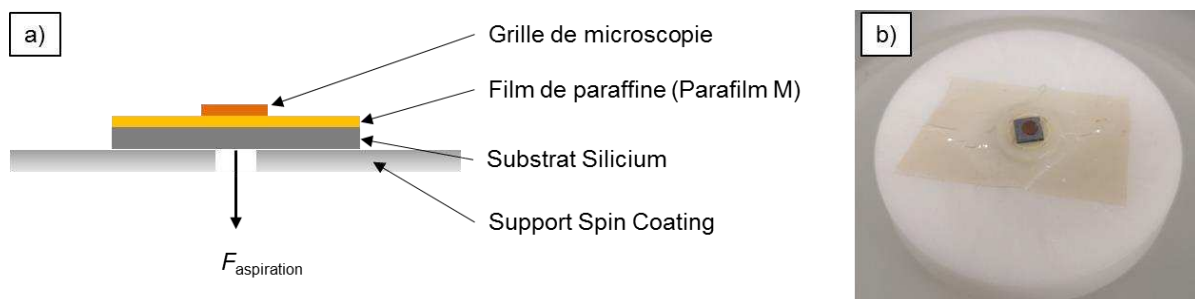


Figure 30 : a) Principe du système pour le dépôt des grilles de microscopie par Spin Coating.
b) Système déposé sur le support du Spin Coating.

Les paramètres de dépôt par Spin Coating ont été ajustés et sont les suivants :

- Phase 1 : 1000 tours/minutes pendant 300 s.
- Phase 2 : 8000 tours/minutes pendant 10 s.

Afin d'améliorer l'adhésion des particules sur la grille, une couche de PLL est préalablement déposée en utilisant les paramètres de Spin Coating détaillés dans la section 1.3.1.

1.4 Utilisation d'un substrat adapté à la métrologie AFM/MEB - système de repositionnement

Afin de pouvoir imager exactement la même population de nanoparticules par AFM et MEB (cf. chapitre 5), il est nécessaire de développer des systèmes de repositionnement afin de localiser des zones d'intérêt de quelques μm^2 sur un substrat de 5 mm x 5 mm et de pouvoir aisément les retrouver en passant d'un instrument à un autre [25].

Un système de localisation, composé de croix et de lettres obtenues par lithographie, a ainsi été développé. Ces substrats ont été produits en collaboration avec le laboratoire de nano-fabrication du CNRS/C2N (Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies). Les motifs sont réalisés sur des substrats silicium similaires à ceux décrits dans la section précédente afin de pouvoir utiliser les mêmes paramètres de dépôt par Spin Coating.

Douze motifs (séries de croix et de lettres) ont été gravés pour former un triangle dont un seul côté est parallèle au bord du substrat, permettant ainsi de s'orienter aisément (Figure 31). À l'intérieur de chaque motif, les séries de croix et de lettres (de A à Y) permettent d'indexer la zone d'intérêt sur une zone de $15\ \mu\text{m} \times 15\ \mu\text{m}$, soit l'espace entre deux croix.

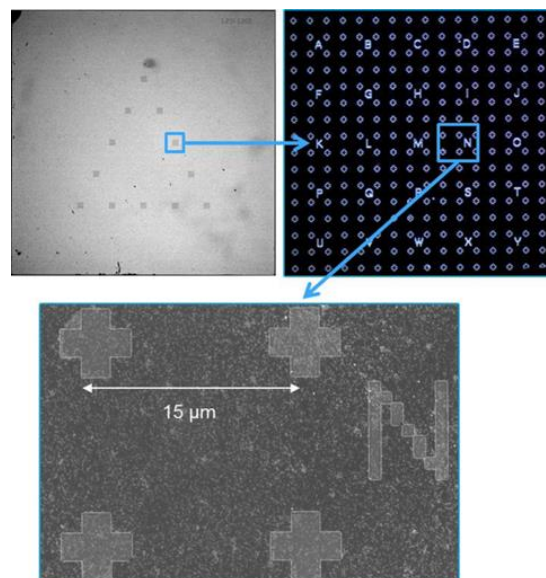


Figure 31 : Motifs obtenus par lithographie sur substrat Silicium pour le repositionnement entre AFM et MEB. Figure tirée de [25].

Une seconde méthode de préparation de substrats adaptés à la métrologie hybride AFM/MEB a été étudiée. Celle-ci est fondée sur la modification locale des propriétés de surface du substrat par implantation ionique au travers d'un masque spécifique. L'objectif de cette dernière est de ne permettre l'adhésion des NPs que sur certaines zones bien spécifiques sur le substrat. Les substrats n'ayant pas été utilisés dans le reste de l'étude, la procédure ainsi que les résultats de cette méthode sont détaillés en Annexe 1.

2 MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE À BALAYAGE

2.1 Qualification du microscope électronique à balayage

2.1.1 Détection des électrons secondaires

Comme présenté dans la section 3.2.2 du Chapitre 1, les électrons secondaires sont généralement extraits de l'échantillon avec une énergie de l'ordre de quelques eV, leur détection nécessite ainsi la mise en place de systèmes spécifiques. C'est le cas notamment du système de détection classiquement utilisé, nommé détecteur d'Everhart et Thornley. En règle générale, ce détecteur est disposé sur le côté de la chambre du MEB. Son principe repose sur l'attraction des électrons secondaires via la création d'un champ électrique, dans la chambre du MEB, entre une grille polarisée au bout du détecteur et l'échantillon relié à la masse. En pratique, la grille est portée à un potentiel compris entre -300 et +300 V. Cela permet d'attirer les électrons secondaires sans pour autant influencer sur la trajectoire des électrons de plus haute énergie. De ce fait, les électrons traversant la grille sont, en grande majorité, des électrons secondaires.

Ces électrons sont alors convertis en photons par l'intermédiaire d'un scintillateur, ces photons sont ensuite guidés jusqu'à un photomultiplicateur par l'intermédiaire d'un guide de lumière. Le photomultiplicateur permet ainsi de reconvertir les photons en électrons tout en multipliant ces derniers. En sortie de détecteur, le signal électrique est ensuite mesuré par un amplificateur électronique. L'image en électrons secondaires correspond ainsi à la valeur du signal électrique en sortie du détecteur, convertie en niveaux de gris, pour chaque pixel de l'image au cours du balayage.

Ce détecteur permet ainsi de capter une grande partie des électrons secondaires extraits de l'échantillon comme présenté sur la Figure 32.

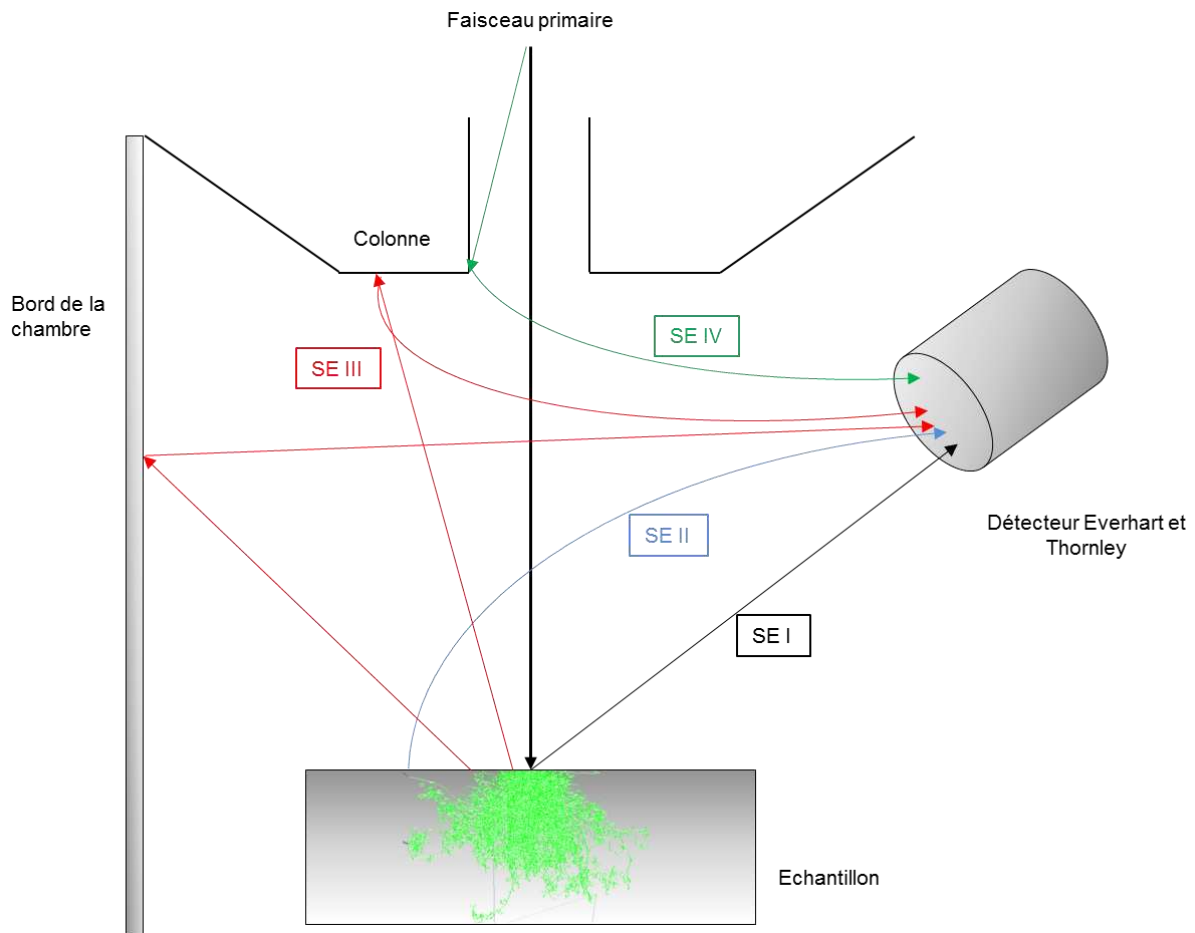


Figure 32 : Représentation des différentes catégories d'électrons collectées par le détecteur Everhart et Thornley.

Les électrons secondaires peuvent être classifiés en plusieurs catégories :

- Les électrons secondaires générés entre le faisceau primaire et les premières couches atomiques de l'échantillon sont nommés SE I.
- Les électrons secondaires générés par les électrons rétrodiffusés quittant l'échantillon sont appelés SE II, ces électrons peuvent être générés à une distance de plusieurs microns par rapport au point d'impact du faisceau primaire.
- Les électrons secondaires générés par l'interaction des électrons rétrodiffusés avec la lentille objectif ou les bords de la chambre sont nommés SE III.
- Lorsque le faisceau primaire frappe une ouverture dans la colonne électronique, des électrons secondaires peuvent être générés. Ces derniers sont alors nommés SE IV.

Lors de l'acquisition d'une image MEB, les SE III et SE IV sont responsables de l'augmentation du bruit sur l'image. Les SE II, quant à eux, sont plus problématiques lorsque l'on désire acquérir une image en électrons secondaires à haute résolution. En effet, étant donné que ces derniers sont générés à grande distance du point d'impact avec le faisceau primaire, les SE II ont pour effet d'altérer la

résolution de l'image. Un exemple de la proportion de chaque catégorie d'électrons secondaires sur le rendement total a été mis en évidence dans le cadre de l'imagerie d'un échantillon d'or avec un détecteur latéral [26]. Ainsi, 9 % du signal total est lié aux SE I, 28 % aux SE II et 63 % aux SE III et SE IV.

Les fabricants de microscope électronique se sont ainsi focalisés sur la mise en place de dispositifs de détection permettant de favoriser la collection des SE I. Ainsi, la solution trouvée par ces derniers a été de placer le détecteur directement dans la colonne électronique, donnant ainsi au détecteur le nom de « In-Lens » ou encore « Through the Lens » (TTL). Du fait de leur géométrie, seuls les électrons secondaires générés dans l'axe de la colonne électronique peuvent être collectés par ces détecteurs [27–29].

2.1.2 Description du microscope électronique à balayage Zeiss Ultra Plus

Le MEB utilisé dans ces travaux est un MEB-FEG Zeiss Ultra Plus (Figure 33). Le terme FEG (Field Emission Gun) pour canon à émission de champ désigne la méthode de création des électrons primaires utilisés pour irradier la surface de l'échantillon. Le MEB-FEG Zeiss Ultra Plus est équipé avec un canon à émission de champ de type Schottky. Comparé aux méthodes classiques (cristal de tungstène ou LaB₆ notamment) la brillance de cette source est jusqu'à 1000 fois supérieure, permettant ainsi un fonctionnement du microscope à basse énergie (quelques kV) [30].

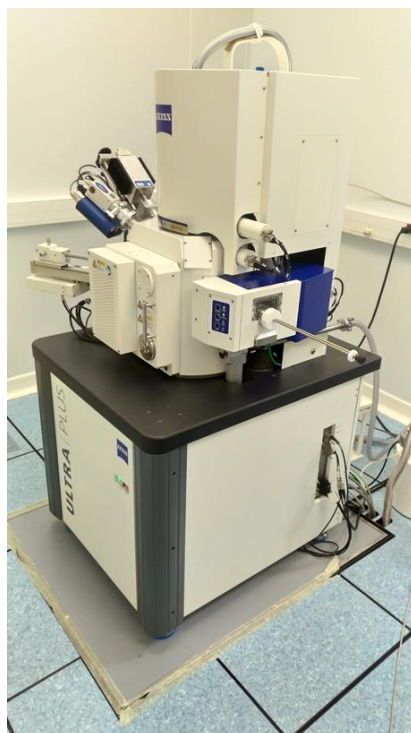


Figure 33 : MEB-FEG Zeiss Ultra Plus.

Le microscope électronique est équipé d'une colonne Gemini (Figure 34) composée d'un ensemble de lentilles magnétiques et électrostatiques permettant de focaliser le faisceau électronique sur la surface de l'échantillon.

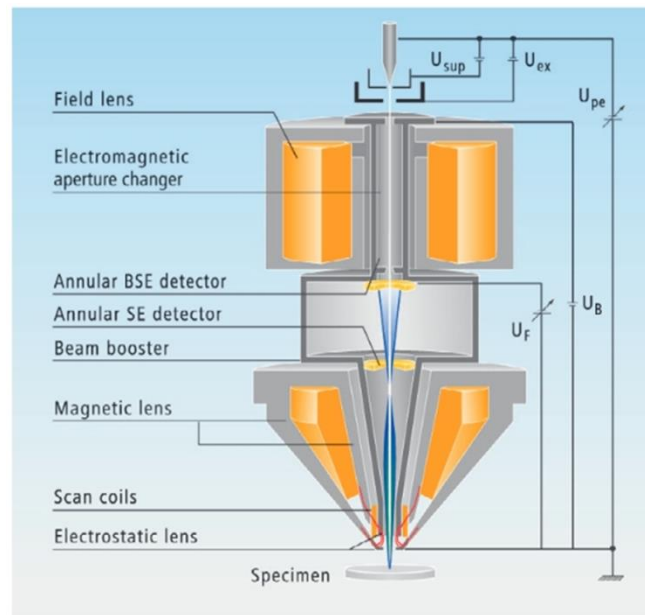


Figure 34 : Colonne Zeiss Gemini. Image issue de [31].

La technologie « Beam Booster » est implémentée dans la colonne Gemini. Cette technologie fonctionne de la manière suivante : les électrons générés par le filament chauffé sont accélérés à la valeur de la tension d'accélération (EHT pour Extra High Tension) (U_{EHT}). Cette valeur correspond à l'énergie, fixée par l'opérateur, à laquelle les électrons heurtent la surface de l'échantillon. Dans une colonne électronique classique, les étapes de focalisation du faisceau se dérouleraient avec un faisceau électronique porté à cette tension. Dans la colonne Gemini, la technologie « Beam Booster » permet d'accélérer le faisceau une nouvelle fois au sein de la colonne, en augmentant son potentiel d'une valeur généralement de 8 kV. Le faisceau est ainsi porté à une valeur de tension $U_B = U_{EHT} + 8 \text{ kV}$. Cela présente plusieurs avantages, comme par exemple de réduire la sensibilité du faisceau aux divers champs magnétiques présents dans la colonne, et permet ainsi de réduire son élargissement. Ainsi, même en définissant une tension d'accélération relativement faible, les tailles de sondes obtenues restent faibles et sont de l'ordre de 1,7 nm pour une tension d'accélération de 1 kV, 1 nm pour 15 kV, garantissant une bonne résolution de l'image quelle que soit la tension appliquée. Afin d'obtenir la tension d'accélération désirée pour l'imagerie de la surface de l'échantillon, le faisceau primaire est ensuite décéléré en sortie de colonne.

Un détecteur pour l'imagerie des électrons secondaires est intégré dans la colonne Gemini au-dessus de la lentille objectif. Le principe de collection des électrons secondaires est le suivant : ces derniers sont interceptés en sortie d'échantillon par un champ électrique faible. La technologie « Beam Booster » est utilisée pour accélérer les électrons secondaires. Ces derniers sont ensuite guidés

jusqu'au détecteur dans la colonne par l'intermédiaire des lentilles magnétiques. L'utilisation de cette technologie permet ainsi, théoriquement, d'obtenir un rapport signal sur bruit 2 à 3 fois supérieur à celui d'un détecteur Everhart et Thornley classique.

Le microscope est piloté par l'intermédiaire du logiciel SmartSEM, permettant le contrôle des paramètres du faisceau (courant, tension...) ainsi que l'acquisition d'images.

La stabilité de l'instrument est assurée via la mise en place de plusieurs protections acoustiques et vibrationnelles. En effet, le microscope est posé sur un massif en béton découplé du bâtiment. De plus, la pompe primaire ainsi que le système de contrôle sont déportés de l'instrument ainsi que de sa salle.

2.1.3 *Étalonnage du MEB Zeiss Ultra Plus : utilisation de l'étalon de transfert $P_{900}H_{60}$*

L'étalonnage des instruments est une étape essentielle à l'obtention de mesures traçables et comparables. Afin d'étalonner le MEB, un réseau a été développé via une collaboration entre le LNE et le CNRS/C2N [32]. Ce réseau, nommé $P_{900}H_{60}$, est composé d'une succession de motifs lithographiés de profondeur moyenne 60 nm pour un pas de réseau moyen de 900 nm. Un système de lithographie par faisceau d'électron (Raith-Vistec EBPG 5000+) est utilisé pour fabriquer les masques en PMMA. La technique de gravure ionique réactive est ensuite appliquée sur les masques pour produire les réseaux.

La hauteur de marche moyenne ainsi que le pas moyen de réseau ont été évalués via l'utilisation de l'AFM métrologique du LNE. Ainsi, ces réseaux sont directement reliés au mètre SI et sont utilisés comme étalons de transfert. Ils sont ensuite utilisés pour étalonner le MEB et l'AFM comme présenté sur la Figure 35.

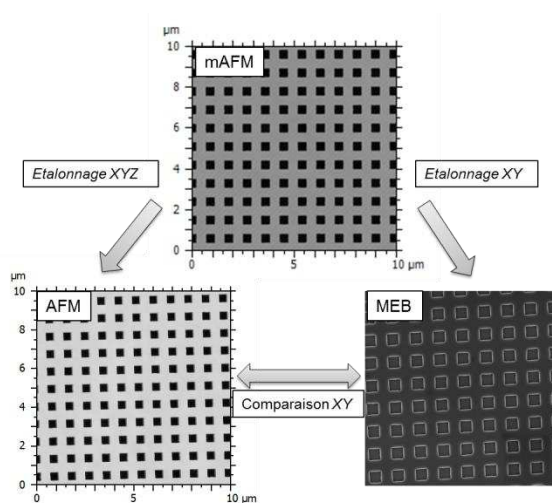


Figure 35 : Principe de l'étalonnage de l'AFM et du MEB en utilisant les réseaux de transfert mesurés par AFM métrologique. Figure tirée de [25].

En l'absence de repères sur le substrat, il est difficile de mesurer exactement la même zone avec chaque instrument. Ainsi, cinq images du réseau sont réalisées avec chaque technique en utilisant les mêmes paramètres d'imagerie que pour les NPs. Le pas de réseau moyen est évalué en utilisant une transformée de Fourier à partir des images MEB. Un exemple d'étalonnage réalisé dans ces travaux est présenté dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Hauteur de marche et pas de réseau moyens établis par AFM métrologique, mesures réalisées sur le réseau de transfert par MEB. Les mesures sont tirées de [25].

	AFM métrologique	MEB Zeiss
Pas de réseau / nm	900,2	902,0
Incertitude standard ($k = 1$) sur le pas de réseau / nm	-	0,6
Hauteur de marche / nm	53,0	
Incertitude standard ($k = 1$) sur la hauteur de marche / nm	-	-
Incertitude élargie ($k = 2$) sur le pas de réseau / nm	2,0	-
Incertitude élargie ($k = 2$) sur la hauteur de marche / nm	1,0	-

2.1.4 Présentation du package Java JMONSEL - Java MONte carlo for Secondary Electrons

La modélisation du signal MEB par la méthode Monte Carlo a été mise en place dans ces travaux. Cette dernière a été utilisée afin d'aider à la compréhension de la formation du signal en électrons secondaires et d'améliorer la méthode de mesure associée au MEB.

Le programme Java JMONSEL (Java MONte carlo for Secondary Electrons) a ainsi été utilisé dans cet optique. Ce dernier a été développé afin de modéliser le signal MEB par l'intermédiaire d'une routine écrite sous Jython (interprète Python écrit en Java).

Cet outil a été initialement développé par Nicholas Ritchie sous le nom EPQ (Electron Probe Quantification) et a été conçu afin de décrire la microanalyse X au travers de la simulation des rayons X, de leur génération, transmission et détection en fonction du matériau étudié [33]. L'outil a ensuite été repris par J. Villarrubia afin de simuler les interactions électron/matière de basse énergie, notamment la création et le transport des électrons secondaires sous l'irradiation par un faisceau

électronique incident. Cet outil a ainsi été principalement utilisé comme support pour la mesure des dimensions critiques au MEB [34–39].

Plusieurs outils sont présents dans JMONSEL. Le premier permet de décrire un matériau et ses propriétés pertinentes pour modéliser son interaction avec les électrons (géométrie, densité, composition chimique, niveaux d'énergie des couches électroniques...). Un autre, nommé NISTMonte permet de réaliser des simulations Monte Carlo de trajectoires électroniques dans l'échantillon dans les trois dimensions de l'espace à partir de modèle d'interactions électron/matière préalablement définis.

Les simulations sont alors effectuées en exécutant un script écrit en Jython. Ce dernier accède alors aux différentes fonctions enregistrées dans une bibliothèque afin de définir le matériau et la géométrie de l'échantillon, les modèles d'interactions électron/matière, les propriétés du faisceau électronique (position du canon, énergie et largeur du faisceau...) et les détecteurs utilisés dont il est possible de définir la position (détecteurs In Lens ou latéraux). Il est également possible de fixer la gamme d'énergie des électrons collectés, afin de modéliser le signal en électrons secondaires en ne sélectionnant que les électrons dont l'énergie est inférieure à 50 eV par exemple.

Le script fonctionne de la manière suivante : un électron est envoyé à la surface de l'échantillon, le programme détermine alors le parcours pas à pas de cet électron et de ceux nouvellement créés via les différentes interactions avec le matériau. Lorsque les conditions aux limites sont atteintes (perte totale d'énergie, trajectoire hors du volume étudié...), le script détermine alors combien d'électrons répondant aux critères énoncés précédemment ont traversé le ou les détecteur(s) et donne une information sur le rendement. Toutes ces étapes sont exécutées dans une boucle afin de simuler N trajectoires par point, N étant le nombre d'électrons incidents définis par l'utilisateur. En faisant varier la position du canon à électrons dans le plan XY , il est possible de déterminer le rendement en électrons secondaires en fonction de la position pour reconstruire un profil ou une image.

2.2 Acquisition des images

Cette partie présente l'ensemble des paramètres expérimentaux utilisés pour l'acquisition des images MEB. Les choix pour ces paramètres, ainsi que leur influence sur la mesure des NPs seront discutés par la suite dans le Chapitre 3.

2.2.1 Paramètres expérimentaux

Le choix des paramètres d'imagerie lors de l'acquisition des images par MEB est une étape pouvant induire de nombreuses sources d'erreurs sur la mesure de la taille des NPs.

Le premier objectif est d'obtenir une taille de pixel suffisamment faible pour répondre aux recommandations de la norme ISO 9276-6 [40], tout en conservant un nombre suffisant de particules par image. Pour rappel, la norme préconise d'avoir au minimum 100 à 200 pixels pour décrire la particule lorsqu'une mesure du diamètre est réalisée à partir de l'aire de la surface projetée.

Ainsi, en considérant que la particule à imager est sphérique et doit au minimum contenir 200 pixels, la taille du pixel a maximale tolérée pour chaque population étudiée est décrite à partir de l'équation suivante et est fonction du rayon de la particule R :

$$a = \sqrt{\frac{\pi R^2}{200}} \quad (7)$$

Ainsi, pour chaque population la taille maximale du pixel est listée dans le Tableau 6. Trois résolutions différentes (1024 x 768, 2048 x 1536 et 3072 x 2304 pixels) peuvent être sélectionnées pour l'acquisition des images. Le choix s'est porté sur la résolution 2048 x 1536 pixels pour l'ensemble des images MEB réalisées dans ces travaux.

Tableau 6 : Taille du pixel maximale tolérée pour chaque population étudiée et taille du pixel appliquée pour chaque population en considérant une résolution de 2048 x 1024 pixels.

Suspension	Diamètre (nominal ou référence) / nm	Taille du pixel maximale tolérée / nm	Grandissement appliqué	Taille du pixel correspondante / nm
ERM®-FD102	18,2	1,14	x 60000	0,930
	84,0	5,26		
ERM®-FD101b	83,7	5,25	x 30000	1,861
ERM®-FD304	27,8	1,74	x 40000	1,396
OT R3	100,0	6,26	x 20000	2,791
Klebosol® 30R50	40,0	2,51	x 30000	1,861
	80,0	5,01		

Les paramètres utilisés pour l'acquisition des images MEB n'ont pas évolué selon la population étudiée et sont listés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Paramètres utilisés pour l'acquisition des images MEB

Paramètre	Valeur
Courant de sonde	2.338 A
Ouverture du diaphragme	30 μm
Contraste et Luminosité	Ajustés selon l'image afin de ne pas observer de saturation du signal
Acquisition de l'image	Intégration ligne à ligne
Vitesse de balayage	« 4 » Index (échelle de 1 à 9 avec 1 : balayage rapide et 9 : balayage lent)
Nombre de répétitions par ligne	21
Temps d'acquisition par image	27,8 s

2.2.2 Choix de la tension d'accélération et de la distance de travail

La tension d'accélération ainsi que la distance de travail sont deux paramètres clefs en microscopie électronique à balayage et doivent, par conséquent, être sélectionnés minutieusement.

La tension d'accélération influence directement la taille de la poire d'interaction dans le matériau irradié. En effet, plus l'énergie du faisceau incident augmente, plus la probabilité d'interaction des électrons primaires avec ceux constitutifs des atomes de l'échantillon diminue. Ce phénomène a pour conséquence de provoquer une pénétration plus importante des électrons primaires dans le matériau. De ce fait, le rendement en électrons secondaires diminue et donc la résolution de l'image augmente lorsque l'énergie du faisceau primaire augmente car une grande quantité d'électrons secondaires est générée trop profondément. Par conséquent, l'objectif est de réduire au maximum la tension pour maximiser la collection des électrons secondaires. Cependant, comme évoqué précédemment, le diamètre du faisceau électronique diminue lorsque la tension d'accélération augmente. Ainsi, il est nécessaire de trouver le meilleur compromis entre résolution de l'image et rendement en électrons secondaires en faisant varier la tension d'accélération (EHT : Electron High Tension).

Concernant la distance de travail, le constructeur recommande de minimiser ce paramètre. En effet, comme présenté dans la section 2.1.1, les électrons secondaires extraits de la surface de l'échantillon

sont attirés dans la colonne grâce à un champ électrique faible créé par la lentille électrostatique située en bas de la colonne. L'intensité de ce champ décroît de manière exponentielle en fonction de la distance entre l'échantillon et la colonne, soit la distance de travail. Ainsi, plus la distance de travail est importante, plus il est difficile d'intercepter les électrons secondaires générés en surface de l'échantillon, et plus le rapport signal sur bruit diminue.

Le constructeur préconise certaines combinaisons entre ces deux paramètres pour maximiser le rapport signal sur bruit, donc la qualité de l'image. Ces recommandations sont reportées sur le Tableau 8.

Tableau 8 : Recommandations du constructeur pour le choix du couple tension d'accélération / distance de travail.

Tension d'accélération (EHT)	Distance de travail recommandée
3 – 20 kV	3 – 6 mm
100 V – 3 kV	2 – 3 mm
100 V	Max 4 mm

Une étude complète de l'influence de ce paramètre sur la mesure des paramètres dimensionnels d'une NP par MEB est présentée dans l'Annexe 2.

2.2.3 Précautions

2.2.3.1 Effets de contamination

La contamination de l'échantillon sous l'exposition au faisceau électronique focalisé est un phénomène classique au MEB. Ce dernier est dû à l'adsorption à la surface de l'échantillon de molécules organiques. Ces molécules sont désorbées dans la chambre sous vide après introduction de l'échantillon et s'accumulent sur la partie irradiée par le faisceau [41]. Ainsi, il est courant en MEB d'observer une couche de contamination en surface de l'échantillon à la suite du balayage du faisceau. Un exemple de contamination est présenté sur la Figure 36. Pour mettre en évidence ce phénomène, une même zone d'un échantillon de particules de silice référence ERM FD304 déposées sur silicium est imagée par AFM avant et après irradiation par le faisceau électronique au MEB. Sur la seconde image AFM, acquise après passage de l'échantillon au MEB, le contour de la zone balayée par MEB est clairement identifiable. En effet, une couche de quelques nanomètres de hauteur s'est déposée à la surface de l'échantillon. Ce phénomène va ainsi présenter deux problèmes.

- Premièrement, comme présenté sur la Figure 36-d, une exposition continue au faisceau électronique risque de provoquer une erreur sur la mesure des NPs par MEB [42].

- De plus, l'objectif de ces travaux est de mesurer une même zone de l'échantillon par l'intermédiaire de plusieurs techniques de microscopie que sont l'AFM, le MEB et le MET. Or, la présence d'une couche de contamination en surface va introduire un biais sur la mesure des NPs par AFM (cf. Section 3.3.1).

Ainsi, plusieurs solutions ont été mises en place. Pour répondre à la première problématique, l'échantillon est laissé sous vide dans la chambre du MEB 24 à 48 heures avant l'acquisition des images afin de minimiser l'effet de contamination. De plus, les réglages du microscope (focus, astigmatisme, alignement du faisceau, contraste, luminosité...) sont toujours réalisés en dehors de la zone d'intérêt, cela afin de limiter le temps d'exposition au faisceau de cette zone seulement à l'acquisition de l'image.

Ensuite pour répondre à la seconde problématique, les images AFM ont toujours été réalisées avant celles par microscopie électronique.

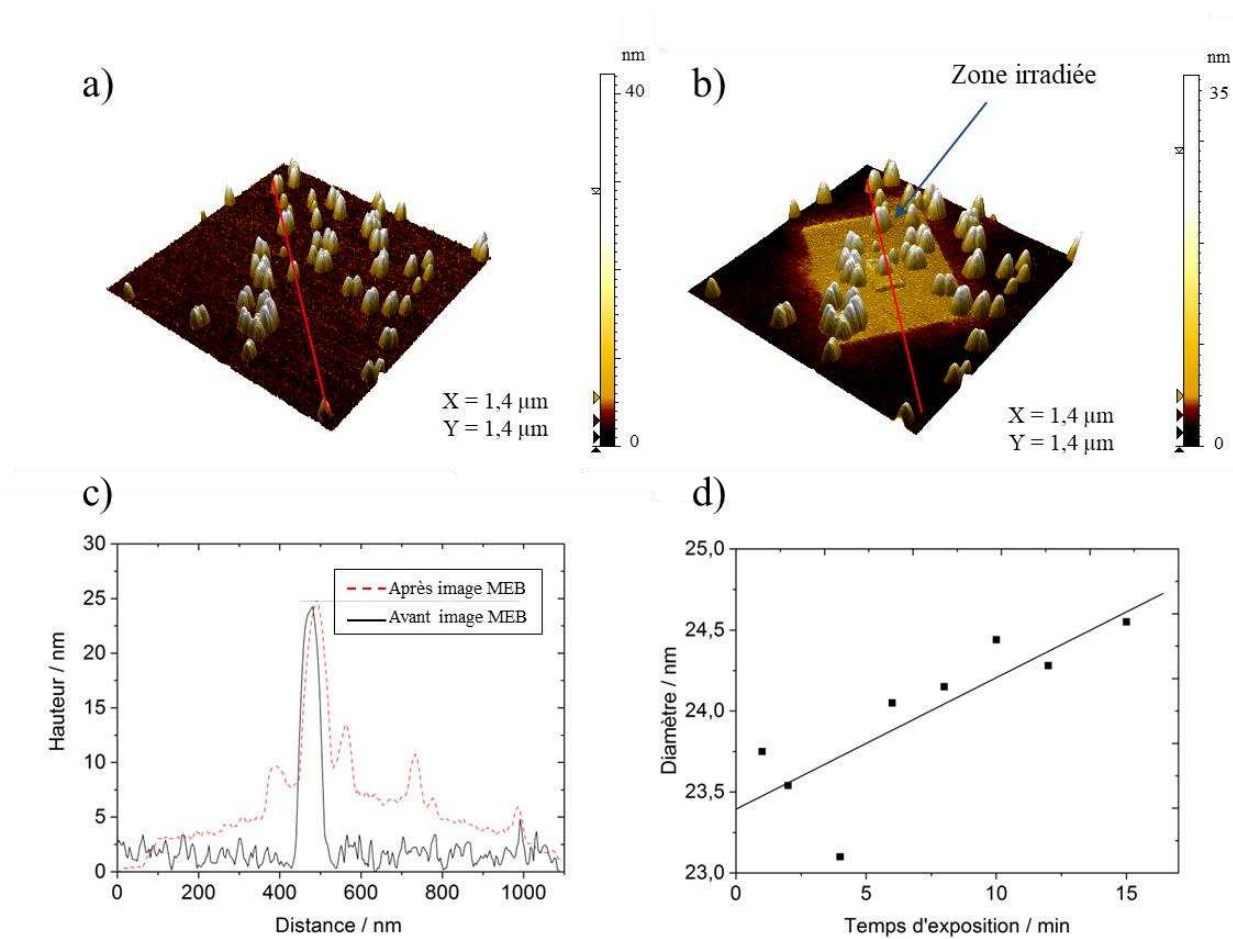


Figure 36 : Images AFM de la même population de particules de silice (ERM®-FD304) (a) avant imagerie MEB, (b) après irradiation de la zone au MEB, (c) comparaison du profil AFM de la même particule avant et après irradiation, (d) évolution de la mesure MEB des particules sur l'image en fonction du temps d'irradiation au MEB.

Le phénomène de distorsion de bord de l'image est un effet bien connu de l'imagerie MEB [18, 43]. Ce phénomène est dû au fait que la vitesse de déplacement du faisceau électronique est non constante le long de l'image. En effet, le faisceau électronique effectue un balayage ligne à ligne pour acquérir l'ensemble de l'image. Lorsque le faisceau atteint le bord de l'image, celui-ci décélère et change de direction avant de ré-accélérer pour atteindre la vitesse de balayage définie par l'utilisateur. Ce mécanisme provoque une désynchronisation entre les emplacements réels et théoriques du faisceau électronique. Ainsi, chaque fois que ce dernier revient sur le bord gauche de l'image, il faut un certain temps avant que la vitesse de balayage reprenne sa valeur nominale.

A. Delvallée [18] a mis en évidence dans ses travaux de thèse l'influence de ce phénomène sur la mesure du pas de réseau d'un étalon VLSI STS2-440P. Cette étude montre que les motifs sur la gauche de l'image, soit sur 1/5 de l'image, sont déformés et leur taille a été évaluée de 10 nm à 70 nm plus grande que celle des autres motifs. De plus, cet écart augmente lorsque la résolution de l'image augmente.

Ce phénomène de distorsion a les mêmes conséquences pour la mesure des NPs, puisqu'il provoque irrémédiablement un biais sur la mesure des particules situées sur le bord gauche de l'image. Ainsi, par précaution, chaque image acquise par MEB est amputée de sa partie gauche (1/5 de l'image).

2.3 *Traitement des images MEB*

2.3.1 *Méthode de mesure des paramètres dimensionnels d'une NP par MEB*

La microscopie à balayage donne une information relativement résolue (de l'ordre du nanomètre) suivant le plan XY. Cependant, aucune information quantitative ne peut être extraite suivant l'axe Z.

Dans le cadre de ces travaux, la méthode utilisée pour déterminer les propriétés dimensionnelles d'une NP par MEB consiste à extraire le contour de la particule et créer une image binaire avec ce dernier pour déterminer l'aire de la particule sur cette image. À partir de l'information sur l'aire, le diamètre des nanoparticules sera établi à partir du diamètre équivalent en surface projeté, noté D_{eq} . Cette valeur correspond au diamètre d'un disque ayant la même aire, notée A , que la particule étudiée et est définie comme :

$$D_{eq} = 2 \sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad (8)$$

Il est alors important de définir le contour de la particule. Ce dernier peut être déterminé à partir de nombreux algorithmes de détection des bords comme présenté dans le chapitre précédent. Celui utilisé dans le cadre de ces travaux de thèse est « Active Contour » qui se base sur la détection des points

d'équilibre stables locaux sur l'image [44]. Le fonctionnement de l'algorithme est le suivant : comme présenté sur la Figure 37, l'image dérivée seconde correspondant à l'image MEB est calculée (Figure 37-b). Un masque binaire ayant une surface supérieure à l'image projetée est calqué au-dessus de la particule et par un processus itératif, les dimensions du masque sont progressivement réduites afin que ce dernier épouse les contours de la particule au niveau des points d'équilibre stables locaux (Figure 37-c).

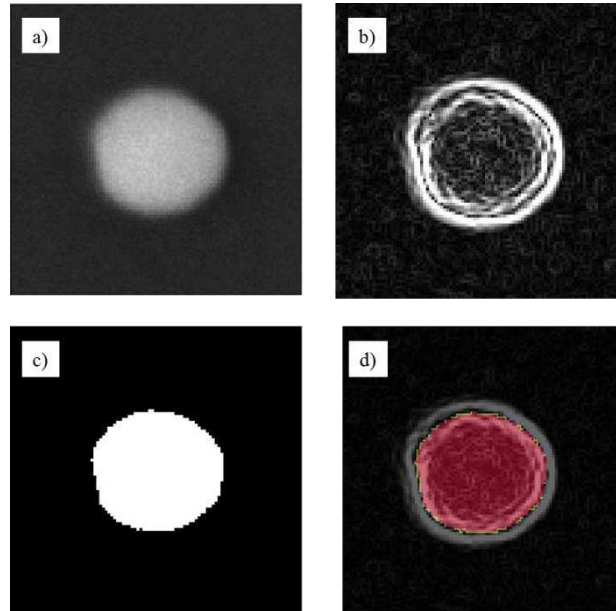


Figure 37 : Principe de la mesure d'une NP par la méthode « Active Contour ». a) Image MEB d'une particule de silice référence ERM®-FD101b, b) image dérivée seconde, c) image binaire obtenue à la suite de 100 itérations, d) comparaison image binaire (rouge) / image dérivée seconde.

Deux autres diamètres ont été utilisés dans ces travaux et sont déterminés à partir de l'image binaire : le diamètre de Féret maximal (D_{fmax}) et minimal (D_{fmin}) comme présenté sur la Figure 38.

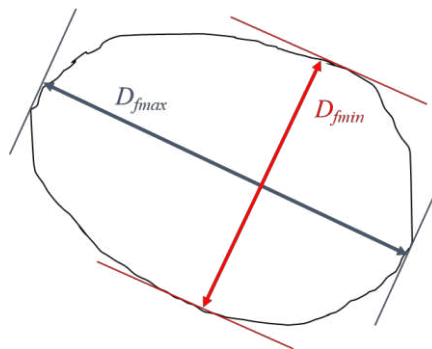


Figure 38 : Diamètres de Féret D_{fmin} et D_{fmax} .

Le terme diamètre de Féret désigne la distance comprise entre deux droites parallèles et tangentes au contour de la particule dans une direction donnée. Ainsi, il existe une infinité de diamètre de Féret. Cependant, il existe une position où le diamètre est maximal (D_{fmax}) et une où il est minimal (D_{fmin}).

2.3.2 Utilisation du logiciel NanoSelect_MEB pour le traitement des données

Le logiciel NanoSelect, développé sous Matlab lors des travaux de thèse de A. Delvallée sur la plateforme CARMEN a été utilisé [18]. Ce programme permet de mesurer les paramètres dimensionnels d'une nanoparticule à la fois à partir des images MEB et AFM. Dans cette partie, seule sera traitée la mesure du diamètre d'une nanoparticule sur une image MEB, en utilisant la méthode décrite dans la section précédente, avec le logiciel NanoSelect.

Pour le MEB, les images au format .tiff (encodage 8 bits) sont directement chargées dans le logiciel. La première étape consiste à localiser les particules sur l'image. Ainsi il est nécessaire de définir, à partir de l'histogramme de distribution en niveaux de gris sur l'image, le plan moyen permettant de séparer le signal relatif au substrat de celui correspondant aux particules.

Une fenêtre s'ouvre sur une interface présentant l'image globale. Sur cette dernière, le programme extrait chaque objet de l'image et l'affiche sous forme de vignette comme présenté sur la Figure 39.

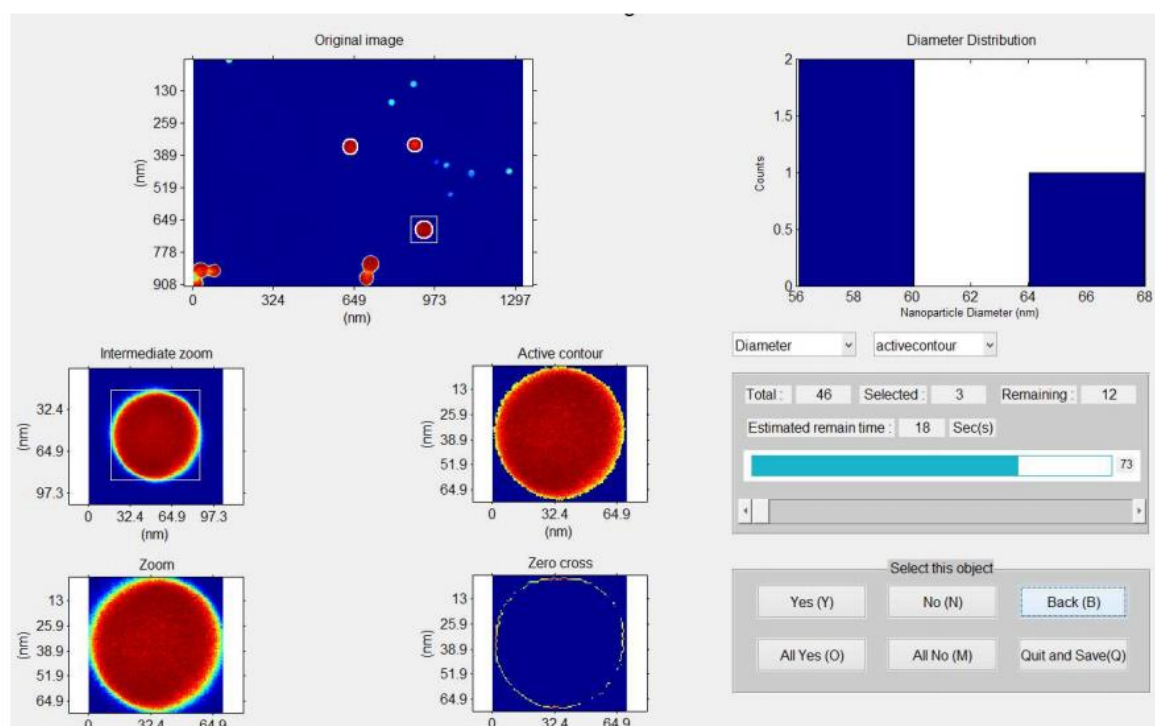


Figure 39 : Interface du programme NanoSelect pour la sélection des particules une à une lors du traitement d'une image MEB. Figure extraite de [18].

Ce dernier doit alors dire s'il considère que l'objet extrait est une NP isolée par l'intermédiaire d'un bouton Oui/Non. En cas de validation, le logiciel mesure la taille de l'objet en appliquant la méthode définie dans la section précédente et enregistre le résultat dans un fichier .txt avant de passer à l'objet suivant. Dans le cas contraire, le logiciel passe directement à l'objet suivant. Cette méthode est ainsi appliquée pour tous les objets présents sur l'image.

3 MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE

3.1 Qualification des instruments : microscopes à force atomique

3.1.1 Description des microscopes à force atomique

Comme présenté dans la section 3.2.1 du chapitre précédent, plusieurs modes d'imagerie peuvent être mis en place pour imager la surface de l'échantillon par AFM.

Pour les raisons évoquées dans le chapitre précédent, le mode d'imagerie AFM généralement sélectionné pour l'étude des nanoparticules est le mode dynamique en contact intermittent (tapping). Dans cette étude, nous avons également utilisé le mode Peak Force[®], récemment développé par la société Bruker.

3.1.1.1 Présentation du microscope à force atomique Veeco Dimension Nanoman V pour l'imagerie en mode Tapping[®]

Les images AFM en mode Tapping[®] ont été réalisées sur un Dimension Nanoman V produit par la société Veeco Instruments. Cet instrument est équipé d'un système de balayage hybride (tête Hybrid XYZ scanner) permettant une gamme de déplacement de 90 μm x 90 μm x 8 μm respectivement dans les directions X, Y et Z avec un asservissement en boucle fermée.

Afin de s'affranchir des perturbations acoustiques, thermiques et vibratoires, le système est posé sur un bloc de béton massif séparé du reste du bâtiment. L'instrument est également placé à l'intérieur d'un caisson et sur une table antivibratoire comme présenté sur la Figure 40.

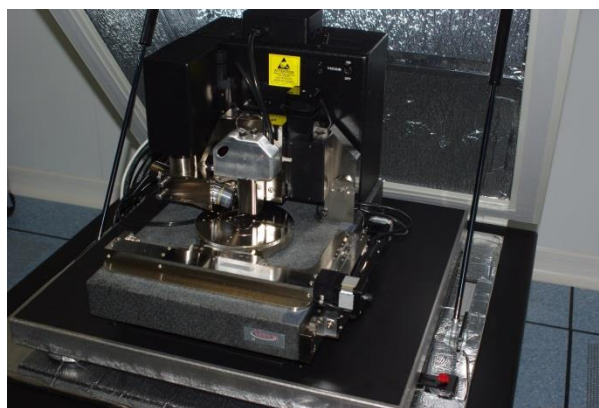


Figure 40 : AFM Veeco Nanoman V.

L'ensemble du système est également implanté dans une salle à température ($20 \pm 0,05$ °C) et hygrométrie contrôlées (50 ± 5 % d'humidité relative).

L'ensemble des mesures a été réalisée en utilisant des pointes OTESPA-R3 commercialisées par la société Bruker et présentées sur la Figure 41.

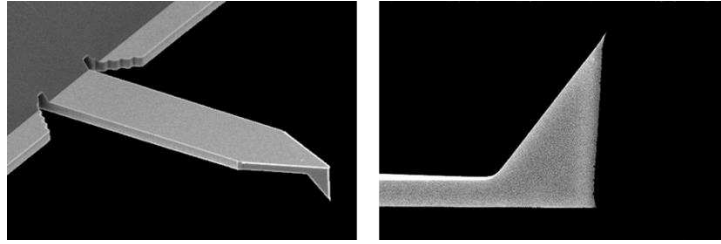


Figure 41 : Pointe OTESPA-R3 - Images issues de la fiche technique OTESPA-R3 sur le site www.brukerafmprobes.com

La fréquence de résonance nominale de ces pointes est estimée à 300 kHz avec une constante de raideur située entre 8,4 et 57 N/m. Le levier, d'une longueur de 160 μm pour 40 μm de largeur, est revêtu d'une couche d'aluminium sur sa partie arrière afin d'améliorer la réflexion du faisceau laser. La pointe a une hauteur de 4 μm à 19 μm et un rayon d'apex de 7 nm en valeur nominal. La géométrie de cette pointe présente également un réel avantage : l'angle avant de cette dernière est quasi-nul ($0 \pm 1^\circ$) tandis que l'angle arrière est de $35 \pm 1^\circ$. Étant donné l'inclinaison du levier (entre 15° et 20° par rapport à l'horizontale), l'angle de convolution est proche des deux côtés de l'objet étudié.

3.1.1.2 Présentation du microscope à force atomique Bruker Dimension Icon pour l'imagerie en mode Peak Force QNM[®]

Les images AFM en mode Peak Force[®] ont été réalisées sur un Dimension Icon XR produit par la société Bruker et installé depuis Novembre 2019 à l'Institut Pprime. Cet instrument est équipé d'un système de balayage hybride (tête Hybrid XYZ scanner) permettant une gamme de déplacement de 90 μm x 90 μm x 14 μm respectivement dans les directions X, Y et Z avec un asservissement en boucle fermée. L'instrument est placé dans un caisson d'isolation et découplé du bâtiment par un massif en béton afin de limiter la dérive thermique et l'influence des vibrations sur la mesure (Figure 42).

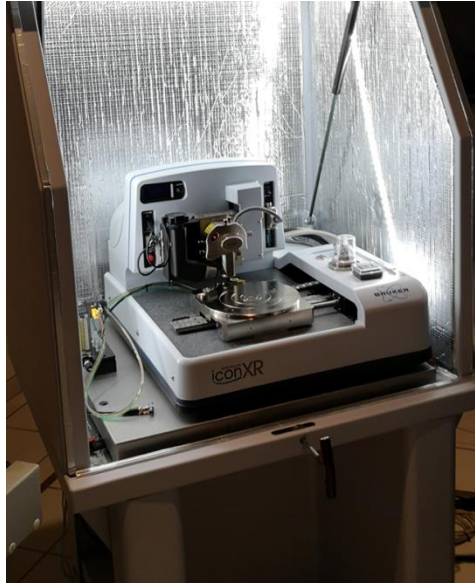


Figure 42 : Microscope à Force Atomique Dimension Icon.

Le principe de fonctionnement du mode Peak Force QNM[®] repose sur un mode non résonnant. En effet, le système piézoélectrique de balayage effectue des mouvements approche/retrait en Z à une fréquence fixe (généralement 2 kHz) avec une amplitude de 150 nm tout au long du balayage.

L'asservissement du système au cours du balayage en mode Peak Force[®] s'effectue alors sur la force maximale appliquée détectée sur les courbes approche-retrait générées en continu.

Pour prétendre être quantitatif sur la force appliquée entre la pointe et l'échantillon, il est nécessaire de déterminer plusieurs paramètres avant d'effectuer des mesures avec le mode Peak Force[®]. Pour cela, un étalonnage de la constante de raideur k du levier ou encore de la sensibilité de la photodiode permettant de mesurer sa déflexion est requis. Par conséquent, contrairement au mode tapping, le mode Peak Force[®] se veut plus quantitatif en maîtrisant la force réelle exercée au contact.

L'avantage du mode Peak Force[®] est d'avoir un contrôle quantitatif fin sur la force réelle qui s'exerce entre la pointe et la surface (de la centaine de piconewtons à quelques nanonewtons) tout en évitant les forces de frictions.

Les mesures ont été réalisées en utilisant des pointes « Scan Assist-Air » fournies par la société Bruker. Les leviers sur lesquels sont montés les pointes pyramidales à section triangulaire sont en Nitrure de Silicium et présentent une fréquence de résonance de l'ordre de 70 kHz pour une constante de raideur proche de 0,4 N/m. Les leviers ont une longueur de 115 μm pour 25 μm de largeur. Une couche d'aluminium est également présente sur leur partie arrière afin d'améliorer la réflexion du laser. L'angle avant de la pointe est de $15 \pm 2,5^\circ$ tandis que l'angle arrière est de $25 \pm 2,5^\circ$.

3.1.2 Étalonnage des instruments

Pour l'étalonnage du microscope à force atomique, le réseau P900H60 est également utilisé. Pour rappel, la hauteur de marche moyenne ainsi que le pas moyen de réseau ont été évalués via l'utilisation de l'AFM métrologique du LNE. Ainsi, ces réseaux sont directement reliés au mètre SI et sont utilisés comme étalons de transfert.

Comme pour l'étalonnage du MEB, le pas de réseau moyen est évalué en appliquant une transformée de Fourier sur les images du réseau. De plus, la hauteur de marche moyenne est mesurée à partir de l'histogramme des hauteurs sur l'image AFM. Un exemple d'étalonnage AFM réalisé dans ces travaux est présenté dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Hauteur de marche et pas de réseau moyens établis par AFM métrologique, mesures réalisées sur le l'étalon de transfert P₉₀₀H₆₀ par AFM et MEB. Les mesures sont tirées de [25].

	AFM métrologique	AFM avant étalonnage	AFM après étalonnage
Pas de réseau / nm	900,2	899,4	901,6
Incertitude standard ($k = 1$) sur le pas de réseau / nm	-	0,8	2,8
Hauteur de marche / nm	53,3	53,7	53,3
Incertitude standard ($k = 1$) sur la hauteur de marche / nm	-	0,1	0,2
Incertitude élargie ($k = 2$) sur le pas de réseau / nm	2,0	-	-
Incertitude élargie ($k = 2$) sur la hauteur de marche / nm	1,0	-	-

3.2 Microscopie à force atomique : paramètres expérimentaux et précautions

3.2.1 Paramètres expérimentaux pour l'acquisition des images AFM en mode Tapping

L'imagerie des nanoparticules a été réalisée avec les paramètres indiqués ci-dessous. La pertinence du choix de ces paramètres ainsi que leur influence sur l'incertitude associée à la mesure de la hauteur des NPs par AFM sera présentée et discutée dans le chapitre 3.

Afin de limiter la dérive de l'image au cours du balayage, les échantillons sont placés à l'intérieur du caisson isolant 24 à 48 heures avant l'acquisition des mesures.

La fréquence d'excitation du levier est fixée afin de produire une amplitude d'oscillation égale à 90 % de l'amplitude d'oscillation à la résonance. De plus, la fréquence d'oscillation utilisée est toujours inférieure à la fréquence de résonance du levier. Cette étape est ainsi ajustée en fonction de la pointe utilisée.

Les images sont réalisées avec une résolution de 1024 x 1024 pixels pour une fenêtre de balayage de 5 μm x 5 μm . La taille du pixel est ainsi de 4,88 nm, cela afin d'avoir un nombre important de pixels pour décrire la particule.

La vitesse de balayage de la pointe est fixée à 4 $\mu\text{m/s}$. Ce balayage lent permet de laisser le temps à la boucle de rétroaction de suivre la topographie de l'échantillon et ainsi assure l'intégrité de la pointe au cours du balayage. Le temps d'acquisition pour une image est ainsi de 42 minutes. Ce balayage lent est possible grâce aux précautions prises pour limiter la dérive : acquisition après stabilisation dans un caisson thermiquement isolé.

La plage de déplacement en Z du système piézoélectrique est réduite afin de limiter l'effet de discrétisation. En effet, comme une électronique 16 bits est utilisée, en réduisant la plage de déplacement, toute la dynamique du signal est redistribuée sur une plus petite échelle afin de réduire le pas de discrétisation. La relative planéité des substrats permet ainsi de réduire le « Z-Limit », soit la gamme de déplacement en Z du système piézoélectrique. Pour l'imagerie en mode Tapping, sur les deux types de substrat (Silicium et grille de microscopie), ce paramètre est fixé à 2 μm afin d'avoir un pas de discrétisation en Z de 0,3 Å.

3.2.2 Paramètres expérimentaux pour l'acquisition des images AFM en mode Peak Force[®]

L'imagerie des nanoparticules par Peak Force[®] a été réalisée avec les paramètres suivants. Les images ont été effectuées sur des plages de 5 μm x 5 μm . Afin d'obtenir un nombre suffisant de pixels représentant une particule, les images contenant des particules de petite taille ont été réalisées avec une résolution de 1024 pixels x 1024 pixels, celles contenant les plus grosses particules (80 nm) avec une résolution de 512 pixels x 512 pixels. La force maximale de consigne appliquée par la pointe est fixée à 400 pN. L'influence de la force d'appui sur la mesure de hauteur des particules sera discutée dans la section 3.2.2 du chapitre 3. Les courbes approche-retrait du mode Peak Force[®] sont générées en superposant au système piézoélectrique un signal sinusoïdal de 600 nm d'amplitude à une fréquence de 0,5 kHz. La vitesse de balayage de la pointe est de 0,2 Hz soit 2 $\mu\text{m/s}$. Par rapport aux mesures en mode Tapping[®], la vitesse est réduite afin d'obtenir au minimum un cycle approche-retrait par pixel.

Étant donné la non-planéité des substrats, notamment celle du film carbone des grilles de microscopie, le « Z-Limit » (déplacement maximal toléré en Z) du tube piézoélectrique est seulement réduit à 4 μm afin d'avoir une bonne résolution en Z tout en préservant l'intégrité du dispositif.

3.3 *Traitement des images AFM*

3.3.1 *Méthode de mesure de la hauteur d'une NP par AFM*

Comme présenté dans la section 3.2.1 du chapitre 1, il existe de nombreuses méthodes pour la mesure des paramètres dimensionnels d'une nanoparticule par AFM.

La méthode de mesure utilisée dans le cadre de ces travaux s'approche de celle développée par R.D. Boyd [45]. La méthode repose sur la mesure de la hauteur maximale d'une nanoparticule (voir Figure 13). Pour cela, deux points sont requis : un point correspondant au sommet de la particule et un second au pied de celle-ci, défini à partir du plan moyen de rugosité du substrat. La hauteur maximale de la particule est ainsi définie comme étant la différence en Z entre les deux points. Cette méthode n'est cependant applicable que sur des particules isolées.

3.3.2 *Utilisation du logiciel NanoSelect_AFM pour le traitement des données*

Le traitement des images AFM est également effectué avec le logiciel NanoSelect. Cependant, pour les images AFM, plusieurs étapes de prétraitement de l'image sont nécessaires et réalisées par l'intermédiaire du logiciel MountainsMap®. La première d'entre elles consiste à « redresser » l'image brute. Pour réaliser ce redressement, la fonction « redressement ligne à ligne » du logiciel MountainsMap® a été utilisée. Celle-ci permet de déduire l'inclinaison générale du substrat et de la soustraire afin d'obtenir une image plane de la topographie de l'échantillon. Les structures sur la surface, tels que les NPs, sont automatiquement exclues lors du calcul et n'interviennent pas dans la détermination du plan de l'échantillon.

La seconde étape consiste à créer sur le logiciel MountainsMap® trois images au format .txt utilisées ensuite dans le traitement des images AFM sur NanoSelect. Ces images sont ainsi (1) l'image redressée, (2) une image binaire avec un seuil placé judicieusement afin de séparer les nano-objets du substrat sur les images et (3) une image de phase en Tapping, non incluse dans le processus de mesurage et servant seulement d'aide visuelle pour évaluer les particules lors du processus de sélection par l'opérateur (Figure 43).

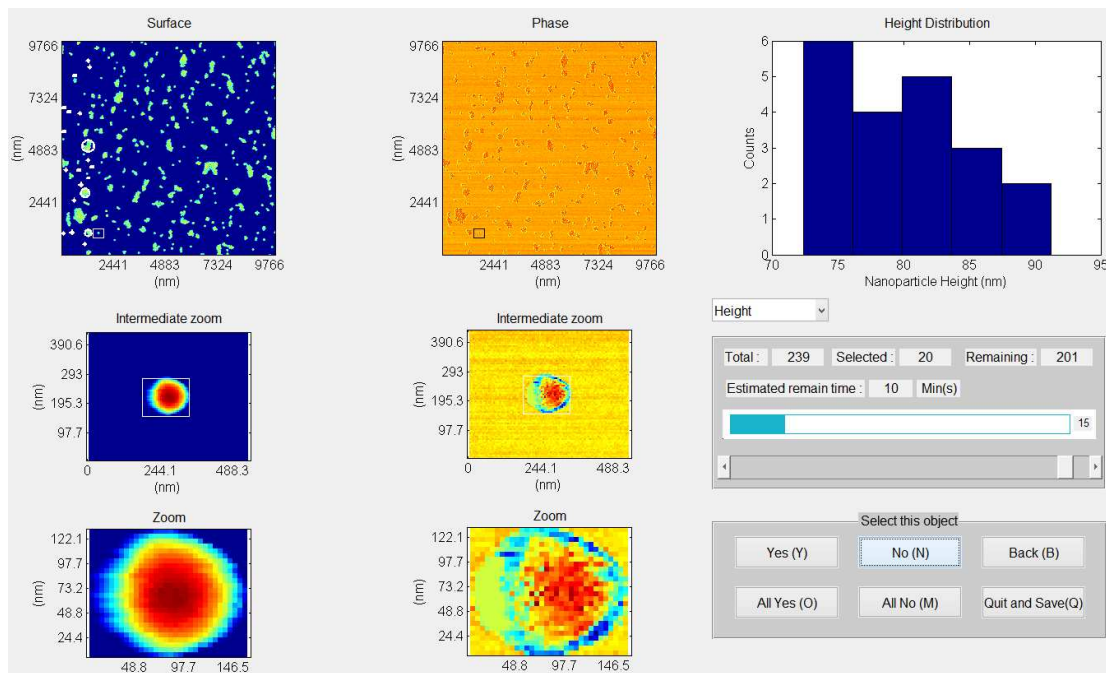


Figure 43 : Interface du programme NanoSelect pour la sélection des particules une à une lors du traitement d'une image AFM. Figure extraite de [18].

À partir de ces trois fichiers, le traitement semi-automatique par NanoSelect peut être appliqué.

Le programme s'utilise alors de la même manière que pour les images MEB : la sélection des particules devant être mesurées, effectuée une à une, est réalisée visuellement avec l'aide d'un bouton Oui/Non comme présenté sur la Figure 43.

4 MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE EN TRANSMISSION

4.1 Qualification du microscope électronique en transmission

4.1.1 Présentation du microscope électronique en transmission JEOL 2200 FS – 200 kV

Le MET utilisé dans ces travaux est le MET JEOL 2200FS – 200 kV installé au sein de l'Institut Pprime (Figure 44).

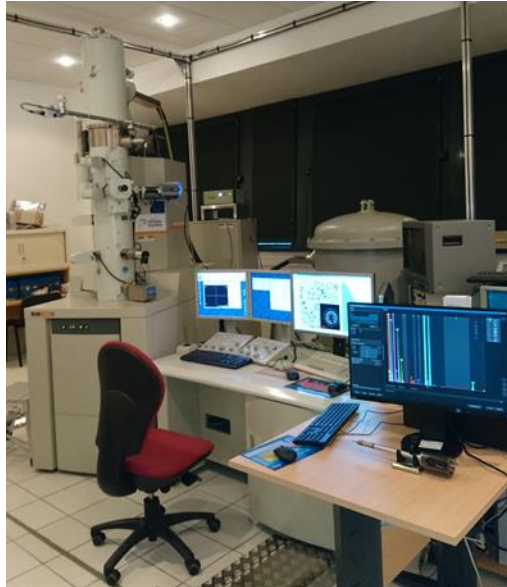


Figure 44 : Microscope Électronique en Transmission JEOL 2200FS – 200 kV.

Ce dernier est équipé avec un canon à émission de champ Schottky opérant à 200 kV. Le microscope peut être utilisé en imagerie haute résolution en modes MET et STEM. Pour ce dernier mode, la résolution théorique pouvant être atteinte est estimée à 0,2 nm. Ce microscope est également équipé d'un filtre en énergie incorporé dans la colonne de type Oméga.

Le microscope est équipé d'un détecteur HAADF (High Angle Annular Dark Field). Ce dernier correspond à un détecteur annulaire, couplé à un tube photomultiplicateur, et est dédié à l'observation d'images en champ sombre par STEM. Les semi-angles intérieurs et extérieurs typiques du détecteur sont respectivement $\beta_1 = \sim 50$ mrad et $\beta_2 = \sim 200$ mrad afin de favoriser le contraste créé par la diffusion élastique des électrons à grand angle causée par l'interaction Coulombienne avec le noyau des atomes présents dans l'échantillon (diffusion de Rutherford). Grâce à cela, l'intensité sur chaque point de l'image est fonction du numéro atomique des espèces présentes dans l'échantillon et de l'épaisseur traversée.

L'instrument est découplé du reste du bâtiment par un massif en béton afin de limiter l'influence des vibrations sur la mesure. De plus, le microscope est également placé dans une cage de Helmholtz permettant de minimiser les champs magnétiques de nature à perturber le balayage du faisceau d'électrons.

4.1.2 Étalonnage du microscope électronique en transmission

L'étalonnage du microscope électronique en transmission est réalisé à partir d'un échantillon de référence fourni par la société Ted Pella et composé d'un réseau de lignes bidirectionnel. La certification sur ce réseau porte sur le nombre de lignes par millimètre et est égale à 2160 lignes/mm soit un pas de réseau de 0,463 μm (Figure 45).

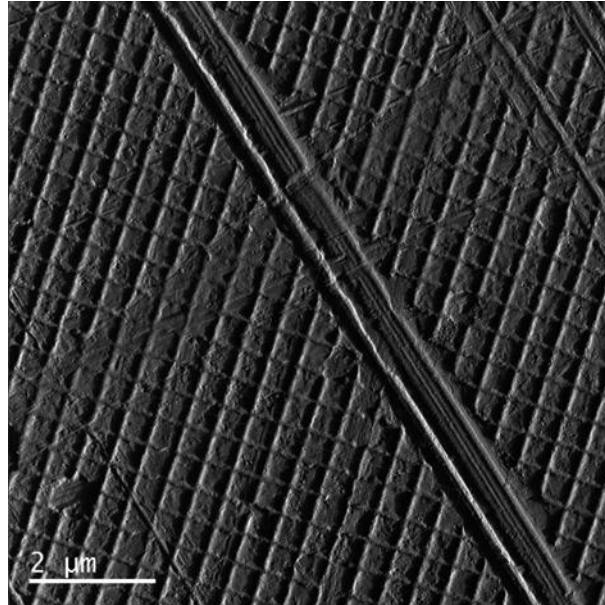


Figure 45 : Image STEM HAADF, réalisée avec les paramètres définis dans la section 4.2, du réseau étalon TED Pella 2160 lignes/mm.

Des images STEM HAADF sont ainsi réalisées sur ce réseau en utilisant les paramètres d'imagerie définis dans la section 4.2 afin de déterminer la taille du pixel.

4.2 Acquisition des images STEM – Paramètres expérimentaux

Les paramètres utilisés pour l'acquisition des images STEM HAADF sont listés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Paramètres utilisés pour l'acquisition des images STEM HAADF.

Paramètre	Valeur
Tension	200 kV
Courant de sonde	10 pA
Grandissement	x30000
Résolution	8192 x 8192
Taille de pixel correspondant	1,156 nm
Temps d'intégration par pixel	40 μs
Semi-convergence du faisceau	8 mrad
Longueur de caméra	40 cm
Semi-angle de collection interne	78 mrad

4.3 Traitement des images STEM

Comme présenté dans la section 4.1.1, l'imagerie par STEM-HAADF permet d'obtenir une image très résolue dans le plan XY . Il est ainsi possible d'imager les nanoparticules afin de remonter à leurs propriétés dimensionnelles dans le plan de manière similaire à la technique MEB. Cependant, il est également possible d'analyser de manière quantitative les profils d'intensité en STEM-HAADF afin d'évaluer l'épaisseur de matière traversée par le faisceau électronique, c'est-à-dire la hauteur de la particule. En effet dans le cadre de l'étude de matériaux amorphes tels que les nanoparticules de silice, le STEM-HAADF permet de mesurer la partie du faisceau qui est diffusée de manière incohérente (inélastique) par les interactions de Coulomb avec les noyaux de l'échantillon [46]. Cela fonctionne également sur des cristaux à condition d'adapter l'angle de collecte aux numéros atomiques des éléments présents. Seulement, lorsque l'échantillon est amorphe, cela permet de garantir qu'il n'y a aucune contribution liée à la diffraction (diffusion cohérente). Le signal mesuré est alors la somme des contributions de diffusion de manière élastique à angle élevé de tous les noyaux sur le trajet du faisceau comme présenté sur la Figure 46.

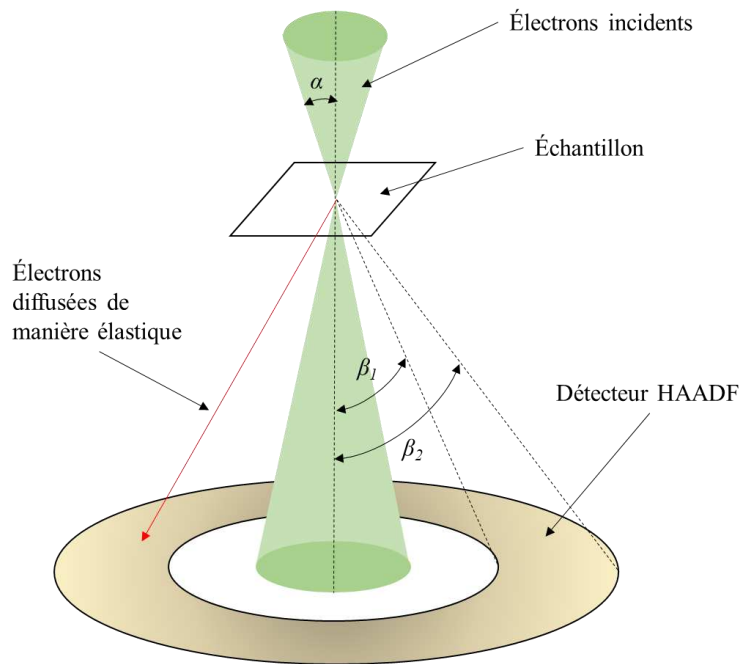


Figure 46 : Principe de détection par STEM HAADF. Les semi-angles internes et externes typiques du détecteur sont respectivement $\beta_1 = 50 \text{ mrad}$ et $\beta_2 = \sim 200 \text{ mrad}$, détectant les électrons diffusés de manière inélastique à des angles élevés.

Comme les atomes ayant des noyaux plus lourds présentent des sections de diffusion plus importantes, le signal est ainsi proportionnel à la fois à l'épaisseur de l'échantillon sous la position du faisceau incident et aux numéros atomiques des noyaux constitutifs de l'échantillon.

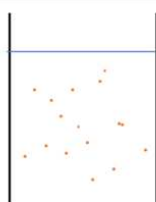
Afin d'exploiter l'intégralité de l'information issue des images STEM, un algorithme a été développé sur le logiciel Matlab. Ce dernier a pour fonction d'ajuster sur l'image HAADF d'une particule la

surface correspondant à l'épaisseur E traversée dans une sphère parfaite en fonction des positions x et y . Une description complète de l'algorithme et de la méthode de traitement des images STEM HAADF sera présentée dans le Chapitre 5.

RÉCAPITULATIF DU PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

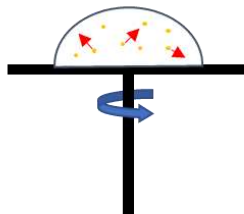
I - Préparation des échantillons

1 – Contrôle de la stabilité de la suspension



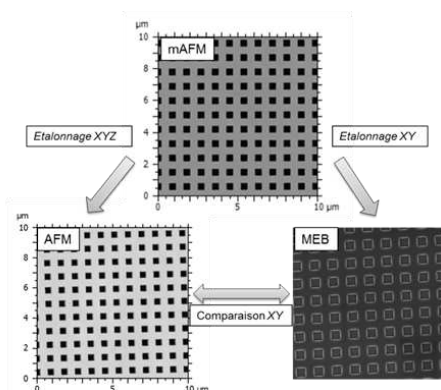
- Contrôler le potentiel Zêta de la suspension (Valeur absolue > 30 mV)
- Briser les agglomérats avant dépôt par ultrasonication

2 – Dépôt sur substrat Silicium / grille (Film Carbone)



- Dépôt par Spin Coating
- Dépôt préalable d'un film de poly-L-lysine afin d'améliorer l'adhésion des particules

II - Qualification et étalonnage des instruments



Réseau $P_{900}H_{60}$
Hauteur de marche et pas de réseau moyens mesurés par AFM métrologique

MEB Zeiss Ultra Plus : étalonnage sur le pas de réseau

AFM Dimension Nanoman V : étalonnage sur la hauteur de marche et le pas de réseau moyens

III - Acquisition des données

MEB

AFM

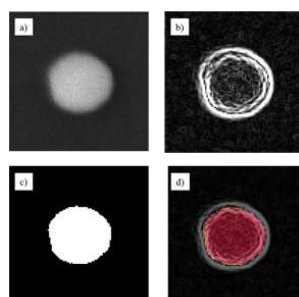
Paramètres
clefs

- | | |
|---------------------------------|--------------------------------|
| • Tension d'accélération | • Vitesse de balayage |
| • Distance de travail | • Taille du pixel |
| • Taille du pixel | • Force appliquée (Peak Force) |
| • Type d'acquisition de l'image | • Mode d'imagerie |
| • Détecteur utilisé | |

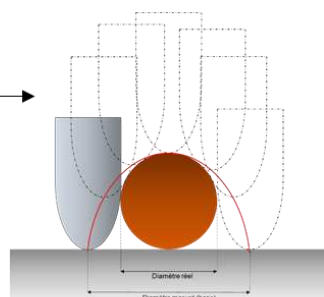
IV – Traitement des données

MEB : Diamètre dans le plan XY

AFM : Hauteur maximale



NanoSelect
Informations dans
les 3 dimensions



STEM HAADF

Vérification de la méthode
Silice amorphe : signal proportionnel à l'épaisseur
traversée

RÉFÉRENCES

1. Feltin N, Devoille L, Favre G, Artous S, Renot Q, Philippot C, Hocheplé JF (2016) Projet NANOMET : développement de protocoles de référence pour accompagner la mise en place au sein des PME d'une caractérisation métrologique des nanomatériaux. *Spectra Analyse* 309:
2. Huang Y, Pemberton JE (2010) Synthesis of uniform, spherical sub-100nm silica particles using a conceptual modification of the classic LaMer model. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 360:175–183 .
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.02.031>
3. Rahman IA, Padavettan V (2012) Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, and Applications in Silica-Polymer Nanocomposites—A Review. *Journal of Nanomaterials* 2012:132424 .
<https://doi.org/10.1155/2012/132424>
4. Vikram K, Gert R (2014) Certification Report - The certification of equivalent diameters of a mixture of silica nanoparticles in aqueous solution: ERM®-FD102. Publications Office of the European Union
5. Ramaye Y, Kestens V, Braun A, Linsinger TPJ, Held A, Roebben G (2017) The certification of equivalent diameters of silica nanoparticles in aqueous solution : ERM ®-FD 101 b
6. Katrin F, Adelina B, Jean C-G, Olivier C, Vikram K, Andree LM, Thomas L, Gert R (2012) Certification of the equivalent spherical diameters of silica nanoparticles in aqueous solution - Certified Reference Material ERM®-FD304
7. International Organization for Standardization (2005) ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
8. International Organization for Standardization (2008) ISO/IEC Guide 98-3, Uncertainty of measurements – Part 3 : Guide to the expression of uncertainty in measurements
9. Ibrahim IAM, Zikry AAF, Sharaf MA (2010) Preparation of spherical silica nanoparticles: Stober silica. *Journal of American Science* 6:985:989
10. Derjaguin B, Landau L (1993) Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress in Surface Science* 43:30–59 . [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90013-L](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-L)
11. Verwey EJW (1947) Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. *J Phys Chem* 51:631–636 . <https://doi.org/10.1021/j150453a001>
12. nanoComposix - Characterization Techniques.
<https://nanocomposix.eu/pages/characterization-techniques>

13. Fatehah MO, Aziz HA, Stoll S (2014) Nanoparticle Properties, Behavior, Fate in Aquatic Systems and Characterization Methods. *Journal of Colloid Science and Biotechnology* 3:111–140 . <https://doi.org/10.1166/jcsb.2014.1090>
14. Lucas Y (2007) Réactivité de nanoparticules aux interfaces chargées: Phénomènes électrocinétiques à l'échelle nanométrique Transfert électronique en milieu colloïdal. Université Paris VI
15. Wang P, Keller AA (2009) Natural and Engineered Nano and Colloidal Transport: Role of Zeta Potential in Prediction of Particle Deposition. *Langmuir* 25:6856–6862 . <https://doi.org/10.1021/la900134f>
16. de la Cruz EF, Zheng Y, Torres E, Li W, Song W, Burugapalli K (2012) Zeta Potential of Modified Multi-walled Carbon Nanotubes in Presence of poly (vinyl alcohol) Hydrogel. *Int J Electrochem Sci* 7:3577–3590
17. Ghomrasni NB, Chivas-Joly C, Devoille L, Hochepiet J-F, Feltin N (2020) Challenges in sample preparation for measuring nanoparticles size by scanning electron microscopy from suspensions, powder form and complex media. *Powder Technology* 359:226–237 . <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.10.022>
18. Thèse de Delvallée A (2014) Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB
19. Nguyen TH (2012) Block copolymer thin film for polymer templates with controlled porosity. Theses, Université d'Orléans
20. Seo C, Jang D, Chae J, Shin S (2017) Altering the coffee-ring effect by adding a surfactant-like viscous polymer solution. *Scientific Reports* 7:500 . <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00497-x>
21. Hu H, Larson RG (2005) Analysis of the Effects of Marangoni Stresses on the Microflow in an Evaporating Sessile Droplet. *Langmuir* 21:3972–3980 . <https://doi.org/10.1021/la0475270>
22. Kim J-H, Park S-B, Kim JH, Zin W-C (2011) Polymer Transports Inside Evaporating Water Droplets at Various Substrate Temperatures. *J Phys Chem C* 115:15375–15383 . <https://doi.org/10.1021/jp202429p>
23. Choi Y, Han J, Kim C (2011) Pattern formation in drying of particle-laden sessile drops of polymer solutions on solid substrates. *Korean Journal of Chemical Engineering* 28:2130–2136 . <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0084-7>
24. Deegan RD, Bakajin O, Dupont TF, Huber G, Nagel SR, Witten TA (1997) Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature* 389:827–829 . <https://doi.org/10.1038/39827>
25. Crouzier L, Delvallée A, Ducourtieux S, Devoille L, Noircler G, Ulysse C, Taché O, Barruet E, Tromas C, Feltin N (2019) Development of a new hybrid approach combining AFM and SEM for the nanoparticle dimensional metrology. *Beilstein J Nanotechnol* 10:1523–1536 . <https://doi.org/10.3762/bjnano.10.150>

26. Kyser DF (1984) Electron beam interactions with solids for microscopy, microanalysis & microlithography: proceedings of the 1st Pfefferkorn Conference, held April 18 to 23, 1982, at the Asilomar Conference Center, Monterey, CA. *Scanning Electron Microscopy*
27. Griffin BJ (2011) A comparison of conventional Everhart-Thornley style and in-lens secondary electron detectors: a further variable in scanning electron microscopy. *Scanning* 33:162–173 . <https://doi.org/10.1002/sca.20255>
28. Griffin B, Joy D, Michael J (2009) Characteristics of Secondary Electron Images From In-lens and Conventional Everhart-Thornley Detectors - Evidence for the Energy-based Differentiation of High Resolution SE1 and Delocalized SE2 Signals. *Microscopy and Microanalysis* 15:46–47 . <https://doi.org/10.1017/S1431927609097384>
29. Kumagai K, Sekiguchi T (2009) Sharing of secondary electrons by in-lens and out-lens detector in low-voltage scanning electron microscope equipped with immersion lens. *Ultramicroscopy* 109:368–372 . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2009.01.005>
30. Vladár AE, Postek MT (2008) The Scanning Electron Microscope. In: *Handbook of Charged Particle Optics*, 2nd ed. CRC Press, p 440
31. Carl Zeiss SMT – Nano Technology Systems Division Detection Principles based on GEMINI Technology. <https://www.nhn.ou.edu/~larson/Zeiss%20SEM/gemini.pdf>
32. Ducourtieux S, Delvallée A, Ulysse C, Dervillé Cottini A, Bernard G, Foucher J (2019) Implementation in France of a traceability chain for dimensional measurements at nanometer scale
33. Ritchie NWM (2005) A new Monte Carlo application for complex sample geometries. *Surface and Interface Analysis* 37:1006–1011 . <https://doi.org/10.1002/sia.2093>
34. Villarrubia J, Vladar A, Lowney J, Postek M (2002) Scanning electron microscope analog of scatterometry. *SPIE*
35. Villarrubia JS, Vladár AE, Postek MT (2005) Scanning electron microscope dimensional metrology using a model-based library. *Surface and Interface Analysis* 37:951–958 . <https://doi.org/10.1002/sia.2087>
36. Villarrubia J, Ritchie N, Lowney J (2007) Monte Carlo modeling of secondary electron imaging in three dimensions. *SPIE*
37. J. S. Villarrubia, Z. J. Ding (2009) Sensitivity of SEM width measurements to model assumptions
38. Villarrubia JS, Vladár AE, Ming B, Kline RJ, Sunday DF, Chawla JS, List S (2015) Scanning electron microscope measurement of width and shape of 10 nm patterned lines using a JMONSEL-modeled library. *Ultramicroscopy* 154: . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2015.01.004>
39. Salvat-Pujol F, Villarrubia JS (2019) Conventional vs. model-based measurement of patterned line widths from scanning electron microscopy profiles. *Ultramicroscopy* 206:112819

40. (2008) ISO 9276-6:2008 : Représentation de données obtenues par analyse granulométrique - Partie 6 : description et représentation quantitative de la forme et la morphologie des particules
41. Hirsch P, Kässens M, Püttmann M, Reimer L (1994) Contamination in a scanning electron microscope and the influence of specimen cooling. *Scanning* 16:101–110 . <https://doi.org/10.1002/sca.4950160207>
42. András E. Vladár, K. P. Purushotham, Michael T. Postek (2008) Contamination specification for dimensional metrology SEMs
43. Klein T, Buhr E, Johnsen K, Frase CG (2011) Traceable measurement of nanoparticle size using a scanning electron microscope in transmission mode (TSEM)
44. Crouzier L, Delvallée A, Allard A, Devoille L, Ducourtieux S, Feltin N (2019) Methodology to evaluate the uncertainty associated with nanoparticle dimensional measurements by SEM. *Measurement Science and Technology* 30:085004 . <https://doi.org/10.1088/1361-6501/ab1495>
45. Boyd RD, Cuenat A (2011) New analysis procedure for fast and reliable size measurement of nanoparticles from atomic force microscopy images. *Journal of Nanoparticle Research* 13:105–113 . <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0007-2>
46. Aveyard R, Zhong Z, Batenburg KJ, Rieger B (2017) Optimizing experimental parameters for the projection requirement in HAADF-STEM tomography. *Ultramicroscopy* 177:84–90 . <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2017.03.009>

CHAPITRE 3 BILAN D'INCERTITUDES AFM ET MEB POUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES DES NANOPARTICULES	109
1 BILAN D'INCERTITUDES SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS PAR MEB	110
1.1 <i>Évaluation de l'incertitude de mesure</i>	110
1.1.1 Description du mesurande	110
1.1.2 Évaluation des contributions possibles au bilan d'incertitudes : diagramme d'Ishikawa	111
1.1.3 Présentation du modèle mathématique	116
1.1.4 Évaluation des sources d'incertitudes	118
1.2 <i>Bilan d'incertitudes</i>	131
1.2.1 Détermination de la fonction d'étalonnage à partir des particules de référence	131
1.2.2 Détermination du diamètre équivalent corrigé en utilisant la fonction d'étalonnage et incertitude associée	133
1.3 <i>Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de nanoparticules</i>	134
2 ÉVALUATION DE L'INCERTITUDE ASSOCIÉE À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE	136
2.1 <i>Évaluation de l'incertitude de mesure par AFM</i>	137
2.1.1 Évaluation des sources d'incertitudes	137
2.2 <i>Évaluation de la déformation lors de l'imagerie AFM</i>	138
2.2.1 Déformation particule – substrat ($C_{NP/S}$)	139
2.2.2 Déformation pointe – particule ($C_{P/NP}$)	143
2.3 <i>Bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de NPs de silice par AFM</i>	144
2.4 <i>Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de nanoparticules</i>	146
3 CONCLUSIONS	146
RÉFÉRENCES	148

CHAPITRE 3 BILAN D'INCERTITUDES AFM ET MEB POUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES DES NANOPARTICULES

Ce chapitre s'intéresse à l'évaluation du bilan d'incertitudes associé à la mesure de la taille des nanoparticules par MEB et AFM. Ainsi, pour la technique MEB, un tout premier bilan d'incertitudes sera évalué pour la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée des nanoparticules de silice en utilisant la méthode de segmentation par « Active Contour ». Pour l'AFM, ce chapitre permettra d'apporter un complément au bilan d'incertitudes défini dans le précédent travail de thèse réalisé sur la plateforme CARMEN [1].

Pour les deux techniques, l'évaluation du bilan d'incertitudes est effectuée selon la méthode décrite dans le GUM [2]. Cette méthode se décompose en plusieurs étapes :

- Description détaillée du mesurande Y .
- Identification et classification des sources d'erreurs possibles X_i .
- Définition d'un modèle mathématique permettant de déterminer le mesurande en incluant les sources d'erreurs possibles $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$. La fonction f doit inclure chacune des sources d'erreurs considérées, y compris les éventuelles corrections pouvant être appliquées.
- Évaluation de l'influence $u(x_i)$ de chacune des sources d'erreurs X_i considérées.
- Propagation des sources d'erreurs en utilisant une loi de propagation.
- Évaluation de l'incertitude combinée $u_c(y)$ du résultat de mesure de y tenant compte de l'ensemble des sources d'incertitudes $u(x_i)$.
- Si nécessaire, présentation du résultat sous forme d'incertitude élargie $U=k.u_c(y)$, k (facteur d'élargissement) étant fonction du niveau confiance souhaité.
- Présentation du résultat de mesure y avec l'incertitude combinée $u_c(y)$ ou l'incertitude élargie U en précisant le facteur k utilisé.

1 BILAN D'INCERTITUDES SUR LA MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS PAR MEB

1.1 Évaluation de l'incertitude de mesure

1.1.1 Description du mesurande

Avant toute évaluation d'incertitude de mesure, il est essentiel de définir le mesurande concerné. Ici, comme décrit dans le chapitre 1, le mesurande associé à la mesure MEB est le diamètre équivalent d'une sphère ayant la même aire projetée que l'objet étudié. Afin d'y accéder, il est nécessaire d'extraire le contour de la particule et de créer une image binaire pour déterminer l'aire puis le diamètre équivalent D_{eq} de la particule. Le contour de la particule est extrait en utilisant la méthode « Active Contour » à partir du logiciel NanoSelect développé dans la thèse précédente au LNE (cf. Chapitre 2 section 2.3.2).

L'information sur les propriétés dimensionnelles d'une population de NP est extraite en évaluant le mode de distribution sur le diamètre équivalent en surface projetée. Cette information est obtenue en effectuant un ajustement *via* une loi (Gaussienne, Log-normale...) sur la distribution de tailles en nombre des particules mesurées (Figure 47).

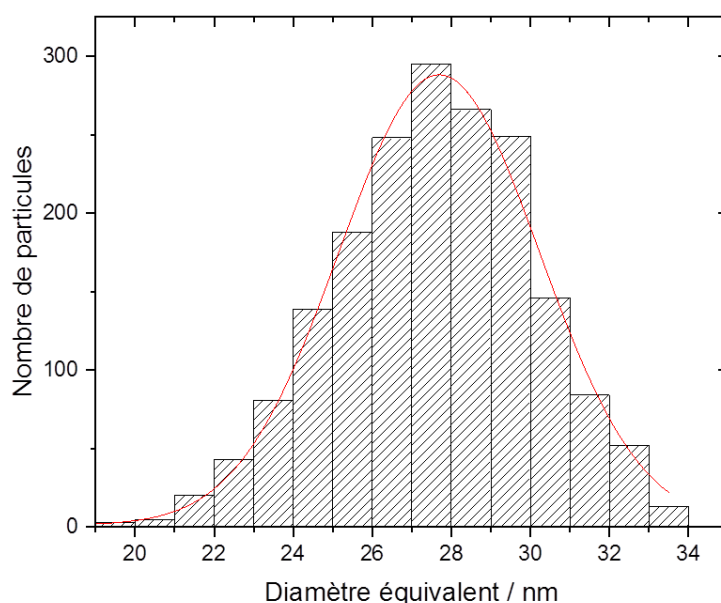


Figure 47 : Distribution de tailles en nombre du diamètre équivalent en surface projetée des particules de silice ERM®-FD304

Lorsque la distribution de tailles en nombre des particules suit une loi gaussienne, le mode de distribution correspond au diamètre équivalent moyen en surface projetée $\bar{d}$ qui est évalué sur un nombre N de particules mesurées selon la formule :

$$\bar{d} = \frac{\sum D_{eq}}{N} \quad (9)$$

Ainsi, si la distribution suit une loi gaussienne, l'incertitude sera évaluée sur le diamètre moyen de la population étudiée, elle sera évaluée sur le mode de distribution dans le cas contraire.

1.1.2 Évaluation des contributions possibles au bilan d'incertitudes : diagramme d'Ishikawa

L'évaluation de l'incertitude de mesure d'une population de NPs par MEB nécessite dans un premier temps d'identifier les principales sources d'erreurs lors du processus de mesurage.

Ces différentes sources peuvent être classifiées en cinq catégories selon qu'elles appartiennent au Matériau, au Milieu, à la Méthode, à l'instrument (Machine) ou à la Main d'œuvre. Cette classification a pour nom diagramme d'Ishikawa [3] ou diagramme des 5M. Les différentes sources d'erreurs dans cette étude sont présentées sur la Figure 48.

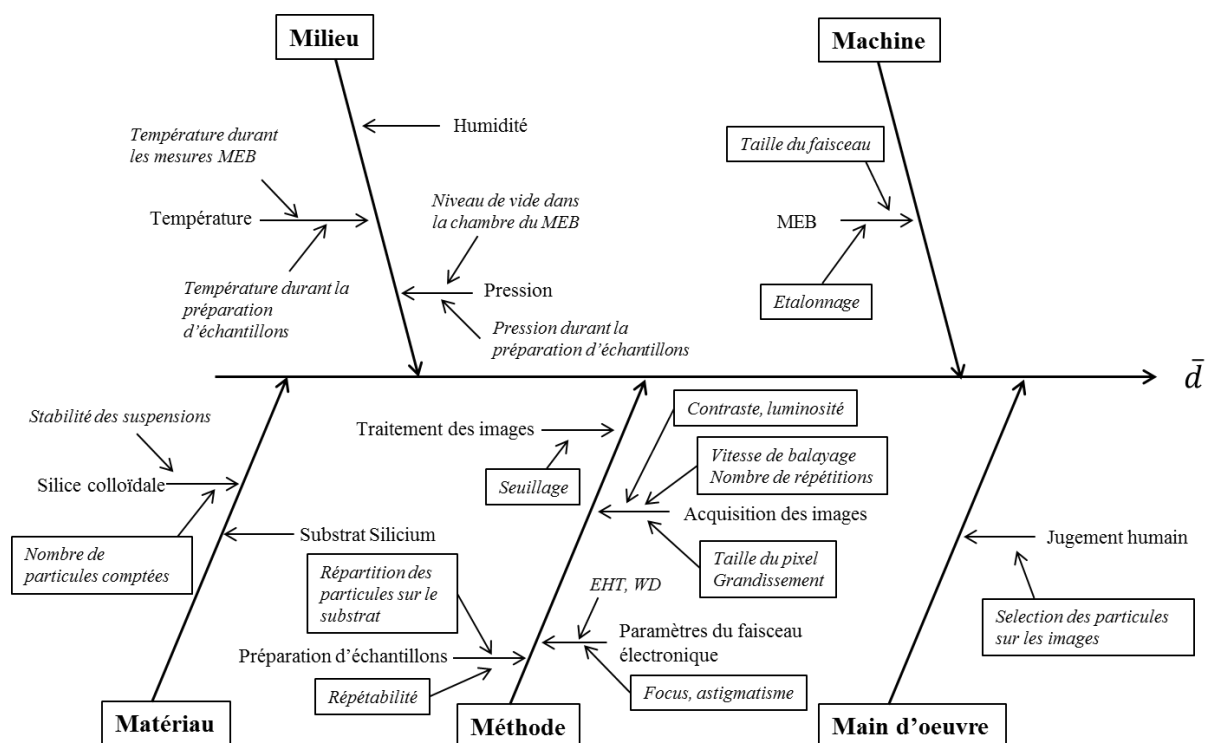


Figure 48 : Diagramme d'Ishikawa pour le mesurande $\bar{d}$, les sources d'incertitudes encadrées correspondent à celles prises en compte dans le cadre de cette étude.

1.1.2.1 Matériau

La catégorie ayant pour titre « Matériau » fait référence aux suspensions colloïdales de silice utilisées (ERM®-FD101b, ERM®-FD102 et ERM®-FD304). Pour ces particules de référence, des études de stabilité, à court et long termes, ont été menées afin de mettre en évidence l'absence d'évolution significative des suspensions au cours du temps. De ce fait, la stabilité des suspensions n'est pas considérée comme une source d'erreur potentielle dans cette étude.

Afin d'obtenir une population suffisamment représentative de l'échantillon, un grand nombre de particule N doit être compté. Ce paramètre N est directement lié au nombre de populations présentes sur l'échantillon et à l'écart type associé à chacune d'entre elles. Aussi, il est nécessaire d'évaluer l'influence du nombre de particules comptées sur la mesure du diamètre équivalent moyen au MEB.

1.1.2.2 Milieu

La catégorie « Milieu » correspond aux conditions environnementales lors de la préparation des échantillons et de l'acquisition des images MEB.

La préparation d'échantillons est réalisée dans une pièce avec une température ($20\text{ °C} \pm 0,1\text{ °C}$) et une hygrométrie ($50\% \pm 5\%$) contrôlées. De ce fait, ces paramètres sont considérés comme n'étant pas influents dans cette étude.

Les paramètres dans la chambre du MEB sont également contrôlés avec un niveau de vide dans la chambre stable et égal à 6.10^{-7} mbar. Ainsi, comme pour la préparation d'échantillons, nous supposons que les conditions environnementales n'influent pas sur le résultat lors de l'imagerie par MEB.

1.1.2.3 Machine

Plusieurs facteurs d'influences, liés au microscope Zeiss Ultra Plus, doivent être pris en compte. Tout d'abord, comme présenté précédemment, l'image MEB d'une NP est marquée par la convolution entre la particule et le faisceau électronique supposé Gaussien. Cependant, les dimensions de ce dernier sont difficilement mesurables. Ainsi, dans cette étude, la taille du faisceau est évaluée à partir des données du constructeur. En l'absence de vérification, ce facteur d'influence doit être inclus dans le bilan d'incertitudes.

L'étalonnage de l'instrument nécessite également d'être pris en compte dans le bilan d'incertitudes. Comme nous l'avons vu précédemment, l'étalonnage du MEB doit être réalisé au travers de deux voies. Dans un premier temps, la taille du pixel sur les images est contrôlée à partir du réseau $P_{900}H_{60}$ certifié par AFM métrologique. De plus, il est également nécessaire de s'assurer que le choix de la tension d'accélération et de la distance de travail n'apporte pas un biais sur la mesure en utilisant des particules de référence certifiées pour la microscopie électronique. Ainsi, ces deux composantes associées au terme « étalonnage » doivent être prises en compte dans le bilan d'incertitudes.

1.1.2.4 Méthode

La catégorie « Méthode » est divisée en quatre parties directement liées aux quatre étapes du processus de mesurage présentées dans le chapitre précédent : préparation d'échantillons, paramètres du faisceau électronique, acquisition et traitement des images.

Pour la préparation d'échantillons, la répartition des particules sur le substrat lors du « Spin Coating » peut être inhomogène (par exemple présence d'une couche de contamination locale sur la substrat favorisant l'adhésion des particules). Ainsi, pour une même suspension, des résultats différents peuvent potentiellement être observés selon la zone sélectionnée sur le substrat. Ce paramètre est donc considéré comme un facteur d'influence dans cette étude.

La section « Paramètres du faisceau électronique » comprend plusieurs facteurs pouvant avoir une influence sur le résultat final tel que la focalisation, l'astigmatisme, la tension d'accélération et la distance de travail. Ces paramètres ont une influence sur la taille, la forme ainsi que l'énergie du

faisceau électronique lors de l'interaction avec l'échantillon. Cependant, les paramètres tension d'accélération et distance de travail sont fixés comme expliqué dans la section 2.2.2 du chapitre 2 et le biais éventuel pouvant être lié au choix de ces paramètres est corrigé en utilisant des particules de référence. Les deux autres paramètres, la focalisation et l'astigmatisme, sont eux directement fonction du niveau d'expertise de l'opérateur et doivent être ajustés avant l'acquisition de chacune des images. Ainsi, en faisant varier ces deux paramètres autour du point « optimal » correspondant à une image nette, il est possible d'étudier l'influence d'un mauvais réglage sur la mesure.

En ce qui concerne l'acquisition des images, plusieurs facteurs peuvent également avoir une influence sur le résultat final. Dans un premier temps, les paramètres liés aux dimensions de l'image (taille du pixel et grandissement) doivent être pris en compte dans le bilan d'incertitudes. L'influence du contraste et de la luminosité sur les images doit également être étudiée. Pour finir, les paramètres liés au balayage lors de l'acquisition des images (vitesse de balayage, nombre de répétitions par ligne de scan) peuvent également influencer sur le résultat final et être inclus dans le bilan d'incertitudes.

La dernière étape du processus de mesurage, c'est-à-dire le traitement des images MEB, peut également introduire des sources d'incertitudes. Pour rappel, cette étape est réalisée à partir du logiciel semi-automatique NanoSelect développé au LNE. Sur ce logiciel, une étape préliminaire est nécessaire avant d'appliquer le traitement par la méthode « Active Contour ». Cette étape consiste à séparer le signal relatif aux particules de celui du substrat par un seuillage manuel afin de pouvoir localiser les particules sur l'image. Idéalement, le seuil devrait être placé au niveau du signal moyen correspondant au substrat (seuil théorique sur la Figure 49). Cependant, en pratique, le seuil est placé légèrement au-dessus du signal du substrat afin de pouvoir séparer efficacement les particules du substrat. En effet, si le seuil est placé trop bas, le logiciel détecte de nombreux artefacts (pixels isolés) et le temps de traitement est considérablement augmenté. L'influence du placement de ce seuil avant traitement doit ainsi être considérée dans le bilan d'incertitudes.

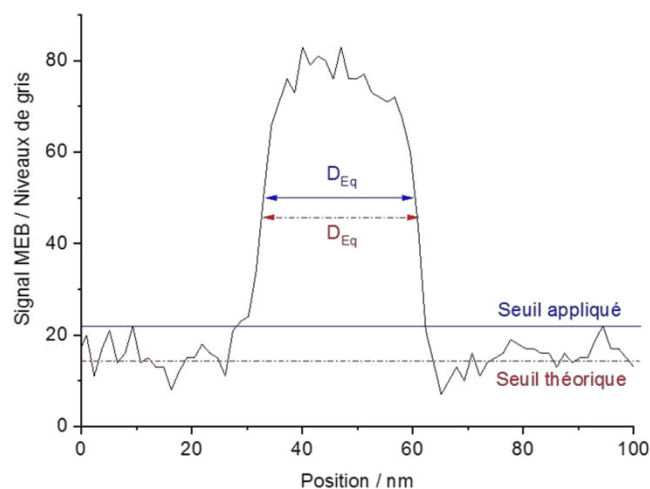


Figure 49 : Influence du placement du seuil sur la position de D_{eq} .

1.1.2.5 Main d'œuvre

La dernière catégorie « Main d'œuvre » fait référence aux paramètres pouvant être influencés directement par l'opérateur. Pour la préparation d'échantillons, la mise en place d'un protocole unique, appliqué par l'ensemble des opérateurs permet de négliger l'influence de cette étape.

Pour l'acquisition des images, de nombreux paramètres (tension d'accélération, distance de travail, vitesse de balayage...) sont fixés et ne sont pas influencés par l'opérateur. Les paramètres d'ajustement de la qualité de l'image (contraste, luminosité, focus, astigmatisme...) sont évalués dans la section Méthode.

Le paramètre essentiel à prendre en compte dans la section « Main d'œuvre » est la sélection des particules lors du traitement de l'image. En effet, pour rappel, le logiciel NanoSelect fonctionne de manière semi-automatique avec une sélection des particules via un bouton « Oui/Non ». Des indications sont fournies aux opérateurs pour le choix des particules à compter, comme le fait de ne sélectionner que les particules isolées. Cependant, certains objets sur l'image peuvent être soumis à discussions et n'être sélectionnés que par certains opérateurs, modifiant ainsi la valeur du diamètre moyen de la population étudiée.

1.1.2.6 Classification des sources d'erreurs

Chaque source d'erreur, déterminée via la méthode d'Ishikawa, peut être classée comme étant une erreur aléatoire ou systématique. Une erreur aléatoire est décrite dans le VIM comme une « *composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, varie de façon imprévisible* » [4]. L'erreur systématique est quant à elle décrite comme une « *composante de l'erreur de mesure qui, dans des mesurages répétés, demeure constante ou varie de façon prévisible* ». Ainsi,

une correction peut être appliquée pour compenser une erreur systématique connue. Une incertitude est alors associée à cette correction.

Dans cette étude, les sources d'erreurs identifiées comme potentiellement influentes, au nombre de 14, sont classées comme aléatoires ou systématiques comme présentées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Classification des sources d'erreur selon qu'elles soient aléatoires ou systématiques.

Erreur aléatoire	Erreur systématique
Répétabilité de la méthode	Étalonnage
Grandissement	Taille du pixel
Taille du faisceau	Seuillage lors du traitement de l'image (localisation des NPs)
Sélection des particules lors du traitement de l'image	Contraste
Nombre de particules à compter	Luminosité
	Vitesse de balayage
	Nombre de répétitions par ligne de balayage
	Focus
	Astigmatisme

1.1.3 Présentation du modèle mathématique

Le choix de la tension d'accélération et de la distance de travail peut introduire un biais sur la mesure de D_{eq} . Afin d'évaluer la valeur de ce biais sur des particules inconnues (ici ERM®-FD304), il est nécessaire d'utiliser des particules certifiées pour la microscopie électronique. Les deux suspensions de référence utilisées ont un diamètre certifié égal à $(18,2 \pm 1,6)$ nm ($k=2$) et $(83,7 \pm 2,2)$ nm ($k=2$) pour les particules ERM®-FD102 et ERM®-FD101b, respectivement.

À partir de ces deux suspensions, une fonction d'étalonnage de l'instrument est déterminée. Dans cette étude et à cause du manque de particules de référence disponibles sur le marché, la fonction d'étalonnage est supposée linéaire et est définie comme :

$$d_{MEBref} = a_{\text{étalonnage}} \cdot d_{ref} + b_{\text{étalonnage}} \quad (10)$$

Avec $d_{MEBref} = \frac{\sum D_{eq}}{N}$ le diamètre équivalent moyen en surface projetée des deux suspensions de référence, $a_{etalonnage}$ et $b_{etalonnage}$ les paramètres de la fonction d'étalonnage et d_{ref} les valeurs certifiées fournies par les certificats pour les deux suspensions.

Afin d'établir la fonction d'étalonnage, tenant compte de l'incertitude de mesure associée à chaque population, le logiciel LNE-RegPoly [5] a été utilisé avec l'algorithme GGMR (Generalized Gauss Markov Regression). Ce dernier permet de tenir compte, pour tracer la fonction d'étalonnage, de l'incertitude associée à d_{ref} et aux mesures MEB (d_{MEBref}).

Les paramètres $a_{etalonnage}$ et $b_{etalonnage}$ sont ensuite utilisés pour déterminer le diamètre moyen corrigé de la suspension inconnue d_{corr} .

$$d_{corr} = \frac{d_{nc} - b_{etalonnage}}{a_{etalonnage}} \quad (11)$$

$d_{nc} = \frac{\sum D_{eq}}{N}$ étant le diamètre équivalent moyen en surface projetée de la population inconnue mesuré par MEB.

Plusieurs corrections, liées aux sources d'erreurs identifiées dans la section précédente, peuvent être appliquées sur la mesure des particules inconnues, mais également sur celle des particules de référence. Le modèle mathématique permettant de décrire le diamètre moyen non corrigé des particules inconnues d_{MEB} ainsi que le diamètre des particules certifiées est :

$$d_{MEB} = \frac{\sum D_{eq}}{N} + C_{etal} + C_r + C_g + C_{TF} + C_{MO} + C_{TP} + C_S + C_{\%C} + C_{\%L} + C_{VB} \quad (12)$$

$$+ C_N + C_F + C_A + C_{NB}$$

Avec :

D_{eq} la mesure du diamètre équivalent en surface projetée de la population inconnue ou des particules de référence.

C_{etal} la correction associée à l'étalonnage de la taille du pixel par le réseau P₉₀₀H₆₀.

C_r la correction associée aux mesures de répétabilité.

C_g la correction associée au grandissement.

C_{TF} la correction associée à la taille du faisceau.

C_{MO} la correction associée au choix des particules comptées par l'opérateur.

C_{TP} la correction associée à la taille du pixel.

C_S la correction associée au seuillage avant traitement de l'image.

$C_{\%C}$ la correction associée à l'ajustement du contraste.

$C_{%L}$ la correction associée à l'ajustement de la luminosité.

C_{VB} la correction associée au choix de la vitesse de balayage.

C_N la correction associée au choix du nombre de répétitions par ligne de scan.

C_F la correction associée à l'ajustement du focus.

C_A la correction associée à l'ajustement de l'astigmatisme.

C_{NB} la correction associée au nombre de particules comptées.

1.1.4 Évaluation des sources d'incertitudes

Dans cette partie, l'influence de chacune des sources potentielles d'erreur est évaluée en accord avec les méthodes proposées par le GUM. Ainsi, lorsqu'il est possible de répéter les mesures, une évaluation de type A (analyse statistique d'un ensemble de valeurs) est effectuée. Dans le cas contraire, une évaluation de type B (fondée sur les données constructeurs ou sur l'expérience de l'utilisateur) est mise en place [4].

1.1.4.1 Étalonnage de l'instrument : réseau $P_{900}H_{60}$ ($C_{\text{étal}}$)

Comme présenté dans la section 2.1.3 du chapitre précédent, l'étalonnage de l'image (*via* la taille du pixel) est assuré par l'utilisation du réseau de transfert $P_{900}H_{60}$ mesuré grâce à un AFM métrologique. L'incertitude sur le pas de réseau moyen sur cet étalon est égale à $\pm 1,0$ nm ($k = 1$) pour une mesure égale à 900,2 nm. Les particules mesurées dans cette étude étant plus petites, l'incertitude associée à l'étalonnage de l'instrument est égale à :

$$u(\text{étal}) = \frac{d_{MEB}}{900,2} \quad (13)$$

1.1.4.2 Influence de l'échantillonnage (C_{NB})

Comme pour l'ensemble des techniques de mesure directes, les particules imagées et mesurées ne représentent qu'une infime partie de la population totale de l'échantillon. Ainsi, il est indispensable de se questionner sur la représentativité de la population mesurée. Plus le nombre de particules imagées est important, plus la population sera représentative de l'échantillon. Cependant, pour des aspects pratiques évidents, le nombre de particules imagées reste limité (pour mesurer plusieurs milliers de particules il est nécessaire d'effectuer des heures d'imagerie). Par conséquent, il est nécessaire de déterminer l'erreur liée au nombre limité de particules mesurées.

Afin d'évaluer le nombre optimal de particule à compter, c'est-à-dire qui respecte la bonne représentativité de l'échantillon mais qui tienne également compte des aspects pratiques (nombre d'images acquises), 6000 particules ERM®-FD304 ont été imagées avec les paramètres définis dans la

section 2.2.1 du Chapitre 2 et mesurées grâce au logiciel NanoSelect. Des tirages aléatoires ont ensuite été réalisés sur cette population. Ces derniers consistent en 10 tirages sans remise de N particules sur la population ($N = \{50, 100, 200, 300, 400, 500, 600\}$). Pour chaque tirage, le diamètre moyen est calculé sur les N particules composant la population mesurée. L'écart type évalué pour chaque ensemble de 10 tirages permet de calculer l'erreur liée à l'échantillonnage en fonction du nombre de particules comptées. Lorsque N est égal à 50, l'erreur est évaluée à 0,35 nm pour cette population de particules. Cette valeur diminue pour atteindre 0,1 nm lorsque 600 NPs sont comptées.

L'incertitude liée au nombre de particules mesurées a été évaluée dans plusieurs travaux [6–8] et est définie dans l'annexe A de la norme ISO 13322-1 [9]. L'erreur relative δ liée au nombre de particules comptées n^* est égale à :

$$\delta = \sqrt{\frac{\mu^2 \alpha^2 s^2 (2c^2 s^2 + 1)}{n^*}} \quad (14)$$

Avec μ un facteur décrivant l'intervalle de confiance (équivalent à k et égal à 1 pour un intervalle de confiance de 68,3 %, soit 1,96 pour 95 %), α et $c = \alpha/2$ des constantes définies à partir du type de diamètre moyen étudié et $s = \ln(s_g)$, s_g étant l'écart type géométrique de la population étudiée pouvant être exprimé par la relation :

$$s_g = \exp \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\ln \frac{A_i}{\bar{x}_g} \right)^2}{n^*}} \quad (15)$$

Avec $\bar{x}_g$ la moyenne géométrique de la population $\{A_1, A_2, \dots, A_n\}$ étudiée.

$$\bar{x}_g = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n A_i} \quad (16)$$

L'incertitude liée à l'échantillonnage $u(NB)$ est ainsi égale à :

$$u(NB) = \delta \cdot \bar{x}_g = \sqrt{\frac{\mu^2 \alpha^2 s^2 (2c^2 s^2 + 1)}{n^*}} \cdot \bar{x}_g \quad (17)$$

Afin de comparer $u(NB)$ avec l'erreur liée à l'échantillonnage évaluée précédemment par tirage aléatoire, $\bar{x}_g$ et s_g ont été calculés et sont respectivement égaux à 27,2 nm et 1.1 nm pour la population de 6000 NPs. Il est également à noter que la valeur de s_g évolue peu (écart pic à pic égal à 0,01 nm) avec le nombre de particules mesurées. $u(NB)$ a ensuite été calculé à partir de la relation (17). Cependant, dans cette équation, aucune indication n'est fournie sur la valeur de la constante α lors de l'évaluation du diamètre équivalent moyen en nombre. Selon la norme ISO 13322-1 [9] le paramètre à appliquer (α) est de 6 dans le cadre du diamètre médian en masse, 3 pour le diamètre moyen en

volume. Cependant, aucune valeur de α n'est fournie pour l'étude du diamètre moyen en nombre. Il est donc nécessaire dans un premier temps d'évaluer la valeur de α pour le type de diamètre moyen mesuré. La Figure 50 présente l'évolution de $u(NB)$ en fonction du nombre de particules mesurées pour des valeurs de α égales à 1, 2 et 3.

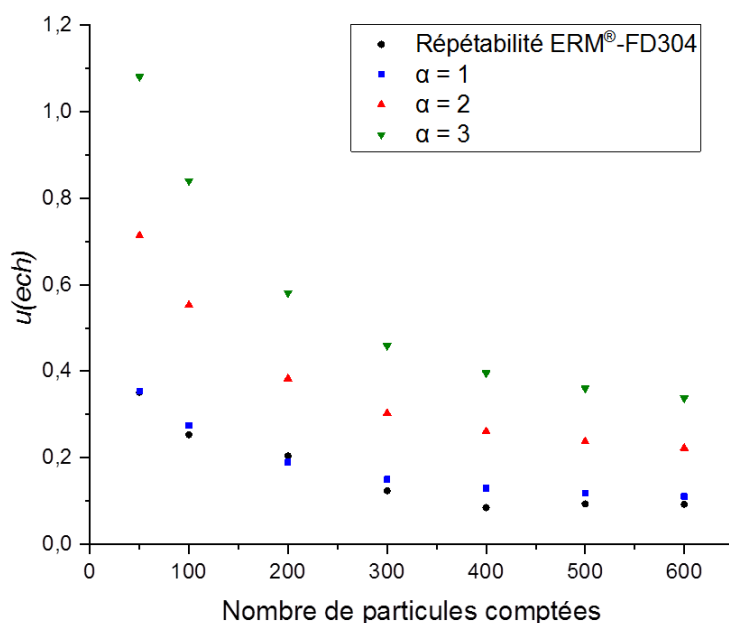


Figure 50 : (Noir) erreur liée à l'échantillonnage, obtenue par tirage aléatoire pour des particules ERM®-FD304, en fonction du nombre de particules mesurées. $u(NB)$ calculée à partir des valeurs de $\overline{x_g}$ et s_g obtenues pour 6000 particules en utilisant (vert) $\alpha = 3$, (rouge) $\alpha = 2$ et (bleu) $\alpha = 1$ et en fonction du nombre de particules comptées.

Les résultats montrent que l'incertitude $u(NB)$ est largement surestimée en prenant $\alpha = 3$. Dans notre cas, nous considérerons que α est égal à 1 puisque les résultats obtenus sur $u(NB)$ avec cette valeur sont cohérents avec l'erreur liée à l'échantillonnage mesurée par tirage aléatoire.

Ainsi, $\overline{x_g}$ et s_g ont été évalués pour les trois suspensions utilisées dans cette section (ERM®-FD304, ERM®-FD102 et ERM®-FD101b). Les résultats sont présentés sur le Tableau 12.

Tableau 12 : $\overline{x_g}$ et s_g calculés pour les trois suspensions ERM®-FD304, ERM®-FD102 et ERM®-FD101b.

Suspension	Nombre de particules comptées	$\overline{x_g}$ / nm	s_g / nm
ERM®-FD304	6000	27,2	1,10
ERM®-FD102	854	18,59	1,19
ERM®-FD101b	383	82,62	1,05

À partir des résultats sur $\overline{x_g}$ et s_g , $u(NB)$ a été évalué en fonction du nombre de particules à compter pour chaque suspension, avec $\alpha = 1$ comme présenté sur Figure 51.

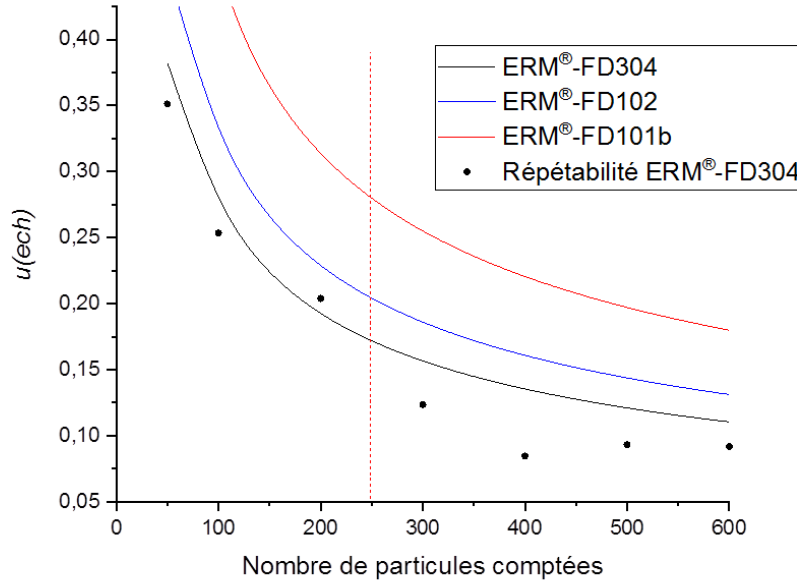


Figure 51 : Erreur liée à l'échantillonnage $u(NB)$ en fonction du nombre de particules mesurées pour les trois suspensions ERM®-FD304, ERM®-FD102 et ERM®-FD101b.

Ainsi, l'évolution des courbes $u(NB)$ en fonction du nombre de particules comptées est similaire pour les trois suspensions. Cependant, l'écart entre les courbes s'explique par la différence de polydispersité entre les différentes populations de nanoparticules. Dans cette étude, afin d'obtenir un bon compromis entre bonne représentativité de l'échantillon et nombre d'images à réaliser, le nombre de 250 NPs à compter a été retenu.

1.1.4.3 Répétabilité de la méthode de mesure sur des particules de SiO_2 (C_r)

La répétabilité de la mesure du diamètre moyen d'une population de 250 NPs de silice ERM®-FD304 a été évaluée. Les étapes du processus de mesurage prises en compte dans cette partie sont le choix des paramètres d'imagerie, l'acquisition et le traitement des images. Pour chaque série de mesures, plusieurs images sont acquises aléatoirement sur le substrat. Les paramètres d'imagerie sont fixes entre les différentes séries de mesures. Ces derniers (paramètres de balayage, contraste, luminosité), égaux à ceux définis dans la section 2.2.1 du Chapitre 2, sont sélectionnés en fonction des résultats présentés dans les sections suivantes. Le diamètre moyen équivalent en surface projetée est évalué sur ces images en utilisant le logiciel NanoSelect.

10 séries de plusieurs images ont été effectuées. Pour une étude de répétabilité, il est nécessaire de revenir à zéro entre chaque série de mesure. Ici, le faisceau électronique est coupé et les paramètres d'imagerie sont réajustés. Les résultats, pour les dix séries d'images sont présentés sur le Tableau 13.

Tableau 13 : Répétabilité de la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée d'une population de 250 NPs de silice ERM[®]-FD304, ERM[®]-FD102 et ERM[®]-FD101b

	Images acquises aléatoirement sur le substrat – ERM [®] -FD304	Séries d'images acquises sur des zones restreintes – ERM [®] -FD304	Séries d'images acquises sur des zones restreintes – ERM [®] -FD102	Séries d'images acquises sur des zones restreintes – ERM [®] -FD101b
Moyenne / nm	23,4	23,5	18,9	81,7
Écart-type / nm	0,4	0,6	0,3	0,5

Le diamètre moyen est égal à 23,4 nm avec un écart type de 0,4 nm entre les séries de mesures. Cependant, par simplicité, l'opérateur prend les images à la suite sur une zone restreinte sur le substrat. Ainsi, si le dépôt est inhomogène, un biais peut être observé entre les séries d'images selon la zone sélectionnée. Par conséquent, la même étude a été menée en effectuant les séries d'images sur des zones restreintes sur le substrat, en sélectionnant une zone différente pour chaque série (centre/bord de la goutte...). Dans le cas présent, l'écart type entre les séries de mesures est égal à 0,6 nm. En comparaison avec la première étude, cela montre que le dépôt n'est pas totalement homogène. Ainsi, il est nécessaire d'inclure cette composante dans le bilan d'incertitude final.

Cette étude a également été menée sur les particules de référence et les résultats sont présentés dans le Tableau 13. L'écart type entre les séries de mesure est égal à 0,3 nm et 0,5 nm pour, respectivement, les particules de silice ERM[®]-FD102 et ERM[®]-FD101b.

1.1.4.4 Influence du grandissement (C_g)

L'influence du grandissement est évaluée sur une même population de 66 particules de silice ERM[®]-FD304. Cette population est imagée à trois grandissements différents (x26667, x40000 et x80000) en fixant les autres paramètres d'imagerie. Afin de conserver la même taille de pixel entre chaque série d'images, la résolution de l'image est ajustée en fonction du grandissement appliqué. En modifiant la résolution, le temps nécessaire pour acquérir une image augmente, montrant que le temps passé sur un pixel reste le même, quelle que soit la résolution utilisée. Les résultats sont présentés sur le Tableau 14.

Tableau 14 : Diamètre équivalent moyen en surface projetée sur une population de 66 particules de silice ERM®-FD304. La taille du pixel est conservée entre chaque série d'images.

Grandissement	Résolution appliquée	Temps d'acquisition de l'image / s	Taille du pixel / nm	Diamètre moyen / nm
x 26667	1024 x 768	7,5	1,396	29,6
x 40000	2048 x 1536	28,1	1,396	28,7
x 80000	3072 x 2304	60	1,396	29,0

L'écart maximal observé entre chaque série de mesure est égal à 0,9 nm. Ainsi, l'incertitude associée au grandissement utilisé pour l'acquisition des images est égale à :

$$u(\text{grandissement}) = \frac{0,9}{2\sqrt{3}} \sim 0,3 \text{ nm} \quad (18)$$

Le facteur $2\sqrt{3}$ dans l'équation ci-dessus traduit l'utilisation d'une distribution de probabilité uniforme (ou autrement nommée rectangulaire).

1.1.4.5 Influence de la taille du faisceau (C_{TF})

Le principe de la mesure de NPs par MEB est marqué par la convolution entre le faisceau électronique, supposé Gaussien, et ces dernières. Plusieurs techniques peuvent être mises en place pour extraire une information sur les dimensions du faisceau électronique [10, 11]. Cependant, ces méthodes nécessitent d'effectuer les mesures sur des échantillons spécifiques que nous n'avons pas pu mettre en œuvre.

Ainsi la seule information disponible sur la taille du faisceau électronique est donnée par le constructeur. Ce dernier indique que la « résolution R50 », soit le rayon du cercle contenant 50 % de la charge électronique [12], est fonction de la tension d'accélération appliquée. Pour une tension de 15 kV, la résolution R50 est égale à 1,0 nm avec une distance de travail de 2 mm. Cette valeur de la résolution R50 augmente jusqu'à 1,7 nm pour une tension d'accélération de 1 kV avec la même distance de travail. Étant donnés les paramètres utilisés dans cette étude (3 kV et 3 mm), la valeur de la résolution R50, considérée dans ce cas comme l'incertitude liée à la taille du faisceau, est supposée proche de 1,7 nm.

1.1.4.6 Influence de l'opérateur lors du traitement de l'image (C_{Mo})

Pour extraire le diamètre équivalent des particules présentes sur les images MEB, le logiciel NanoSelect est utilisé. Sur ce logiciel les particules sont comptées une à une avec une sélection par

l'opérateur via un bouton Oui/Non. Pour faire son choix, l'opérateur a pour consigne de ne sélectionner que les particules isolées sur les images.

Ainsi, des erreurs ou des objets pouvant prêter à discussion peuvent introduire un biais sur le résultat final pour une même série d'images mais avec des opérateurs différents.

Pour étudier l'erreur liée à l'opérateur lors du traitement de l'image, quatre opérateurs, ayant des degrés d'expertise différents, ont eu pour mission de compter 250 NPs sur une même série d'images, traitées dans le même ordre, de particules de silice ERM®-FD304. Les résultats sont présentés sur le Tableau 15. L'écart pic-à-pic entre les différents opérateurs est égal à 0,4 nm, l'écart-type à 0,2 nm.

Tableau 15 : Influence de l'opérateur lors du traitement semi-automatique des images MEB par le logiciel NanoSelect.

Opérateur	Diamètre équivalent moyen en surface projeté / nm
1	29,3
2	29,0
3	29,1
4	28,9
Moyenne	29,1
Ecart-type	0,2

1.1.4.7 Influence de la taille du pixel (C_{TP})

Afin de calculer le diamètre équivalent d'une particule, le logiciel de traitement d'image NanoSelect utilise l'aire de cette dernière évaluée à partir du nombre de pixels contenus à l'intérieur de la particule après segmentation. Comme le logiciel ne considère que des pixels pleins pour segmenter la particule, plus la taille du pixel sera faible, plus la segmentation sera fine.

Afin de déterminer l'influence de ce paramètre sur la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée, une même population de 250 NPs ERM®-FD304 a été imagée avec une taille de pixel de 0,2 nm à 2,8 nm. Pour rappel, dans la section 2.2.1 du chapitre précédent, afin de respecter les recommandations de la norme ISO 9276-6 [13], la taille du pixel maximal tolérée, pour des particules de diamètre 27,8 nm a été évaluée à 1,74 nm. Ainsi, dans cette étude, la sélection des tailles limites (0,2 nm et 2,8 nm) est effectuée afin (1) d'évaluer l'influence de l'application d'une taille de pixel hors recommandation (2,8 nm) et (2) d'avoir quelques particules par images. En effet, pour une taille de pixel de 0,2 nm, les dimensions de la zone scannée sont proches de 400 nm x 300 nm.

Ainsi, à partir d'une série d'images réalisée avec une taille de pixel de 1,396 nm (2048 x 1536 pixels, grandissement x 40000), la taille du pixel a été modifiée en utilisant la fonction « ré-échantillonnage » sur le logiciel MountainsMap®. L'évolution du diamètre équivalent moyen en fonction de la taille du pixel, pour la même population de 250 particules ERM®-FD304 est présentée sur la Figure 52.

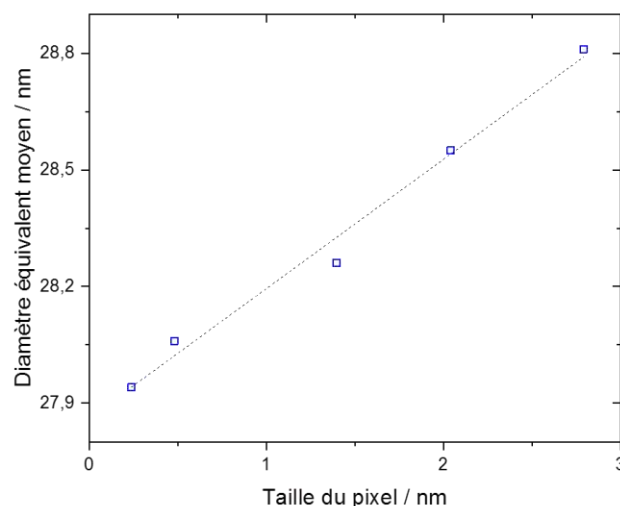


Figure 52 : Diamètre équivalent moyen en surface projetée en fonction de la taille du pixel pour une même population de 250 NPs ERM®-FD304. La courbe en pointillés représente la droite de régression linéaire établie en fonction des résultats de l'étude.

Le diamètre mesuré par NanoSelect, pour la même population de particules, évolue linéairement avec la taille du pixel. La même démarche a été appliquée sur trois autres populations de particules ERM®-FD304. Les résultats sont présentés sur le Tableau 16. Quelle que soit la population étudiée, la pente de la régression linéaire varie peu.

Tableau 16 : Diamètre équivalent moyen en surface projetée mesuré pour une taille de pixel initiale de 1,396 nm pour quatre populations de 250 NPs ERM®-FD304 et paramètres de la régression linéaire évalués à partir des résultats expérimentaux.

Mesure	Diamètre équivalent moyen en surface projetée pour la taille de pixel initiale (1,396 nm) / nm	Pente de la régression linéaire	Ecart-type résiduel s / nm	Incertitude sur la pente de la régression linéaire
1	28,3	0,333	5×10^{-2}	4×10^{-4}
2	25,2	0,301	9×10^{-2}	2×10^{-3}
3	24,3	0,322	1×10^{-1}	4×10^{-3}
4	25,3	0,330	6×10^{-2}	8×10^{-4}

Moyenne	25,8	0,3215
Ecart-type	1,7	0,014

Il est donc possible de déterminer la valeur du diamètre équivalent moyen théorique, en extrapolant la régression linéaire pour une taille de pixel nulle.

$$\overline{d_{\text{corrigé}}} = \overline{d_{\text{mesuré}}} - a \cdot i \quad (19)$$

Avec a la pente de la régression linéaire et i la taille du pixel en nm utilisée pour effectuer les images MEB. Dans cette étude, a est égal à 0,3215, l'incertitude qui lui est associée étant égale à 0,014.

1.1.4.8 Influence du placement du seuil utilisé pour identifier les NPs sur le logiciel NanoSelect (C_s)

Comme présenté dans la section 1.1.2.4 de ce chapitre, un seuil est utilisé pour localiser les NPs sur l'image avant segmentation par la méthode « Active Contour ». Pour des raisons pratiques, ce seuil est placé à un niveau supérieur par rapport à sa valeur optimale théorique. Afin de contrôler l'influence de ce mauvais placement, une même population de 250 NPs ERM®-FD304 a été traitée par deux méthodes différentes. La première est la méthode classiquement utilisée dans cette étude, en décalant le seuil. La seconde consiste à supprimer l'ensemble du bruit correspondant au signal du substrat en remplaçant ce dernier par sa valeur moyenne. Cette méthode permet également de supprimer le côté arbitraire du placement du seuil. Un exemple d'une image obtenue à la suite de ce traitement est présenté sur la Figure 53-b.

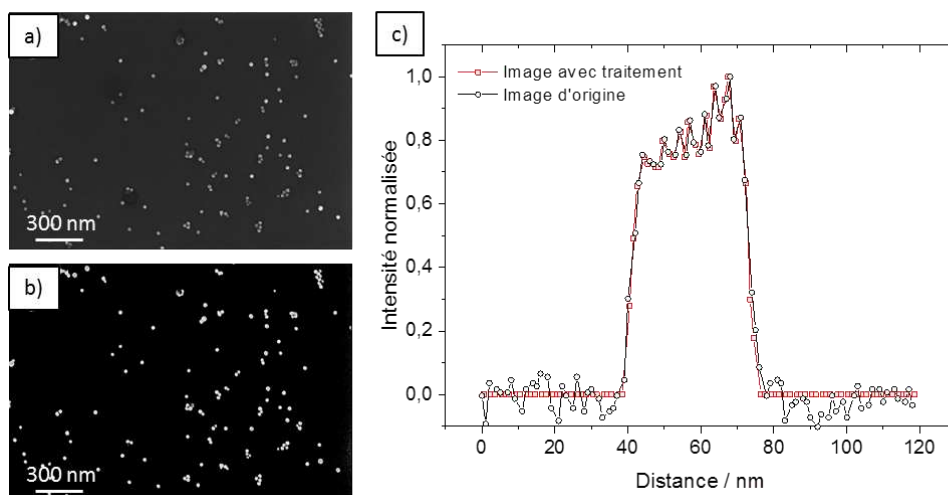


Figure 53 : Image MEB d'une population de NPs de silice ERM[®]-FD304 (a) avant et (b) après traitement. (c) Profils du rendement en électrons secondaires normalisé d'une même NP pour l'image d'origine et l'image traitée

La comparaison des profils en électrons secondaires normalisés entre 0 (signal moyen du substrat) et 1 (intensité maximale mesurée sur la particule), pour une même particule avant et après traitement, montre que le signal de la particule n'est pas coupé par cette méthode.

Cette comparaison a été conduite sur trois populations de 250 NPs de silice ERM[®]-FD304, les résultats sont présentés sur le Tableau 17. Un écart systématique de 2,0 nm avec un écart-type de 0,2 nm est observé entre les deux méthodes, la particule sur l'image « traitée » apparaissant comme plus grosse. Il est donc nécessaire d'appliquer une correction sur les images d'origine afin de corriger cet écart systématique causé par le traitement d'images.

Tableau 17 : Écart entre le diamètre équivalent moyen pour l'image d'origine et l'image « traitée » évalué sur trois populations de 250 particules de silice ERM[®]-FD304.

Mesure	Écart entre le diamètre équivalent moyen pour l'image d'origine et l'image « traitée » / nm
1	2,2
2	2,0
3	1,8
Moyenne	2,0
Écart-type	0,2

1.1.4.9 Influence du contraste ($C_{\%C}$) et de la luminosité ($C_{\%L}$)

Les valeurs de contraste et de luminosité sur les images MEB sont ajustées par l'opérateur afin de (1) ne pas perdre d'informations à cause de la saturation, (2) maximiser le rapport entre le signal de l'objet et celui du substrat. Afin de voir l'influence de ces paramètres sur la mesure du diamètre moyen équivalent, une même population de particules a été imagée en faisant varier la luminosité avec une valeur du contraste fixée et inversement. Cette influence a été mise en relation avec l'évolution du rapport signal sur bruit, associée ici au rapport entre le signal de la particule et celui du substrat. Les résultats sont présentés sur la Figure 54.

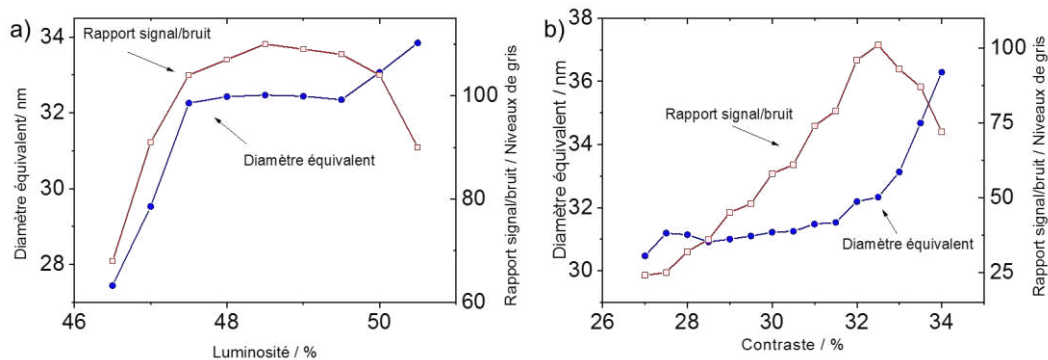


Figure 54 : Influence de (a) la luminosité et (b) du contraste sur le diamètre équivalent et le rapport signal sur bruit, correspondant au rapport entre le signal de la particule et celui du substrat.

Pour une valeur du contraste fixée, le diamètre équivalent de la particule n'évolue pas en faisant varier la luminosité sur une plage de 47,5 % à 49,5 %. En dehors de cette plage, le diamètre équivalent évolue rapidement avec les variations de luminosité. La comparaison de l'évolution du diamètre équivalent avec le rapport signal sur bruit montre que le diamètre équivalent n'évolue fortement que lorsque le rapport signal sur bruit évolue également, soit lorsqu'une partie de l'image est saturée.

Pour une valeur de luminosité fixée, le rapport signal sur bruit augmente quasiment linéairement jusqu'à une valeur de contraste de 32,5 %. Au-delà de cette valeur, ce dernier diminue, mettant en évidence un effet de saturation de l'image. Cependant, la valeur du diamètre équivalent varie peu sur la plage de « non saturation », et cela, quel que soit le rapport signal sur bruit.

Cela prouve que les paramètres de contraste et de luminosité ont très peu d'influence sur le résultat de la mesure, à condition de ne pas saturer l'image.

1.1.4.10 Influence des paramètres de balayage (C_{VB}) et (C_N)

L'influence des paramètres de balayage (vitesse de balayage et nombre de répétitions par ligne de scan) a été étudiée sur une particule de silice ERM®-FD304. Une image a été acquise en prenant 25 répétitions par ligne de scan et en faisant varier la vitesse de scan (représentée par un index) de 1 -très rapide à 9 - extrêmement lent. Les résultats sont présentés sur la Figure 55-a.

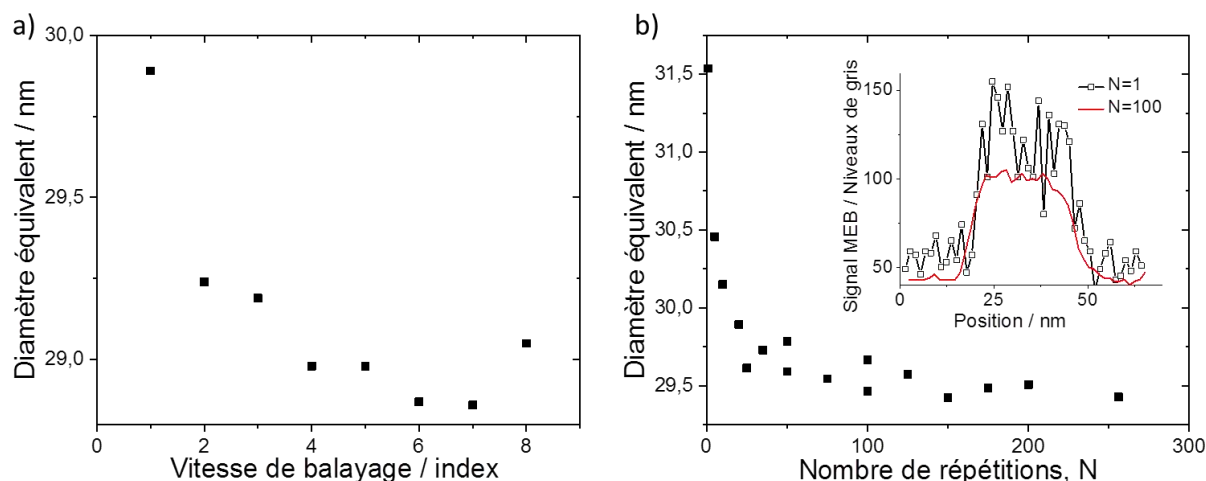


Figure 55 : Diamètre équivalent en fonction (a) de la vitesse de balayage avec 25 répétitions par ligne de scan et (b) du nombre de répétitions pour une vitesse de balayage fixée à Index 3. En insert : profil d'une même particule imagée avec 1 et 100 répétitions par ligne de balayage.

On observe un plateau au-delà d'un index de 4. De plus, entre un Index de 2 et un de 9, la différence pic à pic entre les valeurs du diamètre équivalent est inférieure à 0,5 nm. Cela prouve que le diamètre mesuré n'est que faiblement influencé par ce paramètre. Sur la Figure 55-b, le même type d'étude est mené en fixant la vitesse de balayage à un Index de 3 et en faisant varier le nombre de répétitions de 1 à 255 par ligne de balayage. Les résultats montrent également un plateau au-delà d'une certaine valeur, égale à 20 répétitions dans ce cas. L'insert sur la Figure 55-b permet de justifier cet écart par une forte augmentation du bruit pour un faible nombre de répétitions.

Ainsi, la sélection de ces deux paramètres doit être un compromis entre : (1) un balayage suffisamment lent pour limiter le bruit sur les images et (2) un balayage assez rapide pour limiter les effets de dérive et de contaminations décrits dans la section 2.2.3 du chapitre précédent.

Dans cette étude, le couple de paramètre Index 3 et 20 répétitions par ligne de balayage a été sélectionné, donnant un temps d'acquisition de l'image de 27,8 s pour une résolution de 2048 x 1536 pixels. L'influence de ce choix sur le résultat final est considérée comme négligeable.

1.1.4.11 Influence de la mise au point (C_F) et de l'astigmatisme (C_A)

Les deux derniers facteurs d'influence à étudier sont la mise au point et de l'astigmatisme. Ces deux derniers ont une influence directe sur la taille et la forme du faisceau électronique. La qualité d'une image MEB dépend fortement de l'expertise de l'opérateur et de l'ajustement de ces derniers afin d'obtenir une image nette. Afin d'étudier l'influence de ces deux paramètres, des images ont été effectuées en ne les ajustant pas parfaitement, donnant ainsi une image de plus en plus floue, et en

comparant le diamètre équivalent moyen des particules sur l'image obtenue ainsi avec celle jugée comme parfaitement nette.

Pour la mise au point, cette étude est réalisée en modifiant la hauteur du porte-échantillon de $\pm 1,5 \mu\text{m}$. Les résultats sont présentés sur la Figure 56. On observe dans un premier temps que pour $\pm 1,5 \mu\text{m}$, l'image est clairement floue et représente une qualité de réglage qui ne sera pas réalisée en pratique. Cependant, même pour cette très faible qualité d'image, l'écart sur le diamètre mesuré par rapport à l'image nette est de 0,3 nm. En considérant que grâce à son niveau d'expertise, l'opérateur effectue des images de meilleure qualité, l'influence de ce paramètre sur la mesure du diamètre équivalent est jugée négligeable.

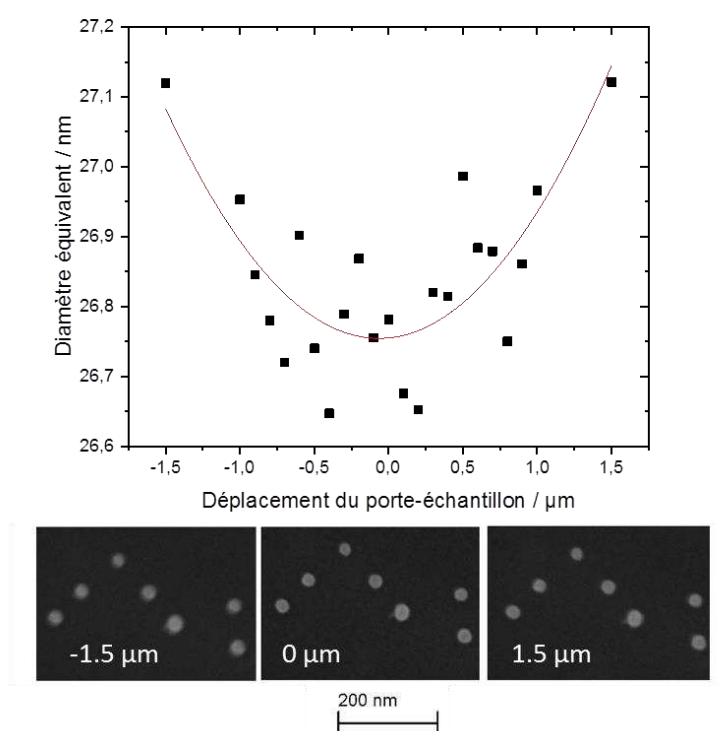


Figure 56 : Diamètre équivalent en fonction de la position de la platine (focus de l'image).

Une étude similaire a été menée en faisant varier l'astigmatisme autour des paramètres donnant une image jugée optimale. Pour cela, sur le MEB Zeiss Ultra Plus, l'astigmatisme est ajusté par l'intermédiaire de deux boutons rotatifs nommés « Stigmator X » et « Stigmator Y » et l'interface du MEB donne une valeur de ces deux paramètres en %. Afin d'étudier l'influence de ces paramètres sur le résultat final, l'astigmatisme a été modifié de $\pm 1 \%$ en X et Y autour du point jugé comme net pour une population de quelques NPs ERM[®]-FD304. La différence entre le diamètre moyen équivalent de l'image « nette » et des images avec un astigmatisme mal ajusté est présentée sur le Tableau 18.

Tableau 18 : Écart sur le diamètre équivalent moyen entre une image nette et une image où l'astigmatisme a été modifié de $\pm x\%$ en X et Y

X (%) \ Y (%)	-1	-0,5	0	0,5	1
-1	0,94		0,68		1,81
-0,5		0,31	0,25	0,32	
0	0,15	0,09	0,00	0,20	0,34
0,5		0,16	0,20	0,19	
1	0,62		0,63		0,80

Les résultats montrent que les écarts ne sont pas symétriques selon les axes, les variations d'astigmatisme selon l'axe Y donnant des différences plus marquées. Ce phénomène peut être expliqué par un potentiel désalignement entre l'ouverture en bas de la colonne et le faisceau électronique.

Dans les deux directions les variations de $\pm 1\%$ donnent des images extrêmement floues. Ainsi, afin de mieux correspondre avec l'expertise des opérateurs, seuls les écarts de $0,5\%$ sont pris en compte. Dans ce cas, les écarts observés sont inférieurs à la répétabilité de la méthode ($0,6\text{ nm}$). Ainsi, en assumant que l'opérateur possède un niveau d'expertise suffisamment important pour acquérir une image nette, ce paramètre n'a pas d'influence sur la mesure du diamètre équivalent.

1.2 Bilan d'incertitudes

1.2.1 Détermination de la fonction d'étalonnage à partir des particules de référence

Sur les 14 facteurs d'influences identifiés, seuls 7 d'entre eux ont une influence sur l'incertitude de mesure associée au diamètre équivalent moyen d'une population de NPs de silice.

Afin de déterminer la valeur corrigée du diamètre moyen des particules inconnues (ERM[®]-FD304), il est nécessaire d'établir une fonction d'étalonnage à partir des particules certifiées et en tenant compte des incertitudes de mesure calculées dans la section précédente.

Ainsi, un exemple du bilan d'incertitudes associé à la mesure du diamètre équivalent moyen des particules certifiées ERM[®]-FD102 est donné sur le Tableau 19. Le diamètre moyen est égal à $18,9\text{ nm}$. À cause de l'influence de la taille du pixel la valeur de D_{MEBref} est ainsi évaluée à $18,45\text{ nm}$ avec une incertitude de $1,77\text{ nm}$ ($k = 1$).

Tableau 19 : Bilan d'incertitudes pour la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de 250 NPs certifiées ERM[®]-FD102

Source	Type d'évaluation	Symbole	Unité	Valeur	$u(x_i)$	Coefficient de sensibilité c_i	$c_i \cdot x_i$	$c_i^2 \cdot x_i^2$	Contribution / %
Répétabilité	A	C_r	nm	0	0,3	1,0	0,3	0,09	2,9
Etalonnage P ₉₀₀ H ₆₀	B	$C_{\text{étal}}$	nm	0	1,0	18,9/900,2	0,02	0,0004	0,01
Grandissement	B	C_g	nm	0	0,26	1,0	0,26	0,07	2,2
Taille du pixel	A	C_{TP}	-	-0,3215	0,014	1,4	0,02	0,0004	0,01
Sélection du seuil	A	C_S	nm	0	0,2	1,0	0,2	0,04	1,3
Choix des particules – Opérateur	A	C_{MO}	nm	0	0,2	1,0	0,2	0,04	1,3
Taille du faisceau	B	C_{TF}	nm	0	1,7	1,0	1,7	2,89	92,4
D_{MEBref}			18,45	nm					
					Variance		3,14	nm ²	
					Incertitude Standard		1,77	nm	
					k		2		
					Incertitude élargie		3,54	nm	

La même étude a été menée sur 4 populations de 250 particules de silice référence ERM[®]-FD102 et ERM[®]-FD101b. Les résultats sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Paramètres d'entrée pour l'évaluation de la fonction d'étalonnage associée à la mesure de particules de silice par MEB pour une tension d'accélération de 3 kV et une distance de travail de 3 mm.

ERM [®] -FD102			ERM [®] -FD101b		
diamètre équivalent moyen	D_{MEBref} – ERM [®] -FD102	Incertitude ($k = 1$)	diamètre équivalent moyen	D_{MEBref} – ERM [®] -FD101b	Incertitude ($k = 1$)
19,07	18,62	1,77	82,22	81,77	1,81
18,4	17,95	1,77	81,91	81,46	1,81
18,97	18,52	1,77	81,57	81,12	1,81
19,12	18,67	1,77	80,85	80,4	1,81

La fonction d'étalonnage a été déterminée en utilisant le logiciel LNE-RegPoly par la méthode détaillée dans la norme ISO/TS 28037 [14]. Les paramètres de cette courbe sont égaux à $(0,958 \pm 0,009)$ et $(1,002 \pm 0,526)$ nm ($k = 1$) pour respectivement $a_{\text{étalonnage}}$ et $b_{\text{étalonnage}}$.

1.2.2 Détermination du diamètre équivalent corrigé en utilisant la fonction d'étalonnage et incertitude associée

Il est ainsi possible de prédire le diamètre équivalent moyen corrigé des particules inconnues à partir de la droite d'étalonnage. Pour rappel, étant donné le nombre limité de suspensions de référence disponibles (deux suspensions), la courbe d'étalonnage est supposée linéaire. Il est cependant nécessaire d'évaluer dans un premier temps le diamètre moyen non corrigé ainsi que l'incertitude associé comme présenté dans le Tableau 19. Pour une population de 250 particules inconnues ERM®-FD304, dont le diamètre mesuré est égal à 23,5 nm, le diamètre non corrigé est égal à $(23,05 \pm 1,84)$ nm ($k = 1$). La plus grande contribution à l'incertitude est la taille du faisceau (85 %).

Le diamètre équivalent moyen corrigé en surface projetée d_{corr} est évalué grâce à la fonction d'étalonnage du MEB (Tableau 21).

Tableau 21 : Bilan d'incertitudes pour la mesure du diamètre équivalent moyen corrigé d_{corr} par MEB d'une population de 250 NPs ERM®-FD304.

Source	Symbole	Unité	Valeur	$u(x_i)$	Coefficient de sensibilité c_i	$c_i \cdot x_i$	$c_i^2 \cdot x_i^2$	Contribution / %
Diamètre moyen non corrigé	d_{nc}	nm	23,05	1,84	1,04	1,91	3,66	91,37
Pente de la fonction d'étalonnage	$a_{etalonnage}$	-	0,958	0,009	-24,02	-0,22	0,05	1,17
Ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage	$b_{etalonnage}$	nm	1,002	0,526	-1,04	-0,55	0,30	7,46
			d_{corr}	23,01	nm	Variance	4,01	nm ²
						Incertitude Standard	2,00	nm
						k	2	
						Incertitude élargie	4,00	nm

L'incertitude combinée pour la mesure d'une population de nanoparticules de silice par MEB, en utilisant une tension d'accélération de 3 kV et une distance de travail de 3 mm, est égale à 2,0 nm ($k = 1$).

1.3 Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de nanoparticules

Un bilan d'incertitudes pour la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée des nanoparticules de silice par MEB, déterminé en utilisant la méthode « Active Contour » implémentée sur le logiciel NanoSelect, a été établi.

Cette démarche a été réalisée en suivant les différentes étapes recommandées par le GUM. 14 facteurs d'influence ont été identifiés comme pouvant potentiellement avoir une incidence sur l'incertitude de mesure.

L'influence de chacun de ces paramètres a été évaluée pour n'en conserver que 7 dans le bilan d'incertitude final.

Le bilan d'incertitudes lié à la mesure du diamètre équivalent moyen de particules de silice de référence a été établi dans un premier temps. Ces dernières, dont le diamètre équivalent moyen est certifié à $(18,2 \pm 0,8)$ nm ($k = 1$) et $(83,7 \pm 1,1)$ nm ($k = 1$), ont permis d'établir une fonction d'étalonnage pour l'instrument lorsque le couple de paramètres tension d'accélération 3 kV – distance de travail 3 mm est utilisé. À partir de cette fonction, une correction peut être appliquée sur les particules inconnues dont le diamètre moyen est proche de 25 nm. La fonction d'étalonnage est supposée linéaire par manque de particules de références sur le marché. Cependant, si de nouvelles particules sont disponibles ultérieurement, il serait nécessaire de vérifier la linéarité de cette fonction.

L'incertitude liée au diamètre moyen des particules inconnues ERM®-FD304, mesuré à 23,5 nm, a été évalué. L'incertitude combinée pour la mesure d'une population de particules de silice par MEB, en utilisant une tension d'accélération de 3 kV et une distance de travail de 3 mm, est égale à 2,0 nm ($k = 1$). La contribution la plus importante sur l'incertitude est la taille du faisceau électronique. En effet, il existe un réel manque d'informations et de méthodes de mesure adaptées pour caractériser les dimensions de ce dernier. Ainsi, si l'on souhaite réduire l'incertitude associée à la mesure de particules par MEB, il est indispensable de développer des méthodes permettant soit de mesurer la taille du faisceau, soit de s'affranchir de cette contribution.

Procédure MEB

Consignes préalables :

- Définir une taille de pixel en accord avec la norme ISO 9276-6
- Ajuster les paramètres suivants sur chaque image : contraste, luminosité, focus et astigmatisme
- Fixer la tension d'accélération, la distance de travail, le courant de sonde.

Etape 1

Etalonnage de la taille du pixel sur l'instrument MEB – Réseau $P_{900}H_{60}$

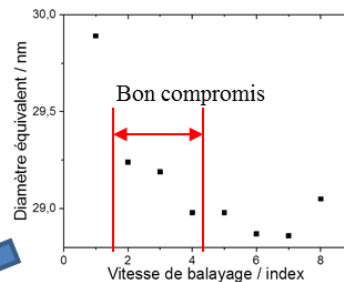
Etape 2

Déterminer le nombre de particules à compter.
 → Tracer une distribution en taille afin d'évaluer $\bar{x}_g$ et s_g
 → Diamètre moyen en nombre : $\alpha = 1$
ERM[®]-FD304 : 250 particules

Etape 3

Déterminer les paramètres optimaux à utiliser pour le balayage

Scan Speed Index = 4 et N = 21



Etape 4

Evaluer l'influence du grandissement, de l'opérateur, de la taille du faisceau (données constructeur).

Etape 5

Déterminer la répétabilité de la méthode de mesure – Changer de zone entre chaque mesure pour éviter les effets de charge / contamination

Etape 6 (si particules de référence disponibles)

Etablir une fonction d'étalonnage si particules de références disponibles (refaire les étapes 2 à 5 pour chaque suspension)

Etape 7

Déterminer le diamètre moyen en surface projetée corrigé ainsi que l'incertitude associée sur la suspension inconnue.

$$u(d_{corr}-ERM^{\circledR}-FD102) = 1,77 \text{ nm}$$

$$u(d_{corr}-ERM^{\circledR}-FD101b) = 1,81 \text{ nm}$$

$$u(d_{corr}-ERM^{\circledR}-FD304) = 2,0 \text{ nm}$$

Facteurs d'influences (Zeiss Ultra Plus + NanoSelect)

1. Taille du faisceau
2. Répétabilité
3. Grandissement
4. Opérateur
5. Seuil NanoSelect
6. Taille du pixel et Etalonnage $P_{900}H_{60}$

2 ÉVALUATION DE L'INCERTITUDE ASSOCIÉE À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MICROSCOPIE À FORCE ATOMIQUE

Une étude antérieure a déjà été réalisée au LNE, dans le cadre de la thèse de A. Delvallée [1] afin d'établir le bilan d'incertitudes lié à la mesure de la hauteur h d'une nanoparticule par AFM. Cette dernière a permis de déterminer les facteurs ayant la plus grande influence sur la mesure et d'évaluer leur contribution au bilan d'incertitudes. Ainsi, l'incertitude $U(h)$ élargie associée à la mesure de hauteur d'une seule particule de SiO_2 de hauteur 79,1 nm déposée sur mica par AFM est égale à 1,5 nm. Les principaux facteurs d'influence sur la mesure AFM ayant été listés à cette époque étaient :

- L'incertitude sur la valeur de référence fournie par le certificat d'étalonnage du réseau étalon (VLSI STS2-440 P) utilisée lors de l'étude.
- Le bruit de l'instrument suivant l'axe Z.
- La répétabilité de l'instrument.
- La rugosité du substrat (S_q).
- La limite de résolution du capteur suivant l'axe Z.

De plus, deux autres paramètres, la déformation des particules sur le substrat et celle entre la pointe et la particule, ont été définis comme pouvant potentiellement avoir une influence sur la mesure. Cependant, par manque de références bibliographiques sur les nanoparticules de silice, la déformation a été évaluée à partir des propriétés d'un autre oxyde (Al_2O_3) et n'a pas été incluse dans le bilan d'incertitudes.

Ainsi, dans les travaux de la présente thèse l'évaluation de l'incertitude associée à la mesure de la hauteur d'une population de particules de silice a été réalisée en deux étapes :

- (1) Dans un premier temps, étant donné que la méthode de détermination des incertitudes liée à la mesure de hauteur par AFM a déjà été éprouvée, la contribution des principaux facteurs d'influence a été recalculée sur les particules de silice utilisées dans cette étude.
- (2) Par la suite, une étude complète sur la déformation, tenant compte des interactions des particules de silice avec le substrat a été menée. L'étude de la déformation causée par la pointe AFM a été également conduite. Cette dernière est appuyée par l'utilisation du mode Peak Force[®] assurant la maîtrise de la force exercée par la pointe au contact des particules.

2.1 Évaluation de l'incertitude de mesure par AFM

2.1.1 Évaluation des sources d'incertitudes

Dans cette partie, l'influence de chacune des sources potentielles d'erreur a été réévaluée en accord avec les méthodes proposées par le GUM sur les particules utilisées dans cette étude. De plus, cette étude se fonde sur les méthodes permettant d'évaluer l'influence de chacune de ces sources d'erreur décrites par Delvallée *et al* [15].

2.1.1.1 Étalonnage de l'instrument – Réseau $P_{900}H_{60}$ ($C_{\text{étal}}$)

Dans cette étude, comme présenté dans la section 3.1.2 du chapitre 2, l'étalonnage de l'instrument est assuré par l'utilisation du réseau de transfert $P_{900}H_{60}$ mesuré grâce à un AFM métrologique. Les incertitudes associées au pas de réseau et à la hauteur de marche sur cet étalon sont respectivement égales à $\pm 1,0$ nm ($k = 2$) et $\pm 2,0$ nm ($k = 2$). Dans cette étude, l'incertitude liée à l'étalonnage, suivant l'axe Z, $u(C_{\text{étal}})$, est ainsi égale à 0,5 nm ($k = 1$).

2.1.1.2 Répétabilité de la mesure de hauteur sur des particules de SiO_2 (C_r)

La répétabilité de la mesure de la hauteur moyenne d'une population de 250 NPs de silice de référence ERM®-FD102 a été évaluée. 5 séries de mesures ont été effectuées. Pour chaque série de mesure, plusieurs images sont acquises aléatoirement sur le substrat. La hauteur moyenne est évaluée sur ces images en utilisant le module AFM du logiciel NanoSelect (cf. Section 3.3.2 du Chapitre 2). Les résultats sont présentés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Hauteur moyenne, évaluée par l'intermédiaire du logiciel NanoSelect, de 5 populations de 250 NPs de silice ERM®-FD102 sélectionnées aléatoirement sur le substrat.

Série	Hauteur moyenne / nm
1	16,3
2	16,3
3	17,0
4	17,5
5	16,4

La hauteur moyenne est égale à 17,6 nm avec un écart type de 0,6 nm entre les séries de mesures.

2.1.1.3 Bruit suivant l'axe Z (C_B)

Le bruit suivant l'axe Z a été évalué en verrouillant la position de la pointe AFM en XY sur un substrat silicium. Afin de réaliser cette expérience sur l'AFM Veeco Nanoman V, une image est effectuée en utilisant comme paramètres de scan $0\ \mu\text{m} \times 0\ \mu\text{m}$ avec une résolution non nulle. Par conséquent au cours de l'acquisition de l'image, la pointe AFM reste à une position fixe. Ainsi, pour chaque pixel de l'image, une mesure de la hauteur à cette position est effectuée.

Une image 1024×1024 pixels avec une vitesse de balayage égale à 0,4 Hz est réalisée. L'écart type sur la mesure de hauteur pour l'ensemble des pixels de l'image, correspondant à $u(C_B)$, est égal à 0,2 nm ($k = 1$).

2.1.1.4 Rugosité du substrat (C_{Sq})

La rugosité de surface du Wafer Si a été évaluée par AFM. Une zone de $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$, sélectionnée aléatoirement sur le substrat, a été imagée en utilisant une résolution de 1024×1024 pixels. Le logiciel de traitement d'images MountainsMap a été utilisé pour redresser l'image. La rugosité de la surface de silicium a été évaluée en utilisant le paramètre de hauteur S_q défini dans la norme ISO 25178-2 :2012 [16]. Pour cette surface de $2\ \mu\text{m} \times 2\ \mu\text{m}$, S_q ou RMS (Root Mean Square), est égale à 0,3 nm ($k = 1$) et correspond à $u(C_{Sq})$ dans le bilan d'incertitudes.

2.1.1.5 Limite de résolution du capteur suivant l'axe Z (C_R)

La limite de résolution du capteur le long de l'axe Z est calculée comme étant égale à $1,5 \times \text{LSB}$ où LSB (« Least Significant Bit ») correspond au bit le moins important dans la plage de déplacement. Pour une plage de déplacement de 7620 nm, la limite de résolution du capteur est égale à 0,17 nm. Étant donné que la résolution est uniformément distribuée, l'incertitude associée à la mesure de hauteur $u(C_R)$ est :

$$u(C_R) = \frac{0,17}{2\sqrt{3}} = 0,05\ \text{nm} \quad (20)$$

2.2 Évaluation de la déformation lors de l'imagerie AFM

Comme présenté dans le Chapitre 2, le principe de mesure de la hauteur d'une nanoparticule par AFM consiste à déterminer la distance entre deux points : l'un situé au sommet de la particule et l'autre correspondant au plan moyen de rugosité du substrat. Cependant, la déformation peut introduire un biais sur le résultat de cette mesure. En effet, sous l'action de certaines forces, la particule peut se déformer ou s'enfoncer dans le substrat. La position des points utilisés pour effectuer la mesure de hauteur par AFM sera alors biaisée.

Cette déformation peut principalement être causée par deux types de force qui seront détaillées dans les sections suivantes :

- Les forces de capillarité pouvant introduire une déformation entre la particule et le substrat.
- Les forces exercées par la pointe AFM lors du balayage.

2.2.1 Déformation particule – substrat ($C_{NP/S}$)

Plusieurs études ont été menées afin de mesurer la déformation entre des particules de PSL (« PolyStyrène Latex ») et le substrat [17–19]. Ainsi, pour une particule de PSL de diamètre nominal 50 nm, la différence entre sa hauteur et son diamètre mesurés par tomographie électronique est égale à 6,5 nm. Pour une particule de diamètre nominal 100 nm, cette différence atteint 7,4 nm [18].

Ici, la problématique concerne la possible déformation des particules de silice avec le substrat de la même manière que celles de PSL. En effet, les propriétés mécaniques de la silice sont très différentes de celles du polystyrène, même à l'échelle nanométrique. Le module de Young des particules de PSL de diamètre nominal 60 nm a été mesuré à 8,0 GPa [20]. En comparaison, le module de Young de particules de silice de taille similaire a été évalué à $68,9 \pm 9,6$ GPa [21]. Cette valeur est similaire à celle de la silice à l'état massif (72 GPa) [22].

La théorie de Hertz peut être utilisée pour décrire le contact élastique entre une sphère et un plan comme présenté sur la Figure 57 [23].

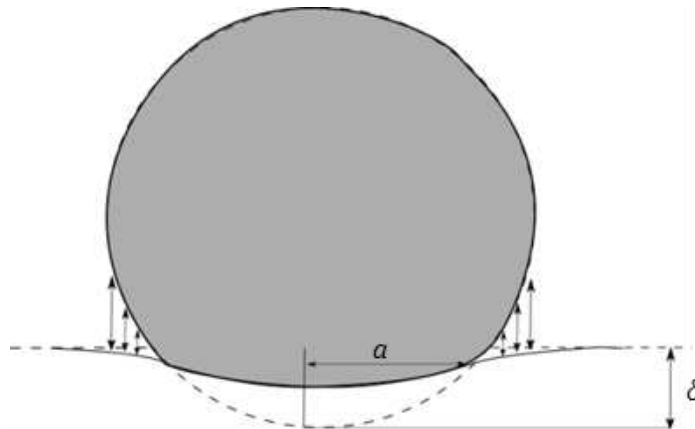


Figure 57 : Contact entre une sphère et un plan élastiques.

Sous une force appliquée P , la déformation élastique entre la sphère et le plan conduit à une zone de contact circulaire de rayon a définie par :

$$a = \sqrt[3]{\frac{P \cdot R}{K}} \quad (21)$$

Avec R le rayon de la sphère et K le module élastique équivalent du système sphère/plan défini par :

$$K = \frac{4}{3} \left(\frac{1 - \nu_1^2}{E_1} + \frac{1 - \nu_2^2}{E_2} \right)^{-1} \quad (22)$$

Avec E_i et ν_i respectivement le module de Young et le coefficient de Poisson de la sphère ($i = 1$) et du demi-plan ($i = 2$).

La profondeur d'indentation δ , assimilable à la déformation du système est ainsi définie comme :

$$\delta = \frac{a^2}{R} \quad (23)$$

Dans le cas de particules de silice déposées sur un substrat de silicium, le rapport surface/volume devenant important, les forces de capillarité doivent être prises en compte. Ainsi, plusieurs modèles peuvent être utilisés pour inclure ces forces dans l'équation de Hertz : les modèles DMT (Derjaguin, Muller et Toporov [24]), JKR (Johnson, Kendall et Roberts [25]) et Maugis-Pollock [26]. Les deux premiers cités permettent de décrire la déformation élastique des corps sphériques en incluant les forces d'adhésion. Le modèle JKR décrit ainsi le cas de grosses particules très déformables avec une énergie de surface importante tandis que le modèle DMT décrit le cas de particules plus petites, rigides et faiblement liées. Le modèle Maugis-Pollock, quant à lui, prend en compte une possible déformation plastique entre les deux matériaux en contact.

Dans cette étude, concernant le cas d'une particule de silice et d'un substrat silicium, les modules de Young élevés des deux matériaux conduisent à privilégier le modèle DMT pour étudier la déformation du système NP/substrat.

Ainsi, les forces d'adhésion peuvent être décrites par la théorie de Bradley [27].

$$P = 2\pi\Delta\gamma R \quad (24)$$

Avec P la force d'adhésion et $\Delta\gamma = \gamma_1 + \gamma_2 - \gamma_{12}$ le travail d'adhésion, avec γ_1 et γ_2 , respectivement les énergies de surface des particules et du substrat et γ_{12} l'énergie interfaciale.

Dans cette étude, les particules de silice sont déposées sur un wafer de silicium (111). Les propriétés associées à ces deux matériaux sont détaillées dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Paramètres utilisés pour évaluer la déformation des particules de silice sur substrat silicium.

Paramètre	Valeur	Référence
$\gamma_{Si(111)}$	1,24 J/m ²	[28]
γ_{SiO_2}	0,259 J/m ²	[29]
$E_{Si(111)}$	160 GPa	[30]
E_{SiO_2}	68,9 GPa	[21]
$\nu_{Si(111)}$	0,27	[30]
ν_{SiO_2}	0,18	[31]

En ajoutant cette force au modèle d'Hertz décrit dans l'équation (21), et comme aucune force extérieure n'est appliquée sur le système, le rayon de contact a_{DMT} entre la particule et le substrat selon le modèle DMT peut être évalué par la relation :

$$a_{DMT}^3 = \frac{R}{K} (2\pi\Delta\gamma R) \quad (25)$$

La déformation totale du système δ est ainsi égale à :

$$\delta = \frac{1}{R} \left(\frac{3R}{4} \cdot (2\pi\Delta\gamma R) \cdot \left(\frac{1-\nu_1^2}{E_1} + \frac{1-\nu_2^2}{E_2} \right) \right)^{\frac{2}{3}} \quad (26)$$

Deux configurations ont été envisagées afin d'évaluer la déformation théorique entre une NP de silice et le substrat en fonction du diamètre de la particule. Pour la première, la déformation est étudiée entre une particule de silice et un substrat silicium (111). Pour la seconde, plus réaliste, une couche d'oxyde native est présente en surface du silicium. La déformation est ainsi déterminée selon une interface SiO₂/SiO₂ dans l'hypothèse où la couche de SiO₂ est considérée comme un massif.

L'évolution de la déformation théorique entre une NP de silice et le substrat en fonction du diamètre de la particule, pour les deux configurations envisagées, est présentée sur la Figure 58.

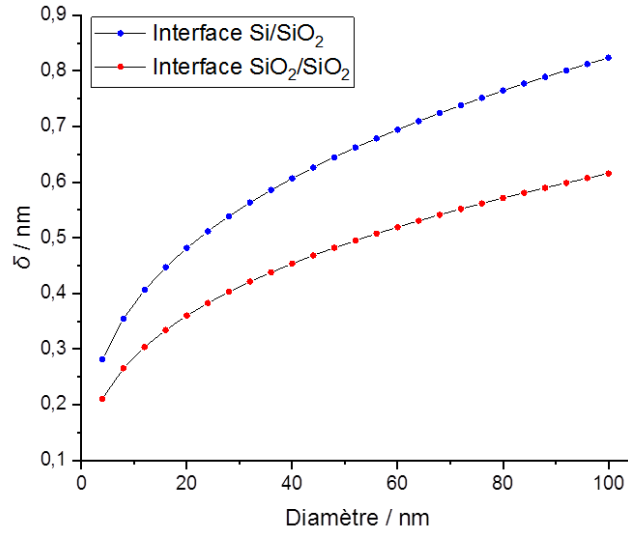


Figure 58 : Déformation du système particule/substrat, évaluée selon le modèle DMT en fonction du diamètre de la particule.

La déformation du système particule – substrat augmente avec le diamètre des particules. Ainsi, dans le cas d’une interface Si/SiO₂, pour une NP de diamètre 40 nm, la déformation théorique est égale à 0,6 nm, et vaut 0,8 nm pour une particule de 100 nm. En considérant la présence d’une couche d’oxyde native en surface du silicium, la déformation théorique est réduite à 0,45 nm pour une particule de diamètre 40 nm, et à 0,6 nm pour une de diamètre 100 nm. Cette deuxième approche (interface SiO₂/SiO₂) apparaît comme étant plus proche de la réalité. Celle-ci a ainsi été utilisée pour calculer la déformation théorique par la suite. Cependant, indépendamment de l’interface sélectionnée et du rayon de la particule, les forces d’adhésion capillaires sont de l’ordre de plusieurs dizaines de nN.

Ainsi, cette étude représente une première estimation de la déformation du système particule – substrat sous l’effet des forces de capillarité. En effet, plusieurs paramètres, non pris en compte dans cette étude comme par exemple l’humidité relative ou la rugosité du substrat, peuvent modifier le résultat. Ainsi, comme présenté en [19], afin de tenir compte des diverses hypothèses et approximations formulées dans le modèle, une première estimation de l’incertitude sur δ peut être exprimée sous la forme d’une distribution rectangulaire de demi-largeur $\delta/2$:

$$u(\delta) = u(C_{NP-S}) = \frac{\delta}{2\sqrt{3}} \quad (27)$$

Par conséquent, par exemple pour un diamètre nominal de 40 nm, en considérant une interface SiO₂/SiO₂, la déformation du système particule – substrat est égale à 0,45 nm $\pm$ 0,13 nm ($k = 1$).

Une correction, fonction de la hauteur de la particule mesurée, sera donc appliquée sur les mesures AFM réalisées dans le cadre de ces travaux pour tenir compte de la déformation entre la particule et le substrat sous l'effet des forces de capillarité.

2.2.2 Déformation pointe – particule ($C_{P/NP}$)

La particule peut être déformée sous l'effet de la force exercée par la pointe de l'AFM [17, 32]. Ce phénomène peut être engendré même lors de l'imagerie par contact intermittent. Afin d'évaluer cette déformation, plusieurs hypothèses sont formulées. Dans un premier temps, on suppose que le sommet de la pointe AFM est parfaitement sphérique et de rayon 7 nm [33]. De plus, en l'absence d'informations sur les propriétés mécaniques de la pointe, nous utiliserons les valeurs de E et ν du Tableau 23 pour le silicium (111). Pour finir, la force exercée par la pointe sur la particule en mode Tapping tient compte de plusieurs paramètres (amplitude d'oscillation, constante de raideur...). Une estimation de la force maximale exercée par la pointe AFM lors de l'imagerie en mode Tapping a été réalisée en fonction de l'amplitude d'oscillation dans les travaux de A. San Paulo *et al* [34]. Leurs résultats montrent que la force maximale exercée par la pointe est de l'ordre de quelques nN. La déformation élastique induite par cette force est ici évaluée dans le cadre du modèle de Hertz. L'aire de contact entre deux sphères $a_{Pointe-NP}$ pressées l'une contre l'autre est ainsi définie par :

$$a_{Pointe-NP}^2 = \sqrt[3]{\frac{F^2}{K^2} \cdot R^2} \quad (28)$$

Avec F la force exercée par la pointe sur la particule et $R = (R_1 \cdot R_2) / (R_1 + R_2)$, R_1 et R_2 étant respectivement les rayons de la particule et de la pointe.

La déformation entre la pointe et la particule $\delta_{Pointe-NP}$ est ainsi évaluée comme étant égale à :

$$\delta_{Pointe-NP} = \frac{a_{Pointe-NP}^2}{R} \quad (29)$$

Soit en utilisant l'équation (28) :

$$\delta_{Pointe-NP} = \sqrt[3]{\frac{F^2}{R \cdot K^2}} \quad (30)$$

Ainsi, en appliquant les paramètres du Tableau 23 et en considérant que la force exercée est égale à 4 nN, la déformation entre la pointe et une particule est évaluée à 0,08 nm sur l'ensemble de la gamme nanométrique. Ainsi, la déformation liée à la force exercée par la pointe AFM apparaît comme étant négligeable. Cependant, des forces de capillarité peuvent également intervenir entre la pointe et la particule. Comme nous l'avons vu dans la section précédente, l'ordre de grandeur de ces forces est largement supérieur à celle exercée par la pointe (quelques dizaines de nN contre quelques nN). Ainsi,

en utilisant le modèle DMT en considérant l'aire de contact entre deux sphères, la déformation entre la pointe et la particule est égale à :

$$\delta_{Pointe-NP} = \sqrt[3]{\frac{(F + 2\pi\Delta\gamma R)^2}{R \cdot K^2}}$$

En appliquant les paramètres du Tableau 23, la déformation entre la pointe et une particule varie entre 0,26 nm et 0,32 nm sur l'ensemble de la gamme nanométrique (Figure 59).

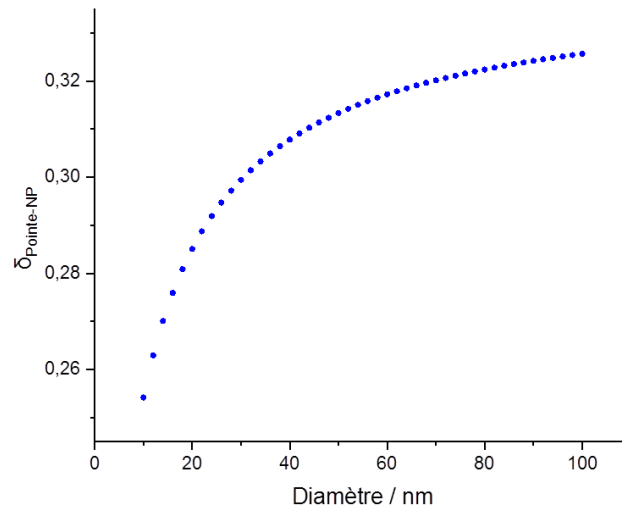


Figure 59 : Déformation entre la pointe et la particule, évaluée selon le modèle DMT en fonction du diamètre de la particule

De la même manière que pour l'étude de la déformation entre la particule et le substrat, une première estimation de l'incertitude liée à la déformation entre la pointe et la particule est donnée sous la forme d'une distribution rectangulaire de demi-largeur $\delta/2$ égale à $u(\delta_{Pointe-NP}) = 0,1 \text{ nm}$ ($k = 1$) et cela sur l'ensemble de la gamme nanométrique.

L'influence de la déformation entre la pointe et la particule peut donc être considérée comme fixe sur toute la gamme nanométrique. Une correction, égale à $0,3 \pm 0,1 \text{ nm}$ ($k = 1$) sera donc appliquée sur l'ensemble des mesures AFM réalisées en mode Tapping dans le cadre de ces travaux pour tenir compte de cette déformation.

2.3 Bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de NPs de silice par AFM

À la suite de l'évaluation de l'influence de l'ensemble des sources d'erreurs associées à la mesure de hauteur d'une population de nanoparticules par AFM, le bilan d'incertitudes peut être évalué. Pour cela, une population de 250 NPs de silice ERM®-FD102 a été imagée par AFM selon les paramètres

définis dans la section 3.2.1 du chapitre 2. Après le redressement de l'image (redressement ligne à ligne d'ordre 1 avec exclusion automatique des objets) *via* le logiciel MountainsMap, NanoSelect a été utilisé afin de mesurer la hauteur de chaque particule et d'établir l'histogramme de distribution en hauteur de la population étudié.

Le mode de distribution a été évalué comme étant égal à 16,4 nm pour la population de silice ERM®-FD102, le bilan d'incertitudes associé à cette mesure est donné dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur par AFM d'une population de 250 NPs de silice ERM®-FD102

Source	Type d'évaluation	Symbole	Unité	Valeur	$u(x_i)$	Coefficient de sensibilité c_i	$c_i \cdot x_i$	$c_i^2 \cdot x_i^2$	Contribution / %
Répétabilité	A	C_r	nm	0	0,6	1	0,6	0,36	47,2
Etalonnage P ₉₀₀ H ₆₀	B	C_{etal}	nm	0	0,5	1	0,5	0,25	32,8
Bruit de l'instrument	A	C_B	nm	0	0,2	1	0,2	0,04	5,2
Rugosité du substrat	A	C_{Sq}	nm	0	0,3	1	0,3	0,09	11,8
Limite de résolution du capteur	B	C_R	nm	0	0,05	1	0,05	0,003	0,4
Déformation particule – Substrat	B	C_{NP-S}	nm	0,3	0,1	1	0,1	0,01	1,3
Déformation Pointe-NP	B	$C_{Pointe-NP}$	nm	0,3	0,1	1	0,1	0,01	1,3
$h_{AFM-corr}$			17,0	nm	Variance				0,76 nm ²
					Incrtitude Standard				0,87 nm
					k				2
					Incrtitude élargie				1,74 nm

Ainsi, pour une hauteur moyenne de particule de 16,4 nm, les déformations pointe – NP et particule – substrat sont toutes deux égales à $(0,3 \pm 0,1)$ nm ($k = 1$). La hauteur théorique réelle des particules, nommé $h_{AFM-corr}$ est ainsi évaluée à 17,0 nm. L'incertitude standard, comprenant 7 sources d'erreurs, est ainsi évaluée à 0,9 nm ($k = 1$). Les deux principales contributions au bilan d'incertitudes sont la répétabilité de la mesure (47,2 %) et l'incertitude liée à la détermination de la hauteur de marche moyenne sur le réseau P₉₀₀H₆₀ (32,8 %). En comparaison avec le bilan d'incertitudes établi dans les travaux de thèse précédent [1], établi sur une seule particule ($u(h) = 0,8$ nm, $k = 1$), celui évalué dans cette étude donne une incertitude de mesure plus importante. Cette différence est principalement liée à l'incertitude liée à la répétabilité, qui est égale à 0,04 nm ($k = 1$) dans l'étude précédente et à 0,6 nm

($k = 1$) dans cette étude. Cet écart est dû au fait que, par rapport à l'étude [1] où cette contribution est déterminée en répétant la mesure sur la même particule, ici celle-ci comprend à la fois la répétabilité de l'instrument, mais également l'incertitude liée au nombre de particules comptées (cf. Section 1.1.4.2).

2.4 Conclusions sur le bilan d'incertitudes associé à la mesure de la hauteur moyenne d'une population de nanoparticules

Une mise à jour du bilan d'incertitudes établi en [1] a été réalisée afin d'évaluer l'incertitude liée à la mesure de hauteur d'une population de particules de silice par AFM. L'ensemble des contributions au bilan d'incertitude des sources d'erreurs identifiées dans les travaux précédents a été réévalué pour la mesure des particules de silice. Ainsi, l'incertitude associée à la mesure de hauteur par AFM d'une population de 250 NPs, comprenant 7 sources d'erreurs, est évaluée à 0,9 nm ($k = 1$). Les deux principales contributions au bilan d'incertitudes sont la répétabilité de la mesure (47,8 %) et l'incertitude liée à la détermination de la hauteur de marche moyenne sur le réseau P₉₀₀H₆₀ (33,2 %). En comparaison avec le bilan d'incertitudes établi en [1] ($u(h) = 0,8$ nm, $k = 1$), celui évalué dans cette étude donne une incertitude de mesure plus importante. Cependant l'écart entre les deux bilans d'incertitudes est lié au mesurande sélectionné : la hauteur d'une particule dans l'ancien bilan, la hauteur moyenne d'une population de 250 NPs dans cette étude.

3 CONCLUSIONS

Les bilans d'incertitudes associés aux deux techniques de microscopie utilisés dans le cadre de l'approche par métrologie hybride (AFM et MEB) ont été établis.

Concernant la technique MEB, un tout premier bilan d'incertitudes a été évalué dans le cadre de ces travaux pour la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée des nanoparticules de silice en utilisant la méthode de segmentation par « Active Contour » implémentée sur le logiciel NanoSelect. L'incertitude liée au diamètre moyen des particules inconnues ERM[®]-FD304, mesurée à 23,5 nm, a été évalué. L'incertitude combinée pour la mesure d'une population de particules de silice par MEB, en utilisant une tension d'accélération de 3 kV et une distance de travail de 3 mm, est égale à 2,0 nm ($k = 1$). La contribution la plus importante à l'incertitude est la taille du faisceau électronique. En effet, il existe un réel manque d'informations et de méthodes de mesure adaptées pour caractériser les dimensions de ce dernier. Ainsi, si l'on souhaite réduire l'incertitude associée à la mesure de particules par MEB, il est indispensable de développer des méthodes permettant soit de mesurer la taille du faisceau, soit de s'affranchir de cette contribution.

Concernant la technique AFM, le bilan d'incertitudes a été réévalué par rapport aux travaux de thèse de A. Delvallée [1]. En effet, plusieurs sources d'erreurs comme la déformation entre la particule et le substrat ou celle entre la pointe AFM et la particule n'étaient pas prises en compte dans le bilan établi. Ces différentes composantes ont ici été évaluées en utilisant le modèle DMT. Les résultats montrent que ces deux paramètres introduisent un biais sur la mesure de hauteur des nanoparticules. Ainsi, l'incertitude associée à la mesure de hauteur par AFM d'une population de 250 NPs, comprenant 7 sources d'erreurs, est évaluée à 0,9 nm ($k = 1$). Les deux principales contributions au bilan d'incertitudes sont la répétabilité de la mesure (47,8 %) et l'incertitude liée à la détermination de la hauteur de marche moyenne sur le réseau P₉₀₀H₆₀ (33,2 %).

RÉFÉRENCES

1. Thèse de Delvallée A (2014) Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB
2. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM) 100 (2008) Evaluation des données de mesure - Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure
3. Ishikawa K, Loftus JH (1990) Introduction to quality control, Tokyo : 3A Corporation
4. (2012) International vocabulary of metrology - Basic and General concepts and associated terms (VIM)
5. Yardin C (2013) REGPOLY : Un logiciel pour estimer la fonction d'étalonnage et calculer un résultat de mesure à partir d'une indication
6. Masuda H, Gotoh K (1999) Study on the sample size required for the estimation of mean particle diameter. *Advanced Powder Technology* 10:159–173 . [https://doi.org/10.1016/S0921-8831\(08\)60447-1](https://doi.org/10.1016/S0921-8831(08)60447-1)
7. Wedd M (2010) The Influence of Pixel Numbers and Image Centring upon Particle Size Analysis Accuracy. *Particle & Particle Systems Characterization* 27:71–75 . <https://doi.org/10.1002/ppsc.201100023>
8. Yoshida H, Mori Y, Masuda H, Yamamoto T (2009) Particle size measurement of standard reference particle candidates and theoretical estimation of uncertainty region. *Advanced Powder Technology* 20:145–149 . <https://doi.org/10.1016/j.apr.2008.05.002>
9. (2014) ISO 13322-1 :2014. « Particle size analysis – Image analysis methods – Part 1 : Static image analysis methods »
10. Joy DC (2002) SMART – a program to measure SEM resolution and imaging performance. *Journal of Microscopy* 208:24–34 . <https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.2002.01062.x>
11. Babin S, Gaevski M, Joy D, Machin M, Martynov A (2006) Technique to automatically measure electron-beam diameter and astigmatism: BEAMETR. *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures Processing, Measurement, and Phenomena* 24:2956–2959 . <https://doi.org/10.1116/1.2387158>
12. Carl Zeiss SMT – Nano Technology Systems Division Detection Principles based on GEMINI Technology. <https://www.nhn.ou.edu/~larson/Zeiss%20SEM/gemini.pdf>
13. (2008) ISO 9276-6:2008 : Représentation de données obtenues par analyse granulométrique - Partie 6 : description et représentation quantitative de la forme et la morphologie des particules
14. (2010) ISO/TS 28037 2010 « Determination and Use of Straight-Line Calibration Functions »
15. Delvallée A, Feltin N, Ducourtieux S, Trabelsi M, Hocheplé JF (2015) Toward an uncertainty budget for measuring nanoparticles by AFM. *Metrologia* 53:41–50 . <https://doi.org/10.1088/0026-1394/53/1/41>
16. ISO 25178-2 : 2012 Spécification géométrique des produits (GPS) État de surface : surfacique Partie 2 : Termes, définitions et paramètres d'états de surface

17. Garnaes J (2011) Diameter measurements of polystyrene particles with atomic force microscopy. *Measurement Science and Technology* 22:094001 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/22/9/094001>
18. Hayashida M, Kumagai K, Malac M (2015) Three dimensional accurate morphology measurements of polystyrene standard particles on silicon substrate by electron tomography. *Micron* 79:53–58 . <https://doi.org/10.1016/j.micron.2015.08.003>
19. Misumi I, Sugawara K, Takahata K, Takahashi K, Ehara K (2018) Size measurements of standard nanoparticles using metrological atomic force microscope and evaluation of their uncertainties. *Precision Engineering* 51:691–701 . <https://doi.org/10.1016/j.precisioneng.2017.11.013>
20. Guo D, Li J, Xie G, Wang Y, Luo J (2014) Elastic properties of polystyrene nanospheres evaluated with atomic force microscopy: size effect and error analysis. *Langmuir* 30:7206–7212 . <https://doi.org/10.1021/la501485e>
21. Zou M, Yang D (2006) Nanoindentation of silica nanoparticles attached to a silicon substrate. *Tribology Letters* 22:189–196 . <https://doi.org/10.1007/s11249-006-9079-7>
22. General Electric Fused Quartz Products Technical Data, general catalog number, 1985, 7705-25
23. Hertz H (1881) Über die Berührung fester elastischer Körper (Sur le contact entre corps élastiques). *J für reine und angewandte Mathematik* 92:156–171
24. Derjaguin BV, Muller VM, Toporov YuP (1975) Effect of contact deformations on the adhesion of particles. *Journal of Colloid and Interface Science* 53:314–326 . [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(75\)90018-1](https://doi.org/10.1016/0021-9797(75)90018-1)
25. Johnson KL, Kendall K, Roberts AD, Tabor D (1971) Surface energy and the contact of elastic solids. *Proceedings of the Royal Society of London A Mathematical and Physical Sciences* 324:301–313 . <https://doi.org/10.1098/rspa.1971.0141>
26. Maugis D, Pollock HM (1984) Surface forces, deformation and adherence at metal microcontacts. *Acta Metallurgica* 32:1323–1334 . [https://doi.org/10.1016/0001-6160\(84\)90078-6](https://doi.org/10.1016/0001-6160(84)90078-6)
27. Bradley RS (1932) LXXIX. The cohesive force between solid surfaces and the surface energy of solids. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 13:853–862 . <https://doi.org/10.1080/14786449209461990>
28. Jaccodine RJ (1963) Surface Energy of Germanium and Silicon. *Journal of The Electrochemical Society* 110:524–527 . <https://doi.org/10.1149/1.2425806>
29. Brunauer S, Kantro DL, Weise CH (1956) The surface energies of amorphous silica and hydrous amorphous silica. *Can J Chem* 34:1483–1496 . <https://doi.org/10.1139/v56-190>
30. Hess P (1996) Laser diagnostics of mechanical and elastic properties of silicon and carbon films. *Applied Surface Science* 106:429–437 . [https://doi.org/10.1016/S0169-4332\(96\)00369-8](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(96)00369-8)
31. Jaccodine RJ, Schlegel WA (1966) Measurement of Strains at Si-SiO₂ Interface. *Journal of Applied Physics* 37:2429–2434 . <https://doi.org/10.1063/1.1708831>
32. Bo-Ching He, Wei-En Fu, Huay-Chung Liou, Yong-Qing E. Chang, Shan-Peng Pan, Hung Min Lin, Yen-Fu Chen (2012) Deformation of polystyrene nanoparticles under different AFM tapping loads
33. Bruker OTESPA-R3. <https://www.brukerafmprobes.com/p-3864-otespa-r3.aspx>

34. San Paulo A, Garcia R (2000) High-resolution imaging of antibodies by tapping-mode atomic force microscopy: attractive and repulsive tip-sample interaction regimes. *Biophys J* 78:1599–1605 . [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76712-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76712-9)

CHAPITRE 4 AMÉLIORATION DES INCERTITUDES ASSOCIÉES À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MEB - UTILISATION D'UN ALGORITHME MONTE CARLO..... 152

1	LA MÉTHODE MONTE CARLO.....	153
1.1	<i>Présentation de la méthode Monte Carlo.....</i>	153
1.2	<i>Modifications apportées au code JMONSEL pour la mesure de NPs par MEB</i>	154
1.2.1	Modélisation du signal d'une particule de silice déposée sur substrat Silicium	154
1.2.2	Modélisation de la géométrie de la colonne Zeiss Gemini et du détecteur In Lens	156
2	MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NANOPARTICULE PAR LA MÉTHODE « MODEL-BASED LIBRARY ».....	157
2.1	<i>Objectifs de la méthode</i>	158
2.2	<i>Construction de la base de données</i>	160
2.2.1	Définition des paramètres d'entrées	160
2.2.2	Détermination du seuil à appliquer en fonction de la taille des particules	161
2.3	<i>Utilisation de la base de données : comparaison des profils MEB expérimentaux.....</i>	162
2.3.1	Comparaison des profils expérimentaux avec la base de données – Critère mathématique	162
2.3.2	Utilisation de la base de données pour l'amélioration de la binarisation des images MEB	164
2.4	<i>Évaluation de l'incertitude de mesure liée à la mesure du diamètre équivalent d'une population de nanoparticules par la méthode « Model-Based Library ».....</i>	165
3	NOUVELLE MÉTHODE DE SEGMENTATION DES IMAGES MEB FONDÉE SUR L'UTILISATION D'UN POINT REMARQUABLE POUR MESURER LES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NP	172
3.1	<i>Définition du point remarquable</i>	172
3.2	<i>Procédure expérimentale</i>	174
3.2.1	Vérification de la présence du point remarquable en MEB par la modélisation Monte Carlo	174
3.2.2	Modification de la taille du faisceau expérimentalement	174
3.2.3	Extraction du point remarquable et mesure du diamètre équivalent en utilisant une routine Matlab®	175
3.3	<i>Évaluation de l'incertitude associée à la méthode de segmentation utilisant le point invariant...</i>	176
4	COMPARAISON ENTRE LES DIFFÉRENTES MÉTHODES.....	178
4.1	<i>Comparaison des trois méthodes de segmentation (Active Contour, MBL et point invariant) sur une même série d'images MEB</i>	178
4.2	<i>Comparaison diamètre mesuré / diamètre simulé pour les trois méthodes de segmentation (point invariant, Active Contour et segmentation à mi-hauteur) sur les profils simulés</i>	180
5	CONCLUSIONS.....	185
	RÉFÉRENCES.....	187

CHAPITRE 4 AMÉLIORATION DES INCERTITUDES ASSOCIÉES À LA MESURE DE NANOPARTICULES PAR MEB - UTILISATION D'UN ALGORITHME MONTE CARLO

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la mesure des propriétés dimensionnelles d'une particule par MEB est entachée d'une incertitude relativement importante. En effet, pour des nanoparticules de diamètre 23,5 nm, l'incertitude associée à cette mesure a été évaluée à 2,0 nm ($k = 1$). De plus, la contribution la plus importante sur l'incertitude est la taille du faisceau électronique. En effet, il existe un réel manque d'informations et de méthodes de mesure adaptées pour caractériser les dimensions de ce dernier. Ainsi, si l'on souhaite réduire l'incertitude associée à la mesure de particules par MEB, il est indispensable de développer des méthodes permettant soit de mesurer la taille du faisceau, soit de s'affranchir de cette contribution. Ce chapitre présente plusieurs voies pour répondre à cette problématique en s'appuyant sur la modélisation du signal MEB par la méthode Monte Carlo.

Ce chapitre est articulé de la manière suivante :

- Dans un premier temps, la méthode Monte Carlo sera détaillée. Cette dernière permet de reconstruire une image MEB ou un profil en électrons secondaires d'une nanoparticule à partir de paramètres d'entrées définis par l'utilisateur tels que la taille de la particule ou celle du faisceau. Les modifications apportées au programme JMONSEL pour la modélisation du signal MEB d'une nanoparticule seront détaillées.
- Par la suite, la première méthode permettant de déterminer à la fois la taille des particules et celle du faisceau sera détaillée. Cette dernière, nommée « Model-Based Library » (MBL) consiste à rechercher la meilleure correspondance entre le profil expérimental en électrons secondaires extrait au centre d'une nanoparticule imagée par MEB et différents profils générés par simulation Monte Carlo et stockés dans une librairie.
- La seconde méthode présentée dans ce chapitre consiste à utiliser un point remarquable, indépendant de la taille du faisceau, pour extraire le contour des particules. Ce point est obtenu en acquérant plusieurs images d'une même nanoparticule avec des tailles de faisceau différentes. Ainsi, la méthode expérimentale pour extraire ce point remarquable sera détaillée dans un premier temps. Ensuite, la modélisation Monte Carlo via la librairie générée dans la section précédente sera utilisée afin de déterminer la position de ce point vis-à-vis du bord de la particule et valider la méthode utilisée.
- Pour finir, la validité de la méthode expérimentale généralement utilisée pour extraire le contour des particules (Active Contour) sera testée par la comparaison avec la méthode de segmentation exploitant le point remarquable. Cette comparaison sera réalisée dans un premier

temps expérimentalement sur les particules de silice de référence ERM®-FD101b. Les résultats seront par la suite confirmés par la méthode Monte Carlo. Pour finir, cette dernière sera utilisée afin d'évaluer les écarts entre les différentes méthodes de segmentation sur l'ensemble de la gamme nanométrique.

1 LA MÉTHODE MONTE CARLO

1.1 *Présentation de la méthode Monte Carlo*

La méthode Monte Carlo permet de rechercher des solutions à un problème mathématique par des processus statistiques. Introduite pour la première fois dans les années 40 à des fins militaires, la méthode Monte Carlo a été appliquée pour la première fois à la microscopie électronique dans les années 60 [1, 2].

Cette méthode consiste, dans le cas du transport de charges dans un matériau, à modéliser la dynamique des porteurs par une succession de vols libres entrecoupés d'interactions. Ainsi, à partir de la définition de l'état initial du porteur (position et vitesse), un nombre aléatoire de distributions uniformes comprises entre 0 et 1 est généré afin de définir à quel moment la première collision intervient. La relation entre le nombre tiré aléatoirement et la distance état initial/collision est obtenue en fonction de la probabilité d'interaction de l'électron dans le milieu considéré.

Initialement, dans les approches de diffusion simple, seul le mode de diffusion élastique, responsable de la déflexion des trajectoires électroniques, était considéré comme aléatoire [3]. La perte d'énergie de l'électron dans le matériau, liée aux processus de diffusion inélastique (diffusion aux petits angles), est supposée continue et évaluée selon différentes lois (loi de Bethe [4], Joy et Luo [5]...).

Les modèles plus récents considèrent que toutes les interactions possibles entre les électrons incidents et les atomes de l'échantillon sont aléatoires. Cette approche est rendue possible grâce à l'amélioration des performances des calculateurs. Ces interactions comprennent ainsi le processus de diffusion élastique, établi à partir des sections efficaces de Mott [6] mais également les différents processus de diffusion inélastiques (excitation de plasmons de volume [7], interaction avec les électrons des couches externes [8], avec ceux des couches profondes [9] ou avec le noyau [10]). Pour ces modèles, à chaque type d'interaction sont associées trois distributions exprimant les probabilités d'interaction (liées aux sections efficaces totales), de perte d'énergie et de d'angle de déflexion. Ainsi, chaque étape du processus Monte Carlo se décompose de la manière suivante :

- (1) calcul des sections efficaces totales associées à chaque type d'interaction σ_k en fonction des conditions initiales (énergie de l'électron, milieu...).

- (2) détermination du libre parcours moyen inverse Λ_k^{-1} pour chaque type d'interaction en fonction des sections efficaces totales
- (3) calcul de la somme de l'ensemble des libres parcours moyens inverses Λ^{-1} .
- (4) échantillonnage puis tirage aléatoire sur l'intervalle $[0, \Lambda^{-1}]$ pour déterminer le type d'interaction.
- (5) tirages aléatoires sur l'intervalle $]0, 1]$ pour sélectionner la distance parcourue par l'électron, sa perte d'énergie et son angle de diffusion.

Ce processus est répété X fois jusqu'à atteindre les conditions aux limites préalablement définies (piégeage de l'électron, collision avec un détecteur...).

1.2 Modifications apportées au code JMONSEL pour la mesure de NPs par MEB

Comme présenté dans la section 2.1.4 du chapitre 2, le code JMONSEL est utilisé pour modéliser le signal MEB par la méthode Monte Carlo. Dans cette étude, les modèles associés aux processus d'interactions (diffusion élastique, inélastique...) appliqués dans le code JMONSEL n'ont pas été modifiés.

Cependant, d'autres modifications sont nécessaires afin d'adapter le code aux conditions expérimentales utilisés lors de l'imagerie d'une nanoparticule de silice par le MEB Zeiss Ultra Plus. En effet, le script, tel que fourni initialement, est adapté comme support à la mesure des dimensions critiques par MEB et ne tient pas compte des spécificités techniques (type et position du détecteur, distance de travail, tension d'accélération) du microscope utilisé.

Ainsi, il convient dans un premier temps de modifier le script, écrit en Jython, afin de modéliser une particule de SiO_2 déposée sur substrat Silicium. Il est également nécessaire de modifier le code afin de modéliser la géométrie de la colonne Zeiss Gemini et plus spécifiquement le détecteur In Lens utilisé pour collecter les électrons secondaires expérimentalement. Ces diverses modifications apportées au code JMONSEL sont détaillées dans la section suivante.

1.2.1 Modélisation du signal d'une particule de silice déposée sur substrat Silicium

Pour l'ensemble des simulations JMONSEL effectuées dans cette étude, la configuration suivante a été utilisée (Figure 60) : une sphère de SiO_2 , de rayon r et de centre $(0, 0, -R)$, est posée sur un substrat silicium supposé infini.

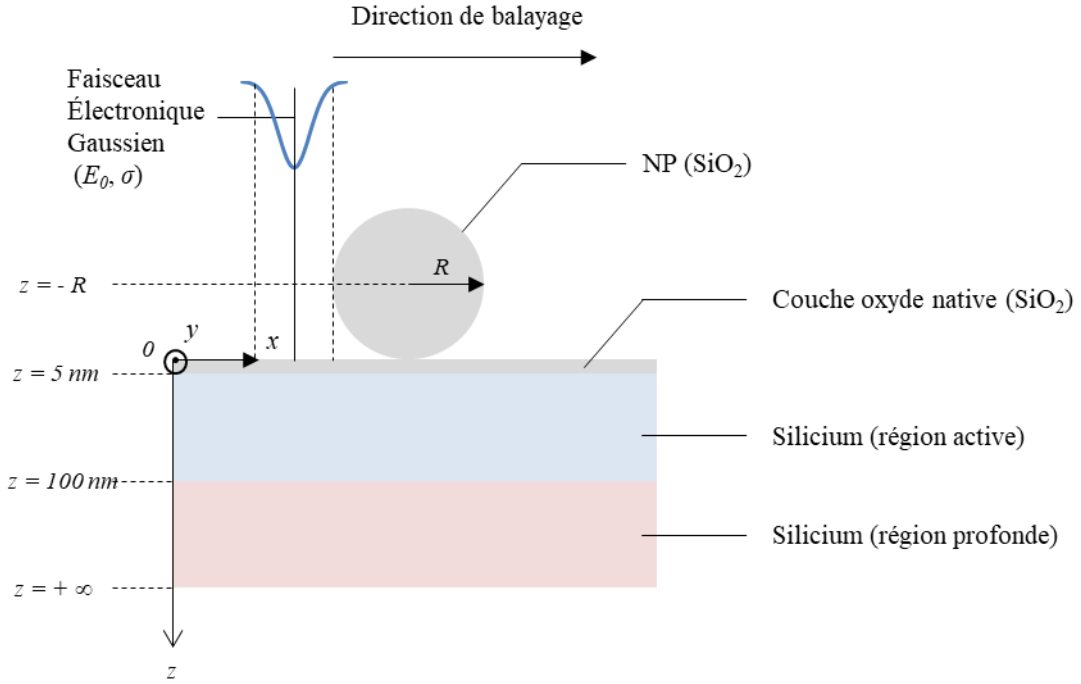


Figure 60 : Représentation de la géométrie de l'échantillon utilisée pour l'ensemble des simulations JMONSEL.

Une couche native d'oxyde de 5 nm d'épaisseur est modélisée sur la surface du substrat. Le substrat, constitué exclusivement de Silicium, est décomposé en deux parties :

- Une région « profonde », au-delà de 100 nm de la surface, où tous les électrons d'énergie inférieure à 50 eV sont immédiatement exclus de la simulation. En effet, à cette profondeur, ces électrons de faible énergie ne peuvent pas ressortir du matériau et être collectés par un détecteur.
- Une région « active », comprise entre 0 et 100 nm, où l'ensemble des électrons sont inclus dans la simulation.

Un faisceau électronique parfaitement Gaussien, d'énergie moyenne E_0 et d'écart-type σ est envoyé sur la surface de l'échantillon depuis une position initiale $(-x_0, 0, -h)$ avec $h \gg R$, h étant la hauteur du point de départ du faisceau électronique et $x_0 > R$. N trajectoires sont modélisées à cette position puis

le faisceau électronique est décalé de $\begin{bmatrix} +\Delta x \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$. On a alors comme nouvelles coordonnées du faisceau $(-x_0 + \Delta x, 0, -h)$.

Pour chaque position le rendement en électrons secondaires δ est calculé en fonction du nombre d'électrons d'énergie < 50 eV ayant heurté le(s) détecteur(s). Cette opération est répétée plusieurs fois afin de simuler les trajectoires électroniques sur l'intervalle $[-x_0, x_0]$ et ainsi dresser le profil d'intensité en électrons secondaires le long de la particule.

1.2.2 Modélisation de la géométrie de la colonne Zeiss Gemini et du détecteur In Lens

La configuration de la colonne électronique (Zeiss Gemini) utilisée lors de l'imagerie des particules par MEB a également été modélisée (Figure 61). Ainsi, le bas de la colonne électronique, correspondant dans ce modèle à un plan infini avec une ouverture circulaire de rayon θ , est situé à une distance de 3 mm de la surface du substrat afin de correspondre à la distance de travail utilisée lors des mesures expérimentales (WD 3 mm).

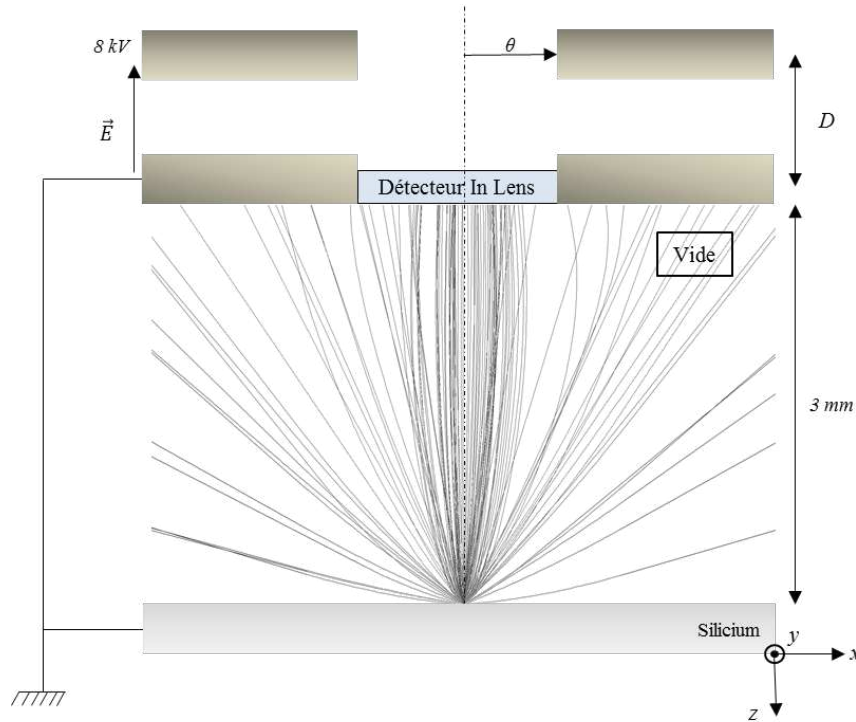


Figure 61 : Représentation de la géométrie de la colonne électronique Gemini (Beam Booster, Détecteur In Lens).

Afin de modéliser l'influence du « Beam Booster » (cf. Section du chapitre 2), ralentissant les électrons primaires et accélérant les électrons secondaires dans la colonne, le plan en bas de la colonne a été relié à la masse. Un deuxième plan, positionné à une distance D du premier, est porté à un potentiel de 8 kV afin de simuler le champ électrique $\vec{E}$ à l'intérieur de la colonne. Un maillage du système (chambre du microscope + volume entre les deux plans chargés) est réalisé en utilisant le logiciel Gmsh® puis est importé dans le script. Une analyse par éléments finis permet de déterminer le potentiel associé à chacune des mailles au cours de la simulation sous l'effet du champ électrique $\vec{E}$.

Étant donné que JMONSEL ne permet pas de modéliser les champs magnétiques, utilisés expérimentalement pour guider les électrons secondaires jusqu'au détecteur In Lens, ce dernier a été placé dans la simulation directement au bas de la colonne. Nous faisons ainsi l'hypothèse que chaque

électron d'énergie inférieure à 50 eV entrant dans l'ouverture de la colonne de rayon θ , est collecté par le détecteur.

Cette configuration sera celle utilisée pour l'ensemble des modélisations effectuées dans ces travaux. Le rendement en électrons secondaires, présenté dans les sections suivantes, correspond ainsi au rapport entre le nombre d'électrons secondaires ayant traversé le bas de la colonne et le nombre d'électrons incidents.

2 MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NANOPARTICULE PAR LA MÉTHODE « MODEL-BASED LIBRARY »

La méthode « Model-Based Library » (MBL) repose sur la comparaison de données expérimentales issues des images MEB avec des données obtenues par la méthode Monte Carlo avec différents jeux de paramètres d'entrée et stockés dans une librairie. Cette comparaison permet de tirer profit des avantages de la modélisation Monte Carlo. En effet, si les données sont similaires, il est possible d'en déduire à partir de la modélisation certains paramètres inconnus expérimentalement. Dans cette étude, la comparaison a pour objectif de déterminer deux paramètres clefs : le rayon de la particule (R) et celui du faisceau électronique (σ).

Pour des raisons de temps de calcul, la comparaison sera uniquement effectuée dans cette étude sur les profils en intensité secondaires extraits le long d'une ligne de balayage passant par le centre de la particule et non pas sur les images entières des nanoparticules. Ainsi, cette approche sera uniquement appliquée sur des particules sphériques.

- (1) Dans un premier temps, les objectifs de la méthode MBL seront détaillés.
- (2) Par la suite, les jeux de paramètres utilisés pour construire la librairie de profils en intensité par la méthode Monte Carlo seront définis. Ces derniers seront sélectionnés en fonction des nanoparticules à étudier mais également selon les paramètres expérimentaux pertinents pour acquérir les images MEB.
- (3) Le critère mathématique utilisé pour comparer le profil d'intensité obtenu expérimentalement avec l'ensemble de la librairie sera ensuite défini. À partir des valeurs de R et σ issues de cette comparaison, la méthode permettant d'estimer le seuil à appliquer sur la particule afin de la segmenter pour mesurer ses propriétés dimensionnelles sera présentée.
- (4) Pour finir un exemple d'utilisation de la méthode MBL sur des particules de silice de référence ERM®-FD101b sera exposé. Le bilan d'incertitudes associé à cette méthode sera également calculé et comparé avec les résultats du Chapitre 3.

2.1 Objectifs de la méthode

À cause de la convolution entre le faisceau électronique et la particule, ayant tous les deux des dimensions inconnues, il est difficile de remonter directement à la taille de la particule à partir d'un profil en électrons secondaires recueilli le long d'une ligne de balayage au centre de la particule comme présenté sur la Figure 62.

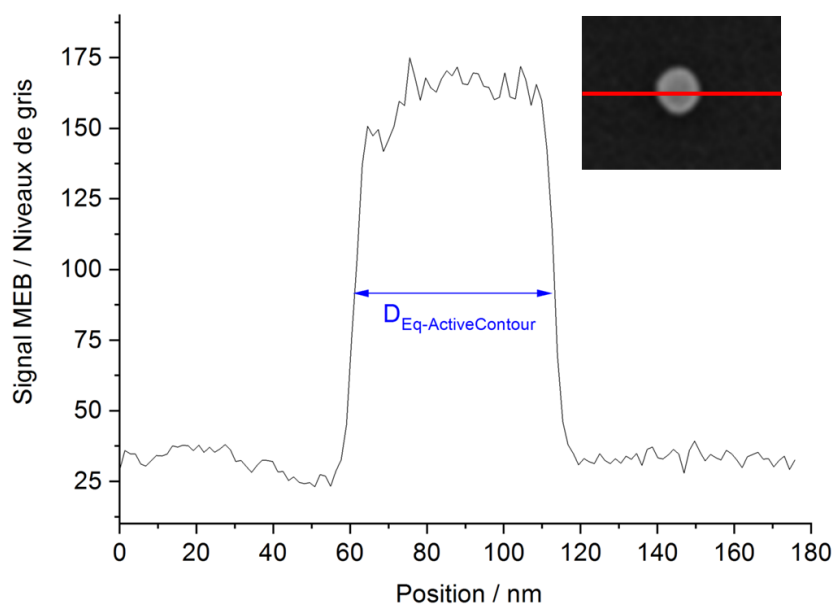


Figure 62 : Profil d'intensité en électrons secondaires d'une nanoparticule de silice recueilli le long d'une ligne de balayage située au centre de la particule. La double flèche sur le profil représente la position théorique à laquelle est prise la mesure de $D_{eq-ActiveContour}$ sur cet exemple.

Afin de déterminer le diamètre équivalent de la particule D_{eq} la méthode Active Contour est utilisée. Cependant, le manque de connaissances sur les dimensions de la particule et du faisceau électronique introduit une forte incertitude sur cette mesure.

Ainsi, certains paramètres clés expérimentaux ne sont pas connus comme par exemple la taille du faisceau électronique. Ces inconnues rendent alors la modélisation du faisceau expérimental difficile. Une méthode inverse est ainsi proposée. Celle-ci consiste à simuler plusieurs profils pour différents jeux de paramètres d'entrées expérimentaux et à procéder ensuite par identification entre les mesures expérimentales (profils obtenus) et la bibliothèque de profils simulés.

Cette approche a notamment été utilisée dans le domaine de la métrologie associée à la mesure des dimensions critiques par MEB où plusieurs études ont suggéré d'effectuer l'approche inverse pour estimer les propriétés dimensionnelles d'un objet à partir d'un profil MEB en utilisant la simulation Monte Carlo : cette méthode porte le nom de « Model-Based Library » (MBL) [11–19].

Dans cette méthode, une large base de données, générée par modélisation Monte Carlo, est créée. Cette dernière est composée de différents profils simulés de l'objet à étudier, pour plusieurs jeux de paramètres d'entrée :

- propriétés du matériau (composition chimique, propriétés électroniques...)
- propriétés du faisceau électronique (taille, énergie...)
- propriétés dimensionnelles de l'objet modélisé (taille, forme...).

Pour des raisons de limitation du temps de calcul, la librairie est composée uniquement de profils d'intensité en électrons secondaires extraits le long d'une ligne de balayage passant par le centre de la particule et non pas d'images complètes. Pour chaque simulation Monte Carlo, une valeur est donnée à chacune des données d'entrées de telle sorte que chaque modélisation corresponde à une combinaison unique de paramètres d'entrée. Parmi ces données d'entrées, certaines sont fixées, indépendantes et classées selon un modèle hiérarchisé (composition chimique, propriétés électroniques par exemple) tandis que d'autres évoluent d'une simulation à une autre (propriétés dimensionnelles de l'objet...) et sont classées selon un modèle relationnel (Figure 63).

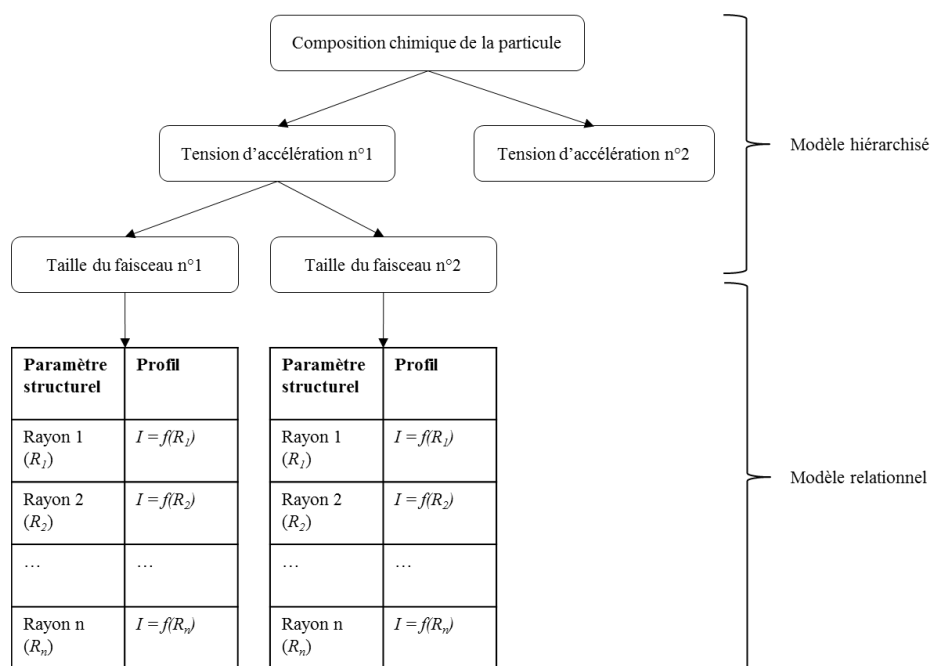


Figure 63 : Schéma de la structure de la base de données utilisée pour l'approche MBL. Figure inspirée et réadaptée de Zou et al. [12]. I représente le profil simulé.

Ainsi, lors du traitement d'une image MEB, deux types de données d'entrées sont utilisées. Dans un premier temps, l'utilisateur indique au programme MBL les paramètres expérimentaux utilisés et connus pour acquérir l'image (tension d'accélération, composition chimique de l'objet imagé...). Le programme va alors parcourir sa structure hiérarchisée pour obtenir la combinaison correspondant aux paramètres expérimentaux renseignés par l'utilisateur. Par la suite, l'objectif du programme est alors

de trouver les paramètres expérimentaux inconnus, à savoir la taille des particules et celle du faisceau électronique. Ces deux paramètres sont ainsi considérés comme des variables par le programme. Pour cela, le programme va comparer, via un critère mathématique, le profil en électrons secondaires obtenu expérimentalement avec l'ensemble de la librairie de profils générés par modélisation Monte Carlo afin de trouver pour quelles valeurs des variables d'entrées (taille de la particule et du faisceau) la meilleure correspondance est obtenue comme présenté sur la Figure 64. Il est également à noter que cette approche est rendue possible par le fait que deux couples (R, σ) différents ne peuvent pas donner deux profils semblables.

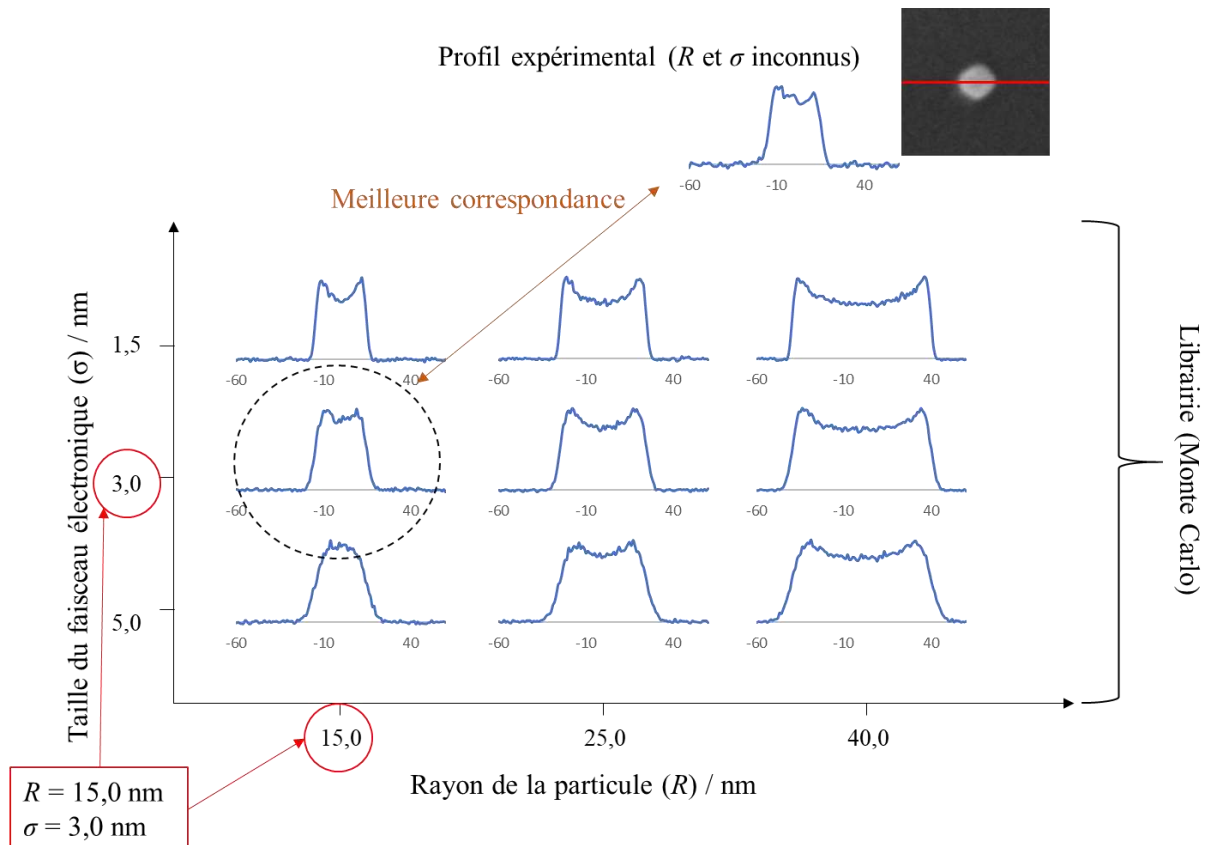


Figure 64 : Principe général de la méthode « Model-Based Library ». Un profil en électrons secondaires recueilli le long d'une ligne de balayage passant par le centre de la particule est comparé avec une série de profils générés par la méthode Monte Carlo en faisant varier le couple R (rayon de la particule) et σ (taille du faisceau). Les paramètres inconnus R et σ sont alors déduits en fonction du profil simulé affichant la meilleure correspondance avec celui obtenu expérimentalement.

2.2 Construction de la base de données

2.2.1 Définition des paramètres d'entrées

Une base de données regroupant les profils d'intensité en électrons secondaires en fonction de la taille du faisceau et de la particule a été établie par simulation. Les profils, centrés au niveau de la particule,

sont constitués de 121 points avec 1 nm entre chacun d'entre eux. Pour chaque point, 4000 trajectoires sont simulées en utilisant les géométries du matériau et du détecteur définies dans la section 1.2.

Pour un couple de paramètres donné, le temps nécessaire à la création d'un profil en électrons secondaires est de 2 à 3 heures. 455 simulations ont été réalisées et ajoutés dans la bibliothèque de profils. Les paramètres implémentés dans la base de données sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Paramètres utilisés pour la création de la base de données sur JMONSEL.

Paramètres de scan	Modèle hiérarchisé				Modèle relationnel	
	Matériau NP	Matériau substrat	Tension d'accélération	Forme des particules	Taille du faisceau électronique	Diamètre des particules
121 points, 1 nm entre chaque point, 4000 électrons par point	SiO ₂	Silicium	3000 eV	Sphérique	1,5 nm 2 nm 3 nm 4 nm 5 nm	De 10 nm à 100 nm par pas de 1 nm (91 tailles différentes)

2.2.2 Détermination du seuil à appliquer en fonction de la taille des particules

Un profil en électrons secondaires a été simulé pour chaque couple de paramètre : $M=f(R, \sigma)$. À partir de ces profils, il est possible de déterminer la position théorique du seuil à appliquer sur les images MEB pour obtenir R . Pour cela, afin de faire correspondre le signal MEB, exprimé en niveaux de gris, avec le signal obtenu sur JMONSEL défini comme un rendement en électrons secondaires, l'ensemble des profils ont été normalisés. Ainsi, pour chaque point sur les profils d'intensité I , l'intensité normalisée I_{norm} est égale à :

$$I_{norm} = \frac{I - I_{min}}{I_{max} - I_{min}} \quad (31)$$

Avec I_{min} l'intensité minimale calculée comme étant le signal moyen au niveau du substrat silicium et I_{max} l'intensité maximale mesurée sur la particule.

Le seuil à appliquer pour obtenir R , en fonction du couple (σ, R) , a été déterminé sur les profils simulés et normalisés entre 0 et 1. Un exemple du seuil théorique en fonction de la taille de la particule est présenté sur la Figure 65 pour une taille de faisceau de 3 nm.

Par conséquent, le profil expérimental extrait au centre de la particule sur l'image MEB est uniquement utilisé par gain de temps afin d'identifier les paramètres σ et R associés à ce profil à partir de la bibliothèque. Cette dernière est alors utilisée pour déterminer le niveau de seuillage à appliquer sur l'ensemble de l'image de la particule pour une identification plus fine de R .

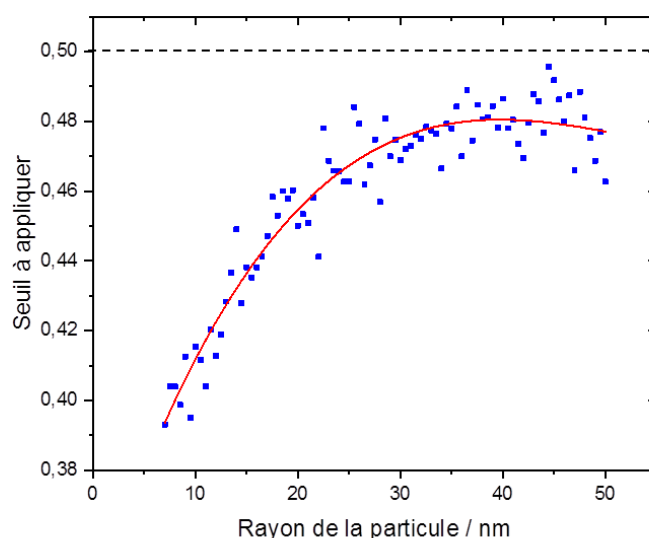


Figure 65 : Seuil théorique à appliquer en fonction du rayon de la particule de silice pour une tension d'accélération de 3000 V et une taille de faisceau σ de 3 nm. Points bleus : résultats pour chaque profil simulé, courbe rouge : ajustement des points par une fonction polynomiale.

2.3 Utilisation de la base de données : comparaison des profils MEB expérimentaux

Un algorithme a ensuite été développé sur le logiciel Matlab afin de sélectionner dans la base de données le profil affichant la meilleure correspondance avec le profil issu d'une image MEB. Cette approche a notamment été appliquée par Villarrubia *et al.* [18, 19] pour mesurer les dimensions critiques de lignes de SiO₂ lithographiées pour une utilisation dans l'industrie des semi-conducteurs.

2.3.1 Comparaison des profils expérimentaux avec la base de données – Critère mathématique

Dans un premier temps, chaque NP doit être identifiée sur l'image MEB d'origine. Pour cela, une fonction a été développée sur Matlab afin d'extraire de l'image chaque NP et ensuite créer une vignette de celle-ci. Plusieurs critères permettent également d'exclure automatiquement les agglomérats ou les pollutions éventuelles. Ainsi, seules les particules d'intérêt (isolées) sont extraites de l'image. Pour chaque particule, la position de son centroïde selon les directions X et Y est déterminée. Ces positions permettent ainsi de déterminer le centre de chaque particule afin de tracer le profil en électrons secondaires expérimental passant horizontalement par ce point. Ce profil est par la suite normalisé entre 0 et 1 puis stocké dans le logiciel afin d'être comparé avec les profils de la base de données comme présenté sur la Figure 64.

La comparaison entre les profils mesurés et simulés est effectuée à partir du calcul du coefficient de corrélation r défini comme tel :

$$r = \frac{Cov(X,Y)}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{E(XY) - E(X)E(Y)}{\sigma_X \sigma_Y} \quad (32)$$

Avec $Cov(X,Y)$ la covariance de X et Y respectivement les intensités normalisées des profils expérimentaux et simulés, σ_X et σ_Y l'écart type associé à chaque variable et $E()$ l'espérance mathématique de chaque variable.

Afin de déterminer quel couple de paramètres permet d'ajuster au mieux le profil mesuré avec un profil simulé, les coefficients de corrélations sont comparés. Le profil simulé donnant le coefficient de corrélation le plus élevé est alors sélectionné. Les valeurs du couple de paramètres associées au profil simulé sélectionné sont alors extraites. Il est également possible de vérifier le résultat en traçant les deux profils comme présenté sur la Figure 66.

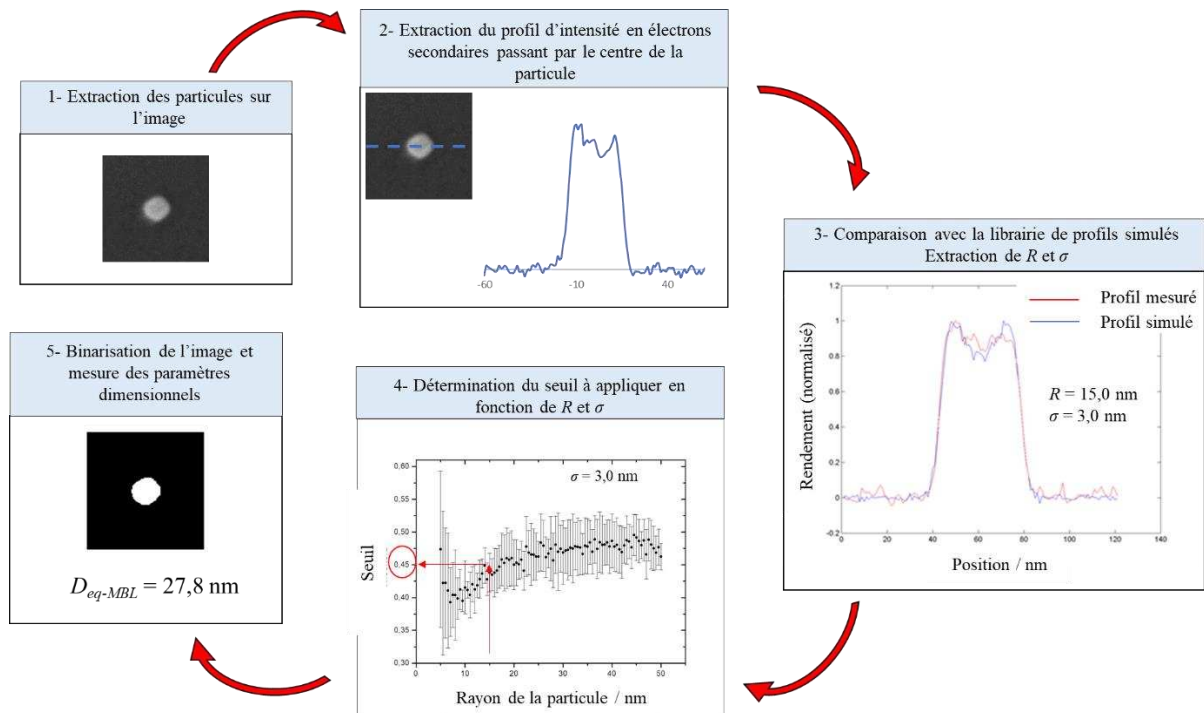


Figure 66 : Démarche appliquée pour mesurer les propriétés dimensionnelles d'une nanoparticule selon la méthode MBL : 1 – Une particule est extraite de l'image MEB et la vignette associée est créée. 2 – Sur cette particule, le profil d'intensité en électrons secondaires passant par le centre de cette dernière est extrait. 3- Le profil extrait est comparé avec l'ensemble de la librairie de profils simulés pour déterminer R et σ . 4- Ces deux paramètres sont utilisés pour déterminer le seuil à appliquer. 5- Les paramètres dimensionnels sont calculés à partir de l'image binaire.

Par conséquent, pour chaque profil mesuré, une valeur est associée à chacun des deux mesurandes R et σ correspondant respectivement aux dimensions de la particule et du faisceau électronique simulés donnant le coefficient de corrélation le plus proche.

2.3.2 Utilisation de la base de données pour l'amélioration de la binarisation des images MEB

À partir de ces valeurs de R et σ il est possible d'estimer le seuil à appliquer sur la particule afin de la segmenter pour mesurer ses propriétés dimensionnelles. En d'autres termes, il est possible de connaître à quel niveau du profil la largeur de celui-ci correspond au diamètre exact des particules. Le programme va ainsi rechercher la valeur de seuil théorique associée au couple (R, σ) pour chacune des vignettes (Figure 67). Une image binaire est ensuite créée par une binarisation à hauteur du seuil théorique associée à chaque vignette. Les paramètres dimensionnels (diamètre équivalent et diamètres de Feret) sont ensuite déterminés à partir de l'image binaire comme détaillé dans la section 2.3.1 du chapitre 2.

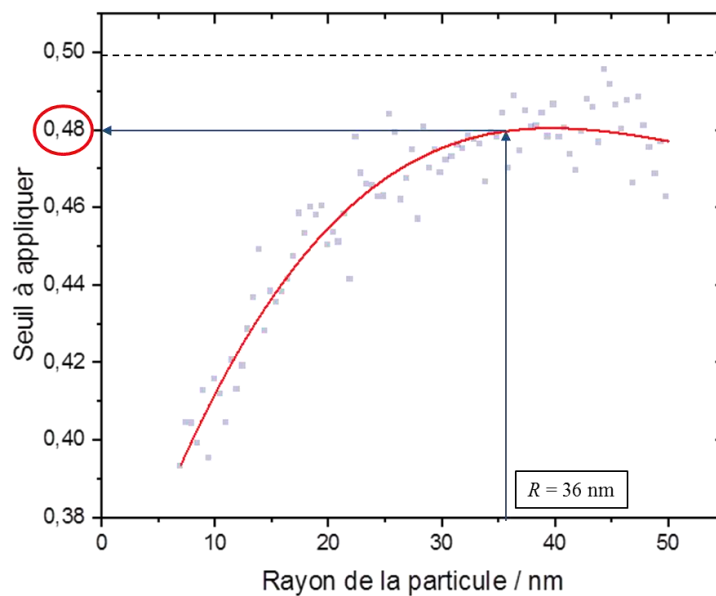


Figure 67 : Détermination du seuil à appliquer sur la vignette MEB en fonction du couple (R, σ) pour une particule de silice avec une tension d'accélération de 3000 eV. Exemple pour une particule dont la meilleure correspondance est $R = 36$ nm et $\sigma = 3$ nm.

Cette méthode présente plusieurs avantages, en effet généralement un seuil unique est appliqué sur l'ensemble de l'image. Dans le cas présent, un seuil différent est déterminé pour chaque vignette. Cela permet, dans un premier temps, de s'affranchir des variations d'intensité correspondant au substrat. Un seuil adapté à chaque particule, en fonction de son diamètre, peut ainsi être déterminé (Figure 67).

2.4 *Évaluation de l'incertitude de mesure liée à la mesure du diamètre équivalent d'une population de nanoparticules par la méthode « Model-Based Library »*

Deux mesurandes associés à la méthode « Model-Based Library » (MBL) sont extraits. Le premier est la taille du faisceau électronique supposé gaussien représentée par son écart-type σ . Le second est le diamètre équivalent en surface projetée de la particule, noté D_{eq-MBL} , déterminé à la suite de la binarisation de l'image de la particule en utilisant un seuil adapté (cf. section précédente) et à différencier de $2 \cdot R$, le paramètre de sortie issue de la comparaison entre le profil expérimental et la librairie de profils simulés. À partir de la mesure de D_{eq-MBL} pour chaque particule présente sur l'image MEB, un histogramme de distribution de tailles en nombre peut être construit. Sur ce dernier, le mode de distribution associé à la mesure de D_{eq-MBL} peut être évalué.

Dans le cas où la distribution suit une loi gaussienne, le mode de la distribution correspond au diamètre équivalent moyen en surface projetée $\bar{d}$ qui est évalué sur un nombre N de particules mesurées selon la formule :

$$\bar{d} = \frac{\sum D_{eq}}{N} \quad (33)$$

2.4.1 *Identification et classification des sources d'erreurs*

Dans le chapitre 3, nous nous étions attachés à lister les différentes composantes d'incertitudes pour la mesure du mode/de la moyenne d'une population de nanoparticules de silice par MEB. Dans ce chapitre, nous partons de cette liste pour établir le bilan d'incertitudes associé à la méthode de mesure MBL. Ainsi, de nouvelles contributions associées à la méthode MBL sont à prendre en compte en remplacement des incertitudes liées aux méthodes de segmentation classiques (Active Contour) présentées dans le chapitre 3. De plus, certaines contributions sont à supprimer et d'autres, enfin, sont à recalculer. Les contributions associées à la méthode MBL sont présentées sur la Figure 68.

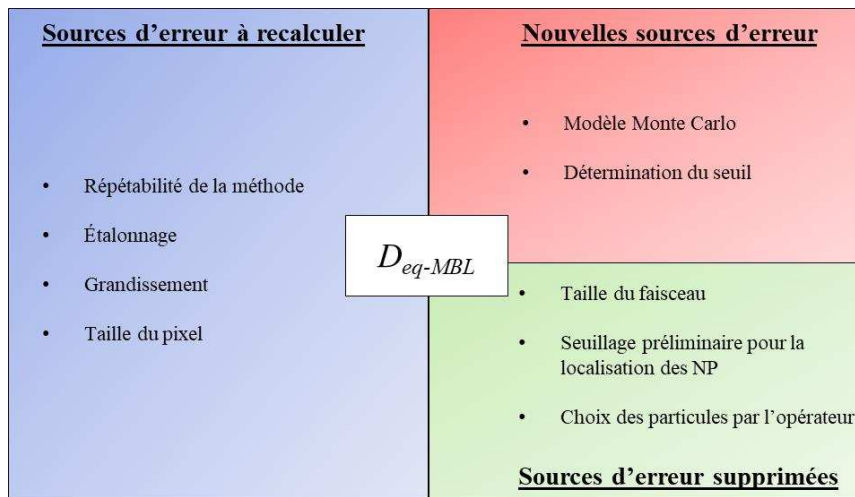


Figure 68 : Comparaison des nouvelles sources d'erreur, de celles supprimées et de celles à recalculer pour établir le bilan d'incertitudes associé à la mesure de D_{eq-MBL} par rapport à celles associées à la mesure du diamètre équivalent en utilisant la méthode Active Contour.

Aussi, étant donné que le traitement est effectué de manière automatique, les contributions du seuillage lors du traitement de l'image (localisation des NPs) et du choix des particules par l'opérateur sont supprimées du bilan d'incertitudes. De plus, la taille du faisceau électronique étant désormais un mesurande à part entière avec cette méthode, l'incertitude associée à ce paramètre est exclue du bilan d'incertitudes.

Les nouvelles sources d'erreur à prendre en compte dans le bilan d'incertitudes sont :

- L'erreur sur le modèle Monte Carlo
- L'erreur sur la détermination du seuil

2.4.2 Incertitude sur le modèle Monte Carlo

La simulation par la méthode Monte Carlo peut également introduire des erreurs sur le résultat final. En effet, parmi les sources d'erreurs possibles, certains mécanismes d'interactions peuvent être absents dans le modèle. De plus, des approximations ont pu être faites sur les mécanismes présents dans le modèle entre les électrons et les atomes de l'échantillon. Si ces approximations sont grossières, le résultat (rendement en électrons secondaires) donné par le modèle peut être différent du résultat réel obtenu expérimentalement. Une mauvaise définition des propriétés des matériaux peut également conduire au même effet.

Un problème récurrent rencontré lors de l'imagerie des matériaux isolants par MEB est l'apparition d'effets de charge. Ces mécanismes d'accumulation des charges électriques dans le matériau sont implémentés dans JMONSEL : en effectuant un maillage de la surface, il est possible de déterminer l'équilibre des charges pour chacune des mailles lors de la simulation au temps t et d'inclure les

champs électriques internes causés par cet effet pour la simulation au temps $t+1$. Cependant, comme JMONSEL a été conçu afin de simuler le signal MEB de systèmes assimilables à des jonctions MOS (« Metal-Oxide-Semiconductor »), aucun modèle d'évacuation des charges n'a été défini pour la simulation d'une particule constituée d'un matériau isolant et placée sur un substrat conducteur ou semi-conducteur. Par conséquent, les effets de charge dans la particule n'ont pas été pris en compte dans cette étude. Cette absence peut ainsi introduire des différences entre le rendement simulé et celui obtenu expérimentalement.

Une autre source d'erreur du modèle de simulation Monte Carlo est l'hypothèse d'une géométrie parfaitement sphérique pour les particules de silice. Ainsi, si une particule imagée par MEB n'est pas parfaitement circulaire dans le plan XY , un écart sera observé entre son profil et ceux simulés dans la base de données. Afin de limiter cet effet, une condition sur la sphéricité dans le plan est ajoutée lors de la localisation et de la sélection automatique des particules sur l'image dans le programme développé avec Matlab. Cette condition impose de ne sélectionner que les particules dont le rapport d'aspect (ratio entre sa plus grande dimension et sa plus petite (cf. Chapitre 2)) est inférieur à 1,2. De plus, si le rapport hauteur/diamètre est différent de 1, des écarts peuvent potentiellement être observés sur la forme des profils. Afin d'évaluer cet effet, les profils de trois particules de diamètre $D_{JMONSEL} = 60$ nm, avec des hauteurs h respectives égales à 10 nm, 30 nm et 60 nm (soit des rapports respectifs de 6, 2 et 1) ont été simulés avec JMONSEL. Les profils normalisés correspondants sont présentés sur la Figure 69-a.

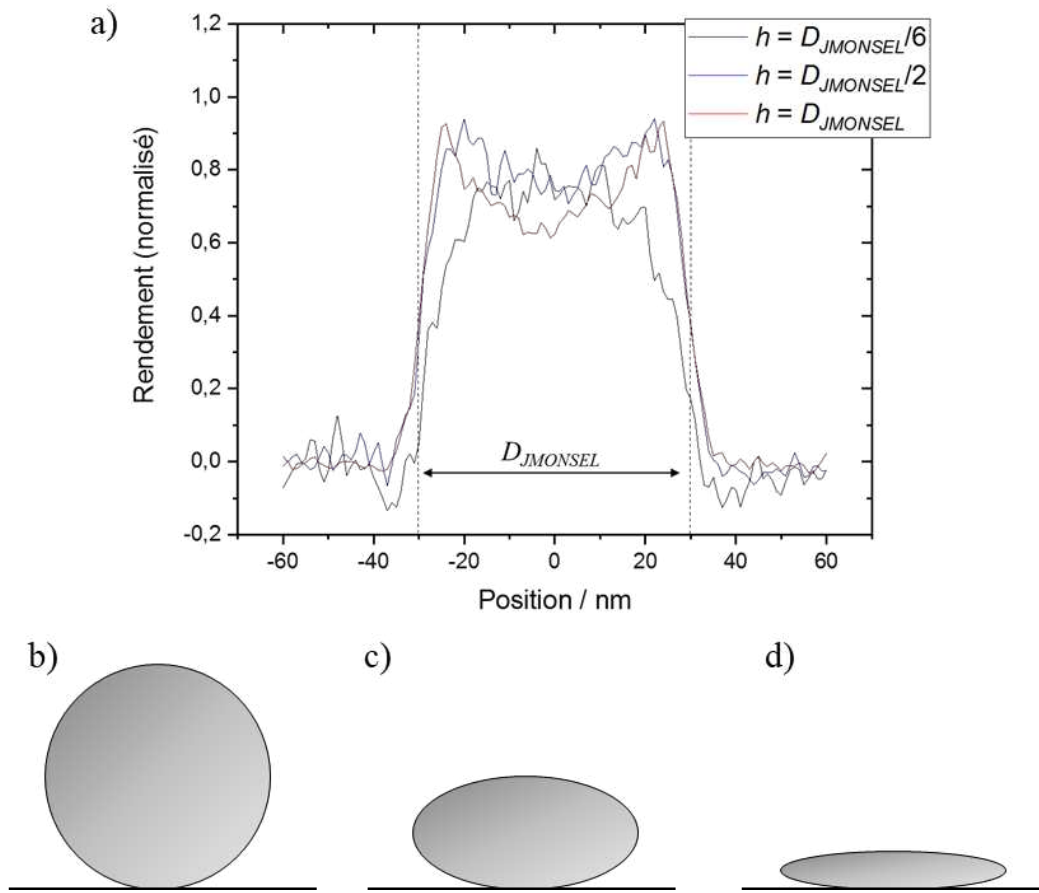


Figure 69 : a) Influence du rapport d'aspect ($h = D_{JMONSEL}/6$, $h = D_{JMONSEL}/2$ et $h = D_{JMONSEL}$) d'une nanoparticule de silice sur le profil d'intensité en électrons secondaires. Représentation du rapport d'aspect b) $h = D_{JMONSEL}$, c) $h = D_{JMONSEL}/2$ et d) $h = D_{JMONSEL}/6$.

Ainsi, même si la forme d'une particule dont $h = D_{JMONSEL}/2$ est très éloignée d'une particule sphérique ($h = D_{JMONSEL}$), leurs profils restent similaires. Le profil d'une particule avec $h = D_{JMONSEL}/6$ est sensiblement différent des deux précédents. Cette forme est cependant loin d'être réaliste pour des particules de silice. Ainsi, nous pouvons supposer que l'influence de ce paramètre peut être négligée.

Une dernière source potentielle d'erreur provient du critère d'identification utilisée pour déterminer la meilleure corrélation entre profils mesurés et simulés. Cette méthode a été sélectionnée afin de réduire le temps de calcul. Cependant elle peut introduire des sources d'erreurs. En effet, parmi l'ensemble des profils simulés, fonctions de (σ, R) , seul celui donnant le meilleur coefficient de corrélation est conservé. Ainsi deux coefficients de corrélation proches $r_1 = f(\sigma_1, R_1)$ et $r_2 = f(\sigma_2, R_2)$, peuvent donner deux résultats différents sur la valeur du seuil à appliquer. Aussi, si le profil MEB ne correspond à aucun des profils simulés, le programme ira tout de même rechercher la meilleure corrélation. Ces deux effets sont cependant contrôlés visuellement par l'opérateur : pour chaque particule, son profil ainsi que celui correspondant à la meilleure corrélation dans la base de données sont affichés. En cas de doute, la particule n'est pas comptée. Une des solutions utilisées pour limiter l'influence de ce

paramètre est d'effectuer uniquement la comparaison sur les bords du profils. Ainsi, le centre de la particule ainsi que le signal lié au substrat ne sont pas pris en compte lors du calcul du coefficient de corrélation comme présenté sur la Figure 70.

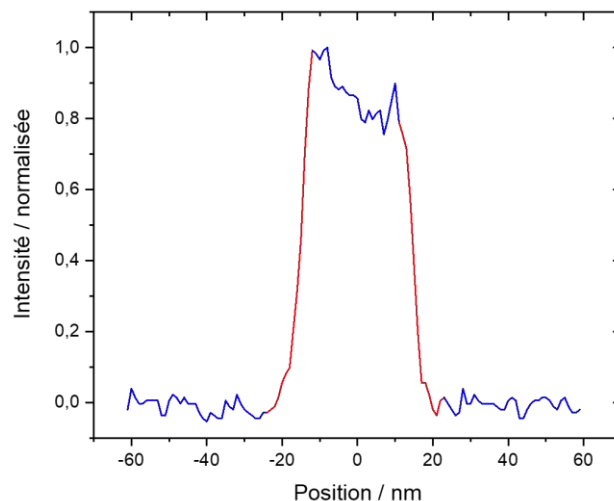


Figure 70 : Profil d'intensité en électrons secondaires normalisé passant par le centre d'une particule de silice sur une image MEB. Les parties de la courbe en rouge correspondent aux zones prises en compte pour le calcul du coefficient de corrélation, les parties en bleu celles non prises en compte (signal lié au centre de la particule et au substrat).

2.4.3 Répétabilité de la méthode

La répétabilité de la mesure du diamètre moyen d'une population de 250 NPs de silice ERM®-FD304 par la méthode MBL a été évaluée. Pour chaque série de mesures, dix images sont acquises aléatoirement sur le substrat. Le diamètre moyen équivalent en surface projetée est évalué sur ces images en utilisant la méthode MBL.

Dix séries de dix images ont été effectuées. Chaque série est réalisée en acquérant des images sur une zone restreinte sur l'échantillon, celle-ci étant sélectionnée aléatoirement. Entre chaque série, le faisceau électronique est coupé et les paramètres d'imageries sont réajustés. Les résultats sont présentés sur le Tableau 26.

Tableau 26 : Mesures du diamètre moyen équivalent en surface projetée, évalué en utilisant la méthode MBL de plusieurs populations de 250 NPs de silice ERM®-FD304

Série n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Diamètre										
moyen	25,3	25,4	25,4	24,6	24,2	25,0	25,2	25,3	25,9	25,4
équivalent / nm										
								Moyenne / nm		25,2
								Ecart-type / nm		0,5

Le diamètre moyen est égal à 25,2 nm avec un écart type de 0,5 nm entre les séries de mesure. À titre de comparaison, l'autre méthode d'analyse donne pour les mêmes séries de mesures un résultat moyen égal à 27,7 nm avec un écart-type de 0,4 nm en utilisant la méthode Active Contour pour les mêmes populations de nanoparticules avec une sélection automatique des particules. Cette méthode de sélection, peut expliquer la répétabilité différente par rapport à celle obtenue lors des mesures présentées dans le chapitre 3 (0,6 nm ($k = 1$)). En effet, dans le chapitre précédent, les particules étaient sélectionnées une à une par l'opérateur.

2.4.4 Incertitudes sur la détermination du seuil à appliquer

L'estimation du seuil à appliquer pour la segmentation des particules sur les vignettes est une étape essentielle de la méthode MBL. Ainsi, comme présenté sur la Figure 67, à partir du couple de paramètre (R , σ) donnant le meilleur coefficient de corrélation, le programme détermine le seuil à appliquer. Une fonction polynomiale est utilisée pour ajuster les courbes $Seuil = f(R)$ pour chaque valeur de σ simulée. La qualité de l'ajustement polynomial est liée à la dispersion des points autour de cette courbe qui elle-même provient du bruit présent sur les profils simulés. L'incertitude associée à la position du seuil à appliquer est évaluée en calculant les résidus de l'ajustement pour chaque courbe (Figure 71). Pour $\sigma = 3$ nm, l'écart-type résiduel est évalué à 0,01 nm.

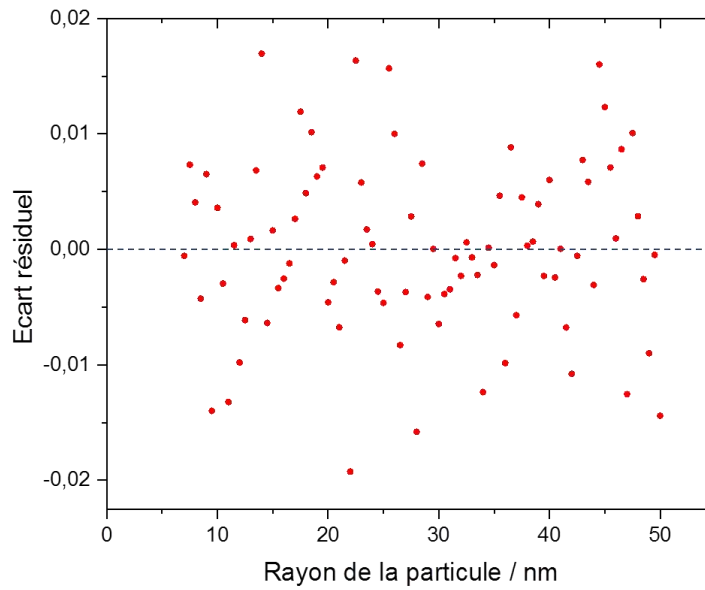


Figure 71 : Exemple de résidus de l'ajustement polynomial pour la courbe $\text{Seuil} = f(R)$ avec $\sigma = 3 \text{ nm}$.

Ainsi, le diamètre équivalent moyen d'une population de 250 nanoparticules de silice ERM®-FD304 a été mesuré en appliquant la méthode MBL. Afin d'évaluer l'influence de l'incertitude associée au placement du seuil, la même méthode a été utilisée en modifiant la position du seuil de $\pm 0,01$ pour chaque vignette. Les résultats sont présentés dans le Tableau 27.

Tableau 27 : Diamètre moyen équivalent en surface projetée d'une population de 250 NPs de silice ERM®-FD304 en fonction de la position du seuil (ajustement polynomial $\pm 0,01$).

Position du seuil	Ajustement polynomial	Ajustement polynomial – 0,01	Ajustement polynomial + 0,01
Diamètre moyen équivalent en surface projetée / nm	26,4	26,5	26,3

L'écart maximal sur le diamètre moyen équivalent en surface projetée est égal à 0,2 nm. Ainsi, l'incertitude associée au placement du seuil est égale à :

$$u(\text{placement du seuil}) = \frac{0,2}{2\sqrt{3}} = 0,1 \text{ nm} \quad (34)$$

En comparaison avec la répétabilité de la méthode de mesure, cette contribution peut être considérée comme négligeable.

2.4.5 Bilan d'incertitudes associée à la méthode MBL

Un exemple de bilan d'incertitudes associé à la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de 250 particules ERM[®]-FD304 par la méthode MBL est donné sur le Tableau 28. À cause de l'influence de la taille du pixel, la valeur de $D_{MEB-MBL}$ corrigée est ainsi égale à 25,9 nm avec une incertitude de 0,60 nm ($k = 1$). La plus grande contribution au bilan d'incertitudes est désormais la répétabilité de la méthode de mesure (77,9 %).

Tableau 28 : Bilan d'incertitudes pour la mesure du diamètre équivalent moyen d'une population de 250 NPs ERM[®]-FD304 par la méthode MBL.

Source	Type d'évaluation	Symbole	Unité	Valeur	$u(x_i)$	Coefficient de sensibilité c_i	$c_i \cdot x_i$	$c_i^2 \cdot x_i^2$	Contribution / %
Répétabilité	A	C_r	-	0	0,5	1,0	0,50	0,25	77,9
Étalonnage P ₉₀₀ H ₆₀	B	$C_{\text{étal}}$	nm	0	1,0	26,3/900,2	0,02	0,0004	0,1
Grandissement	B	C_g	nm	0	0,26	1,0	0,26	0,07	21,9
Taille du pixel	A	C_{TP}	nm	-0,3215	0,014	1,4	0,02	0,0004	0,1
$D_{MEB-MBL}$			25,9	nm					
						Variance	0,32	nm ²	
						Incertitude Standard	0,60	nm	
						k	2		
						Incertitude élargie	1,20	nm	

3 NOUVELLE MÉTHODE DE SEGMENTATION DES IMAGES MEB FONDÉE SUR L'UTILISATION D'UN POINT REMARQUABLE POUR MESURER LES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE NP

Cette section s'intéresse à la mise en place d'une méthode utilisant un point remarquable, indépendant de la taille du faisceau, pour extraire le contour des particules. Dans cette section, la méthode MBL, développée précédemment, n'est plus utilisée. Cependant, la méthode Monte Carlo sera utilisée afin de déterminer la position du point remarquable vis-à-vis du bord de la particule.

3.1 Définition du point remarquable

Le signal MEB est marqué par la convolution entre le faisceau électronique, supposé gaussien, et l'objet à étudier. Comme nous venons de le voir dans les différentes parties de ces travaux, cette convolution a une influence majeure sur la mesure des propriétés dimensionnelles de l'objet à étudier, notamment lors de l'utilisation de la méthode « Active Contour ». La recherche de méthodes permettant de limiter l'influence de cette convolution représente ainsi un point clef.

Plusieurs études ont mis en évidence la présence d'un point remarquable sur les profils MEB [12, 20, 21]. Ces dernières se sont concentrées sur la mesure de dimensions critiques par MEB [12], l'évaluation du diamètre d'une NP à l'aide de TSEM (« Transmission Scanning Electron Microscopy ») [20] ou les mesures d'épaisseur de couche d'or à l'aide d'un signal d'électrons rétrodiffusés par MEB [21]. Dans chacune de ces études, basées sur une approche par simulation Monte Carlo, les auteurs ont souhaité étudier l'influence de la taille du faisceau sur la forme du profil de l'objet à étudier. Leurs résultats montrent que, indépendamment du mode d'imagerie utilisé, lorsqu'un même objet est imagé avec différentes tailles de faisceau, les profils d'intensité simulés se coupent tous en un point proche du bord de l'objet. Une explication a été donnée pour ce phénomène : ce point représente la position à laquelle 50 % des électrons incidents interagissent avec l'objet et 50 % vont directement dans le substrat. Ainsi, quelle que soit la taille du faisceau, cette position n'évolue pas comme présenté sur la Figure 72.

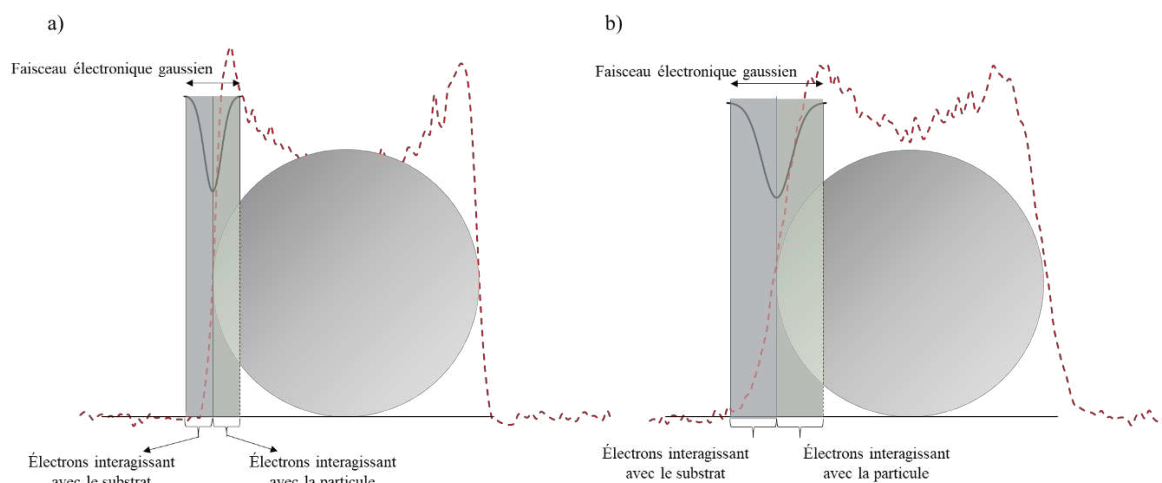


Figure 72 : Position du faisceau électronique, supposé gaussien, pour laquelle 50 % des électrons incidents interagissent directement avec le substrat et 50 % avec la particule. La courbe en tirets rouges représente le profil d'intensité en électrons secondaires d'une particule de silice de rayon $R = 30$ nm obtenu par simulation Monte Carlo pour une taille de faisceau σ égale à a) 1,5 nm et b) 5,0 nm.

Ce point remarquable a été ainsi observé dans plusieurs études mais n'a pas été pleinement exploité jusqu'à présent. De plus, aucune étude n'a été menée sur son existence lors de l'imagerie de NPs par les électrons secondaires au MEB. Par conséquent, dans cette section, nous proposons d'utiliser ce point remarquable afin de localiser le contour d'une NP sur une image MEB et, ainsi, de déterminer D_{eq} avec une incertitude réduite puisque le principal avantage de cette méthode est que la position de ce point est indépendante de la taille du faisceau électronique. Afin de vérifier que cette méthode n'introduit pas de biais sur la mesure du diamètre équivalent, la modélisation Monte Carlo sera utilisée pour démontrer l'existence et la position du point invariant vis-à-vis du bord de la particule.

3.2 Procédure expérimentale

3.2.1 Vérification de la présence du point remarquable en MEB par la modélisation Monte Carlo

La première étape consiste à vérifier si ce point remarquable est également présent lors de l'imagerie de nanoparticules par les électrons secondaires. De plus, il est aussi nécessaire de déterminer théoriquement la position de ce point vis-à-vis du bord de la particule. Par conséquent, le profil d'intensité en électrons secondaires d'une même particule ayant un diamètre fixé ($D_{JMONSEL} = 40$ nm) a été simulé, selon les paramètres du modèle Monte Carlo définis en 1.1, en utilisant trois tailles de faisceau différentes ($\sigma = 1,5$ nm, $\sigma = 3,0$ nm et $\sigma = 5,0$ nm). Les 3 profils normalisés sont présentés sur la Figure 73-a. À partir des profils normalisés, la position où les courbes se croisent est déterminée en calculant l'écart type du niveau d'intensité pour chaque point entre les trois profils (Figure 73-b). Ainsi, théoriquement, pour ce point remarquable, l'écart type doit être nul ou minimal. De plus, du fait de la convolution NP/faisceau électronique, l'écart type doit être maximal autour de ce point.

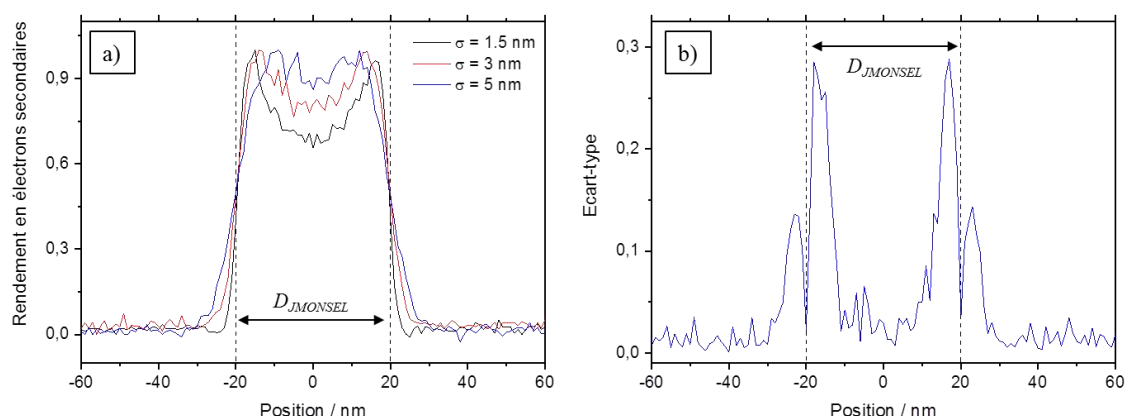


Figure 73 : (a) Profils d'intensité en électrons secondaires normalisés d'une particule de silice de diamètre 40 nm simulée avec différentes tailles de faisceau en utilisant JMONSEL. Ici, les différentes courbes se croisent à une valeur d'intensité normalisée égale à 0,45 (b) Écart-type entre les trois profils en fonction de la position.

On observe ainsi, sur la Figure 73-b, que les profils simulés présentent bien un point invariant et que celui-ci correspond bien au bord de la particule. Ainsi, la méthode Monte Carlo a permis de mettre en évidence la présence du point invariant lors de l'imagerie de nanoparticules par MEB. De plus, ce point présente l'avantage d'être parfaitement déterminé sur les profils simulés.

3.2.2 Modification de la taille du faisceau expérimentalement

Le point invariant a été mis en évidence par simulation Monte Carlo. Cependant, il est désormais nécessaire de trouver une méthode permettant d'exploiter expérimentalement ce point. Ainsi, le

faisceau électronique est focalisé sur la surface de l'échantillon par la lentille objectif située en bas de la colonne du MEB. La taille du faisceau d'électrons, lors de l'interaction avec la surface de l'échantillon dépend de la position du plan focal. Sur le MEB Zeiss Ultra Plus, la position de ce dernier est ajustée expérimentalement à l'aide du bouton « Focus ». Par conséquent, dans cette étude, la taille du faisceau est modifiée en tournant ce bouton. Des images d'une même zone ont ainsi été acquises successivement avec des mises au point différentes. Pour une même zone, trois images sont acquises, la première étant effectuée avec des réglages de mise au point optimisés (Figure 74). Les deux autres avec une légère défocalisation en avant ou en arrière du plan de l'échantillon

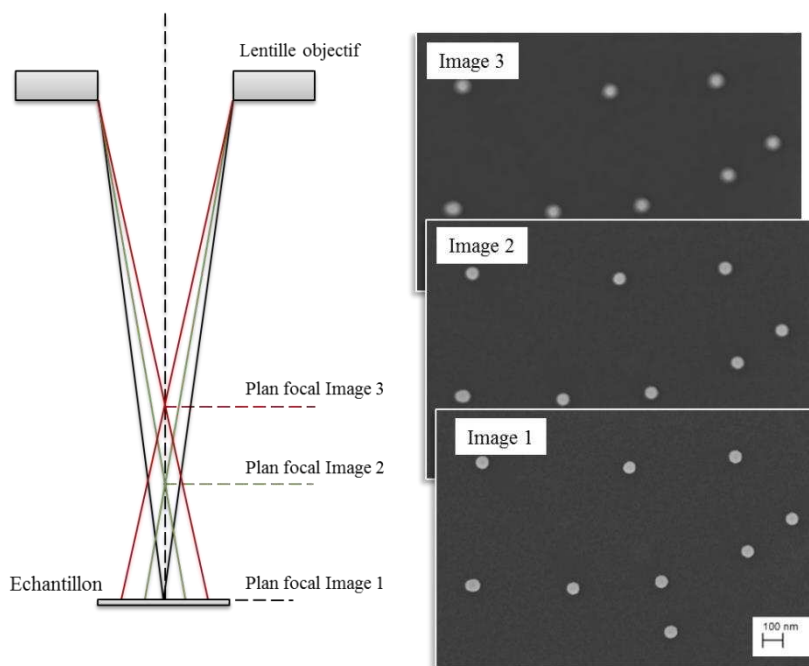


Figure 74 : Principe de la méthode de modification de la taille du faisceau par MEB et images correspondantes obtenues sur la même zone. L'image 1 a été effectuée avec des réglages de mise au point optimisés, les images 2 et 3 avec une légère défocalisation.

3.2.3 Extraction du point remarquable et mesure du diamètre équivalent en utilisant une routine Matlab®

Afin d'extraire les contours des particules sur les images MEB en utilisant la méthode du point remarquable, une routine Matlab a été développée. Pour cela, une image d'écart type est créée via Matlab à partir de la combinaison d'images de la même zone avec différentes tailles de faisceau. Sur cette image, les minima locaux (Figure 73-b) sont identifiés. Cette routine comprend plusieurs étapes : (1) Tout d'abord, pour chaque image, les particules sont localisées et indexées en utilisant un seuillage aléatoire.

(2) Ensuite, une vignette de chaque particule est créée (Figure 75). Ainsi pour une même particule, trois vignettes sont disponibles correspondant aux trois tailles de faisceau différentes. Afin d'être directement comparés entre elles, les vignettes sont centrées sur les centroïdes des particules. Faire la

comparaison sur les vignettes plutôt que sur l'image entière permet d'ignorer les dérives de l'instrument présentes entre chaque acquisition d'image.

(3) Par la suite, une image d'écart-type est générée en utilisant les trois vignettes créées pour une même NP (Figure 75). Celle-ci est obtenue en calculant l'écart-type pixel par pixel entre chaque vignette de la même particule.

(4) Les minima locaux, tout autour de la particule sont ensuite localisés sur l'image d'écart-type. Le contour de la particule est ensuite tracé sur une dernière image sélectionnant les pixels correspondants aux minima locaux. L'aire de la particule est finalement calculée comme le nombre de pixels à l'intérieur du contour défini par les minima locaux, ce qui permet de calculer le diamètre équivalent associé à cette méthode : $D_{eq-PointInvariant}$ que l'on nommera pour la suite D_{eq-PI} .

(5) La routine Matlab comprend également, à titre de comparaison, un algorithme Active Contour afin de calculer $D_{eq-ActiveContour}$ pour chaque particule sur chaque vignette. Cette méthode est appliquée uniquement sur les vignettes correspondantes à l'image focalisée.

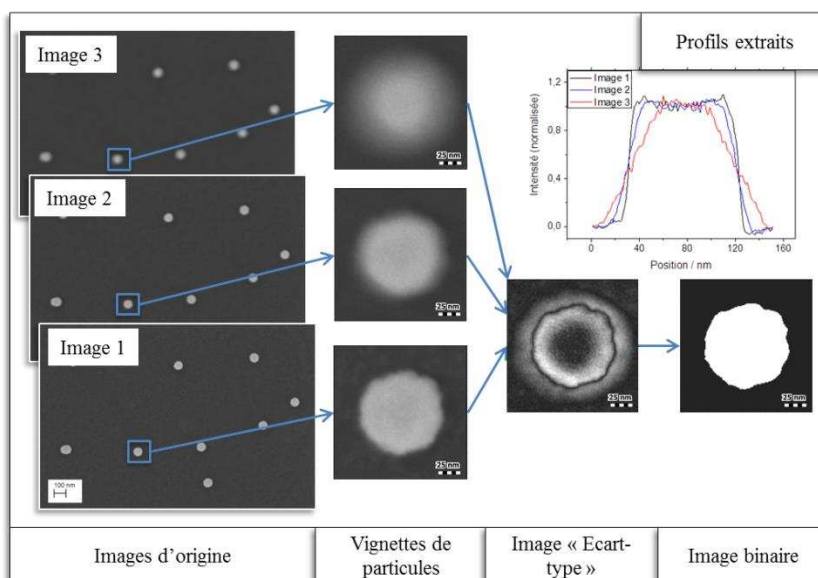


Figure 75 : Principe d'extraction de D_{eq-PI} sur des images MEB prises avec différentes largeurs de faisceau en utilisant un programme développé sur Matlab.

3.3 Évaluation de l'incertitude associée à la méthode de segmentation utilisant le point invariant

Le bilan d'incertitudes sur le mode de distribution de D_{eq-PI} pour une population de particules de référence ERM[®]-FD101b en utilisant la méthode du point invariant a été évalué. Pour cette méthode, la contribution de la largeur du faisceau électronique est considérée comme étant nulle car la position du point d'intersection entre les profils est indépendante de ce paramètre. La répétabilité de la mesure avec cette méthode a été évaluée sur trois populations de 200 particules de référence ERM[®]-FD101b. Pour les trois mesures, la moyenne est égale à 83,7 nm, avec un écart-type de 0,8 nm.

Cependant, une nouvelle contribution doit être prise en compte. En effet, la méthode du point invariant est fondée sur la combinaison de plusieurs vignettes d'une même particule prises sur des images réalisées avec des tailles de faisceau différentes. Aussi, afin d'être théoriquement correctement superposées, les vignettes sont extraites et centrées en fonction des centroïdes de l'objet. Cependant, plusieurs phénomènes peuvent générer un décalage entre le centroïde réel de la particule et celui déterminé à partir des images. Par exemple, les aberrations du faisceau électronique peuvent modifier la position du centroïde de l'objet sur l'image binaire et par conséquent désaligner entre elles les vignettes obtenues à partir des images focalisées et défocalisées. Afin d'évaluer l'influence de ce désalignement sur la mesure de D_{eq-PI} , certaines vignettes d'une même particule ont été volontairement décalées. Ainsi, 81 combinaisons différentes ont été testées. Une combinaison correspond au décalage de la vignette d'un ou deux pixel(s) selon les directions X ou Y. L'image obtenue à partir des minima locaux et le diamètre équivalent sont par la suite calculés pour chaque combinaison. Sur les 81 combinaisons, l'écart-type entre l'ensemble des résultats est égal à 0,1 nm pour une seule particule.

Le bilan d'incertitudes associé à la mesure par la méthode de segmentation utilisant le point invariant est présenté sur le Tableau 29.

Tableau 29 : Bilan d'incertitude pour la mesure du mode de distribution sur le diamètre équivalent d'une population de particules certifiées ERM[®]-FD101b en utilisant la méthode du point invariant.

Source	Type d'évaluation	Symbole	Unité	Valeur	$u(x_i)$	Coefficient de sensibilité c_i	$c_i \cdot x_i$	$c_i^2 \cdot x_i^2$	Contribution / %
Répétabilité	A	C_r	-	0	0,8	1,0	0,80	0,64	88,1
Etalonnage P ₉₀₀ H ₆₀	B	$C_{étal}$	nm	0	1,0	83,7/900,2	0,09	0,01	1,2
Grandissement	B	C_g	nm	0	0,26	1,0	0,26	0,07	9,3
Taille du pixel	A	C_{TP}	nm	-0,3215	0,014	1,4	0,02	0,0004	0,1
Alignement des vignettes	A	C_A	nm	0	0,1	1,0	0,10	0,01	1,4
$D_{eq-PI-corrigé}$			83,3	nm					
							Variance	0,73	nm ²
							Incertitude Standard	0,85	nm
							k	2	
							Incertitude élargie	1,70	nm

Le mode de distribution de D_{eq-PI} est égal à $(83,3 \pm 0,9)$ nm ($k = 1$). La principale contribution au bilan d'incertitude correspond désormais à la répétabilité de la méthode de mesure (88,1 %).

4 COMPARAISON ENTRE LES DIFFÉRENTES MÉTHODES

Cette section est décomposée en deux étapes. Dans un premier temps, une comparaison est effectuée entre les trois méthodes de segmentation (point invariant, Active Contour et MBL) sur des particules de silice de référence imagées par MEB.

Par la suite, la modélisation Monte Carlo sera utilisée pour interpréter les écarts observés entre les différentes méthodes de segmentation.

4.1 Comparaison des trois méthodes de segmentation (Active Contour, MBL et point invariant) sur une même série d'images MEB

Des images MEB de la population de particules de référence ERM[®]-FD101b ont été réalisées en utilisant les paramètres définis dans le Chapitre 2. Pour chaque zone, trois images sont acquises afin d'appliquer la méthode du point invariant. Les mesures MBL et Active Contour sont réalisées sur la première des trois images de la zone afin d'obtenir une taille de faisceau similaire à celle utilisée pour construire la base de données. Les modes de distribution du diamètre équivalent en surface projetée de la population de référence mesurés avec les méthodes « Active Contour », « Model-Based Library » et du point invariant sont présentés sur la Figure 76.

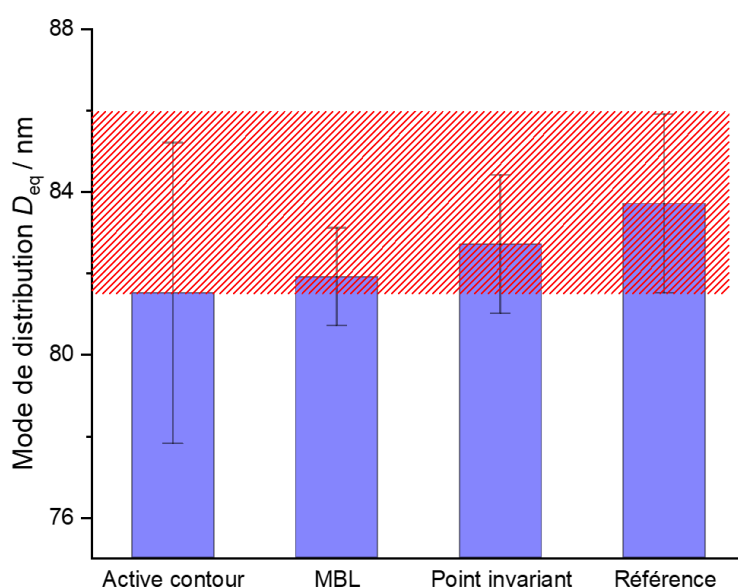


Figure 76 : Comparaison du mode de distribution d'une population de particules de silice de référence ERM®-FD101b en utilisant les méthodes de segmentation par Active Contour, « Model-Based Library » et du point invariant.

Ainsi, avec la méthode Active Contour, le mode de distribution corrigé est évalué à (81,5 nm ± 3,7 nm ($k = 2$)). Cette valeur est égale à (81,9 nm ± 1,2 nm ($k = 2$)) pour la méthode MBL et (82,7 nm ± 1,7 nm ($k = 2$)) pour la méthode de segmentation utilisant le point invariant.

Pour une même population de particules, le résultat de la mesure par Active Contour est proche des mesures réalisées avec les méthodes MBL et du point invariant. Pour rappel, dans le chapitre précédent, lors de l'évaluation du bilan d'incertitudes associé à la mesure par Active Contour, une hypothèse forte était donnée sur l'influence de la taille du faisceau. En effet, comme les dimensions d'une particule et du faisceau sont inconnues, il était difficile d'identifier expérimentalement la position correspondant au bord de l'objet sur les profils. Ainsi, en utilisant la segmentation par Active Contour, un biais sur la mesure du diamètre équivalent de la particule pouvait être introduit. A l'inverse, grâce aux deux autres méthodes de segmentation (MBL et point invariant), il est possible d'évaluer D_{eq} tout en limitant l'influence de la taille du faisceau. En effet, avec la méthode MBL, D_{eq-MBL} évolue peu avec la taille du faisceau. Pour la méthode du point invariant, le niveau d'intensité est le même en un point proche du bord de la particule lorsqu'une même zone est imagée avec des tailles de faisceau différentes. Les résultats montrent que pour des particules de silice de cette taille, avec les paramètres d'imagerie définis dans le Chapitre 2, Active Contour donne une valeur du diamètre équivalent proche de celles obtenues avec les deux autres méthodes.

Ainsi, l'incertitude liée à la taille du faisceau avec la méthode Active Contour apparaît largement surestimée pour les particules étudiées (silice de référence ERM®-FD101b). La modélisation Monte Carlo a ensuite été utilisée pour :

- (1) Confirmer, au travers de l'analyse des profils d'intensité secondaires simulés, les observations réalisées expérimentalement sur les particules de silice de référence ERM®-FD101b (diamètre proche de 80 nm).
- (2) Étendre cette étude sur l'ensemble de la gamme nanométrique à partir des profils simulés.

4.2 *Comparaison diamètre mesuré / diamètre simulé pour les trois méthodes de segmentation (point invariant, Active Contour et segmentation à mi-hauteur) sur les profils simulés*

Afin de valider la méthode employée sur les particules de silice de référence ERM®-FD101b et pour étendre l'étude sur l'ensemble de la gamme nanométrique, la modélisation Monte Carlo a été utilisée. L'objectif est alors d'évaluer le biais pouvant être introduit par la méthode de segmentation par Active Contour pour des particules de silice de 15 nm à 100 nm de diamètre. Pour cela, une partie des profils modélisés dans la section 2.2.1 a été utilisée ($D_{JMONSEL}$ de 15 nm à 100 nm avec $\sigma = 3$ nm). Sur ces derniers, D_{eq-AC} est évalué en mesurant la distance entre les deux points d'inflexion du profil. À titre de comparaison, la méthode de segmentation à mi-hauteur sur les profils est également mise en place. La comparaison du diamètre mesuré avec cette méthode, nommé D_{eq-MH} , avec D_{eq-AC} , permettra d'étudier la position du point d'inflexion selon la direction Z. D_{eq-MH} est déterminé en calculant la distance entre les deux points du profil ayant une intensité de 0,5. La dernière méthode de segmentation utilisée est celle du point invariant, 3 tailles de faisceaux sont utilisés pour simuler chaque taille de particule ($\sigma = 1,5$ nm, $\sigma = 3,0$ nm et $\sigma = 5,0$ nm). D_{eq-PI} est obtenue en déterminant la distance entre les deux points invariants de chaque côté du profil selon la méthode décrite en 3.2.1.

Pour chaque profil simulé la différence relative entre le diamètre mesuré, selon la méthode utilisée, et le paramètre d'entrée lié à la taille des particules, $D_{JMONSEL}$, est calculée selon l'équation :

$$\left\{ \begin{array}{l} \overline{D_{eq-PI}} = \frac{D_{JMONSEL} - D_{eq-PI}}{D_{JMONSEL}} \\ \overline{D_{eq-AC}} = \frac{D_{JMONSEL} - D_{eq-AC}}{D_{JMONSEL}} \\ \overline{D_{eq-MH}} = \frac{D_{JMONSEL} - D_{eq-MH}}{D_{JMONSEL}} \end{array} \right. \quad (35)$$

Les différents $\overline{D_{eq}}$, déterminés en utilisant les trois méthodes de segmentation, sont reportées sur la Figure 77 en fonction de $D_{JMONSEL}$.

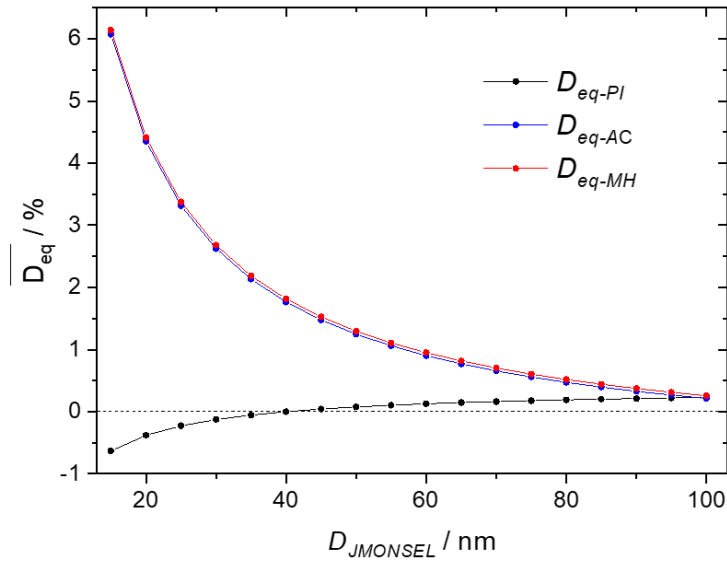


Figure 77 : $\overline{D_{eq}}$ déterminée à l'aide des méthodes du point invariant, Active Contour et segmentation à mi-hauteur par rapport à $D_{JMONSEL}$ pour des particules de silice de diamètre allant de 15 nm à 100 nm.

Dans un premier temps, on observe que pour les particules de diamètre 80 nm étudiée précédemment (ERM®-FD101b), la différence relative entre les différentes méthodes de mesure (Active Contour, mi-hauteur et point invariant) et le paramètre d'entrée lié à la taille des particules $D_{JMONSEL}$ est inférieure à 1%. Cela confirme les résultats obtenus expérimentalement sur les particules de référence ERM®-FD101b pour lesquels la mesure par Active Contour était proche de celle obtenue avec le point invariant, à l'incertitude de mesure près.

De plus, sur la Figure 77, la mesure de $\overline{D_{eq-PI}}$ est équivalente au diamètre de la particule simulée et cela pour l'ensemble de la gamme nanométrique. En effet, l'écart maximal entre la mesure avec cette méthode et le diamètre simulé est de 0,5 %.

Ensuite, les deux autres méthodes donnent des résultats similaires entre elles. Le point d'inflexion se situe donc à mi-hauteur sur les profils. Pour ces deux méthodes, les différences relatives sont systématiquement positives pour des tailles de particules inférieures à 80 nm. Cela signifie que l'utilisation d'Active Contour et de la segmentation à mi-hauteur tend à sous-estimer la mesure en comparaison avec le diamètre réel des particules. De plus, cet écart augmente avec la réduction de la taille des nanoparticules pour atteindre jusqu'à 6 % pour une particule de 15 nm. En d'autres termes, cela indique que la position réelle du seuil à appliquer se situe en dessous de la mi-hauteur et du point d'inflexion sur les profils.

Cette différence peut être expliquée en étudiant les profils en électrons secondaires obtenus avec JMONSEL pour différentes tailles de nanoparticules. Deux profils différents de particules de silice de

diamètre 90 nm et 20 nm et simulés avec JMONSEL sont présentés respectivement sur la Figure 78 et la Figure 79 . Sur chaque figure, les positions notées 1 correspondent aux bords de la nanoparticule, celles notées 2 au centre des particules.

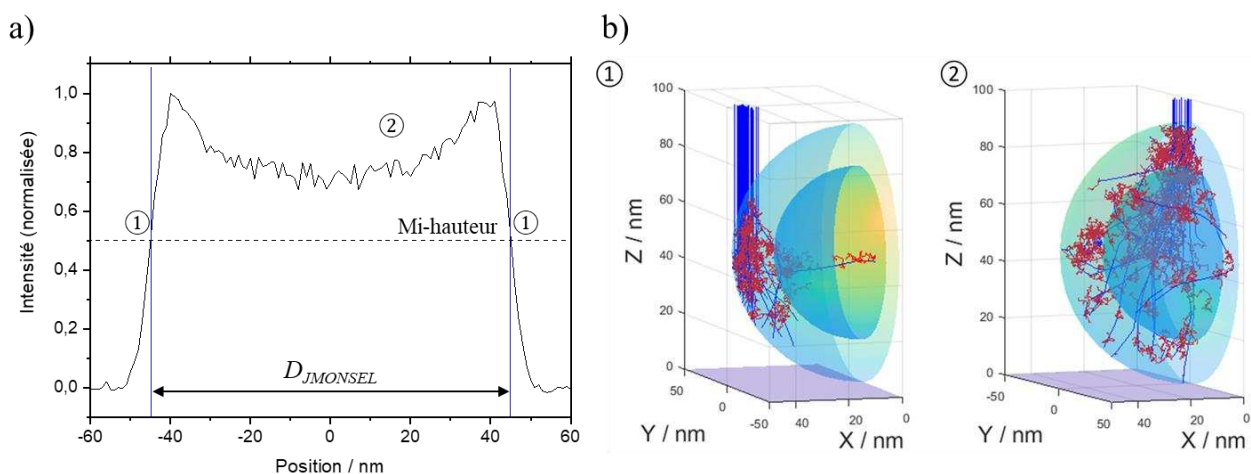


Figure 78 : a) Profil en électrons secondaires d'une particule de silice de diamètre 90 nm avec une taille de faisceau $\sigma = 3$ nm. Les deux traits verticaux bleus représentent les bords de la particule b) Représentation des trajectoires des électrons primaires (lignes bleues) et secondaires (lignes rouges) aux positions 1 et 2 sur le profil. La demi-sphère au sein de la particule représente la zone au sein de laquelle un électron secondaire créé ne peut être extrait (profondeur trop importante).

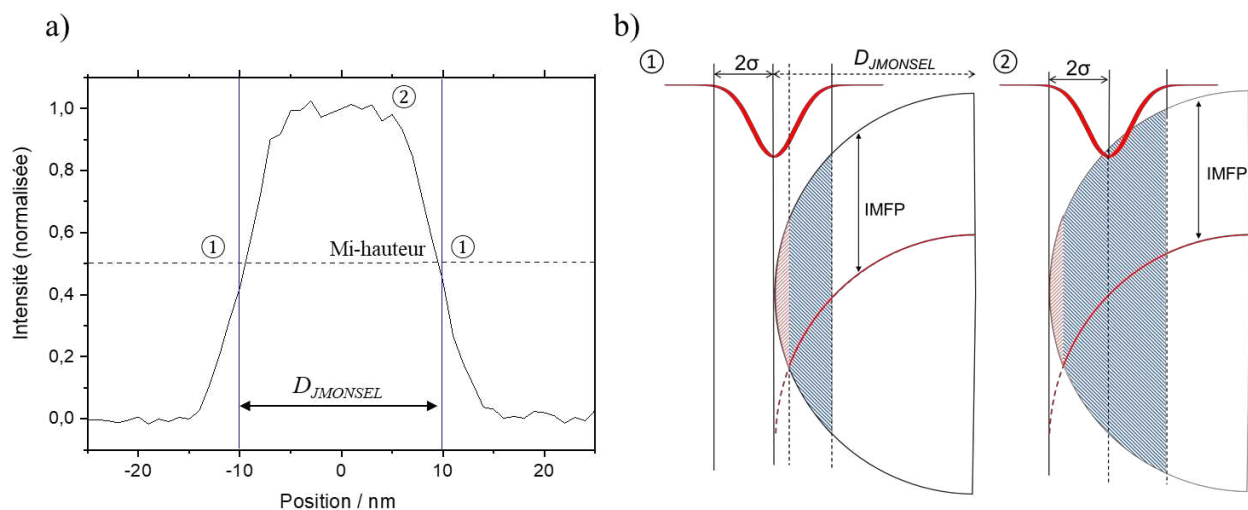


Figure 79 : a) Profil en électrons secondaires d'une particule de silice de diamètre 20 nm modélisée avec une taille de faisceau σ égale à 3 nm. Les deux traits verticaux bleus représentent les bords de la particule b) Représentation de la distance parcourue par l'électron primaire aux positions 1 et 2 sur le profil. Le trait rouge représente la profondeur moyenne à laquelle la première interaction inélastique a lieu (IMFP : Libre parcours inélastique moyen) en fonction du point d'entrée de l'électron primaire dans la particule. En fonction de la position du faisceau (1 ou 2) la zone bleue représente la zone pour lequel l'électron primaire a une probabilité suffisante de créer un électron secondaire.

l'épaisseur de matière traversée est supérieure au libre parcours inélastique moyen et où un électron secondaire peut potentiellement être créé, celle en rouge le cas inverse.

Pour la particule de 90 nm (Figure 78), le rendement en électrons secondaires au bord, que l'on nommera σ_b , est égal à 0,5. Ainsi $D_{JMONSEL}$ est bien équivalent à la largeur à mi-hauteur sur le profil. Cependant, pour une particule plus petite (Figure 79), σ_b est inférieur à 0,5. Cela permet d'expliquer l'écart observé entre les mesures effectuées sur les petites particules en utilisant Active Contour ou la segmentation à mi-hauteur et le paramètre d'entrée sur le diamètre lors de la modélisation.

Cette différence entre les grosses et les petites particules est due à la combinaison de deux paramètres. Le premier est le libre parcours inélastique moyen (IMFP : « Inelastic Mean Free Path »), correspondant à la distance moyenne nécessaire pour créer un électron secondaire dans le matériau. Pour une énergie des électrons égale à 3 000 eV dans la silice, ce paramètre est égal à 7,0 nm [22–26]. Le second paramètre est la profondeur maximale d'échappement des électrons dans la silice qui est égale à environ 10 - 20 nm [27].

Pour les grosses particules, le signal au bord de la particule, noté σ_b , a un niveau d'intensité équivalent à la mi-hauteur sur les profils. À cette position notée 1, la moitié du faisceau électronique interagit directement avec la particule, l'autre moitié avec le substrat. Comme présenté sur la Figure 78, étant donné la distribution gaussienne du faisceau électronique, une grande partie des électrons secondaires est créée près de la surface de la particule. Ainsi, la probabilité pour ces électrons de s'extraire de la NP est uniquement fonction de leur direction. En effet, comme $D_{JMONSEL}$ est supérieur à la distance maximale d'échappement, un électron allant dans la mauvaise direction sera obligatoirement piégé. Pour la position où le rendement est maximum, notée 2 sur la Figure 78, l'effet est similaire. Cependant, à cette position, 100 % des électrons primaires pénètrent dans la particule. Par conséquent, la différence de rendement entre ces deux positions est liée au rapport entre les nombres d'électrons primaires interagissant avec la particule, et est égal à 0,5 dans ce cas.

Ainsi, le point invariant est proche de la mi-hauteur sur les profils simulés. Cette position correspond également au point d'inflexion utilisé pour réaliser la segmentation par Active Contour. Par conséquent, les mesures réalisées avec ces deux méthodes de segmentation (point invariant et Active Contour) devraient donner un résultat similaire comme présenté sur la Figure 77 pour des particules de diamètre égal à 80 nm. Cependant, un écart égal à 1,2 nm est observé expérimentalement (Figure 76). En effet, le mode de distribution sur la mesure du diamètre équivalent par la méthode Active Contour est égal à (81,5 nm $\pm$ 3,7 nm ($k = 2$)) et à (82,7 nm $\pm$ 1,7 nm ($k = 2$)) pour la méthode de segmentation utilisant le point invariant.

Afin d'évaluer les raisons de cette différence de mesure, une même particule a été segmentée et mesurée en utilisant les deux méthodes. Pour cette particule, D_{eq-PI} est égal à 82,9 nm et D_{eq-AC} à

81,1 nm. Une superposition des deux images binaires, obtenues avec les deux méthodes de segmentation, est présentée sur la Figure 80.

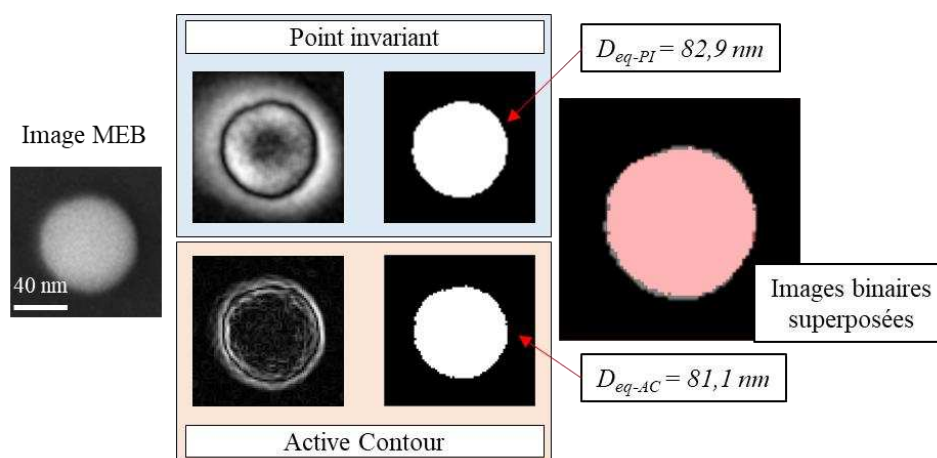


Figure 80 : Segmentation d'une particule de silice de référence ERM[®]-FD101b par les méthodes du point invariant et Active Contour. Point invariant : images écart type et binaire donnant une valeur de $D_{eq-PI} = 82,9 \text{ nm}$. Active Contour : images dérivée seconde et binaire donnant une valeur de $D_{eq-AC} = 81,1 \text{ nm}$. Les images binaires (blanc : point invariant et rouge : Active Contour) sont agrandies et superposées afin de mettre en évidence la différence entre les deux diamètres mesurés.

Cette différence de mesure entre les deux méthodes se traduit sur la superposition des deux images binaires par un écart de quelques pixels sur les bords de la particule. Ainsi, bien que théoriquement les deux mesures doivent être réalisées à la même position et donner le même résultat, cette différence peut s'expliquer par la technique utilisée pour localiser le contour (le point invariant ou le point d'inflexion) qui diffère d'une méthode à une autre.

Pour les plus petites particules, le rapport entre les nombres d'électrons primaires pénétrant à l'intérieur de la particule est aussi égal à 0,5 entre le bord de la particule (position 1) et la position de rendement maximum (position 2). Cependant, lorsque le faisceau est au bord de la particule, une proportion d'électrons primaires peut ne pas interagir avec la particule car la distance qu'ils traversent dans celle-ci est inférieure au libre parcours inélastique moyen (Figure 79). En conséquence, pour les particules plus petites, le rapport entre le rendement maximal sur le profil et σ_b est inférieur à 0,5 conduisant ainsi à un écart entre $D_{JMONSEL}$ et D_{eq-MH} .

Le même type d'étude que précédemment a été réalisé sur une particule de silice de référence ERM[®]-FD304 segmentée avec les deux méthodes. Pour cette particule, D_{eq-PI} est égal à 23,7 nm et D_{eq-AC} à 22,2 nm. Une superposition des deux images binaires, obtenues avec les deux méthodes de segmentation, est présentée sur la Figure 81.

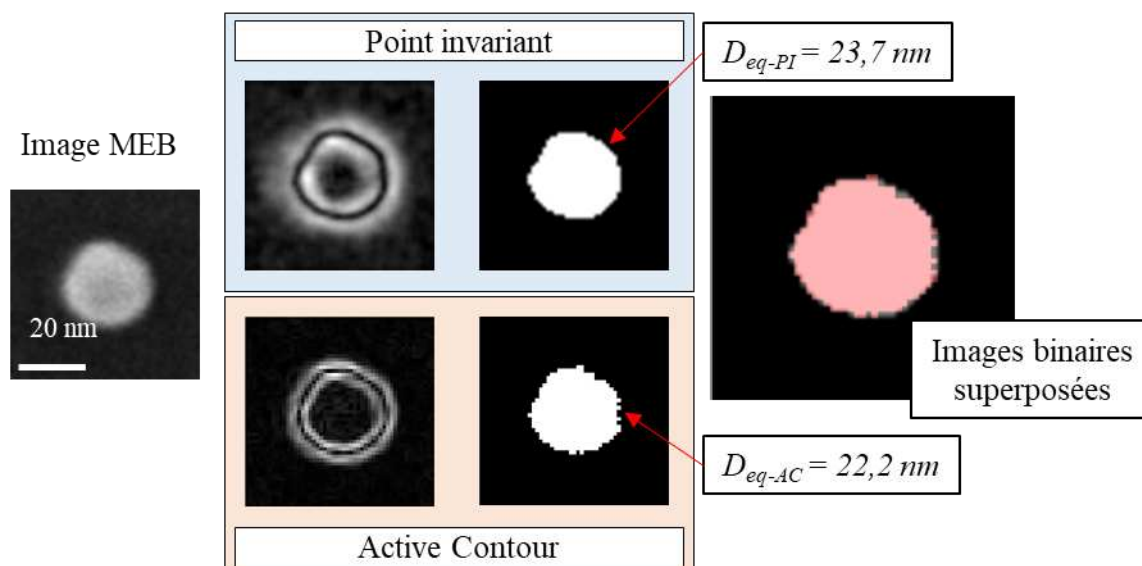


Figure 81 : Segmentation d'une particule de silice de référence ERM[®]-FD304 par les méthodes du point invariant et Active Contour. Point invariant : images écart type et binaire donnant une valeur de $D_{eq-PI} = 23,7 \text{ nm}$. Active Contour : images dérivée seconde et binaire donnant une valeur de $D_{eq-AC} = 22,2 \text{ nm}$. Les images binaires (blanc : point invariant et rouge : Active Contour) sont agrandies et superposées afin de mettre en évidence la différence entre les deux diamètres mesurés.

La superposition des deux images binaires montre que l'écart de 1,5 nm entre les deux mesures est majoritairement lié à une différence sur les pixels sélectionnés pour segmenter l'objet sur la partie droite de la particule. Ainsi, comme précédemment, compte tenu de la taille du pixel sélectionnée pour réaliser l'image de la particule (1,4 nm), l'écart entre les deux méthodes est majoritairement lié à la technique utilisée pour localiser le contour.

5 CONCLUSIONS

La mesure des propriétés dimensionnelles d'une particule par MEB par la méthode Active Contour était entachée d'une incertitude relativement importante. En effet, pour des nanoparticules de diamètre 23,5 nm, l'incertitude associée à cette mesure a été évaluée comme étant égale à 2,0 nm ($k = 1$). La contribution la plus importante sur l'incertitude était alors la taille du faisceau électronique. En effet, il existe un réel manque d'informations et de méthodes de mesure adaptées pour caractériser les dimensions de ce dernier.

Afin de réduire l'incertitude liée à la mesure du diamètre équivalent d'une population de nanoparticules par MEB, deux méthodes ont été développées. La première consiste à utiliser une librairie de profils, simulés par la méthode Monte Carlo, afin de mesurer à la fois le diamètre équivalent et la taille du faisceau électronique sur les images MEB. Avec cette méthode, la taille du faisceau électronique étant désormais mesurée, sa contribution a pu être retirée du bilan d'incertitudes

final. Un nouveau bilan d'incertitudes, fondé sur cette méthode, a été estimé sur des particules de référence ERM®-FD304. La valeur du diamètre équivalent avec la méthode utilisant la librairie de profils, notée $D_{MEB-MBL}$, est ainsi égale à 25,9 nm avec une incertitude de 0,60 nm ($k = 1$). La plus grande contribution au bilan d'incertitudes est désormais la répétabilité de la méthode de mesure (77,9 %).

La seconde méthode développée dans ce chapitre consiste à utiliser un point invariant pour segmenter le contour des particules. Expérimentalement, ce point est obtenu en faisant varier la taille du faisceau électronique sur les images MEB via un ajustement du focus de l'image. Une étude préliminaire par modélisation Monte Carlo a permis de mettre en évidence que la position de ce point correspondait au bord de la particule, et cela quelle que soit la taille de la nanoparticule.

Le nouveau bilan d'incertitudes sur le mode de distribution du diamètre équivalent en utilisant la méthode du point invariant, noté D_{eq-PI} , pour une population de particules de référence ERM®-FD101b a été évalué. Pour cette méthode, la contribution de la largeur du faisceau électronique est considérée comme étant nulle car la position du point d'intersection est indépendante de ce paramètre. Ainsi, le mode de distribution de D_{eq-PI} est égal à $(83,3 \pm 0,9)$ nm ($k = 1$).

Deux méthodes ont ainsi été développées afin d'obtenir une mesure du diamètre équivalent par MEB avec une incertitude réduite. Cependant, ces deux méthodes présentent certains inconvénients :

- Pour la première méthode (MBL), il est nécessaire au préalable de réaliser la librairie de profils. Cette étape nécessite plusieurs mois de simulation en l'absence d'outils adaptés (utilisation d'un cluster ou d'un ordinateur performant pour effectuer la modélisation).
- Pour la seconde méthode (point invariant), trois images doivent être réalisées pour segmenter l'image au lieu d'une seule avec les méthodes classiques.

Ainsi, les deux méthodes ont été comparées sur une même série d'images avec celle utilisant la segmentation par Active Contour, plus simple à mettre à œuvre. Les résultats montrent que les différentes méthodes donnent un résultat similaire à l'incertitude de mesure près. De plus, en s'appuyant sur l'utilisation de la librairie et du point invariant, il a été observé que l'incertitude associée à la mesure du diamètre équivalent par MEB par la méthode Active Contour a été largement surestimée, plus spécifiquement à cause de la contribution de la taille du faisceau électronique qui était inconnue. Grâce aux deux méthodes développées, il est désormais possible de supprimer la contribution au bilan d'incertitudes de la taille du faisceau électronique lors de la segmentation par Active Contour. Ainsi, pour la suite de ces travaux de thèse, cette méthode sera utilisée pour segmenter les images MEB.

RÉFÉRENCES

1. Bishop H (1965). PhD Thesis, University of Cambridge
2. Shimizu R, Murata K, Shinoda G (1966) ICXOM Orsay
3. Pouchou J-L La simulation Monte Carlo. In: Microscopie électronique à balayage et microanalyses, EDP Sciences. pp 587–610
4. Bethe H (1930) Zur Theorie des Durchgangs schneller Korpuskularstrahlen durch Materie (Theory of the Passage of Fast Corpuscular Rays Through Matter). *Annalen der Physik* 397:325–400 . <https://doi.org/10.1002/andp.19303970303>
5. Joy DC, Luo S (1989) An empirical stopping power relationship for low-energy electrons. *Scanning* 11:176–180 . <https://doi.org/10.1002/sca.4950110404>
6. Mott NF, Massey HSW (1949) *The Theory of Atomic Collisions*, Oxford Clarendon Press
7. Ashley JC, Ritchie RH (1970) The Mean Free Path of Relativistic Electrons for Plasmon Excitation. *physica status solidi (b)* 40:623–630 . <https://doi.org/10.1002/pssb.19700400221>
8. Ritchie RH (1959) Interaction of Charged Particles with a Degenerate Fermi-Dirac Electron Gas. *Phys Rev* 114:644–654 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.114.644>
9. Gryziński M (1965) Classical Theory of Atomic Collisions. I. Theory of Inelastic Collisions. *Phys Rev* 138:A336–A358 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.138.A336>
10. Kirkpatrick P, Wiedmann L (1945) Theoretical Continuous X-Ray Energy and Polarization. *Phys Rev* 67:321–339 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.67.321>
11. Zou YB, Zhang P, Mao SF, Ding ZJ (2014) Model-Based Library for Critical Dimension Metrology by CD-SEM. *Microscopy and Microanalysis* 20:6–7 . <https://doi.org/10.1017/S1431927614001755>
12. Zou YB, Khan MSS, Li HM, Li YG, Li W, Gao ST, Liu LS, Ding ZJ (2018) Use of model-based library in critical dimension measurement by CD-SEM. *Measurement* 123:150–162 . <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2018.02.069>
13. Naoki Yasui, Miki Isawa, Toru Ishimoto, Kohei Sekiguchi, Maki Tanaka, Mayuka Osaki, Chie Shishido, Norio Hasegawa, Shaunee Cheng (2010) Application of model-based library approach to photoresist pattern shape measurement in advanced lithography
14. Miki Isawa, Maki Tanaka, Hideyuki Kazumi, Chie Shishido, Akira Hamamatsu, Norio Hasegawa, Peter De Bisschop, David Laidler, Philippe Leray, Shaunee Cheng (2011) Verification and extension of the MBL technique for photo resist pattern shape measurement
15. Chie Shishido, Maki Tanaka, Mayuka Osaki (2009) CD-bias reduction in CD-SEM line-width measurement for the 32-nm node and beyond using the model-based library method
16. Vitali Khvatkov, Vasily Alievski, Radi Kadushnikov, Sergey Babin (2008) Automated metrology for SEM calibration and CD line measurements using image analysis and SEM modeling methods

17. András E. Vladár, John S. Villarrubia, Jasmeet Chawla, Bin Ming, Joseph R. Kline, Scott List, Michael T. Postek (2014) 10nm three-dimensional CD-SEM metrology
18. Salvat-Pujol F, Villarrubia JS (2019) Conventional vs. model-based measurement of patterned line widths from scanning electron microscopy profiles. *Ultramicroscopy* 206:112819
19. Villarrubia JS, Vladár AE, Postek MT (2005) Scanning electron microscope dimensional metrology using a model-based library. *Surface and Interface Analysis* 37:951–958 . <https://doi.org/10.1002/sia.2087>
20. Buhr E, Senftleben N, Klein T, Bergmann D, Gnieser D, Frase CG, Bosse H (2009) Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy in transmission mode. *Measurement Science and Technology* 20:084025 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/20/8/084025>
21. Xing Q (2016) Information or resolution: Which is required from an SEM to study bulk inorganic materials? *Scanning* 38:864–879 . <https://doi.org/10.1002/sca.21336>
22. Powell CJ, Jablonski A (2000) Evaluation of electron inelastic mean free paths for selected elements and compounds†. *Surface and Interface Analysis* 29:108–114 . [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9918\(200002\)29:2<108::AID-SIA700>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9918(200002)29:2<108::AID-SIA700>3.0.CO;2-4)
23. Tanuma S, Powell CJ, Penn DR (1991) Calculations of electron inelastic mean free paths. II. Data for 27 elements over the 50–2000 eV range. *Surface and Interface Analysis* 17:911–926 . <https://doi.org/10.1002/sia.740171304>
24. Ashley JC, Anderson VE (1981) Interaction of low-energy electrons with silicon dioxide. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* 24:127–148 . [https://doi.org/10.1016/0368-2048\(81\)80001-1](https://doi.org/10.1016/0368-2048(81)80001-1)
25. Akkerman A, Boutboul T, Breskin A, Chechik R, Gibrekhterman A, Lifshitz Y (1996) Inelastic Electron Interactions in the Energy Range 50 eV to 10 keV in Insulators: Alkali Halides and Metal Oxides. *physica status solidi (b)* 198:769–784 . <https://doi.org/10.1002/pssb.2221980222>
26. Kwei CM, Chen YF, Tung CJ, Wang JP (1993) Electron inelastic mean free paths for plasmon excitations and interband transitions. *Surface Science* 293:202–210 . [https://doi.org/10.1016/0039-6028\(93\)90314-A](https://doi.org/10.1016/0039-6028(93)90314-A)
27. Kanaya K, Ono S, Ishigaki F (1978) Secondary electron emission from insulators. *Journal of Physics D: Applied Physics* 11:2425–2437 . <https://doi.org/10.1088/0022-3727/11/17/015>

CHAPITRE 5 MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE POPULATION DE NP DE SILICE DANS LES TROIS DIMENSIONS DE L'ESPACE..... 190

1	CONFRONTATION DIRECTE DES MESURES AFM ET MEB SUR LES MÊMES POPULATIONS DE NP	190
1.1	<i>Comparaison directe des mesures AFM et MEB effectuées sur la même population de nanoparticules ERM®-FD304</i>	190
1.2	<i>Comparaison AFM/MEB sur l'ensemble de la gamme nanométrique</i>	193
1.3	<i>Conclusions</i>	198
2	COMPARAISON DIRECTE DES MESURES AFM, MEB ET STEM SUR LES MÊMES POPULATIONS DE PARTICULES	199
2.1	<i>Introduction</i>	199
2.2	<i>Démarche utilisée pour remonter à une information quantitative en Z par STEM-HAADF</i>	200
2.2.1	Hypothèse de linéarité du signal STEM HAADF.....	200
2.2.2	Analyse du signal STEM selon la direction perpendiculaire au plan sur des particules quasi-sphériques - Utilisation du 2ème mode des particules de référence ERM®-FD101b	202
2.2.3	Confrontation STEM HAADF et AFM MEB sur une même population de particules individuelles identifiées.....	208
2.3	<i>Application de la méthode sur les particules non sphériques</i>	210
2.3.1	Cas n°1 : Bi-population contenant des particules sphériques et non sphériques – Exemple de la suspension de référence ERM®-FD101b.....	211
2.3.2	Cas n°2 : suspension composée exclusivement de particules non sphériques – exemple des particules de silice de référence ERM®-FD304.....	213
3	CONCLUSIONS.....	220
	SYNTHÈSE	223
	BIBLIOGRAPHIE	224

CHAPITRE 5 MESURE DES PARAMÈTRES DIMENSIONNELS D'UNE POPULATION DE NPS DE SILICE DANS LES TROIS DIMENSIONS DE L'ESPACE

Ce chapitre s'attache dans un premier temps à confronter et combiner les mesures AFM et MEB sur les mêmes particules afin d'en extraire les informations tridimensionnelles quantitatives pertinentes. L'utilisation des deux bilans d'incertitudes, préalablement établis, permet de relier ces deux mesures et de donner une information sur la forme des particules dans les trois dimensions de l'espace. Cette approche sera rendue possible grâce à l'utilisation d'un système de repositionnement permettant de repérer les mêmes zones d'intérêt sur le substrat avec les deux techniques.

Enfin, comme les techniques AFM et MEB donnent deux mesures indépendantes, une troisième technique sera mise en œuvre dans ces travaux pour faire le lien entre les deux techniques : la microscopie électronique en transmission en mode STEM HAADF.

1 CONFRONTATION DIRECTE DES MESURES AFM ET MEB SUR LES MÊMES POPULATIONS DE NPS

Les bilans d'incertitudes liés à la mesure de nanoparticules par AFM et MEB ont été établis (cf. Chapitre 3). Il est donc maintenant possible d'opérer une approche par métrologie hybride visant à mesurer une même population de nanoparticules avec ces deux instruments, et ce avec une incertitude contrôlée. Pour cela, le système de repositionnement détaillé dans la section 1.4 du chapitre 2 a été utilisé.

Afin d'étudier la forme des nanoparticules dans les trois dimensions de l'espace, deux mesurandes supplémentaires ont été introduits en plus de la hauteur mesurée par AFM (h_{AFM}) et du diamètre équivalent en surface projetée mesuré par MEB (D_{eq-MEB}). Ainsi, à partir des images MEB trois mesures seront effectuées en utilisant la méthode Active Contour : le diamètre équivalent en surface projetée (D_{eq-MEB}), le diamètre de Féret maximum (D_{fmax}) et le diamètre de Féret minimum (D_{fmin}). Pour rappel (cf. chapitre 2) le terme diamètre de Féret (D_f) correspond à la distance entre deux droites parallèles venant tangenter l'image de la particule de part et d'autre [1].

1.1 Comparaison directe des mesures AFM et MEB effectuées sur la même population de nanoparticules ERM®-FD304

La suspension de silice ERM®-FD304 a été déposée sur le système de repositionnement en suivant le protocole détaillé dans la section 1.3 du chapitre 2. Une zone d'intérêt a été identifiée et imagée par AFM (Figure 82-a) et MEB (Figure 82-b). Les histogrammes de distribution de tailles en nombre des

deux techniques, pour les 136 particules isolées sur l'image, ont été construits et sont reportés sur les Figure 82c-f.

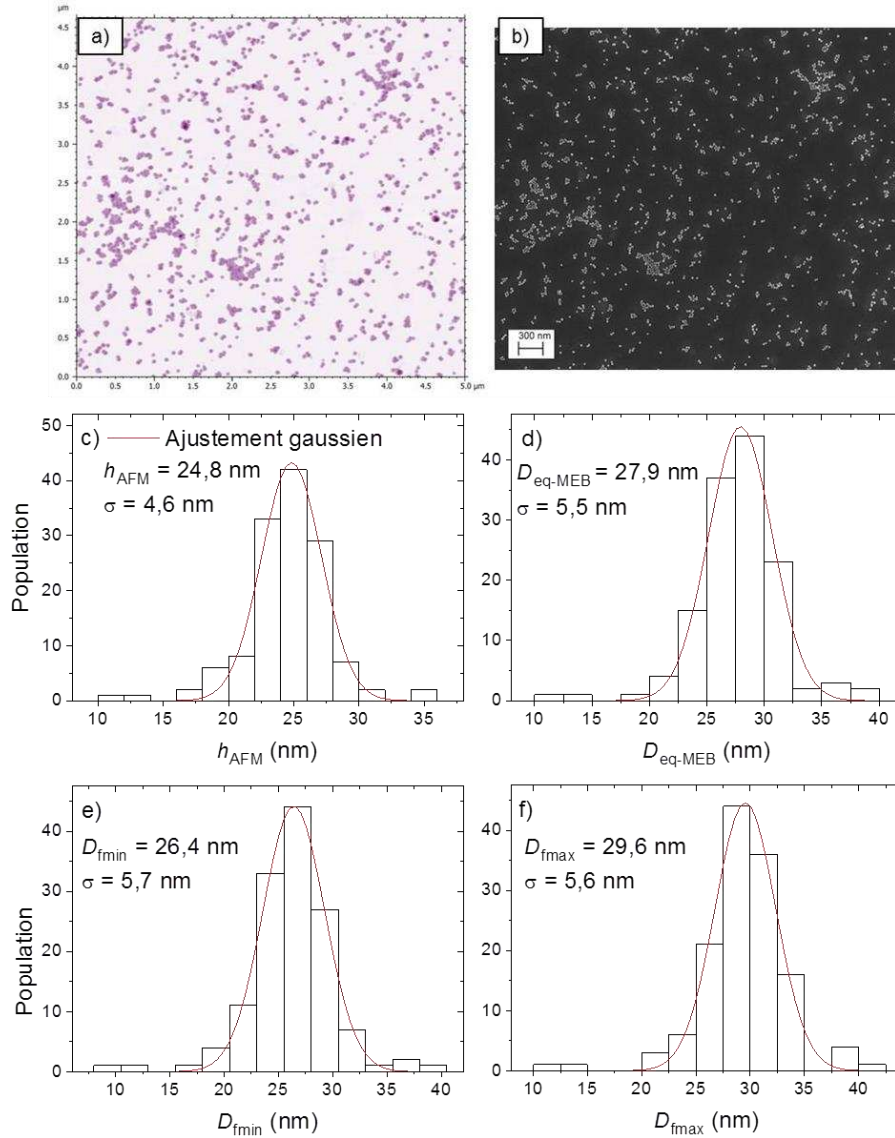


Figure 82 : Images (a) AFM et (b) MEB de la même zone d'une suspension colloïdale de silice ERM®-FD304 déposée sur le système de repositionnement (substrat silicium lithographié). Histogramme de distribution de tailles en nombre des particules de silice : c) h_{AFM} , d) D_{eq-MEB} , e) D_{fmin} et f) D_{fmax}

L'analyse des modes de distribution associés à la hauteur par AFM, au diamètre équivalent en surface projetée par MEB, et aux diamètres de Férét minimum et maximum par MEB (ces trois derniers diamètres ayant été déterminés en utilisant la fonction Active Contour) conduisent respectivement à $h_{AFM}=24,8$ nm, $D_{eq-MEB}=27,9$ nm, $D_{fmin}=26,4$ nm et $D_{fmax}=29,6$ nm. Ces mesures doivent cependant être confrontées aux bilans d'incertitude précédemment établis pour la mesure de h_{AFM} (section 2.3 du Chapitre 3) et D_{eq-MEB} (section 1.2 du Chapitre 3). Pour la mesure du diamètre équivalent, l'incertitude liée à la taille du faisceau électronique est retirée à la suite de l'étude réalisée dans le Chapitre 4 avec les deux nouvelles méthodes de segmentation. La nouvelle incertitude liée à la mesure du diamètre

équivalent par MEB est ainsi égale à 0,5 nm ($k = 1$). En supposant que les incertitudes sur les mesures de D_{fmin} et D_{fmax} sont équivalentes à celles sur D_{eq-MEB} , les mesures corrigées pour chacun des mesurandes sont :

- $h_{AFM} = (25,1 \pm 0,9)$ nm ($k = 1$)
- $D_{eq-MEB} = (27,4 \pm 0,5)$ nm ($k = 1$)
- $D_{fmin} = (25,9 \pm 0,5)$ nm ($k = 1$)
- $D_{fmax} = (29,1 \pm 0,5)$ nm ($k = 1$)

Un écart est ainsi observé entre la hauteur des particules mesurée par AFM et leurs diamètres latéraux mesurés par MEB pour la population étudiée. Ainsi, dans la mesure où les bilans d'incertitudes associés aux deux techniques ont été correctement réalisés, cet écart ne peut être dû qu'à une non-sphéricité des particules. Pour étudier de manière plus approfondie cet écart, cette analyse sera étendue à des échantillons de particules de différentes tailles par la suite.

Ces résultats peuvent également être comparés au mode de distribution fournie par le certificat d'étalonnage pour la suspension colloïdale ERM®-FD304 [2]. Ce dernier, donné à titre indicatif, a été évalué par le fournisseur par microscopie électronique (MEB et MET) et est donné à $(27,8 \pm 1,5)$ nm ($k = 1$). Par conséquent, le mode de distribution sur le diamètre équivalent en surface projeté ($D_{eq-MEB} = 27,4 \pm 0,5$ nm ($k = 1$)) est plus proche de la valeur fournie par le certificat d'étalonnage que la mesure obtenue en mesurant la hauteur par AFM ($h_{AFM} = 25,1 \pm 0,9$ nm ($k = 1$)). Des mesures supplémentaires ont été effectuées sur différentes populations sur le même échantillon et des résultats similaires ont été obtenus. Un histogramme présentant les résultats associés à chaque mesurande en comparaison avec la mesure de référence est présenté sur la Figure 83.

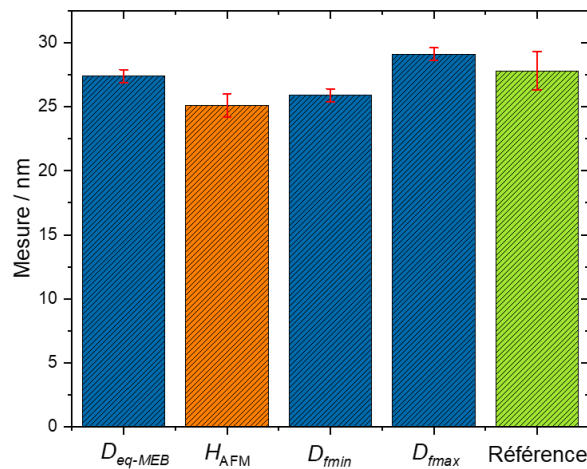


Figure 83 : Comparaison des mesures de D_{eq-MEB} , H_{AFM} , D_{fmin} , D_{fmax} réalisées sur une même population de 136 particules de référence ERM®-FD304 avec la valeur de référence donnée à titre

indicatif par le certificat d'étalonnage. Les mesures réalisées par MEB sont présentées en bleu, celle par AFM en orange et la mesure de référence en vert.

1.2 Comparaison AFM/MEB sur l'ensemble de la gamme nanométrique

Afin d'étudier plus en détail l'écart observé entre les mesures AFM et MEB, les diverses suspensions colloïdales de silice présentées dans la section 1.1 du chapitre 2 ont été mesurées. Les mesures ont ainsi été réalisées pour des particules dont le diamètre s'étend sur une gamme de taille allant de 10 à 110 nm. Tous ces échantillons, de composition chimique similaire mais de provenances différentes (matériaux de référence, produits commerciaux ou échantillons synthétisés en laboratoire), ont été déposés sur le système de repositionnement suivant la méthode décrite dans la section 1.3 du Chapitre 2. Au total, 1050 NPs ont été mesurées. Le nombre de NPs de chaque population sur cette gamme est équilibré afin que les résultats soient comparables et statistiquement représentatifs (Tableau 30).

Tableau 30 : Diamètre modal équivalent en surface projetée, mesuré par MEB et nombre de particules mesurées pour chaque population utilisée dans cette étude.

Population	D_{eq-MEB} / nm	Valeur de référence / nm	Nombre de particules mesurées
ERM®-FD304	27,9	27,8 (Valeur indicative)	132
ERM®-FD102 (1 ^{er} mode)	18,4	18,2	166
Klebosol 30R50 (1 ^{er} mode)	37,6	-	235
Klebosol 30R50 (2 ^{ème} mode)	80,1	-	313
OT R3	104,8	-	204

Pour chaque particule, la hauteur mesurée par AFM a été comparée avec les trois mesurandes choisis pour la mesure par MEB. Les corrections sur les mesures AFM liées à la déformation particule – substrat, détaillées dans la section 2.2.1 du Chapitre 3, et sur les mesures MEB dues à l'influence de la taille du pixel (section 1.1.4 du Chapitre 3) sont appliquées pour chaque mesure. Les résultats sont présentés sur la Figure 84.

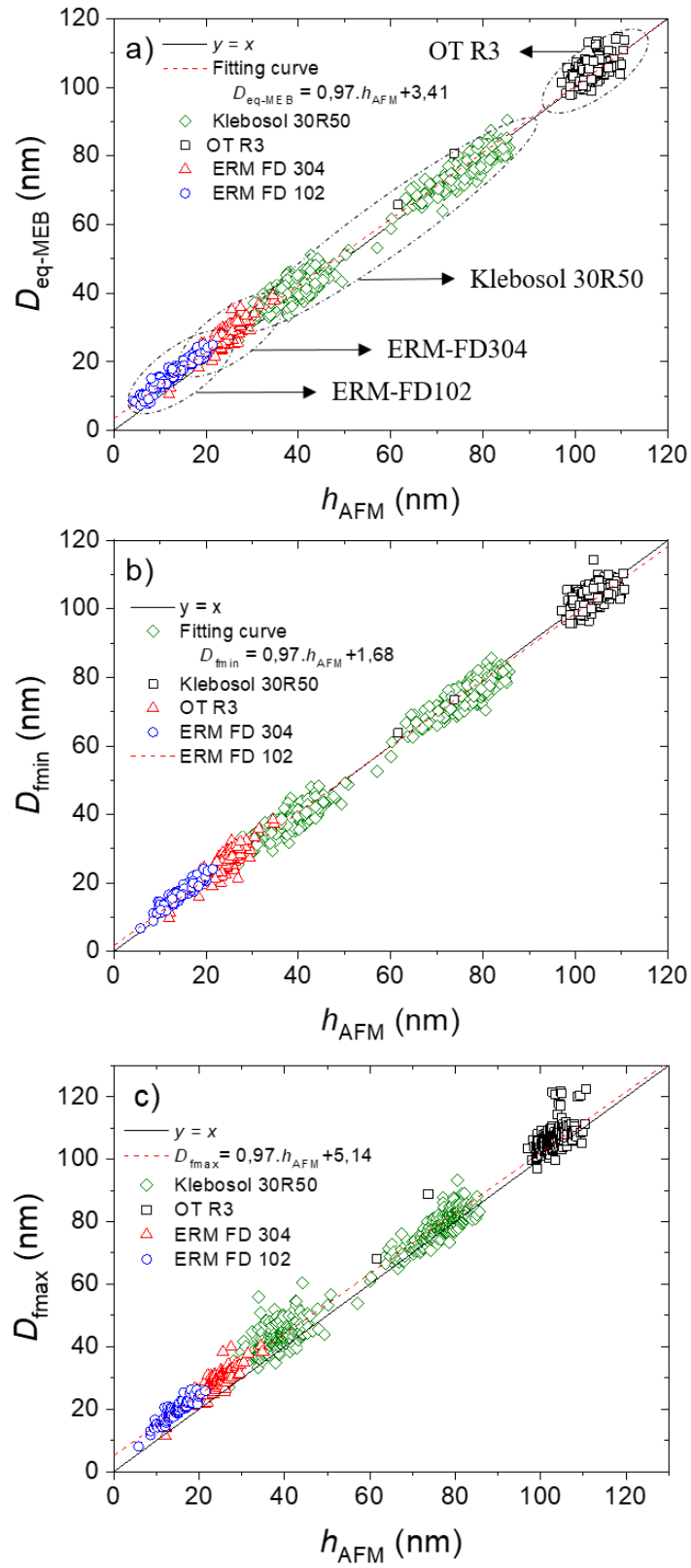


Figure 84 : Comparaison des mesures individuelles de hauteur par l'AFM avec : (a) D_{eq-MEB} , (b) D_{fmin} , (c) D_{fmax} pour chaque population de particules de silice.

Afin de mettre en évidence les écarts éventuels entre les mesures AFM et MEB, une courbe $y = x$ a été ajoutée sur chaque figure. L'ensemble des graphiques montre que les mesures MEB tracées en fonction des mesures AFM suivent, pour chacun des trois mesurandes, une loi linéaire différente de $y = x$, dont l'équation est :

- $D_{eq-MEB} = 0,97.h_{AFM} + 3,41$ (coefficient de corrélation $R^2 = 0,99$)
- $D_{fmin} = 0,97.h_{AFM} + 1,68$ ($R^2 = 0,99$)
- $D_{fmax} = 0,97.h_{AFM} + 5,14$ ($R^2 = 0,99$).

Aucune différence notable n'est observée entre les différents échantillons, ce qui indique que la relation entre la hauteur et les diamètres latéraux ne dépend pas de l'origine des suspensions.

La dispersion des mesures diminue avec la taille des particules. En effet, pour les particules de référence ERM®-FD102, l'écart pic à pic est proche de 2 nm, cet écart atteint 5 nm pour les plus grosses particules (OT R3). Cette dispersion ne peut cependant pas être attribuée aux incertitudes de mesure puisque celles-ci varient peu sur la gamme étudiée. Une forme non sphérique couplée à une orientation aléatoire des particules pourrait expliquer cet écart pic à pic. En effet, pour une particule non sphérique l'écart entre la mesure dans le plan XY (MEB) et la mesure de hauteur (AFM) varie selon l'orientation de la particule sur le substrat.

Ainsi, comme présenté sur la Figure 84, pour les grosses particules, les résultats montrent qu'il y a autant de particules qui sont plus hautes que larges que de particules qui sont plus larges que hautes ($h_{AFM} > D_{eq-MEB}$ et $D_{eq-MEB} > h_{AFM}$). Cela prouve que les NPs de silice de grandes tailles s'orientent aléatoirement sur la surface du substrat (Figure 85). Pour les petites particules, bien que l'écart moyen à la sphéricité soit plus important, on mesure systématiquement $D_{eq-MEB} > h_{AFM}$ avec une dispersion des points de mesure plus faible. Cela permet de supposer que les particules de petite taille ne sont pas parfaitement sphériques et s'orientent préférentiellement sur le substrat.

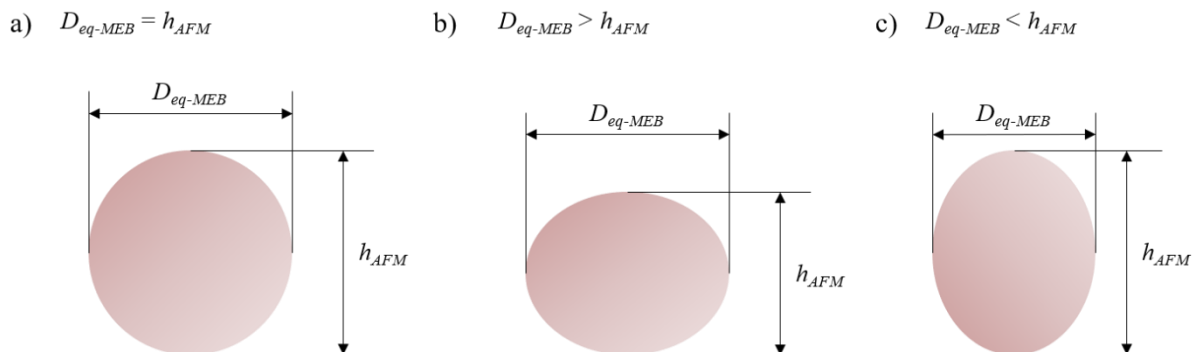


Figure 85 : Forme des particules de silice en fonction de la différence entre H_{AFM} et D_{eq-MEB} .
a) $h_{AFM} = D_{eq-MEB}$, b) $h_{AFM} < D_{eq-MEB}$ et a) $h_{AFM} > D_{eq-MEB}$.

Dans le graphique présentant la mesure de D_{fmin} en fonction de h_{AFM} (Figure 84-b), l'ajustement par une fonction linéaire (représentée en pointillée) sur l'ensemble des points est très proche de la courbe $y = x$. Pour une grande majorité des particules de taille inférieure à 40 nm, on observe que $D_{fmin} > h_{AFM}$. Cependant, en comparaison avec les incertitudes associées à chaque mesurande (0,9 nm ($k = 1$) pour h_{AFM} et 0,5 nm ($k = 1$) pour D_{fmin}), ces écarts ne sont pas statistiquement significatifs.

En revanche, les écarts entre h_{AFM} et la D_{fmax} sont plus prononcés comme présenté sur la Figure 84-c, notamment pour les plus petites particules. Cela met ainsi en évidence que le rapport d'aspect, c'est à dire le rapport entre les deux dimensions (ici hauteur et longueur) est différent de 1 pour ces populations. L'incertitude de mesure ainsi que la déformation des particules étant prises en compte dans la mesure, ce rapport d'aspect ne peut être expliqué que par une non-sphéricité des petites particules.

Le certificat fourni avec les particules ERM®-FD102 précise des rapports d'aspect respectivement égaux à 0,9 et 1 pour la première et la seconde classe. Ce rapport d'aspect est défini dans le certificat comme le rapport entre la plus grande dimension (longueur) et la plus petite (largeur) de l'ellipse ajustée sur les contours de la particule imagée par MEB [4]. Cependant, le rapport d'aspect donné par le fabricant est déterminé par microscopie électronique et ne représente donc qu'un rapport d'aspect dans le plan sur lequel est la particule est déposée.

Dans notre étude, ce rapport d'aspect dans le plan (D_{fmin}/D_{fmax}) a été calculé pour chaque particule. Le rapport d'aspect moyen et l'écart-type correspondant ont également été déterminés pour chaque population (ERM®-FD102, ERM®-FD304, 30R50 et OTR3). La même étude a été réalisée pour le ratio (h_{AFM}/D_{fmin}). Les résultats sont présentés dans la Figure 86. Les barres d'erreurs correspondent à l'écart type de distribution en rapport d'aspect associée à chaque population de NPs.

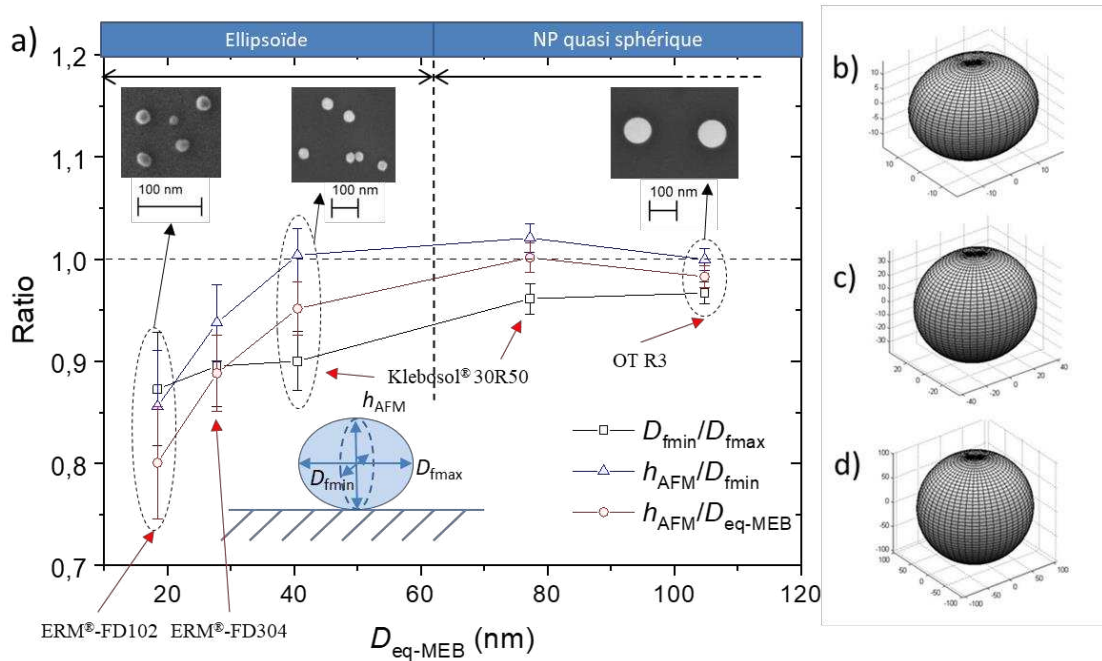


Figure 86 : (a) Comparaison des rapports d'aspects moyen (D_{fmin}/D_{fmax}), (h_{AFM}/D_{fmin}) et (h_{AFM}/D_{eq-MEB}) en fonction de D_{eq-MEB} pour chaque population de NPs (ERM-FD102, ERM[®]-FD304, Klebosol 30R50 1^{er} mode, Klebosol 30R50 2^{ème} mode et OT R3). Modélisation MATLAB de la forme moyenne d'une NP de (b) ERM[®]-FD102, (c) Klebosol 30R50 1^{er} mode et (d) OTR3 basée sur les valeurs moyennes de h_{AFM} , D_{fmin} et D_{fmax} .

Il est tout d'abord à noter que le rapport d'aspect dans le plan (D_{fmin}/D_{fmax}) pour la population ERM-FD102 est égal à $0,87 \pm 0,08$. Cette valeur est conforme à celle du certificat d'étalonnage (rapport d'aspect = 0,9).

De plus, les résultats présentés sur la Figure 86-a montrent que de manière générale, pour l'ensemble des populations étudiées, le rapport d'aspect (D_{fmin}/D_{fmax}) des particules de silice est différent de 1. De plus, l'écart par rapport à 1 augmente lorsque la taille des particules diminue. En effet, pour des particules de petite taille (ERM[®]-FD304) le rapport d'aspect moyen (D_{fmin}/D_{fmax}) dans le plan est égal à $0,90 \pm 0,04$ alors que pour des particules de plus grandes dimensions (OTR3), une valeur de $0,97 \pm 0,01$ est mesurée. Ainsi, dans le plan XY, plus les particules de silice sont petites, plus leur forme est allongée dans une direction.

L'évolution du ratio moyen (h_{AFM}/D_{fmin}) est légèrement différente de (D_{fmin}/D_{fmax}). En effet, pour des particules de diamètre équivalent moyen supérieur à 40 nm, le rapport (h_{AFM}/D_{fmin}) est égal à 1. Cependant, en dessous de 40 nm, (h_{AFM}/D_{fmin}) décroît rapidement pour atteindre $0,85 \pm 0,06$ pour les plus petites particules (ERM[®]-FD102). Ainsi, la forme des particules évolue en fonction de leur taille : les particules ayant un diamètre équivalent supérieur à 40 nm ont une section verticale circulaire, cette dernière est ellipsoïdale pour les particules de diamètre inférieur à 40 nm.

En ce qui concerne les écarts type de distribution en rapport d'aspect associés à chacune des populations, ceux-ci diminuent lorsque la taille des particules augmente. Ainsi, la dispersion en forme dans le plan XY est plus importante pour les plus petites particules.

Aussi, le rapport d'aspect moyen (D_{fmin}/D_{fmax}) ainsi que l'écart type associé à cette valeur, pour les plus grosses particules (OT R3) est égal à $0,97 \pm 0,01$ ($k = 1$). Pour cette population, le ratio moyen (h_{AFM}/D_{fmin}) est égal à $1,00 \pm 0,01$. Pour rappel, nous avons observé que la dispersion des points autour de la droite $y = x$ était plus importante pour les grosses particules (5 nm pic à pic). Ainsi, un rapport d'aspect moyen (D_{fmin}/D_{fmax}) égal à $0,97 \pm 0,02$ ($k = 2$) se traduit par un écart moyen de 1 nm à 5 nm entre les deux diamètres de Féret compte tenu de la taille des particules (100 nm). Cet écart à la sphéricité permet donc d'expliquer la dispersion pic à pic (± 5 nm) observée dans la section précédente.

À partir de toutes ces observations, les populations de particules de silice peuvent être classées en plusieurs catégories selon leur taille.

- Dans la gamme de 60 à 110 nm, la différence entre les résultats des mesures de h_{AFM} et D_{fmin} n'est pas significative. Cela indique que le 2ème mode de 30R50 ($D_{eq-MEB} = 80,1$ nm) et les particules OTR3 ($D_{eq-MEB} = 104,8$ nm) sont quasi sphériques sans orientation préférentielle sur le substrat (Figure 86-d).
- En ce qui concerne le 1^{er} mode de la population 30R50 ($D_{eq-MEB} = 37,6$ nm), le rapport (h_{AFM}/D_{fmin}) est égal à $1,00 \pm 0,03$, ce qui suggère que ces NPs ont une symétrie de révolution autour d'un des axes principaux (Figure 86-c). Cependant, pour ces particules, le rapport d'aspect moyen (D_{fmin}/D_{fmax}) dans le plan XY est égal à $0,90 \pm 0,03$. Ceci prouve que ces particules sont des sphéroïdes allongés (prolate) déposées sur le substrat de telle sorte que leur grand axe principal soit parallèle à la surface. Par conséquent, leur mesure de hauteur (h_{AFM}) devient comparable à la valeur du diamètre latéral mesurée le long du petit axe (D_{fmin}).
- Enfin, pour les particules ayant un diamètre nominal inférieur à 40 nm (ERM®-FD102 et ERM®-FD304), les rapports moyens (h_{AFM}/D_{fmin}) et (D_{fmin}/D_{fmax}) sont sensiblement inférieurs à 1. Cela démontre que ces NPs ont une forme ellipsoïdale avec $D_{fmax} > D_{fmin} > h_{AFM}$ et qu'elles sont toujours orientées de la même manière sur le substrat (Figure 86-b).

1.3 Conclusions

L'approche par métrologie hybride a été mise en place afin d'obtenir une caractérisation tridimensionnelle de populations de nanoparticules de silice de diamètre allant de 15 nm à 100 nm. Grâce à cette méthode simple à mettre en œuvre (localisation aisée des zones d'intérêt par AFM et MEB) en utilisant un substrat de repositionnement, une différence de forme a pu être mise en évidence

pour les particules de silice en fonction de leur taille. Cette différence s'exprime par la présence d'un écart systématique entre les mesures AFM et MEB pour les plus petites particules et met en évidence la complémentarité entre ces deux techniques pour une caractérisation quantitative tridimensionnelle des nanoparticules.

Toutefois, les techniques AFM et MEB donnent deux mesures indépendantes : il est impossible de mesurer la même dimension avec ces deux techniques, l'une donnant une mesure dans le plan XY (MEB), l'autre selon la direction Z (AFM). Ce point est important dans la mesure où les particules non sphériques semblent se déposer de façon préférentielle offrant toujours le même axe à l'AFM. Ainsi, afin de fiabiliser la méthode, une troisième technique a été mise en place afin de faire le lien entre les mesures AFM et MEB : la microscopie en transmission (STEM HAADF). En effet, dans le cadre de l'étude de particules amorphes, l'intensité de l'image peut être reliée à l'épaisseur de matière traversée. De plus, étant donné les énergies engagées lors de l'imagerie par STEM, les dimensions du faisceau électronique sont réduites par rapport au MEB.

2 COMPARAISON DIRECTE DES MESURES AFM, MEB ET STEM SUR LES MÊMES POPULATIONS DE PARTICULES

2.1 Introduction

Dans la partie précédente de ce chapitre, en combinant les mesures dimensionnelles dans le plan par MEB et de hauteur par AFM et en prenant en compte les bilans d'incertitudes sur ces deux techniques établis au chapitre 3, il a été possible de caractériser les dimensions et la forme de différentes populations de nanoparticules et, pour les populations certifiées, de les confronter à leur certificat d'étalonnage. Toutefois, si les techniques AFM et MEB s'avèrent très complémentaires, elles n'offrent pas de recoupement direct pour une particule donnée : le MEB ne donne accès qu'aux paramètres dans le plan de l'image et l'AFM ne fournit d'information réellement quantitative, à l'échelle des nanoparticules, que sur leur hauteur.

Il apparaît donc nécessaire, pour valider la complémentarité des techniques AFM et MEB dans cette étude, de faire appel à une technique expérimentale susceptible de fournir l'ensemble des paramètres dimensionnels d'une même nanoparticule. C'est l'objet de l'analyse par STEM-HAADF présentée ci-après.

2.2 Démarche utilisée pour remonter à une information quantitative en Z par STEM-HAADF

2.2.1 Hypothèse de linéarité du signal STEM-HAADF

Comme pour le MEB, la microscopie électronique en transmission est généralement utilisée afin d'effectuer une mesure des dimensions projetées dans le plan XY . Cependant, étant donné les énergies mises en jeu lors de l'imagerie par STEM-HAADF, les dimensions du faisceau électronique sont réduites par rapport au MEB et permettent ainsi d'obtenir une image plus résolue.

De plus, une approche supplémentaire, non usuelle, est mise en place dans ces travaux pour traiter les images STEM. En effet, on se propose ici d'analyser l'intensité du signal STEM-HAADF pour remonter à l'épaisseur de matière traversée par les électrons. Cela est rendu possible par le fait que les particules imagées dans ces travaux sont exclusivement amorphes et chimiquement homogènes. Ainsi, lors de l'imagerie en STEM, seule la diffusion élastique des électrons par les noyaux des atomes influence sur l'intensité du signal recueilli. Le signal doit donc être directement lié à l'épaisseur de matière traversée, ce qui doit se traduire pour une nanoparticule par un signal :

$$I = I_{sub} + \alpha h \quad (36)$$

Avec I_{sub} l'intensité liée au substrat et h l'épaisseur de la nanoparticule sous le faisceau. I_{sub} dépend de l'épaisseur de la membrane carbone qui est variable et α des conditions d'imagerie. Ainsi, le paramètre α devrait être le même pour toutes les particules d'une même image, mais peut varier d'une image à l'autre dans la mesure où les paramètres d'imagerie (faisceau, acquisition...) peuvent être différents pour chaque image. I_{sub} , en revanche, est susceptible de varier d'une particule à l'autre dans la mesure où le substrat est ici une membrane carbone dont l'épaisseur et l'orientation peut changer entre deux positions de nanoparticules.

Dans le cas d'une particule sphérique de diamètre D , l'épaisseur h peut être décrite en fonction des coordonnées x et y (cf. Figure 87) par :

$$h(x, y) = Re \left(D \cdot \sin \left(\arccos \left(\frac{\sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}}{\frac{D}{2}} \right) \right) \right) \quad (37)$$

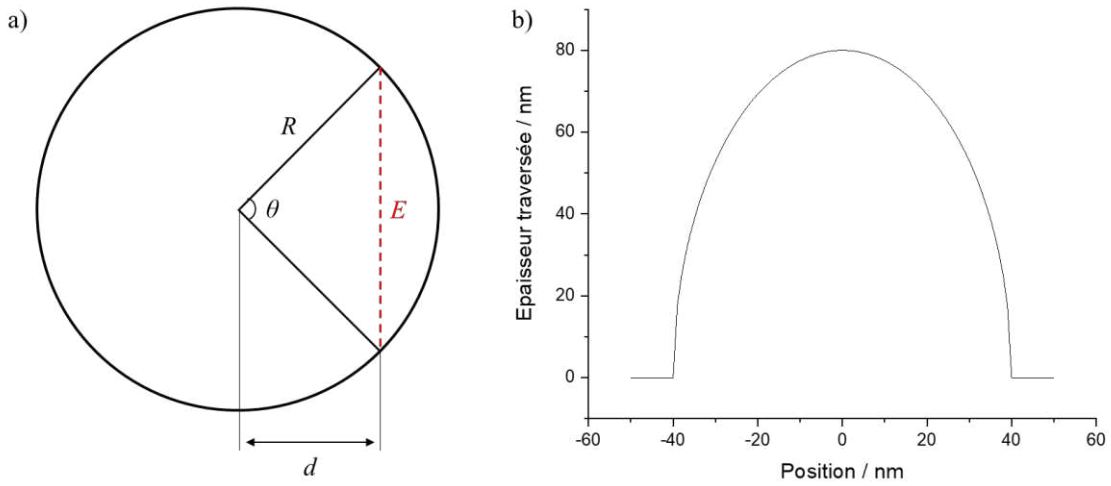


Figure 87 : a) Représentation de l'épaisseur traversée E à une distance d du centre de la particule de rayon R . b) Épaisseur traversée en fonction de la distance par rapport au centre d'une particule de diamètre 80 nm.

L'équation (37) implique alors que l'intensité du signal STEM-HAADF recueillie lors du balayage d'une nanoparticule sphérique devrait être de la forme :

$$I_{sph}(x, y, I_{sub}, \alpha, D_{STEM}, x_0, y_0) = I_{sub} + \alpha \cdot Re \left(D_{STEM} \cdot \sin \left(\arccos \left(\frac{\sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}}{\frac{D_{STEM}}{2}} \right) \right) \right) \quad (38)$$

Avec I_{sub} l'intensité liée à la traversée du substrat (membrane carbone) α le coefficient de proportionnalité entre intensité et épaisseur de particule traversée, D_{STEM} le diamètre de la particule, x_0 et y_0 la position du centre de la sphère sur la surface selon les directions x et y .

Comme nous l'avons vu dans les sections précédentes, les plus grosses particules étudiées ont une forme sphérique. Elles vont nous permettre, dans un premier temps, de valider l'hypothèse d'un signal qui varie linéairement avec l'épaisseur de la particule en ajustant les données expérimentales par la fonction I_{sph} , et de déterminer la valeur du paramètre d'ajustement α pour les paramètres d'imagerie utilisés. Pour ce faire, pour donner suite aux résultats obtenus dans la section précédente, les particules de référence ERM®-FD101b seront utilisées.

2.2.2 Analyse du signal STEM-HAADF selon la direction perpendiculaire au plan sur des particules quasi-sphériques - Utilisation du 2ème mode des particules de référence ERM®-FD101b

L'intensité du signal STEM-HAADF est exprimée en niveau de gris avec un encodage sur 16 bits. Afin de relier cette intensité à l'épaisseur de matière traversée, des particules de silice de référence ERM®-FD101b sont utilisées. Pour rappel, ce matériau de référence est composé d'une bi-population de particules de diamètres moyens respectifs 40 nm et 83,7 nm. En effet, pour produire ces particules de référence la suspension Klebosol® 30R50 est utilisée comme produit de départ [5]. Ainsi, comme présenté dans la section précédente, il est à noter que les grosses particules composant la suspension ERM®-FD101b sont quasi-sphériques (les rapports d'aspects D_{fmin}/D_{fmax} et h_{AFM}/D_{fmin} sont respectivement égaux à $0,96 \pm 0,02$ et $1,02 \pm 0,01$) et s'orientent aléatoirement sur le substrat. Cette quasi-sphéricité permet d'utiliser ces particules pour évaluer le rapport entre l'intensité en niveaux de gris sur l'image STEM-HAADF et l'épaisseur de matière traversée. La méthode utilisée se décompose ainsi selon les étapes suivantes :

(1) Dans un premier temps, afin de localiser la position des différentes particules sur l'image STEM, un seuillage est réalisé. Les positions des centroïdes selon les directions x et y permettent alors de créer des vignettes pour chaque particules qui seront alors traitées indépendamment. L'ajustement de la fonction I_{sph} décrivant l'épaisseur de matière traversée pour une particule sphérique ne peut cependant pas être réalisé sur l'ensemble de la vignette. En effet, en faisant cela, l'ajustement converge rapidement, notamment à cause du nombre élevé de pixels liés au signal du substrat sur la vignette, et un écart significatif est observé entre le signal mesuré par STEM-HAADF et celui ajusté. Le même phénomène apparaît à cause du nombre élevé de pixels au centre de la particule. Ainsi, pour exclure de l'ajustement les pixels correspondants au centre de la particule et au substrat, un poids est donné à chaque pixel comme présenté sur la Figure 88. Un premier seuillage est réalisé afin de déterminer grossièrement le rayon de la particule (R_{Seuil}). Seuls les pixels compris entre R_{Seuil} et $R_{Seuil}/2$ seront pris en compte lors de l'ajustement du signal STEM.

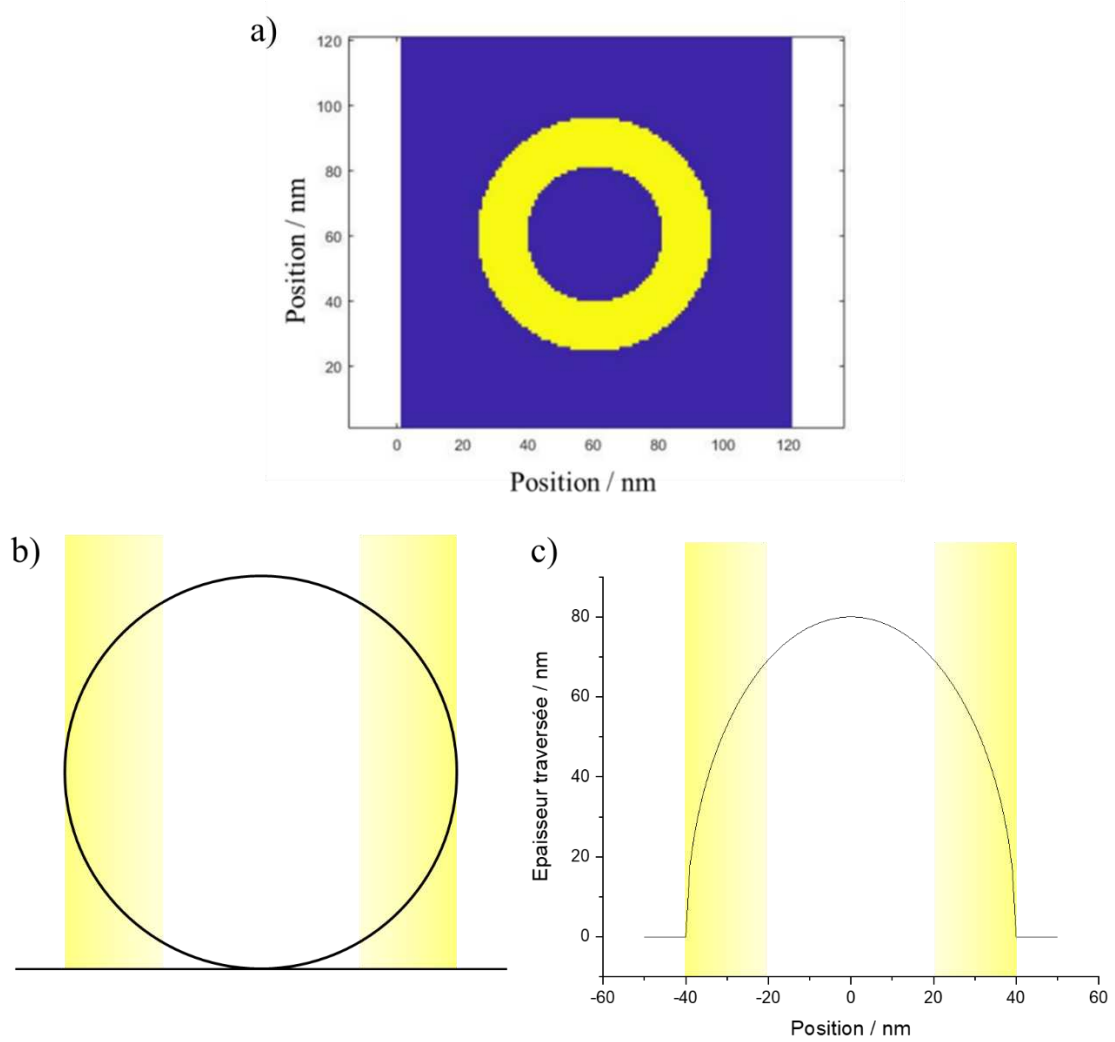


Figure 88 : a) Poids associé à chaque pixel afin de réaliser l'ajustement d'une fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère avec le signal d'une particule de silice. Les pixels en jaune correspondent à ceux compris entre R_{Seuil} et $R_{\text{Seuil}}/2$ et sont eux pris en compte pour réaliser l'ajustement. b) Schéma en coupe d'une particule et c) fonction de l'ajustement pour une particule de diamètre 80 nm. Pour chaque figure, les bandes en jaune représentent les zones sur lesquelles l'ajustement sera réalisé.

(2) L'ajustement est alors réalisé sur la particule sphérique. Les paramètres définis dans la fonction I_{sph} sont extraits de l'ajustement sur le signal STEM-HAADF (Figure 89-a) : I_{sub} et α décrivant respectivement le décalage et le rapport entre l'image expérimentale et la surface ajustée, D_{STEM} le diamètre de la particule, x_0 et y_0 permettant d'ajuster la position du centre de la sphère sur la surface selon les directions x et y . L'affichage de l'image du résidu (soustraction de l'ajustement au signal STEM) permet de vérifier l'hypothèse de linéarité du signal STEM-HAADF avec l'épaisseur de nanoparticule (sphérique) traversée. Par exemple, dans le cas de l'ajustement réalisé sur une particule de silice de diamètre mesuré par STEM-HAADF, $D_{\text{STEM}} = 86,2$ nm et présenté sur la Figure 89-b, l'image résiduelle montre que l'ajustement reproduit globalement le signal de la particule. On remarque toutefois un léger désaccord entre l'ajustement et le signal STEM-HAADF sur le contour de

la particule, le signal STEM-HAADF étant légèrement supérieur à l'ajustement. Ce phénomène est très probablement lié à la convolution entre le faisceau électronique Gaussien, ayant une taille (écart type) inférieure au nanomètre, avec la particule.

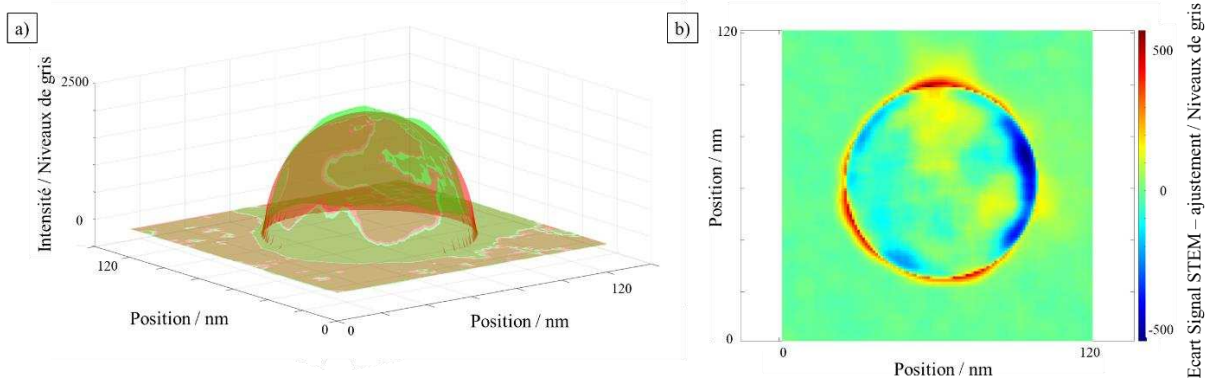


Figure 89 : a) Signal STEM-HAADF d'une particule de silice (vert) et ajustement par la fonction I_{sph} en fonction des positions x et y (rouge). b) Écart entre l'ajustement et le signal STEM-HAADF (résidu). Le bruit sur le signal STEM-HAADF est supprimé par un filtre Gaussien (5 pixels x 5 pixels) pour une meilleure lisibilité.

La méthode consistant à ajuster la fonction décrivant l'épaisseur de matière traversée dans une sphère sur le signal STEM-HAADF sphérique est ainsi validée pour cette première particule et démontre que l'intensité du signal mesuré varie bien linéairement avec l'épaisseur traversée dans la particule

L'intensité I du signal STEM-HAADF est ainsi liée à l'épaisseur h de nanoparticule traversée par la relation linéaire :

$$I = I_{sub} + \alpha h \quad (39)$$

Par conséquent, une fonction d'étalonnage $I(h)$ et par extension $h(I)$ est disponible pour tous les points de l'échantillon à la condition de déterminer I_{sub} pour chaque vignette et α pour chaque nouvelle image STEM.

Cette démarche est par la suite appliquée sur toute une population de particules sphériques. Dans un premier temps elle a pour objectif d'effectuer une validation à plus grande échelle en vérifiant la linéarité du signal STEM-HAADF pour l'ensemble des particules. Cette démarche a ainsi été réalisée sur différentes images STEM-HAADF de la suspension de silice référence ERM®-FD101b. Afin de suivre les recommandations du certificat d'étalonnage, seules les particules ayant un diamètre supérieur à 60 nm sont traitées. Une image STEM-HAADF de la suspension de référence ERM®-FD101b présentant 202 particules extraites et sélectionnées pour effectuer la validation à plus grande échelle est présentée sur la Figure 90-a.

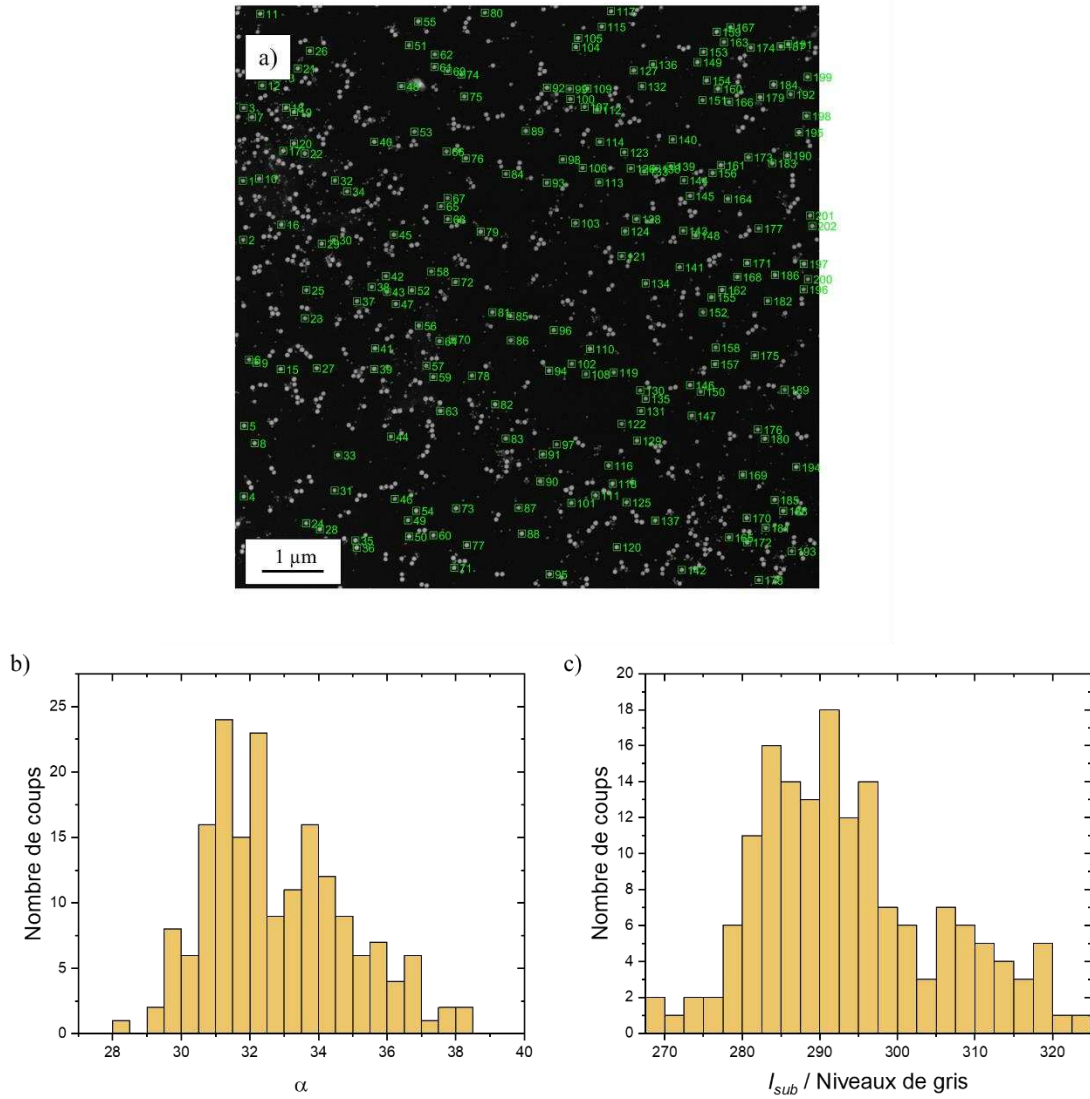


Figure 90 : a) Image STEM-HAADF de la suspension de référence ERM®-FD101b présentant les particules extraites automatiquement de l'image (carrés verts) avec leur numérotation. Distributions des paramètres b) α et c) I_{sub} évalués sur les 202 particules extraites. Pour chaque particule, les paramètres α et I_{sub} sont laissés libres lors de l'ajustement.

Il est ainsi possible d'évaluer les paramètres α et I_{sub} pour chaque particule sur l'image. Pour rappel, ces paramètres sont laissés libres lors de l'ajustement du signal STEM-HAADF d'une particule par la fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère I_{sph} . Le paramètre α étant fonction des conditions d'imagerie, il devrait être le même pour toutes les particules extraites d'une même image initiale. Afin de vérifier cette hypothèse, le paramètre α est évalué pour les 202 particules extraites de la Figure 90-a. La distribution du paramètre α pour cette image est présentée sur la Figure 90-b. Ainsi, une valeur moyenne de 32,8 est trouvée pour α avec un écart-type de 2,0 pour les 202 particules. Cette étude a été reproduite sur 3 images STEM-HAADF supplémentaires, des résultats similaires ont été trouvés pour chacune des images. La même étude a été menée sur le paramètre I_{sub} . Pour rappel, I_{sub} dépend de l'épaisseur de la membrane carbone qui est variable. La distribution du paramètre I_{sub} pour

les 202 particules extraites de la Figure 90-a est présentée sur la Figure 90-c. Ainsi, une valeur moyenne de 294,0 est trouvée pour I_{sub} avec un écart-type de 11,8 pour les 202 particules

Une deuxième étape permettant de valider la méthode à plus grande échelle consiste à vérifier la linéarité du signal STEM-HAADF pour toutes les particules en s'en tenant aux paramètres diamètre (D_{STEM}) et hauteur (H_{STEM}) mesurés par STEM. Ainsi, la démarche adoptée pour chaque particule imagée est la suivante :

- Le signal STEM-HAADF est ajusté par la fonction (38) afin de déterminer le diamètre D_{STEM} , le centre de la particule et les paramètres I_{sub} (pour chaque particule) et α (pour l'image étudiée) (ces derniers fournissant l'ajustement linéaire entre intensité du signal et épaisseur de particule traversée).
- La hauteur H_{STEM} de la particule est ensuite déterminée à partir de l'intensité du signal STEM-HAADF au centre de la particule et de la fonction d'étalonnage $h(I)$.

Cette démarche a ainsi été réalisée sur différentes images STEM-HAADF de la suspension de silice référence ERM®-FD101b, en traitant uniquement les particules ayant un diamètre supérieur à 60 nm afin de suivre les recommandations du certificat d'étalonnage. Les histogrammes présentant les distributions de D_{STEM} et H_{STEM} , établis sur 504 particules de silice, sont respectivement reportés sur les Figure 91-a et Figure 91-b.

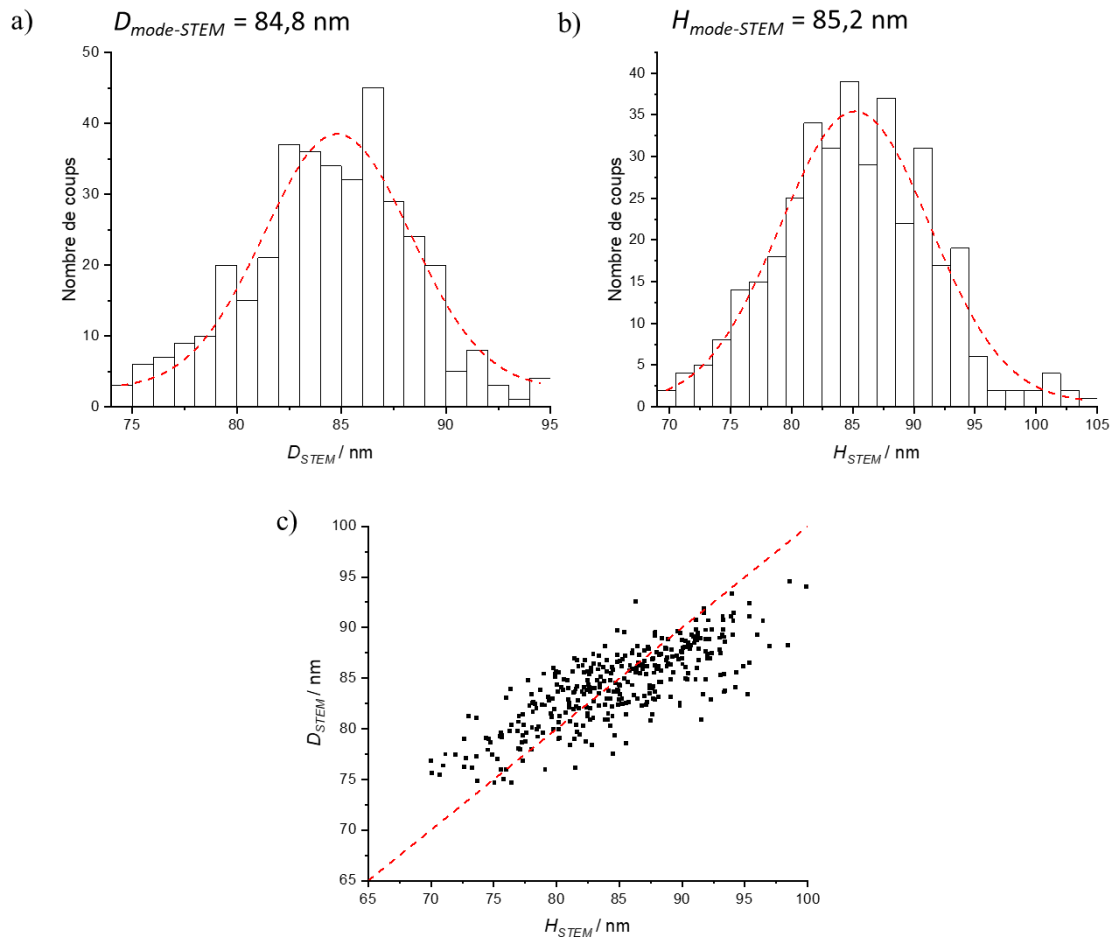


Figure 91 : Histogrammes de distribution en taille sur (a) le diamètre et (b) la hauteur des particules de silice référence ERM[®]-FD101b obtenus à partir des images STEM. c) comparaison particule par particule de D_{STEM} et H_{STEM} . La courbe en tirets rouge correspond à la droite $y = x$.

Ainsi, les modes de distribution de D_{STEM} et H_{STEM} sont respectivement égaux à 84,8 nm et 85,2 nm. Ces résultats sont en accord avec la valeur fournie par le certificat d'étalonnage ($83,7 \pm 2,2$) nm ($k = 2$). De plus, comme dans l'étude de la section précédente sur des particules de dimensions similaires, le diamètre des particules est équivalent à la hauteur mesurée. Une comparaison entre les mesures de D_{STEM} et H_{STEM} pour chaque particule a également été réalisée et est présentée sur la Figure 91-c. Les résultats montrent que les mesures D_{STEM} et H_{STEM} sont proches de la courbe $y = x$. Le ratio moyen entre les mesures de hauteur et de diamètre par STEM, pour un total de 376 NPs est égal à ($1,01 \pm 0,05$). Les résultats sont similaires à ceux obtenus lors de la comparaison AFM/MEB réalisée dans la section précédente pour des particules de même taille ($1,00 \pm 0,02$). Cela permet de confirmer les observations réalisées précédemment selon lesquelles la dispersion des points autour de la droite $y = x$ sur la Figure 84-a était majoritairement due à l'orientation aléatoire des particules sur le substrat.

De plus, grâce à cette démarche et à partir de l'hypothèse de sphéricité des particules, une mesure simultanée du diamètre et de la hauteur d'une population de NPs vient d'être réalisée à partir d'une

même technique. Ainsi, nous disposons d'une méthode fiable permettant d'obtenir l'ensemble des propriétés tridimensionnelles d'une population de particules à partir d'une même mesure.

En conclusion, l'intensité STEM-HAADF I varie bien linéairement avec l'épaisseur h de la particule balayée. Cependant, les paramètres I_{sub} et α fournissant l'ajustement linéaire entre intensité du signal et épaisseur de particule traversée dépendent des conditions d'imagerie et doivent être redéterminés pour chaque image STEM-HAADF pour le coefficient α , et pour chaque vignette pour le paramètre I_{sub} .

2.2.3 Confrontation STEM-HAADF et AFM MEB sur une même population de particules individuelles identifiées

Afin de valider l'approche STEM-HAADF quantitative, les mesures de diamètre et de hauteur D_{STEM} et H_{STEM} réalisées par STEM-HAADF sur les particules de référence ERM[®]-FD101b ont été comparées, sur chaque particule individuelle, aux mesures obtenues par AFM et MEB sur ces mêmes particules.

Pour cela, des images AFM et MEB ont été réalisées sur les particules composant le second mode de la suspension de référence ERM[®]-FD101b observées par STEM. Pour rappel, le mode de distribution sur le diamètre équivalent en surface projetée, donné par le certificat d'étalonnage, est égal à $(83,7 \pm 2,2)$ nm ($k = 2$) pour ces particules de forme sphérique. Pour déterminer la hauteur des particules par AFM, la méthode de mesure décrite dans la section 3.3.1 du chapitre 2 a été appliquée. Concernant les images MEB, la méthode de segmentation utilisant le point invariant (cf. Chapitre 4) a été utilisée. Les mesures STEM-HAADF ont ensuite été réalisées en repérant la même zone d'intérêt sur une grille de microscopie selon la méthode décrite dans la section 1.3.3 du Chapitre 2. La Figure 92 présente un exemple de mêmes particules imagées par AFM, par MEB puis par STEM.

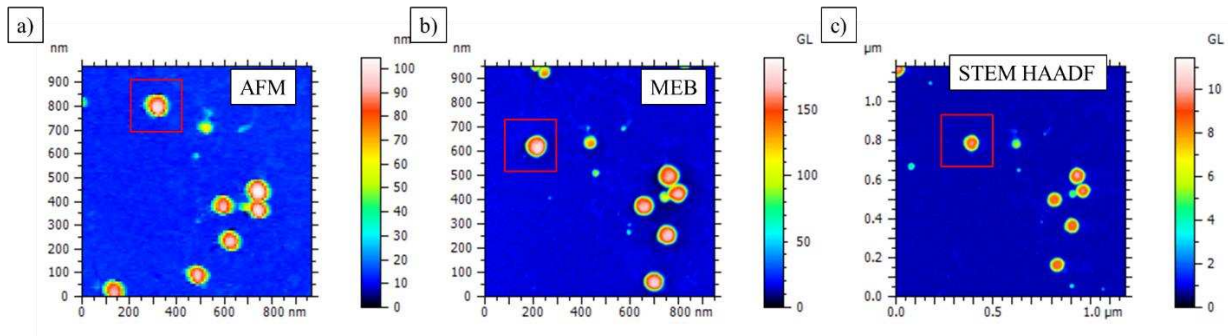


Figure 92 : Images a) AFM Peak Force, b) MEB et c) STEM-HAADF d'une même zone d'un échantillon de silice de référence ERM[®]-FD101b déposé sur film carbone.

Pour chaque particule, D_{STEM} a été comparée avec D_{eq-MEB} et H_{STEM} avec H_{AFM} . Les résultats sont présentés sur la Figure 93.

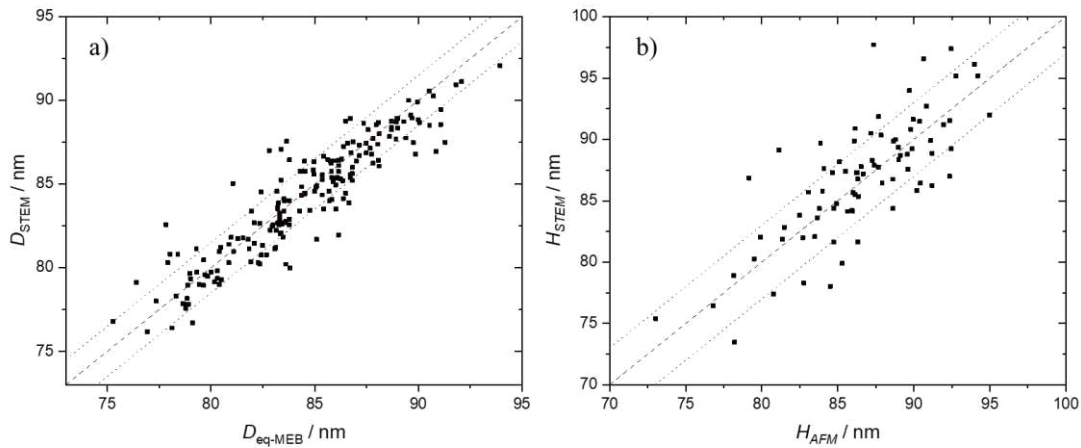


Figure 93 : a) Comparaison entre la mesure du diamètre par MEB (diamètre équivalent en surface projetée obtenu par segmentation par croisement des courbes) et par STEM-HAADF (ajustement à partir de la fonction de l'épaisseur traversée) pour les mêmes particules de silice. b) Comparaison entre la mesure de hauteur par AFM (distance entre sommet et plan moyen de rugosité) et par STEM-HAADF (différence entre signal STEM-HAADF et surface ajustée) pour les mêmes particules de silice. Chaque point correspond à une particule, les courbes en tirets rouges représentent $y = x$.

Ainsi, pour un total de 191 NPs mesurées à la fois par STEM-HAADF et MEB, la Figure 93-a montre que les points $D_{STEM} = f(D_{eq-MEB})$ sont dispersés autour de la droite $y = x$. La dispersion des points, évaluée en calculant l'écart type de $(D_{STEM} - D_{eq-MEB})$ pour les 191 particules, est égale à 1,5 nm ($k = 1$).

De la même façon, une comparaison des mesures de hauteurs par STEM-HAADF et AFM a été réalisée sur les mêmes particules. Les résultats sont présentés sur la Figure 93-b. Plusieurs problèmes, tels que la difficulté de colocalisation des particules ou le redressement des images AFM réalisées sur grille, font qu'un nombre limité de particules (80 NPs) sont mesurées par les deux techniques pour la comparaison. Ici, en moyenne, les mesures STEM-HAADF sont supérieures aux mesures AFM de 0,7 nm. Dans le cas présent, la dispersion des points est égale à 2,9 nm ($k = 1$). Cette dernière peut être attribuée aux précautions ayant été prises lors de l'imagerie et de l'analyse d'images par AFM. En effet, dans cette étude, les images AFM sont réalisées sur un film carbone souple. Les conditions d'imageries sont ainsi largement différentes de celles rencontrées lors de l'acquisition d'images sur substrat Silicium. Ainsi, afin d'obtenir une meilleure stabilité lors des mesures, le mode Peak Force a été préféré au mode Tapping pour son fonctionnement similaire à un mode quasi statique, et pour les faibles forces générées et contrôlées. De plus, les images AFM étant réalisées sur un film carbone souple, il est difficile de déduire l'inclinaison générale du substrat et de la soustraire afin d'obtenir une image plane de la topographie de l'échantillon.

Cependant, les deux comparaisons réalisées montrent que les mesures STEM-HAADF sont en accord avec les mesures AFM et MEB sur les mêmes particules. Cela permet de valider la méthode de traitement des images STEM. Cependant, cette méthode n'est utilisable qu'à condition de pouvoir

étalonner l'intensité STEM-HAADF I en déterminant les paramètres I_{sub} et α . L'utilisation de la technique STEM-HAADF pour remonter à une information quantitative sur l'épaisseur d'une nanoparticule nécessitera donc des hypothèses sur l'échantillon analysé.

2.3 Application de la méthode sur les particules non sphériques

Nous avons montré que le signal STEM-HAADF variait linéairement avec l'épaisseur de nanoparticule traversée. Pour cela, des particules dont la sphéricité est reconnue ont été utilisées. Cette hypothèse de sphéricité a été mise à profit pour étalonner dans un premier temps α pour chaque image et I_{sub} pour chaque vignette. De plus, ces mesures ont été confirmées via la comparaison avec celles réalisées par AFM et MEB sur les mêmes particules.

Dans cette partie, nous allons utiliser la méthode STEM-HAADF pour analyser la morphologie et les dimensions de nanoparticules de forme ellipsoïdale.

La manière la plus simple de traiter ces particules avec cette méthode est théoriquement d'ajuster le signal des particules avec une fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une particule ellipsoïdale. De la même manière, les paramètres α et I_{sub} pourraient être directement évalués sur les images des particules non sphériques. Cependant, cette démarche requiert d'ajouter de nombreux paramètres libres pour l'ajustement tels que les dimensions dans chacune des directions ou encore des paramètres relatifs à l'orientation des particules qui rendent difficile la convergence des algorithmes d'ajustement. Compte tenu de l'ensemble de ces difficultés, cette approche a ainsi été écartée.

La démarche mise en place dans ces travaux consiste plutôt à évaluer les écarts à la sphéricité de ces particules en comparant les écarts entre leur signal STEM-HAADF et la fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère. Cependant, pour réaliser cette comparaison, il est nécessaire au préalable de déterminer I_{sub} et α pour chaque image STEM.

Ainsi, deux cas de figure sont alors possibles. La démarche appliquée et détaillée dans la suite de ces travaux pour chaque cas est la suivante :

- le premier cas correspond à une bi-population de nanoparticules, se composant de grosses particules sphériques, qui serviront d'étalon pour la détermination du paramètre α , et de particules ellipsoïdales plus petites, correspondant aux particules à étudier.
- le second cas correspond à une population constituée uniquement des nanoparticules ellipsoïdales à analyser. Dans ce cas, en l'absence de particules de référence, une mesure de la hauteur des particules individuelles sera préalablement réalisée par AFM. Après identification des mêmes particules par STEM, cette hauteur servira de donnée d'entrée pour étalonner le paramètre α .

2.3.1 Cas n°1 : Bi-population contenant des particules sphériques et non sphériques – Exemple de la suspension de référence ERM®-FD101b

Contrairement aux grosses particules qui sont quasi-sphériques, il a été montré dans la section 1.3 que les particules constituant la petite population du matériau de référence ERM®-FD101b (équivalente au 1^{er} mode du Klebosol 30R50) étaient des sphéroïdes allongés (prolates) avec :

$$(h_{AFM} = D_{fmin}) < D_{fmax} \quad (40)$$

À la suite de l'approche hybride AFM/MEB, nous en avons conclu que ces particules se déposaient sur le substrat de telle sorte que leur grand axe principal soit parallèle à la surface. Afin de vérifier cette hypothèse, les petites particules présentes sur les images de ERM®-FD101b réalisées précédemment par MEB et AFM ont été imagées par STEM-HAADF. Pour rappel, ce matériau de référence est composé d'une bi population de particules de diamètres moyens 40 nm et 83,7 nm.

Comme évoqué précédemment, il est nécessaire de déterminer I_{sub} et α pour chaque image STEM-HAADF. Ici, les particules constituant le second mode de la suspension de référence ERM®-FD101b sont sphériques. Leurs images STEM-HAADF peuvent donc être ajustées par la fonction I_{sph} , α étant alors un paramètre libre déterminé par l'ajustement sur la forme sphérique. Les petites particules constituant le premier mode de la suspension de référence ERM®-FD101b étant présentes sur les mêmes images STEM, on peut alors utiliser le paramètre α précédemment déterminé pour ces petites particules.

Ces particules sont analysées de la façon suivante : Un ajustement par la fonction I_{sph} est réalisé avec le paramètre α fixé, les autres paramètres (D_{STEM} , x_0 , y_0 , I_{sub}) étant laissés libres (I_{sub} étant susceptible de varier d'une région à l'autre en raison de la nature du substrat : une membrane carbone). On fait ainsi un ajustement du signal pour déterminer le diamètre moyen équivalent dans le plan et les coordonnées du centre de l'ellipsoïde (x_0 , y_0). Dans un second temps l'intensité STEM-HAADF au point (x_0 , y_0) est mesurée pour en extraire la hauteur de la particule, grâce au paramètre α étalonné sur les grosses particules sphériques présentes sur la même image, et au paramètre I_{sub} déterminé par l'ajustement de la particule. Les résultats obtenus sur les rapports d'aspect sont présentés sur la Figure 94.

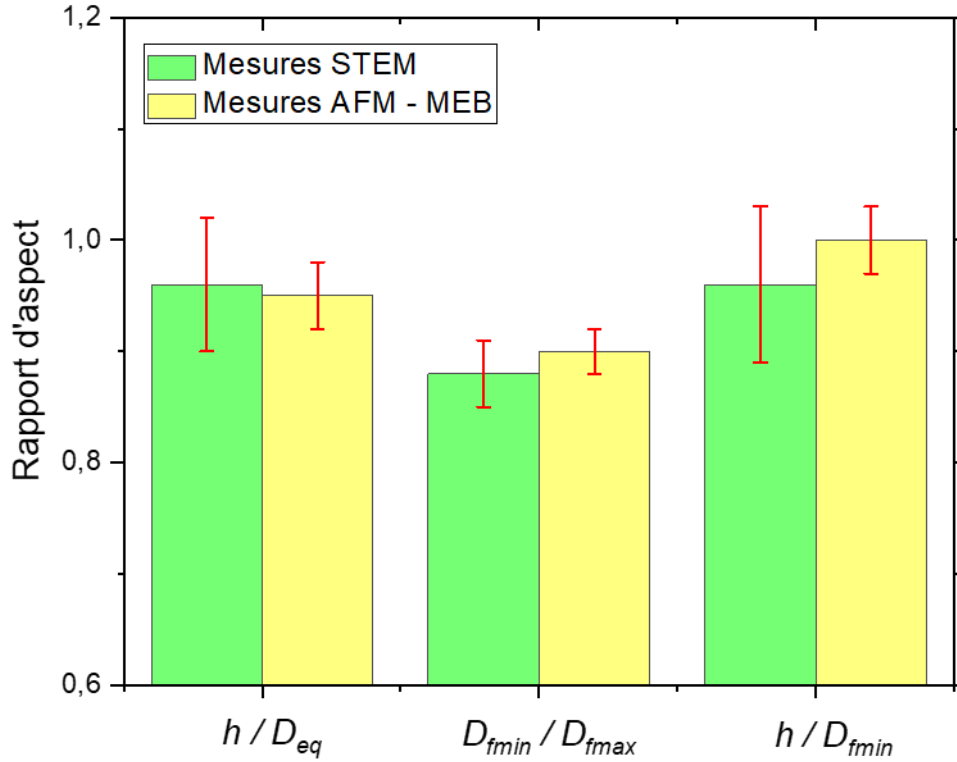


Figure 94 : Rapports d'aspects moyen h/D_{eq} , D_{fmin}/D_{fmax} et h/D_{fmin} évalués par STEM-HAADF et par la comparaison AFM/MEB réalisée dans la section 1.2 pour la première population des particules de référence ERM[®]-FD101b (diamètre moyen proche de 40 nm). Le terme h désigne H_{STEM} pour la mesure STEM-HAADF et H_{AFM} pour la mesure AFM. Le terme D_{eq} désigne D_{STEM} pour la mesure STEM-HAADF et D_{eq-MEB} pour la mesure MEB.

Ainsi, pour un total de 838 NPs, les rapports moyens H_{STEM}/D_{STEM} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{STEM}/D_{fmin} sont respectivement égaux à $0,96 \pm 0,06$, $0,88 \pm 0,03$ et $0,96 \pm 0,07$. Les résultats obtenus à partir de la mesure STEM-HAADF sont en accord avec ceux obtenus dans la section 1.3 lors de la comparaison des mesures AFM et MEB réalisées sur des particules similaires déposées sur substrat silicium.

De plus, le STEM-HAADF permet d'effectuer une analyse morphologique plus complète des particules par rapport à la combinaison AFM/MEB. En effet, l'affichage de l'image du résidu (soustraction de l'ajustement au signal STEM-HAADF) permet d'analyser, pour chaque particule, les écarts à la sphéricité. Un exemple réalisé sur une particule constitutive du premier mode du matériau de référence ERM[®]-FD101b est présenté sur la Figure 95-a.

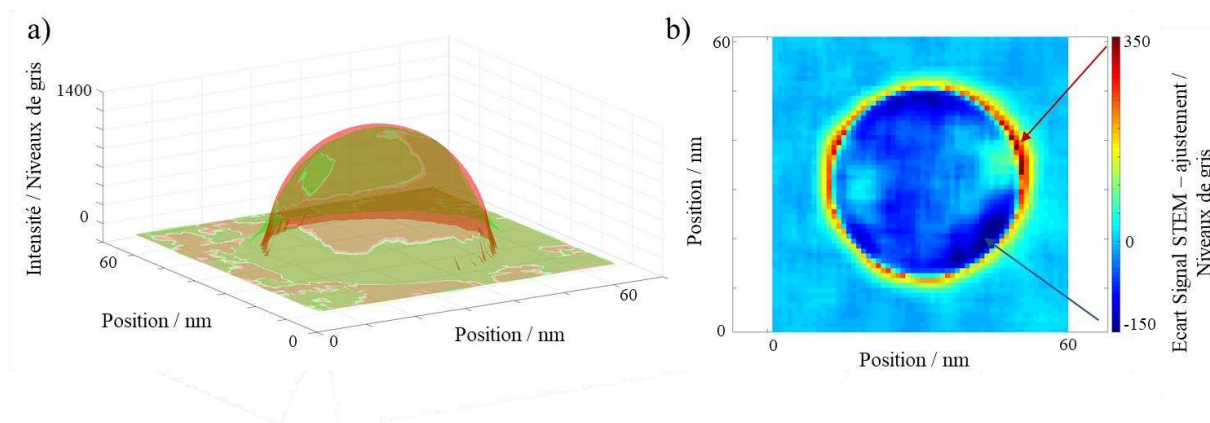


Figure 95 : a) Ajustement du signal STEM-HAADF d'une particule de silice (vert) par la fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère en fonction des positions x et y (rouge). b) Écart entre l'ajustement et le STEM-HAADF. Mesure réalisée sur une particule constitutive du premier mode du matériau de référence ERM[®]-FD101b.

L'écart entre la surface ajustée et le signal STEM-HAADF est présenté sur la Figure 95-b. Ainsi, un écart à la sphéricité est observé pour cette particule, la fonction I_{sph} décrivant une sphère de diamètre D_{STEM} donnant une intensité relative 7 % plus importante au centre de la particule que le signal mesuré sur l'image STEM-HAADF. On observe également plusieurs zones sur la Figure 95-b (représentées en bleu foncé) proches du bord de la particule pour lesquelles l'ajustement de la fonction I_{sph} est nettement supérieure au signal STEM-HAADF. De plus, d'autres zones proches du bord de la particule représentées en bleu clair/vert sur la Figure 95-b mettent en évidence que le signal STEM-HAADF est supérieure à l'ajustement par la fonction I_{sph} . Ces résultats montrent que la morphologie des particules constituant la petite population du matériau de référence ERM[®]-FD101b apparaît comme étant plus complexe qu'un ellipsoïde.

Afin de comparer les résultats de cette étude avec ceux obtenus dans la section 1.3 pour des particules similaires (1^{er} mode du Klebosol 30R50), différents rapport d'aspects (H_{STEM}/D_{STEM} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{STEM}/D_{fmin}) ont été évalués à partir des mesures STEM-HAADF. Les mesures de D_{fmin} et D_{fmax} sont réalisées sur l'image binaire de la particule réalisée en seuillant le signal STEM-HAADF au pied de la particule.

Ainsi, la technique STEM-HAADF, permettant la mesure des propriétés tridimensionnelles d'une particule, valide la complémentarité ainsi que les résultats obtenus lors de l'approche hybride AFM/MEB.

2.3.2 Cas n°2 : suspension composée exclusivement de particules non sphériques – exemple des particules de silice de référence ERM[®]-FD304

Dans la section précédente, une bi-population (ERM[®]-FD101b) était imagée par STEM-HAADF. Ainsi, les petites particules (forme sphéroïdale) étaient imagées dans les mêmes conditions que les

grosses (forme sphérique). Il était ainsi possible de déterminer le paramètre d'ajustement α , relatif aux conditions d'imagerie utilisées, sur les plus grosses particules (sphériques).

Dans cette partie, nous nous intéressons maintenant aux particules de référence ERM®-FD304 (diamètre indicatif donné à $(27,8 \pm 1,5)$ nm ($k = 2$) par le certificat). Dans la section 1.3, il a été montré par approche hybride AFM/MEB que ces particules ont une forme ellipsoïdale avec $D_{fmax} > D_{fmin} > h_{AFM}$ et qu'elles sont toujours orientées de la même manière sur le substrat. Ces particules ont été observées par STEM. Cependant, en l'absence de référence, il n'est pas possible de déterminer le coefficient α directement sur l'image.

Une approche différente a ainsi été appliquée : une mesure de la hauteur de chacune des particules imagées par STEM-HAADF a préalablement été réalisée par AFM. Afin d'obtenir une meilleure stabilité, le mode Peak Force a été utilisé. Par la suite, une identification suivie d'une numérotation est appliquée pour chaque particule imagée à la fois par AFM et STEM-HAADF. Le coefficient α est ensuite déterminé en ajustant le sommet des nanoparticules (qui s'éloigne peu d'une sphère) par la fonction I_{sph} , où le diamètre de la particule est fixé à partir de la valeur AFM et x_0 , y_0 , α et I_{sub} sont laissés libres au cours de l'ajustement comme présenté sur la Figure 96.

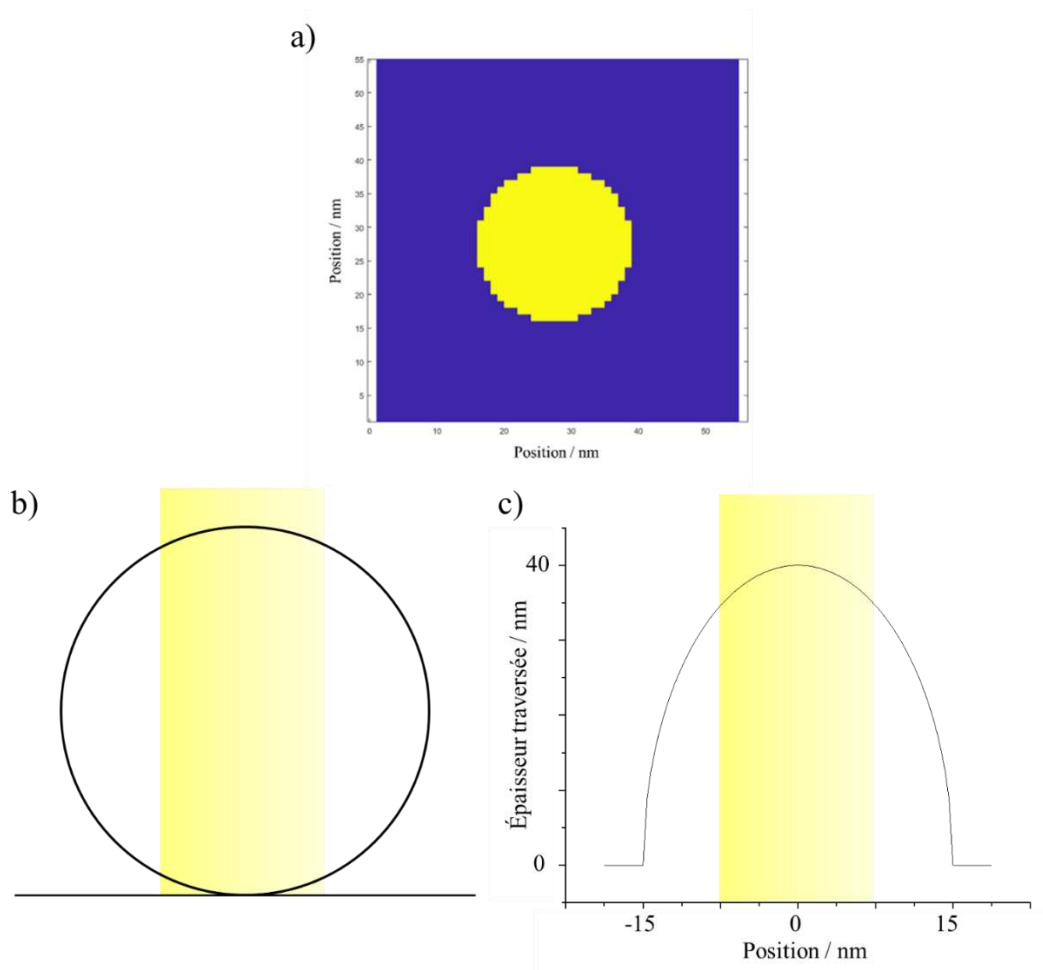


Figure 96 : a) Poids associé à chaque pixels afin de réaliser l'ajustement d'une fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère sur le signal d'une particule de silice. Les pixels en jaune correspondent à ceux pris en compte pour réaliser l'ajustement. b) Schéma en coupe d'une particule et c) fonction de l'ajustement pour une particule de diamètre 30 nm. Pour chaque figure, les bandes en jaune représentent les zones sur lesquelles l'ajustement sera réalisé.

Dans cette section, la mesure de D_{STEM} est réalisée à partir d'une image binaire. Pour cela, il est nécessaire de définir un niveau de seuillage sur le signal STEM-HAADF d'une particule, présenté sur la Figure 97-a, afin d'obtenir une image binaire de cette particule comme présenté sur la Figure 97-c. D_{STEM} correspond alors au diamètre équivalent en surface projetée de la particule imagée déterminé à partir de l'image binaire.

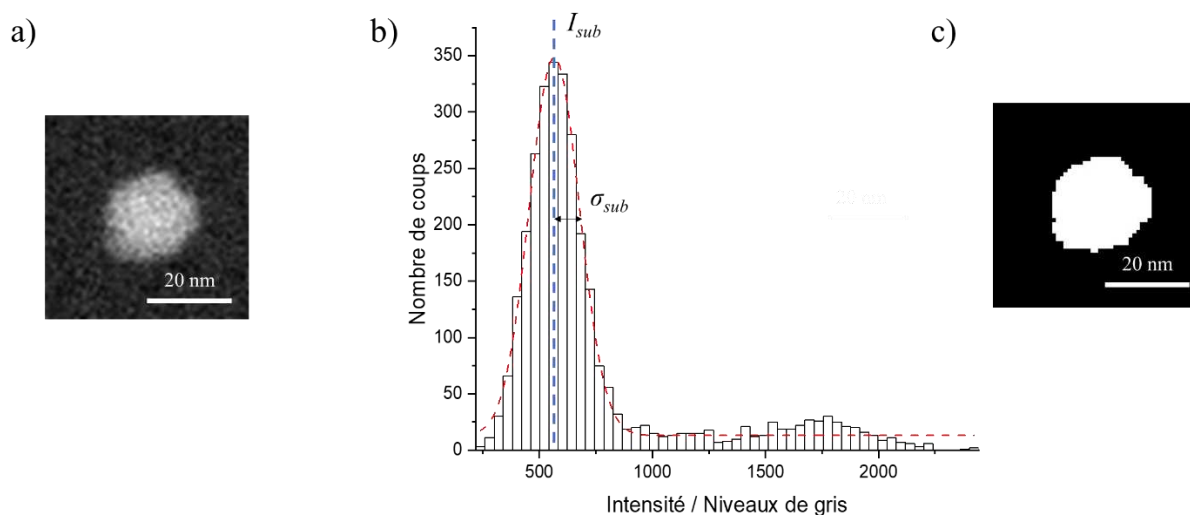


Figure 97 : a) Vignette d'une particule de silice ERM[®]-FD304 extraite d'une image STEM-HAADF. b) Distribution d'intensité en niveaux de gris de la vignette. c) Image binaire de la particule.

Sur les images STEM-HAADF, la position idéale du seuil à appliquer correspond à I_{sub} (cf. Figure 97-b). Cependant, afin de ne pas tenir compte du bruit et de la rugosité du substrat, le seuil est volontairement placé à une distance $3\sigma_{sub}$ du pied de la particule I_{sub} (σ_{sub} étant l'écart type liée au bruit sur le signal correspondant au substrat (cf. Figure 97-b)). Ce décalage provoque alors un biais sur la mesure du diamètre équivalant en surface projeté de la particule comme présenté sur la Figure 98.

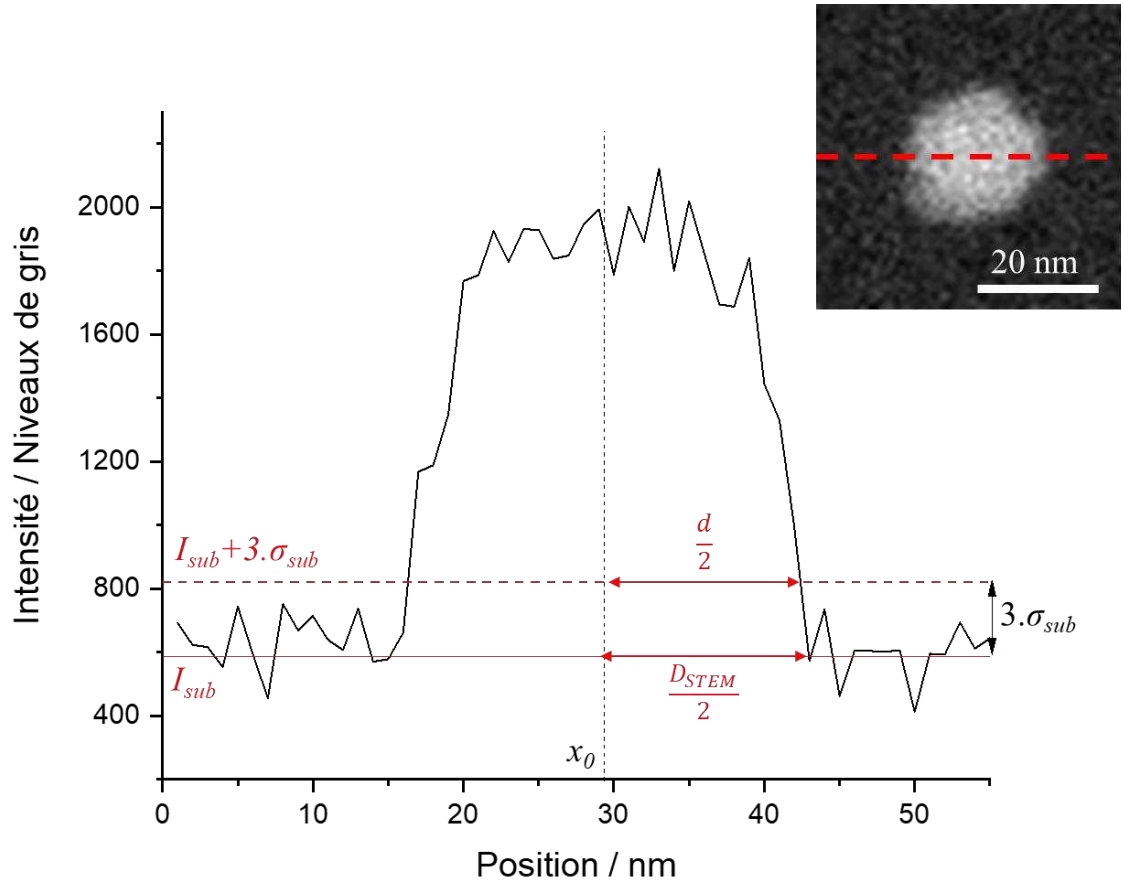


Figure 98 : Profil d'intensité en niveaux de gris d'une particule ERM[®]-FD304 extrait le long d'une ligne de balayage sur une image STEM-HAADF.

Il est alors nécessaire de déterminer le biais entre d , le diamètre équivalent en surface projeté de la particule obtenu à la suite du seuillage à une position $I_{sub} + 3\sigma_{sub}$ et D_{STEM} , le diamètre de la particule à la position I_{sub} . Pour cela, le développement limité de la fonction $\arccos\left(\frac{x-x_0}{\frac{D_{STEM}}{2}}\right)$ lorsque x tend vers $x_0 + D_{STEM}/2$ (au bord de la particule) est réalisé :

$$\arccos\left(\frac{x-x_0}{\frac{D_{STEM}}{2}}\right) \sim \sqrt{2} \sqrt{1 - \left(\frac{x-x_0}{\frac{D_{STEM}}{2}}\right)} \quad (41)$$

L'équation (37) décrivant l'épaisseur de matière traversée h en fonction de x est alors égale à :

$$h(x) \sim D_{STEM} \cdot \sqrt{2} \sqrt{1 - \left(\frac{x-x_0}{\frac{D_{STEM}}{2}}\right)} \quad (42)$$

Or, nous savons que l'intensité I du signal STEM-HAADF est liée à l'épaisseur h de la nanoparticule traversée par la relation linéaire (39) :

$$I(x) \sim I_{sub} + \alpha \cdot D_{STEM} \cdot \sqrt{2} \sqrt{1 - \left(\frac{x - x_0}{\frac{D_{STEM}}{2}} \right)^2} \quad (43)$$

Au niveau du seuil on a :

$$\begin{cases} I = I_{sub} + 3\sigma_{sub} \\ x - x_0 = \frac{d}{2} \end{cases} \quad (44)$$

Le développement de l'équation (43) à partir des conditions décrites dans l'équation (44) permet de donner la relation entre D_{STEM} et d :

$$D_{STEM} = \frac{d + \sqrt{d^2 + \frac{18\sigma_{sub}^2}{\alpha^2}}}{2} \quad (45)$$

Ainsi D_{STEM} est évalué à partir du diamètre équivalent en surface projetée d , obtenu en seuillant l'image STEM-HAADF à une position $I_{sub} + 3\sigma_{sub}$, de l'écart type lié au bruit sur le signal correspondant au substrat σ_{sub} et du coefficient α déterminé en ajustant le sommet des nanoparticules par la fonction I_{sph} .

De plus, comme pour D_{STEM} , les mesures de D_{fmax} et D_{fmin} sont réalisées sur la surface binaire établie à partir du seuillage du signal STEM-HAADF. Le biais lié au décalage de la position du seuil est également évalué pour D_{fmax} et D_{fmin} en appliquant l'équation (45) en substituant d par les mesures des deux diamètres de Féret. Les différents rapports d'aspects moyen H_{AFM}/D_{STEM} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{AFM}/D_{fmin} ont ainsi été calculés pour 297 NPs et comparés avec les résultats obtenus pour les particules de référence ERM®-FD304 dans la section 1.2. Les résultats sont présentés sur la Figure 99.

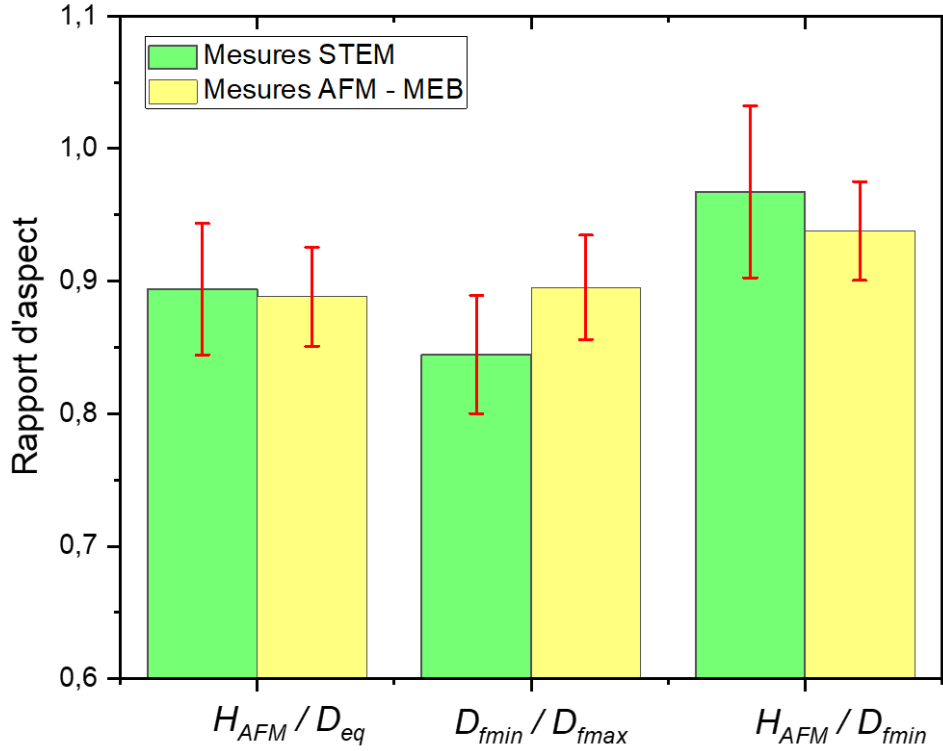


Figure 99 : Rapports d'aspects moyen H_{AFM}/D_{eq} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{AFM}/D_{fmin} évalués par STEM-HAADF et par la comparaison AFM/MEB réalisée dans la section 1.3 pour les particules de référence ERM®-FD304 (diamètre indicatif = 27,8 nm). La mesure AFM étant prise comme référence au cours de l'ajustement du signal STEM-HAADF, H_{STEM} est égal à H_{AFM} dans cette section. Le terme D_{eq} désigne D_{STEM} pour la mesure STEM-HAADF et D_{eq-MEB} pour la mesure MEB.

Ainsi, pour un total de 297 NPs, les rapports moyens H_{AFM}/D_{STEM} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{AFM}/D_{fmin} sont respectivement égaux à $0,89 \pm 0,05$, $0,84 \pm 0,04$ et $0,97 \pm 0,06$. Les résultats obtenus à partir de la mesure STEM-HAADF sont en accord avec ceux obtenus dans la section 1.3 lors de la comparaison des mesures AFM et MEB réalisées sur des particules similaires déposées sur substrat silicium. Ceci confirme, à partir de l'analyse des dimensions caractéristiques des particules de silice ERM®-FD304, qu'elles sont légèrement allongées et se déposent sur le substrat ou sur la grille carbone de telle sorte que leur axe principal soit parallèle à la surface.

Cependant, l'étude des résidus entre le signal STEM-HAADF des particules et l'ajustement par la fonction I_{sph} permet d'effectuer une analyse plus poussée de la morphologie des particules de silice ERM®-FD304 comme présenté sur la Figure 100-a.

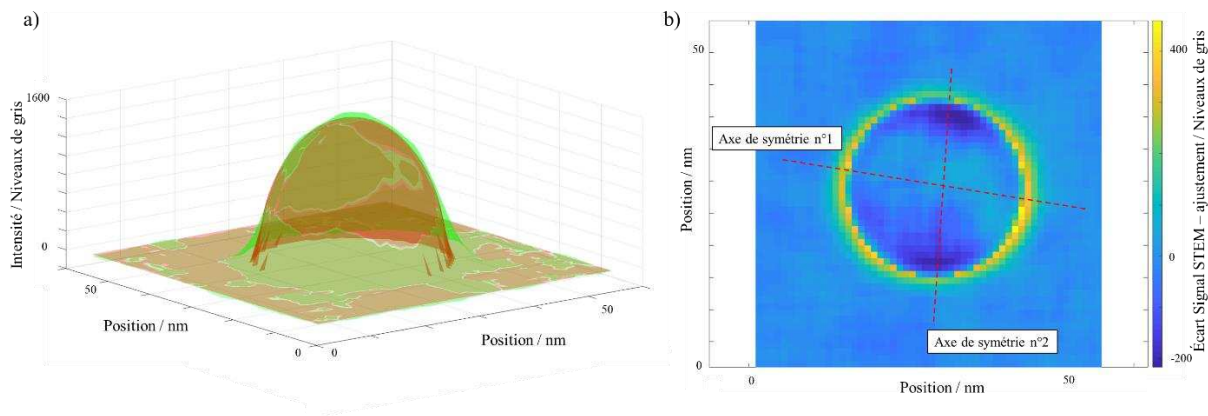


Figure 100 : a) Ajustement du signal STEM-HAADF d'une particule de silice (vert) par la fonction décrivant l'épaisseur traversée dans une sphère en fonction des positions x et y (rouge). b) Écart entre l'ajustement et le signal STEM-HAADF. Mesure réalisée sur une particule du matériau de référence ERM®-FD304.

Une différence est ainsi visible sur la Figure 100-b, présentant l'écart entre le signal STEM-HAADF et la surface ajustée pour une particule de silice de référence ERM®-FD304, avec la présence d'un anneau entourant la particule et pour lequel le signal STEM-HAADF est supérieur à la surface ajustée. Cela prouve que pour ces particules leur diamètre est plus grand que leur hauteur. Ainsi, cela confirme également que ces particules s'orientent spontanément sur le substrat (grand axe parallèle au substrat). De plus, on observe également deux axes de symétrie sur la particule représentée par les lignes en pointillées sur la Figure 100-b. Ainsi, pour l'axe de symétrie n°2, les deux zones en bleu foncé, pour lesquels l'ajustement est supérieur au signal STEM-HAADF mettent en évidence l'écart à la sphéricité des particules dans cette direction. Ainsi, cette analyse morphologique confirme la forme ellipsoïdale de la particule de silice de référence ERM®-FD304.

Ces différentes observations permettent de confirmer celles réalisées par l'approche hybride AFM/MEB par l'utilisation d'une technique unique permettant la caractérisation tridimensionnelle des particules comme le STEM-HAADF. De plus, cette approche STEM-HAADF pourrait également être par la suite confrontée aux méthodes de tomographie électronique afin de renforcer ces dernières.

3 CONCLUSIONS

La comparaison directe de la mesure de hauteur par AFM avec celle du diamètre latéral par MEB a pu être réalisée sur les mêmes populations de particules. La comparaison a ainsi porté sur des populations de NPs de silice de composition chimique similaire mais provenant de sources différentes et dont les dimensions varient de 10 à 110 nm. De manière surprenante, toutes les mesures ($h_{AFM} = f(D_{eq-MEB})$) suivent une loi linéaire quel que soit l'échantillon étudié et son origine. De plus, les résultats s'écartent progressivement de la courbe $y = x$ lorsque la taille des particules diminue. Ainsi, un écart systématique pour les plus petites NPs est obtenu entre les mesures MEB et AFM.

Par conséquent, la mise en œuvre de la métrologie hybride avec l'utilisation combinée de l'AFM et du MEB a permis d'étudier avec précision la dépendance de la taille sur la forme des nanoparticules de silice. Plusieurs catégories de nanoparticules ont été étudiées : (1) dans la gamme de 40 nm à 110 nm, les nanoparticules de silice sont quasi sphériques et s'orientent aléatoirement sur le substrat, (2) autour de 40 nm, leur forme est allongée avec un axe de symétrie le long du grand axe (3) en dessous de 40 nm, les NPs sont ellipsoïdales avec $D_{fmax} > D_{fmin} > h_{AFM}$, n'ont pas d'axe de symétrie et s'orientent préférentiellement sur le substrat.

Cependant, ces deux techniques ne permettent pas de recoupement des différentes mesures. En effet, le MEB fournit une mesure latérale tandis que l'AFM donne une mesure de hauteur. Seule l'utilisation des deux bilans d'incertitudes, préalablement établis, permet de relier ces deux mesures et de donner une information sur la forme des particules dans les trois dimensions de l'espace ainsi que sur leur orientation sur le substrat.

Afin de renforcer cette étude et de confirmer ces observations, il a été décidé d'utiliser une troisième méthode d'analyse permettant, à partir d'une même mesure, de déterminer les dimensions dans les trois directions de l'espace pour une ou plusieurs particules : la microscopie électronique en transmission en mode STEM-HAADF.

Cette dernière technique offre l'avantage, contrairement au MEB, de présenter un signal pouvant être directement lié à l'épaisseur de matière traversée lors de l'étude de particules amorphes. Une méthode consistant à ajuster le signal STEM-HAADF par une fonction décrivant l'épaisseur de matière traversée dans une sphère de diamètre D_{STEM} a été développée et testée sur les particules composant la seconde population de la suspension de référence ERM®-FD101b, dont la forme est quasi-sphérique. Il a ainsi été montré que l'intensité du signal STEM-HAADF était directement liée à l'épaisseur de matière traversée.

Consécutivement aux grosses particules, la méthode a été appliquée à celles de plus petites dimensions (1^{er} mode du matériau de référence ERM®-FD101b) présentes sur les mêmes images afin d'évaluer leur écart à la sphéricité. Les rapports d'aspect moyens obtenus lors de la comparaison AFM/MEB sur ces particules (H_{STEM}/D_{STEM} , D_{fmin}/D_{fmax} et H_{STEM}/D_{fmin}) ont été de nouveau mesurés par STEM-HAADF. Ainsi, l'utilisation de cette troisième technique a permis de valider l'approche hybride AFM/MEB.

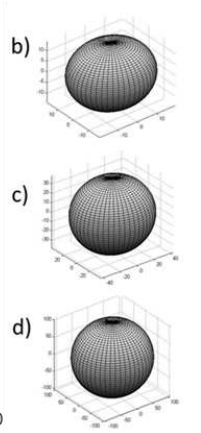
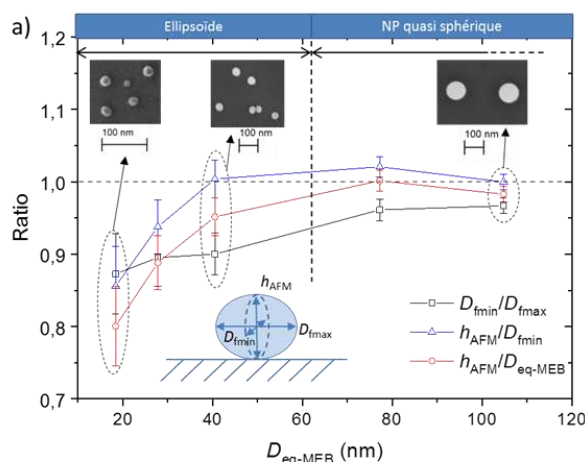
Une dernière comparaison AFM/MEB/STEM-HAADF a été réalisée sur les particules de référence ERM®-FD304 en utilisant la mesure AFM Peak Force pour étalonner le signal STEM-HAADF. Une nouvelle fois l'utilisation du STEM-HAADF permet de confirmer les conclusions avancées précédemment lors de la comparaison AFM/MEB réalisée sur les mêmes particules déposées sur substrat silicium : les particules sont légèrement allongées et se déposent sur le substrat ou la grille carbone de telle sorte que leur axe principal soit parallèle à la surface.

Le STEM-HAADF permet donc, dans le cadre de l'étude de particules de silice amorphe, de déterminer leurs propriétés tridimensionnelles mais également leur morphologie. Cependant, cette méthode n'est pas applicable à grande échelle pour faire de la caractérisation de nanoparticules. En effet, la méthode STEM-HAADF reste onéreuse et difficile à mettre en place. Cependant, dans le cadre de ces travaux de thèse, cette dernière méthode a permis de recouper les mesures dans le plan (MEB) et de hauteur (AFM). Elle permet ainsi de mettre en évidence l'absence de biais de mesure par AFM et MEB et de justifier les bilans d'incertitudes associés à ces deux techniques. De plus, le STEM-HAADF permet d'effectuer une analyse morphologique tridimensionnelle quantitative plus complète que le MEB et l'AFM. Cette approche STEM-HAADF pourrait également être par la suite comparée avec les méthodes de tomographie électronique afin de renforcer ces dernières.

Ainsi, grâce à l'utilisation de la technique STEM-HAADF, la complémentarité entre les techniques AFM et MEB a été prouvée. Par conséquent, cette approche hybride visant à coupler les mesures réalisées à partir de deux instruments simples à mettre en œuvre est validée.

SYNTHÈSE

Approche hybride AFM/MEB



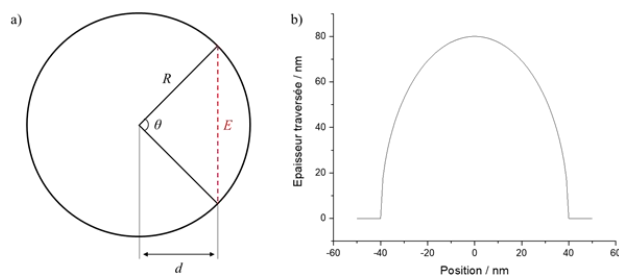
Écart systématique entre les mesures AFM et MEB pour les petites particules

Évolution de la forme des particules en fonction de leur taille

→ Approche hybride AFM/MEB permet d'obtenir une information sur les propriétés dimensionnelles des nanoparticules dans les trois dimensions de l'espace avec une incertitude contrôlée.

Mais aucun recoupement entre les deux mesures.

STEM HAADF

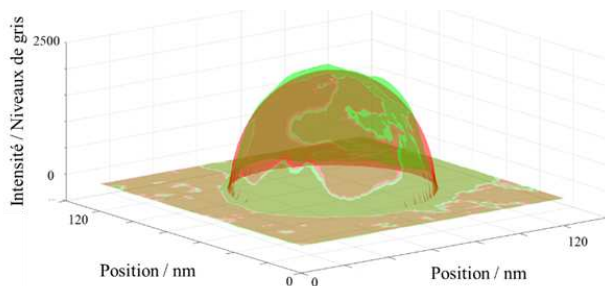


Silice amorphe : signal proportionnel à l'épaisseur traversée

→ Permet théoriquement une mesure tridimensionnelle des particules

1 – Vérification que le signal est bien proportionnel à l'épaisseur traversée

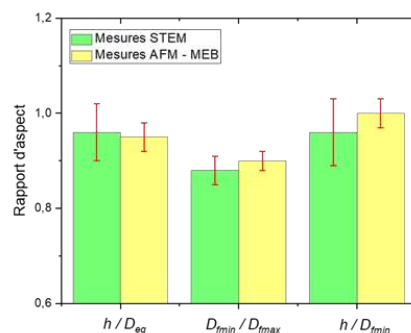
→ 2^{ème} mode de ERM®-FD101b (particules sphériques)



2 – Évaluation de l'écart à la sphéricité sur les particules non sphériques

→ On retrouve les écarts à la sphéricité observés lors de l'approche hybride AFM/MEB

→ L'approche hybride AFM/MEB est validée



BIBLIOGRAPHIE

1. (2014) ISO 13322-1 :2014. « Particle size analysis – Image analysis methods – Part 1 : Static image analysis methods »
2. Katrin F, Adelina B, Jean C-G, Olivier C, Vikram K, Andree LM, Thomas L, Gert R (2012) Certification of the equivalent spherical diameters of silica nanoparticles in aqueous solution - Certified Reference Material ERM®-FD304
3. Delvallée A, Feltin N, Ducourtieux S, Trabelsi M, Hocheplé JF (2015) Direct comparison of AFM and SEM measurements on the same set of nanoparticles. *Measurement Science and Technology* 26:085601 . <https://doi.org/10.1088/0957-0233/26/8/085601>
4. Vikram K, Gert R (2014) Certification Report - The certification of equivalent diameters of a mixture of silica nanoparticles in aqueous solution: ERM®-FD102. Publications Office of the European Union
5. Ramaye Y, Kestens V, Braun A, Linsinger TPJ, Held A, Roebben G (2017) The certification of equivalent diameters of silica nanoparticles in aqueous solution : ERM ®-FD 101 b

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Conclusions

Les travaux décrits dans cette thèse visent à développer une méthode, dite hybride, permettant d'effectuer une mesure des propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules dans les trois dimensions de l'espace. Pour cela, les mesures associées à deux techniques de microscopie ont été combinées : la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie à force atomique (AFM). En effet, ces deux techniques apparaissent comme étant complémentaires : le MEB fournit une mesure latérale tandis que l'AFM une mesure de hauteur associée à une incertitude du même ordre. Afin de prouver la validité de la méthode, l'approche hybride a été testée dans ces travaux sur des particules de forme sphérique ou quasi sphérique.

La première étape a consisté à déterminer les bilans d'incertitudes associés à ces deux techniques. En effet, seule l'utilisation des deux bilans d'incertitudes, préalablement établis, permet de relier les deux mesures obtenues et donner une information fiable sur les dimensions caractéristiques des particules dans les trois dimensions de l'espace.

Concernant la technique AFM, le bilan d'incertitudes a été réévalué sur les particules étudiées en se fondant sur les travaux de thèse précédemment menés sur la plateforme CARMEN et en incluant la contribution de la déformation des particules. Les résultats montrent que ce paramètre introduit un biais sur la mesure de hauteur des nanoparticules. Ainsi, le bilan d'incertitudes, comprenant 7 sources d'erreurs, est évalué à 0,9 nm ($k = 1$). Les deux principales contributions à ce bilan sont la répétabilité de la mesure (47,8 %) et l'incertitude liée à la détermination de la hauteur de marche moyenne sur le réseau étalon P₉₀₀H₆₀ (33,2 %).

Concernant la technique MEB, un tout premier bilan d'incertitudes a été évalué dans le cadre de ces travaux pour la mesure du diamètre équivalent moyen en surface projetée des nanoparticules de silice en utilisant la méthode de segmentation Active Contour. L'incertitude combinée associée au diamètre moyen des particules de silice mesuré à 23,5 nm est égale à 2,0 nm ($k = 1$). La contribution la plus importante est la taille du faisceau électronique. En effet, il existe un réel manque d'informations et de méthodes de mesure adaptées pour caractériser les dimensions de ce dernier. Par conséquent, si l'on souhaite réduire l'incertitude associée à la mesure de particules par MEB, il est indispensable de développer des méthodes permettant soit de mesurer la taille du faisceau, soit de s'affranchir de cette contribution.

Pour cela, deux méthodes ont été développées. La première consiste à utiliser une librairie de profils d'intensité du signal MEB calculés par modélisation Monte Carlo, afin d'estimer à la fois le diamètre équivalent des particules et la taille du faisceau électronique sur les images MEB. Ainsi, la taille du

faisceau électronique est désormais une variable dans le processus de mesure. Un nouveau bilan d'incertitudes, fondé sur cette méthode, a été estimé à 0,6 nm ($k = 1$). La plus grande contribution au bilan d'incertitudes est désormais la répétabilité de la méthode de mesure (77,9 %). La seconde méthode développée dans cette étude consiste à utiliser l'existence d'un point invariant sur les profils d'intensité obtenus sous différentes tailles de faisceau pour segmenter le contour des particules. Expérimentalement, ce point est obtenu en faisant varier la taille du faisceau électronique sur les images MEB via différents réglages de mise au point. Une étude en amont par modélisation Monte Carlo a permis de mettre en évidence que la position de ce point correspondait au bord de la particule, et cela quelle que soit la taille de la nanoparticule.

Ainsi, les deux méthodes ont été comparées avec la segmentation par Active Contour, plus simple à mettre à œuvre. Les résultats montrent que l'incertitude associée à la mesure du diamètre équivalent en MEB par la méthode Active Contour a été largement surestimée, plus spécifiquement à cause de la contribution de la taille du faisceau électronique qui était inconnue. Grâce aux deux méthodes développées, il est désormais possible de supprimer la contribution au bilan d'incertitudes de la taille du faisceau électronique lors de la segmentation par Active Contour. Cette méthode de segmentation peut désormais être utilisée pour déterminer les propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules de silice à partir d'images MEB avec une incertitude contrôlée.

Grâce à un système de repositionnement entre les deux techniques de microscopie, la comparaison directe des mesures AFM et MEB a alors pu être réalisée sur les mêmes populations de particules. Cette dernière a permis de mettre en évidence la dépendance de la taille sur la forme des nanoparticules de silice.

Cependant, ces deux techniques ne permettent pas de recoupement direct des différentes mesures. Seule l'utilisation des deux bilans d'incertitudes, préalablement établis, permet de relier ces deux mesures et de donner une information sur la forme des particules dans les trois dimensions de l'espace ainsi que leur orientation sur le substrat. Afin de conforter les bilans d'incertitudes et la complémentarité des techniques AFM et MEB, nous avons choisi d'utiliser une troisième méthode d'analyse permettant, à partir d'une même mesure de déterminer les propriétés tridimensionnelles d'une particule : la microscopie en transmission en mode STEM HAADF. Cette dernière offre l'avantage, contrairement au MEB, de présenter un signal en Z pouvant être directement liée à l'épaisseur de matière traversée. Une méthode consistant à ajuster le signal STEM par une fonction décrivant l'épaisseur de matière traversée dans une sphère a été développée. La technique STEM a permis de recouper les mesures latérales (MEB) et de hauteur (AFM). Ainsi, l'absence de biais de mesure par ces deux techniques a pu être mise en évidence. En effet, une confrontation entre l'approche hybride AFM-MEB et les mesures STEM a été réalisée en effectuant des images avec les différents instruments sur des particules de silice identifiées et relocalisées.

Ces travaux ont permis de définir une méthode s'appuyant sur l'utilisation conjuguée du MEB et de l'AFM et permettant de caractériser les propriétés dimensionnelles d'une population de nanoparticules de façon assez simple à mettre en œuvre et reproductible. Ainsi, cette approche pourrait être utilisée afin de définir une nouvelle norme permettant de mesurer les dimensions caractéristiques d'une population de nanoparticules dans les trois dimensions de l'espace avec une incertitude contrôlée.

De plus, ces travaux ont également établi une méthodologie pour calculer les bilans d'incertitudes associés aux techniques MEB et AFM. Cette dernière dresse une liste des sources d'erreurs à prendre en compte ainsi qu'une procédure à suivre pour déterminer leur influence sur la mesure des nanoparticules. Par conséquent, cette méthodologie pourra être appliquée dans chaque laboratoire afin d'établir leurs propres bilans d'incertitudes selon les équipements utilisés. Ainsi, l'EFSA (European Food Safety Authority), dans ses recommandations visant à fiabiliser les mesures de nanoparticules utilisées dans l'alimentaire comme additifs², cite d'ores et déjà ce travail comme modèle à suivre pour permettre une meilleure identification et caractérisation des différentes composantes de l'incertitude de mesure.

Perspectives : extension aux particules de formes complexes

Cette approche hybride a été appliquée jusqu'à présent sur des particules de forme simple. Nous nous sommes limités à réaliser trois mesures dans l'espace afin de déterminer trois dimensions caractéristiques. L'utilisation du STEM HAADF nous a permis de commencer à donner des informations plus complètes sur la morphologie des nanoparticules non sphériques. Pour aller au-delà, il est désormais nécessaire de se demander comment coupler les mesures AFM et MEB afin de réaliser une caractérisation tridimensionnelle et quantitative de nanoparticules de formes plus complexes, afin par exemple de permettre une meilleure identification des phases constitutives des nanoparticules.

Ces problématiques ont commencé à être abordées dans ces travaux de thèse, permettant de donner des premiers éléments de réponse. Cependant, ce travail constitue seulement une première étape présentée ici comme une perspective afin de mettre en évidence la faisabilité de l'approche et présenter les étapes futures à entreprendre. Pour cela, l'étude est réalisée sur des particules de référence de forme connue. Ainsi, dans le cadre du projet européen EMPIR NPSize, l'Université UNITO (Università degli Studi di Torino) en Italie a synthétisé des nanoparticules dont la forme est constituée de deux

² Younes M, Aquilina G, Castle L, Engel K-H, Fowler P, Jose M, Frutos M, Urtler R, Gundert-Remy U, Husøy T, Mennes W, Moldeus P, Oskarsson A, Rainieri S, Shah R, waalkens-Berendsen I, Gaffet E, Mast J, Peters R, Fürst P (2019) Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution. EFSA J 17:5760 . <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5760>

pyramides à base carrée. Pour décrire ces particules, deux paramètres caractéristiques doivent être mesurés par microscopie : L , la longueur des nanoparticules et c , le côté de la base carré.

Cependant, ces nanoparticules bipyramidales peuvent se fixer sur la surface du substrat de trois manières différentes. Ces trois positions possibles sont schématisées en Figure 101.

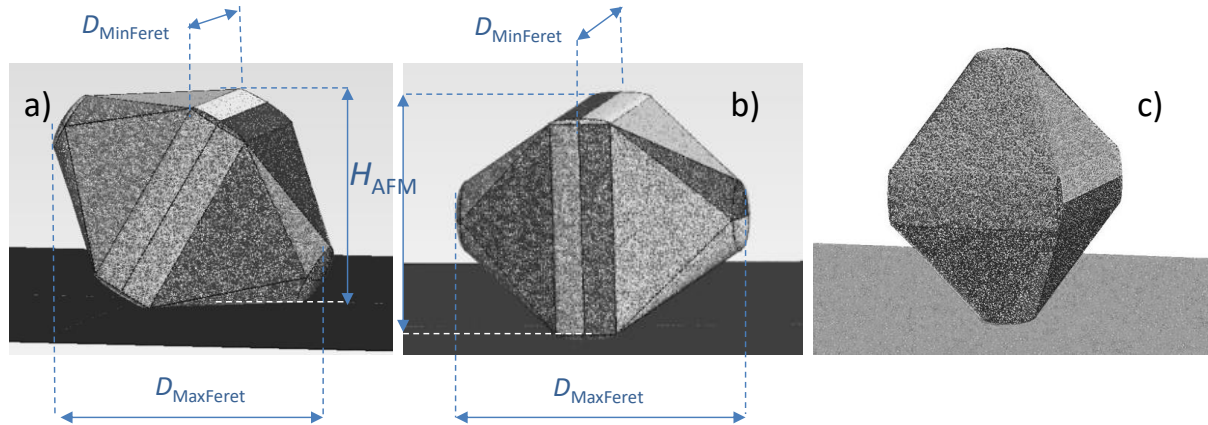


Figure 101 : Les trois positions possibles d'une nanoparticule bipyramidale sur un substrat de silicium : a) sur une face, b) sur la tranche et c) sur le sommet. Les différents paramètres permettant une mesure des dimensions caractéristiques sont indiqués.

Ainsi, en fonction de l'orientation des particules sur le substrat, l'utilisation d'une seule technique ne permet pas d'avoir accès directement aux deux mesurandes (L et c). Par exemple, comme l'image obtenue par MEB est une projection de la forme des nanoparticules dans le plan du substrat, les deux paramètres L et c ne peuvent être mesurés directement que dans le cas où les nanoparticules se posent sur leur tranche comme schématisé en Figure 101-b.

L'utilisation de l'AFM et de l'approche hybride apparaît donc indispensable afin de déterminer l'orientation des particules sur le substrat comme présenté sur la Figure 102.

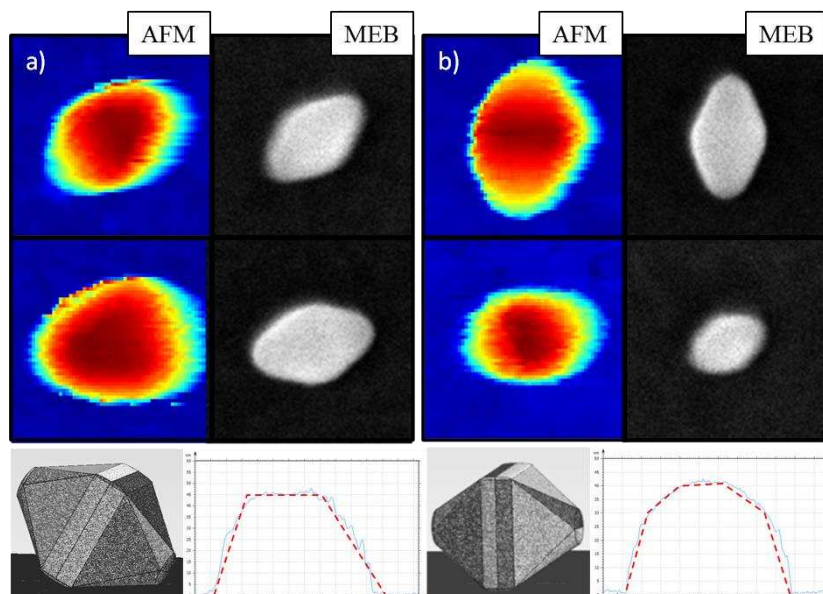


Figure 102 : Combinaisons d'images MEB (à droite) et AFM (à gauche) pour deux positions différentes de nano-bipyramides : la particule est posée a) sur la face de la pyramide et b) sur la tranche. Des exemples de profils (en lignes continues bleues) pour chaque cas sont reportés en bas de la figure ; en lignes pointillées rouges, la forme approximative des profils.

Pour l'étude des nanoparticules de forme bipyramidale, l'AFM ne se limite plus à une mesure unique de hauteur suivant l'axe Z et il est désormais possible de déterminer l'orientation des bipyramides sur le substrat à partir de l'image AFM. En effet, grâce aux images AFM, nous sommes en mesure de discriminer les particules qui sont posées sur leur face principale et celles qui sont fixées sur leur tranche. La Figure 102 montre des exemples d'images AFM/MEB de nanoparticules bipyramidales. Nous voyons clairement sur les images AFM que celles qui sont posées sur la face de la pyramide (Figure 102-a) présentent une forme triangulaire sur leur sommet. Il s'agit de la face triangulaire qui reste parallèle au substrat et, sur cette partie de la particule, la pointe AFM vient balayer une surface plane. Sur le profil, nous observons une montée rapide du côté de la pyramide qui ne touche pas le substrat et une pente plus douce du côté de la partie en contact avec la surface. Entre les deux, un plateau est observé. En revanche, dans le cas des nanoparticules qui se sont fixés à la surface par leur tranche (Figure 102-b), le profil ainsi que l'image AFM présentent une symétrie dont l'axe est d'ailleurs parfaitement visible sur le cliché AFM. Dans ce cas, aucun véritable plateau n'est observé.

L'utilisation de cette approche permettra par la suite de discriminer les particules selon leur orientation. Des mesures complémentaires sont cependant nécessaires afin d'évaluer l'angle d'inclinaison des particules sur le substrat. Cela permettra dans un premier temps de dresser les modes de distribution associés aux deux mesurandes de la population de particules de forme bipyramidales dans le cas des particules déposées sur la tranche (Figure 101-b). De plus, la connaissance de l'angle d'inclinaison des particules permettra par la suite d'effectuer, à partir de l'image MEB projetée, une mesure de la longueur des nanoparticules de forme bipyramidale lorsqu'elles sont déposées sur une

face (Figure 101-a). La comparaison des modes de distributions associés aux deux mesurandes c et L en fonction l'orientation des particules pourrait par exemple par la suite permettre de donner une information sur l'orientation préférentielle des particules sur le substrat selon leur taille.

Enfin, ces travaux pourraient également ouvrir la voie au développement de méthodes permettant de mesurer les particules directement à l'intérieur des agglomérats en MEB avec une incertitude contrôlée. Comme nous l'avons vu au Chapitre 2, il est nécessaire, lors de l'étape de préparation d'échantillons, d'obtenir un échantillon avec un maximum de particules isolées sur le substrat pour réaliser des mesures fiables. Or, malgré l'application de protocoles éprouvés pour atteindre cet objectif, il peut subsister des particules présentes sous forme d'agglomérats dans les échantillons préparés. Lorsque seules les particules isolées sont prises en compte lors du processus de mesurage, il est légitime de s'interroger sur la possibilité d'un biais sur le résultat issu de l'absence d'information provenant des particules sous forme d'agglomérats. Il serait donc intéressant d'utiliser et d'étendre les techniques de segmentation et d'établissement de bilans d'incertitudes développées dans cette thèse afin de mettre en œuvre des méthodes de mesures fiables des particules présentes à l'intérieur d'agglomérats, permettant ainsi de réaliser les mesures sur une population de particules représentative de la totalité des particules présente sur l'échantillon.

ANNEXE 1 - ADHÉSION LOCALISÉE DE PARTICULES DE SILICE SUR SUBSTRAT DE SILICIUM MODIFIÉ PAR IMPLANTATION IONIQUE 232

1	OBJECTIFS.....	232
2	PRÉSENTATION DE L'IMPLANTEUR EATON TM NV3206	233
2.1	<i>Description de la source Freeman</i>	233
2.2	<i>Caractéristiques de l'implanteur EATONTM NV3206.....</i>	235
2.3	<i>Préparation des substrats avant implantation.....</i>	235
3	ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'IMPLANTATION SUR LES PROPRIÉTÉS DES SUBSTRATS DE SILICIUM	236
3.1	<i>Étude de la stabilité du Silicium sous l'effet de l'implantation par simulation : « Stopping and Range of Ions in Matter » (SRIM)</i>	236
3.2	<i>Mesure qualitative de la concentration de dopants par « Scanning Microwave Microscopy » (SMM) 238</i>	
3.3	<i>Influence de l'implantation sur la rugosité des substrats.....</i>	239
4	EFFET DE L'IMPLANTATION SUR L'ADHÉSION DES NPS.....	239
4.1	<i>Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté au Bore</i>	239
4.2	<i>Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté par Azote.....</i>	240
4.3	<i>Mesure des propriétés d'hydrophobicité des substrats.....</i>	241
4.4	<i>Influence des propriétés d'hydrophobicité sur l'évaporation de la goutte par dépôt statique.....</i>	244
4.5	<i>Dépôt d'une suspension de silice bi-populée diluée sur substrat implanté</i>	245
4.6	<i>Dépôt de NPs de silice à pH acide</i>	246
5	CONCLUSIONS.....	247
	RÉFÉRENCES.....	249

ANNEXE 1 - ADHÉSION LOCALISÉE DE PARTICULES DE SILICE SUR SUBSTRAT DE SILICIUM MODIFIÉ PAR IMPLANTATION IONIQUE

L'étude de l'adhésion localisée de particules de silice sur substrats de silicium a représenté une partie importante de ces travaux de thèse. En effet, le développement de substrats spécifiquement dédiés à la métrologie hybride AFM/MEB constitue un enjeu majeur. Toutefois, dans le cadre de ces travaux de thèse, l'ensemble des mesures effectuées dans les différents chapitres ont été réalisées sur des substrats lithographiés et non en utilisant les méthodes détaillées dans cette section. Cette partie est donc reportée en annexe. Cependant, il est nécessaire de joindre ces travaux au manuscrit afin de permettre la poursuite de ce type d'activité.

1 OBJECTIFS

Le développement de substrats spécifiquement dédiés à la métrologie hybride AFM/MEB constitue un enjeu majeur. En effet, il est nécessaire d'avoir à disposition des substrats permettant de mesurer une même population de particules à la fois par AFM et MEB et de pouvoir repérer avec les deux techniques chaque particule prise individuellement. Pour ce faire, il est obligatoire d'inclure sur les substrats des outils de localisation, visibles par microscopie optique et par MEB. Ainsi, il est soit nécessaire d'avoir des marqueurs de localisation sur le substrat, soit de contrôler les zones sur lesquelles les particules vont adhérer.

Comme présenté dans le chapitre 2, les travaux déjà entrepris dans ce but au sein de la plateforme CARMEN se sont principalement focalisés sur la création de motifs sur substrats Silicium par lithographie. Ces motifs, constitués de croix et de lettres de taille micrométrique, permettent d'identifier et de référencer des zones sur les substrats Silicium. Cependant, cette méthode présente des inconvénients. Dans un premier temps, la fabrication de ces substrats étant limitée, il est difficile d'obtenir le nombre suffisant de substrats requis pour assurer les besoins de la plateforme CARMEN pour réaliser les différentes études par métrologie hybride. De plus, le traitement de surface appliqué pour la réalisation des motifs modifie les propriétés d'hydrophobicité du Silicium gravé. Ainsi, les paramètres de « Spin Coating » utilisés sur des substrats classiques pour le dépôt de NPs sont difficilement applicables aux substrats lithographiés. Et la recherche des paramètres optimaux pour obtenir une bonne couverture en NP sur le substrat lors du dépôt ne peut être réalisée par manque d'échantillons.

Il est donc nécessaire de mettre en place d'autres alternatives pour la préparation d'échantillons dans le cadre de la métrologie hybride. L'objectif de cette étude est donc de développer une méthode permettant la fabrication de substrats en grande quantité et utilisables en métrologie hybride.

Le parti pris dans cette étude est non pas de créer des motifs en amont sur le substrat mais de créer ces motifs directement lors du dépôt des particules. Pour ce faire, il est nécessaire de développer des substrats où l'adhésion des particules ne s'effectue que sur certaines zones. Ainsi, la méthode mise en place dans cette étude consiste à modifier les propriétés locales du substrat par implantation ionique au travers d'un masque, ici une grille de microscopie électronique en transmission. L'objectif est alors d'utiliser le dopage par implantation ionique pour modifier localement les forces électrostatiques exercées en surface. L'influence du type de dopage (N ou P), fonction de l'élément implanté (colonne III ou V), sera ainsi étudiée dans ces travaux.

2 PRÉSENTATION DE L'IMPLANTEUR EATONTM NV3206

L'implantation ionique des substrats silicium a été réalisée par l'intermédiaire de l'implanteur EATONTM NV3206 présent au sein de l'institut PPRIME (Figure 103). Ce dernier permet d'accélérer de nombreux éléments au moyen d'une source Freeman pour la production d'ions négatifs ou d'une source de pulvérisation pour les ions positifs. Pour des ions monochargés, l'énergie varie de 5 à 200 keV. Les densités de courant produites vont de quelques $10^{-3} \mu\text{A}/\text{cm}^2$ à une vingtaine de $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, alors que la surface implantée peut aller jusqu'à 10 cm^2 .



Figure 103 : Implanteur EATONTM NV3206.

2.1 Description de la source Freeman

La source d'ions Freeman est utilisée depuis une trentaine d'années. Cette dernière est toujours considérée comme la plus polyvalente et est ainsi la source d'ions la plus largement utilisée. Sa force réside dans sa capacité à produire des faisceaux nettement focalisés, avec un courant de l'ordre du milliampère sur une large gamme d'énergie et pour la plupart des éléments [1].

La cathode est constituée d'un filament de Tungstène. L'émission d'électrons est obtenue par chauffage de ce filament, ce dernier étant parallèle à la fente d'extraction d'ions comme présenté sur la Figure 104. Dans le cas d'une source sous forme gazeuse, le gaz est introduit dans la chambre et est « frappé » par les électrons produits par le filament. Cette interaction provoque ainsi l'ionisation du gaz. Cette méthode est ainsi employée pour la production d'ions N^- dans le cadre de cette étude afin de réaliser un dopage N.

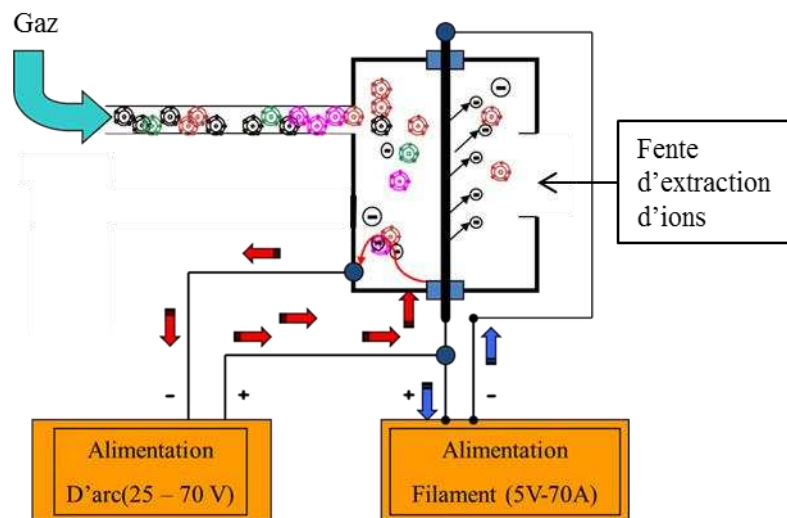


Figure 104 : Principe de la source type Freeman.

Pour la production d'ions B^+ afin de réaliser un dopage P, une source de pulvérisation est utilisée. Cette dernière est à la base une source Freeman qui a été améliorée afin de permettre la production d'ions positifs à partir d'un matériau solide.

Le principe de fonctionnement de la source de pulvérisation est le suivant :

- Comme évoqué précédemment, un filament est chauffé afin de produire des électrons qui vont ioniser un gaz porteur. Généralement, le gaz utilisé est le Xénon car celui-ci s'ionise très bien. Les ions sont par la suite accélérés vers l'anode.
- Les ions accélérés vont ensuite frapper le matériau solide placé sur l'anode et le pulvériser. Dans le cadre de cette étude le matériau utilisé est du Bore. Ainsi, la chambre d'implantation est constituée à la fois d'un nuage d'ions Xenon et Bore qui va lui aussi s'ioniser à l'aide des électrons produits par le filament.

Parmi les différents ions produits au sein de la chambre, un tri est effectué grâce à l'utilisation d'un champ magnétique (Force de Lorentz). Les ions sélectionnés sont par la suite accélérés et le faisceau d'ions formé balaie la surface de l'échantillon à implanter.

2.2 Caractéristiques de l'implanteur EATONTM NV3206

L'implanteur utilisé dans cette étude (EATONTM NV 3206) permet l'implantation d'ions sur une plage d'énergie allant de 5 à 200 keV pour des ions mono chargés. Le courant associé est typiquement en dessous de 650 μ A. Le niveau de vide dans la chambre d'implantation est assuré par l'intermédiaire d'une pompe cryogénique. Cette dernière permet d'atteindre un niveau de vide égal à 5.10^{-7} mbar.

Le porte substrat intégré au système permet l'implantation de surfaces d'environ 10 cm², le tout à des températures allant de -96°C à 800°C.

Dans le cadre de cette étude, les substrats silicium (5 mm x 5 mm) sont maintenus sur le porte-objet en utilisant de petites tiges métalliques (Figure 105-a). Lors de l'implantation au travers d'une grille, cette dernière est maintenue sur le substrat en utilisant une plaque métallique (Figure 105-b).

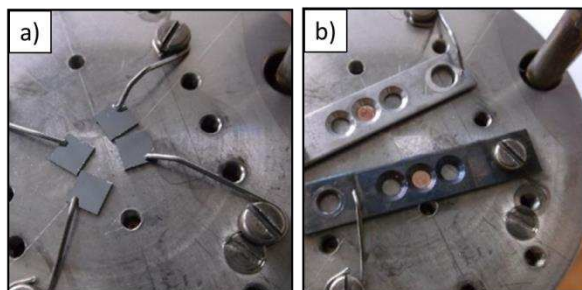


Figure 105 : Système de fixation des échantillons sur le porte-objet pour l'implantation (a) de substrats siliciums sans masque, (b) de substrats silicium au travers d'une grille de microscopie.

2.3 Préparation des substrats avant implantation

La préparation de surface des substrats Silicium est une étape essentielle avant le dépôt d'une suspension colloïdale. La qualité d'un dépôt est considérablement influencée par sa capacité à adhérer correctement au matériau du substrat. La présence, même en petites quantités, de contaminants en surface tel que l'huile, la graisse, les oxydes, etc. peut modifier l'adhésion des NPs sur le substrat.

Bien que la présence de contaminations modifie l'adhésion des NPs, plusieurs autres inconvénients apparaissent. Premièrement, ces contaminations sont relativement sensibles au faisceau électronique du MEB. Ainsi, lors de leur exposition au faisceau, celles-ci désorbent du substrat et altèrent la qualité de l'image. De plus, la présence d'une couche de contamination d'épaisseur inconnue est un problème majeur pour la mesure par AFM. Le comportement des NPs sur cette couche (enfouissement des NPs, déformation des NPs...) demeure non maîtrisé et peut par conséquent provoquer une erreur sur la mesure AFM. Par conséquent, afin de retirer d'éventuelles contaminations présentes à la surface des substrats, une procédure de nettoyage des échantillons en deux étapes a été mise en place.

Dans un premier temps, un nettoyage mécanique est réalisé par frottement de la surface du substrat avec une éponge PVA imbibée de Triton X-100 dilué 100 fois. Le Triton X-100 (Octylphenol Ethoxylate) est un surfactant non-ionique de formule $(C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n)$ utilisé généralement comme détergeant au sein des laboratoires [2].

Dans un second temps, les substrats sont placés cinq minutes au sein d'un dispositif de nettoyage par plasma. Ce dernier consiste à éliminer les impuretés et les contaminations des surfaces grâce à l'utilisation d'un plasma énergétique créé à partir d'espèces gazeuses. Dans le cadre de l'utilisation de l'oxygène comme gaz, le plasma est une méthode efficace pour provoquer la rupture de la plupart des liaisons organiques (C-H, C-C, C = C, C-O et C-N) des contaminants de surface. Une deuxième action de nettoyage est réalisée par les espèces d'oxygène créées dans le plasma (O_2^+ , O_2^- , O_3 , O, O^+ , O^- ...) [3]. En effet, ces espèces réagissent avec les contaminants organiques pour former de l'eau, du CO, du CO_2 et des hydrocarbures de plus faible poids moléculaire. Ces composés ont des pressions de vapeur relativement élevées et sont évacués de la chambre pendant le traitement.

3 ÉTUDE DE L'INFLUENCE DE L'IMPLANTATION SUR LES PROPRIÉTÉS DES SUBSTRATS DE SILICIUM

3.1 *Étude de la stabilité du Silicium sous l'effet de l'implantation par simulation : « Stopping and Range of Ions in Matter » (SRIM)*

« Stopping and Range of Ions in Matter » (SRIM) est un programme permettant le calcul de l'interaction des ions avec la matière [4]. Le programme nécessite comme paramètres d'entrée le type et l'énergie de l'ion ainsi que la nature et les dimensions d'une ou plusieurs couches du substrat.

4 simulations différentes ont été réalisées correspondant aux quatre implantations réalisées. En effet, dans un premier temps, étant donné que la charge en surface des NPs de silice (sans modifier le pH) est négative, des accepteurs d'électrons (ions Bore) sont implantés afin d'obtenir un dopage P. Deux énergies différentes sont utilisées afin de déterminer l'effet de la profondeur de pénétration des ions dans le Silicium sur l'adhésion des NPs en surface :

- Implantation de Bore dans Silicium avec une énergie de 6 keV
- Implantation de Bore dans Silicium avec une énergie de 14,8 keV

Des implantations, de mêmes énergies, avec des ions de la colonne V (Azote) sont réalisées afin de voir si, par un dopage N, l'effet inverse est observé sur l'adhésion des NPs :

- Implantation d'Azote dans Silicium avec une énergie de 6 keV (Figure 106)
- Implantation d'Azote dans Silicium avec une énergie de 14,8 keV (Figure 107)

En sortie, le programme donne la distribution tridimensionnelle des ions dans le solide ainsi que des paramètres tels que par exemple la profondeur de pénétration des ions. Toutes les cascades d'atomes cibles dans la cible sont suivies en détails : concentration des lacunes, taux de pulvérisation cathodique, ionisation et production de phonons dans le matériau cible...

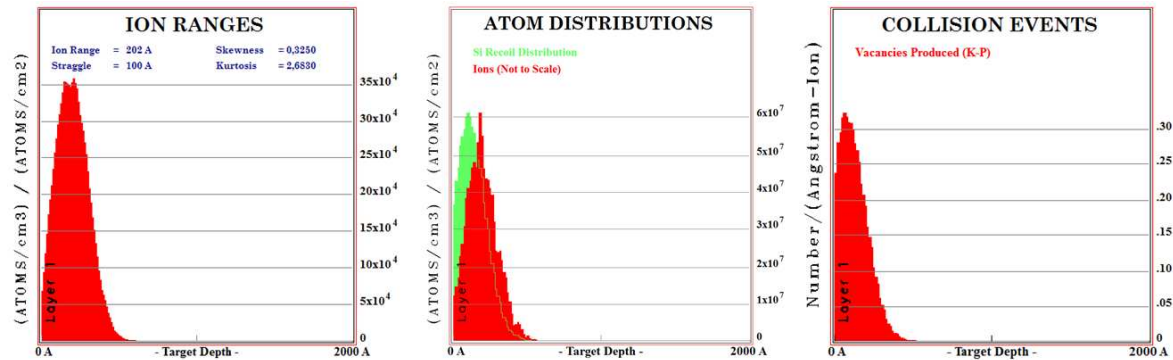


Figure 106 : SRIM N dans Si avec une énergie d'implantation de 6 keV.

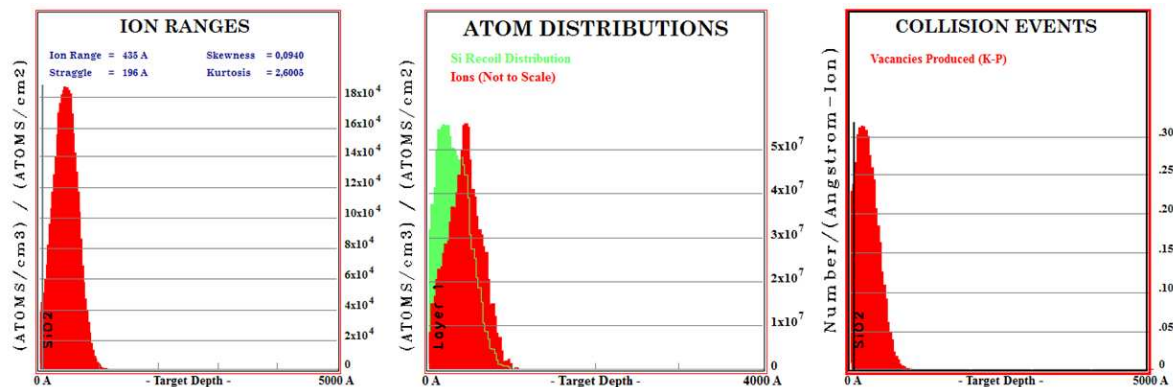


Figure 107 : SRIM N dans Si avec une énergie d'implantation de 14,8 keV.

L'accumulation des ions au sein du Silicium peut être déduite des courbes théoriques présentant la profondeur de pénétration des ions (Ion Ranges). En effet, la valeur de l'axe des ordonnées de ces courbes (en (atomes/cm³)/(atomes/cm²)), lorsqu'elle est multipliée par la dose implantée (atomes/cm²) permet d'obtenir la concentration en impuretés dans le matériau implanté (atomes/cm³).

Ainsi, pour une énergie de 6 keV et une dose de 10¹³ atomes/cm², la concentration maximale en impuretés est obtenue à une distance de 292 Å de la surface et est égale à 3,5.10¹⁸ atomes/cm³.

Pour une implantation avec une énergie de 14,8 keV et en conservant la même dose, la concentration maximale est obtenue plus en profondeur (435 Å de la surface) et est égale à 1,8.10¹⁸ atomes/cm³.

Le second graphique sur la Figure 106 présente une nouvelle fois la distribution en ions au sein du matériau implanté ainsi que la distribution des atomes de Silicium ayant été éjectés de leurs sites en fonction de la profondeur (courbe verte). Les atomes ayant été éjectés produisent alors une lacune au sein du réseau.

Étant donné que la densité du Silicium est estimée à 5×10^{22} atomes/cm³, la concentration d'ions implantés dans le substrat est donc égale à :

Pour une énergie de 6 keV :

$$C_N(cm^{-2}) = \frac{5 \cdot 10^{22}}{6 \cdot 10^7} = 8,33 \cdot 10^{14} \quad (46)$$

Pour une énergie de 14,8 keV :

$$C_N(cm^{-2}) = \frac{5 \cdot 10^{22}}{5,5 \cdot 10^7} = 9,09 \cdot 10^{14} \quad (47)$$

3.2 Mesure qualitative de la concentration de dopants par « Scanning Microwave Microscopy » (SMM)

La Microscopie à Balayage par Micro-ondes (SMM pour Scanning Microwave Microscopy) consiste en un couplage entre un microscope à force atomique (AFM) interfacé avec un analyseur de réseau vectoriel (VNA). Cet appareil permet d'étudier les matériaux aux fréquences micro-ondes à l'échelle nanométrique. Le couplage entre un AFM et un VNA permet d'obtenir à la fois une information sur la topographie de l'échantillon à l'échelle nanométrique mais également une information pouvant être quantitative des densités de dopants dans les structures semi-conductrices, en particulier le Silicium.

Les données SMM sont acquises par l'intermédiaire d'un instrument Keysight 5600. Les propriétés de cet appareil peuvent être trouvées au sein des travaux de Gramse *et al.* [7].

Une image 50 µm x 50 µm est ainsi acquise sur l'échantillon implanté au Bore au travers d'une grille de microscopie et ayant subi un dépôt de NPs de référence ERM®-FD102 et ERM®-FD304. Les résultats en topographie ainsi que l'image PNA amplitude sont présentés sur la Figure 108. L'image SMM (PNA amplitude) met clairement en évidence la présence d'un contraste de quantité de dopant entre les zones ayant subies une implantation et les zones masquées.

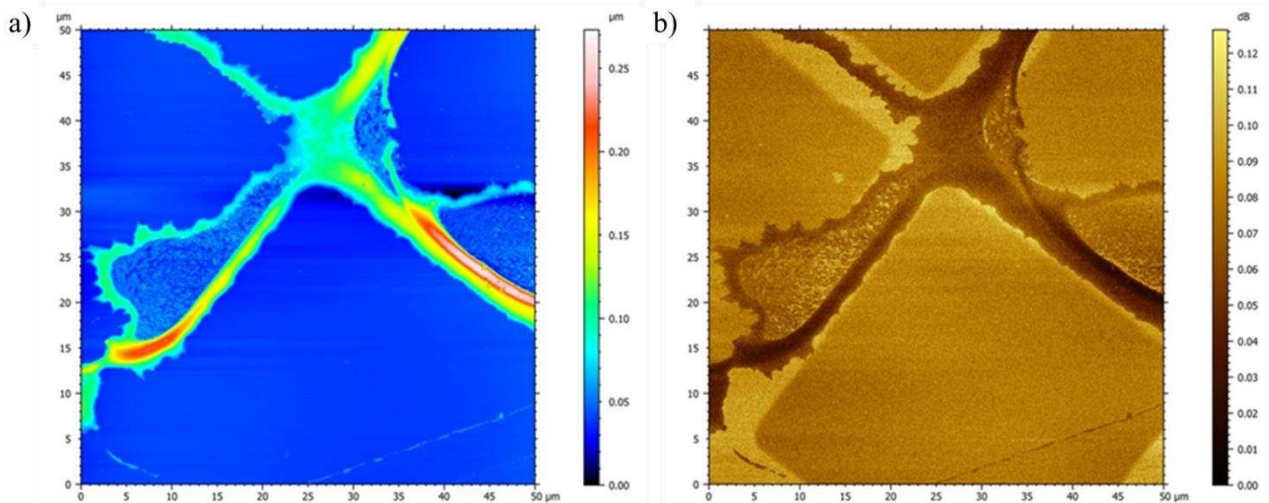


Figure 108 : Substrat Silicium implanté (ions Bore) au travers d'une grille de microscopie, a) image topographique b) image PNA amplitude.

3.3 Influence de l'implantation sur la rugosité des substrats

Afin de vérifier que l'implantation n'a pas modifié les propriétés topographiques des substrats, plusieurs séries d'images AFM ont été réalisées sur les zones implantées et masquées. Chaque image, de dimensions $2\text{ }\mu\text{m} \times 2\text{ }\mu\text{m}$, a été réalisée sur une zone différente. La rugosité moyenne, notée S_q a été déterminée pour chaque image. Les rugosités moyennes des zones masquées et implantées, calculées pour cinq zones différentes, sont présentées dans le Tableau 31.

Tableau 31 : Rugosité moyenne S_q évaluée à partir de cinq images $2\text{ }\mu\text{m} \times 2\text{ }\mu\text{m}$ sur les zones implantées et masquées par la grille de microscopie lors de l'implantation.

	S_q (nm)	$u(S_q)$ (nm)
Zone masquée	0,19	0,01
Zone implantée	0,16	0,01

Les écarts mesurés entre les zones masquées et les zones implantées ne permettent pas de justifier un quelconque effet de l'implantation sur la rugosité des substrats silicium (111).

4 EFFET DE L'IMPLANTATION SUR L'ADHÉSION DES NPS

4.1 Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté au Bore

Le dopage P des substrats par implantation d'ions Bore (colonne III) devrait, en théorie, créer un déficit d'électrons en surface dans le Si et donc attirer les charge négatives entourant les particules en surface (cf. Chapitre 2). Un dépôt statique d'une goutte (environ $10\text{ }\mu\text{L}$) de suspension mère de Klebosol 30R50 (suspension colloïdale de silice bi-modale) a été effectué sur un substrat Silicium implanté au Bore à travers une grille de microscopie. L'observation de l'échantillon n'a été réalisée qu'à la suite de l'évaporation totale du solvant (après 1h environ) suivie d'un rinçage à l'eau désionisée et d'un séchage à l'azote comprimé. La forte concentration en NPs provoque l'apparition d'une couche dense (supposée composée essentiellement de NPs) qui se désolidarise du substrat lors du rinçage.

On constate sur l'image de microscopie optique post-dépôt la présence d'une différence de concentration surfacique de NPs entre les zones ayant subi une implantation d'ions et les zones masquées. Le motif de la grille de microscopie est retrouvé sur le substrat comme présenté sur la Figure 109.

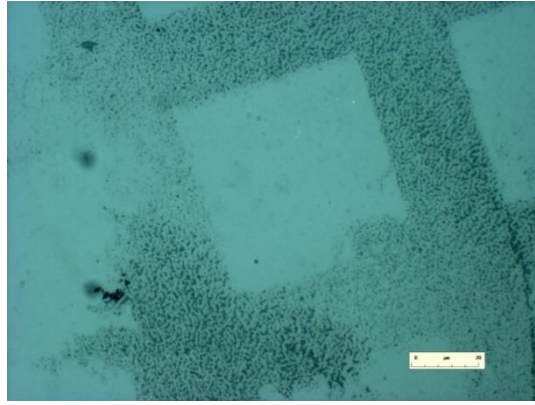


Figure 109 : Image de microscopie optique (grandissement x 40) de l'échantillon obtenu par dépôt statique de la suspension mère Klebosol 30R50 sur un substrat de silicium orienté (111). Observation réalisée à la suite de l'évaporation totale du solvant, suivie du rinçage et du séchage à l'azote comprimé du substrat.

Les zones denses en NPs correspondent aux zones ayant été masquées par la grille. Le phénomène d'attraction des NPs par les forces électrostatiques dues à l'implantation d'ions ne semble pas s'opérer. A l'inverse, la concentration surfacique en NPs plus élevée sur les zones masquées semble indiquer que l'implantation d'ions B⁺ à la surface du silicium accentue la répulsion des NPs par le substrat.

4.2 Dépôt d'une suspension non diluée de silice bi-populée sur substrat implanté par Azote

L'hypothèse initiale était que les NPs étaient chargées négativement comme l'indique la valeur de leur potentiel Zêta. En implantant des ions de la colonne V (azote) au sein du substrat (dopage N), l'objectif est de voir si l'effet inverse est observé par rapport aux ions Bore, c'est-à-dire une concentration surfacique plus importante en NPs sur les zones implantées.

Pour cela le même type d'implantation à travers grille est réalisé avec la même énergie et la même fluence. Par la suite, un dépôt statique d'une goutte de suspension mère de silice Klebosol 30R50 a été effectué sur un substrat Silicium implanté à l'Azote. La répartition des NPs sur le substrat après dépôt a été observée par microscopie électronique à balayage et est présentée sur la Figure 110.

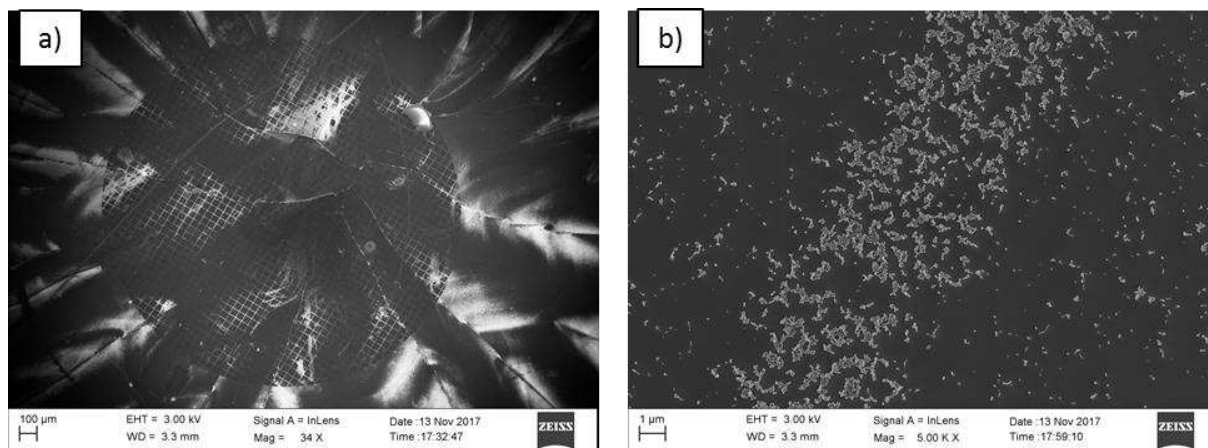


Figure 110 : Image MEB du dépôt statique d'une suspension colloïdale 30 R 50 sur un substrat ayant subi une implantation d'azote à travers grille a) substrat hydrophobe et b) substrat hydrophile.

Les zones « sombres » présentent une concentration surfacique en NPs faible, la présence majoritaire de la plus petite population ainsi qu'une tendance vers l'agglomération 2D des NPs. Les zones « claires » présentent une plus forte concentration surfacique de NPs. Le comportement de la plus petite population semble être similaire à celui observé sur les zones « sombres » c'est-à-dire des NPs présentes en faible quantité et étant soit isolées, soit agglomérées selon deux dimensions. Cependant, cette zone est surtout marquée par la présence majoritaire de la plus grosse population de la suspension bimodale. Les grosses particules présentes sur cette zone sont essentiellement agglomérées avec une tendance vers l'agglomération 3D. Le motif de la grille est visible au sein des sillons. L'observation de la zone de transition entre zone masquée et zone implantée montre que les zones masquées possèdent une concentration surfacique en NPs plus importante (Figure 110-b).

Par conséquent, quel que soit le type de dopage réalisé, le résultat reste le même. Les NPs se concentrent majoritairement sur les zones masquées, c'est-à-dire les zones non implantées et non dopées. En conclusion, l'implantation a donc un effet mais pas de la façon envisagée. En effet, la nature du dopant n'influe pas sur l'adhésion locale des particules de silice. Une autre hypothèse est alors envisagée : les modifications locales des propriétés d'hydrophobicités du substrat induites par l'implantation.

4.3 Mesure des propriétés d'hydrophobicité des substrats

L'objectif de cette étude est de déterminer si l'implantation ionique modifie la valeur de l'angle de contact, donc les propriétés d'hydrophobicité du substrat. Pour ce faire, des mesures d'angle de contact ont été réalisées au sein de l'Institut Pprime grâce à un goniomètre. Ce dernier permet de mesurer directement l'angle formé par une goutte sur un substrat grâce à une caméra placée directement face à la goutte.

Afin de caractériser l'influence de l'implantation sur les propriétés d'hydrophobicité du silicium, trois types d'échantillons ont été utilisés et sont présentés dans le Tableau 32.

Tableau 32 : Échantillons utilisés pour la mesure de l'angle de contact.

Échantillon type n°	Description	Nombre d'échantillons
1	Si (111) traitement plasma (25% O ₂ , 75% Argon) 5 minutes	2
2	Si (111) traitement plasma (25% O ₂ , 75% Argon) 5 minutes + implantation B ⁺ 1.10 ¹³ ions.cm ⁻² , 14,8 keV	4
3	Si (111) traitement plasma (25% O ₂ , 75% Argon) 5 minutes + implantation N ⁻ 1.10 ¹³ ions.cm ⁻² , 14,8 keV	4

Chaque mesure est effectuée de la manière suivante : 3 µL d'eau ultrapure sont déposées à la surface du substrat. Après 10 secondes de stabilisation, une mesure d'angle de contact est effectuée chaque secondes pendant 10 secondes. Pour chaque mesure, l'angle de gauche, l'angle de droite et la moyenne des deux angles sont extraits (Figure 111). La mesure finale correspond ainsi à la moyenne des dix mesures, avec l'écart type associé.



Figure 111 : Mesure de l'angle de contact entre le liquide (H_2O) et le substrat (Si implantation B^+ 14,8 keV).

La reproductibilité de la technique est évaluée en effectuant la même mesure sur plusieurs échantillons ayant subi le même traitement (2 sans implantations, 4 implantés B^+ , 4 implantés N^-). L'incertitude associée à la mesure de l'angle de contact est alors égale à :

$$u_{total} = \sqrt{u_{Répéta}^2 + u_{repro}^2} \quad (48)$$

Les résultats sont présentés en Figure 112.

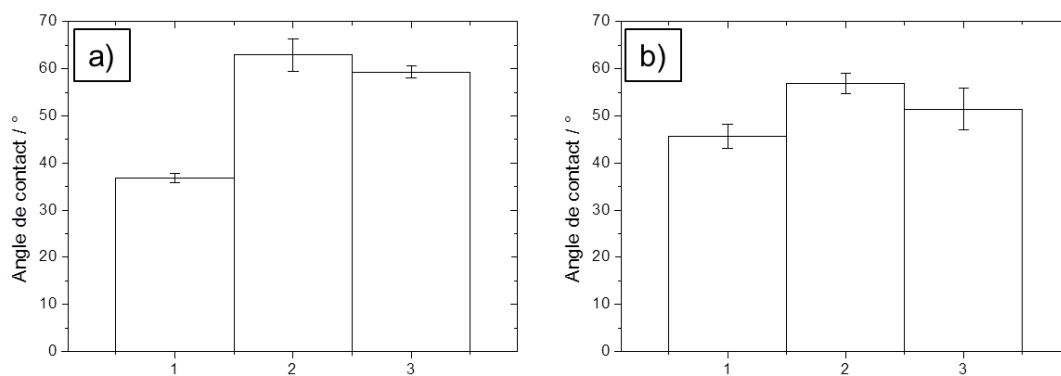


Figure 112 : Mesure de l'angle de contact pour 1- un substrat non implanté, 2- un substrat implanté par Bore (B^+) à une tension de 14,8 keV, 3- un substrat implanté par Azote (N^-) à une tension de 14,8 keV. Les tableaux (a) et (b) correspondent aux cas où les substrats sont non nettoyés ou traités au Triton X-100 avant mesure, respectivement. Les barres d'erreurs représentent l'incertitude associée à chaque mesure (répétabilité et reproductibilité).

Les résultats mettent en évidence l'influence de l'implantation sur les propriétés d'hydrophobicité du Silicium (111). En effet, après nettoyage plasma, l'angle moyen de contact d'une goutte H_2O Ultrapure est égal à $(36,8 \pm 0,9)^\circ$. Suite à l'implantation par ions B^+ sur le substrat silicium pré nettoyé par plasma, l'angle de contact moyen est alors égal à $(62,9 \pm 3,4)^\circ$. Par conséquent, l'implantation de Bore dans le Silicium augmente l'hydrophobicité du substrat. On remarque également que l'implantation d'azote a le même effet sur les propriétés d'hydrophobicité du substrat, et dans les mêmes proportions.

Cet effet de l'implantation sur les propriétés d'hydrophobicité a déjà été observés sur du saphir [8] et du mica [9]. Ce phénomène s'explique alors par la création d'un film d'hydrocarbures par chemisorption à la surface du substrat lors de l'implantation. Ce film provient principalement des molécules présentes dans la chambre de l'implanteur lors de la préparation des échantillons. La présence de ce film carboné à la surface du substrat (mise en évidence par mesures XPS Spectrométrie

Photoélectronique X) est totalement indépendante de la nature des ions implantés. La présence de ce film augmente alors l'hydrophobicité des surfaces traitées (mesurée à 72-92° pour le mica).

Le nettoyage par Triton X-100 tend à inhiber l'effet de l'implantation. En effet, ce dernier augmente l'angle de contact de la goutte sur le Silicium ($45,7 \pm 2,7^\circ$). De plus, à la suite du traitement par Triton l'hydrophobicité du Silicium implanté diminue et tend vers celle du substrat non implanté.

Par conséquent, l'application d'un nettoyage par Triton X-100 des échantillons implantés est à limiter au maximum, sous peine d'inhiber l'effet de l'implantation.

4.4 Influence des propriétés d'hydrophobicité sur l'évaporation de la goutte par dépôt statique

Afin de vérifier cette l'hypothèse selon laquelle l'adhésion des particules est majoritairement gouvernée par la modification locale des propriétés d'hydrophobicité du substrat par implantation et de s'abstenir de tout apport de contamination dû au nettoyage des grilles de microscopie, une nouvelle implantation a été réalisée sur un substrat Silicium (111). Cependant, la moitié de l'échantillon Silicium est masquée par un second substrat Silicium. Une goutte de suspension colloïdale (Klebosol 30R50) a été déposée sur le substrat et l'évaporation du solvant a été observée par microscopie optique. Les différentes étapes sont détaillées sur la Figure 113.

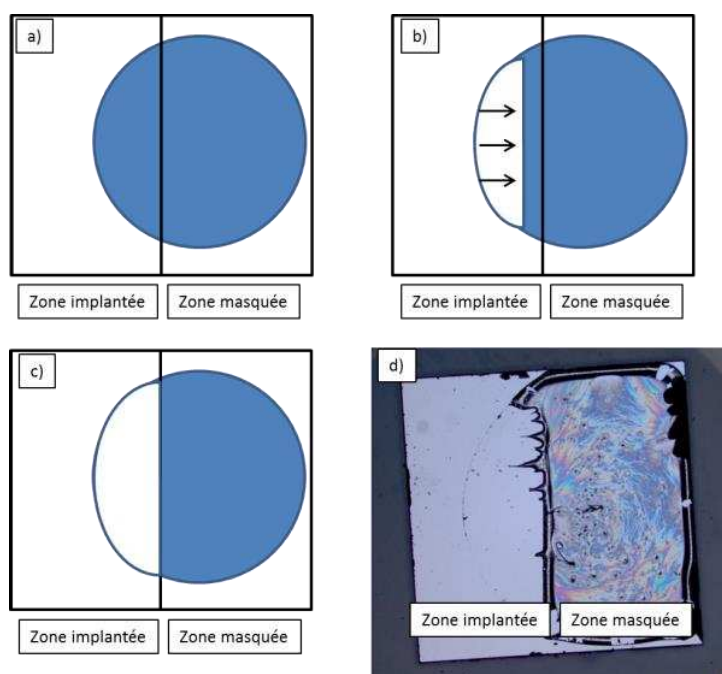


Figure 113 : Représentation schématique du séchage d'une goutte de suspension colloïdale de NP Klebosol 30R50 sur un substrat Silicium ayant subi une implantation au Bore sur la moitié de sa surface, a) dépôt initial de la goutte, b) évacuation rapide du solvant de la zone implantée, c) création d'un front liquide/gaz au niveau de l'interface zone

implantée/ zone masquée d) image en microscopie optique (grandissement $\times 1,25$) de l'échantillon après dépôt.

Dans un premier temps la goutte s'étale sur le substrat (Figure 113-a). Directement après dépôt, la totalité du solvant présent sur la partie implantée du substrat est évacuée. Par conséquent, un front d'évaporation liquide/gaz se déplace vers l'interface zone masquée/zone implantée (Figure 113-b). Lorsque ce front atteint l'interface entre les deux zones, celui-ci s'arrête net, toute la phase liquide du dépôt est alors comprise sur la zone masquée (Figure 113-c). Par la suite le front n'évolue plus et l'évaporation du solvant s'effectue progressivement. Après évaporation totale du solvant, une différence de concentration entre les deux zones est directement visible sur le substrat (Figure 113-d).

Cette expérience confirme ainsi l'hypothèse émise, à savoir que les zones denses en NPs sont les zones où le solvant s'est évaporé en dernier. En couplant cette observation avec le fait que les zones implantées sont plus hydrophobes, le lien entre implantation et différence de densité surfacique en NPs sur les substrats implantés est ainsi démontré.

4.5 Dépôt d'une suspension de silice bi-populée diluée sur substrat implanté

À cause de la forte concentration en NPs des suspensions non diluées, il est impossible d'observer en direct l'influence de l'implantation lors de l'évaporation du solvant. En effet, comme évoqué précédemment, une couche solide se forme sur le substrat et se désolidarise lors du rinçage. Ainsi, et également afin d'obtenir une concentration surfacique en NPs adaptée aux imageries MEB et AFM (forte concentration en NPs isolées), une suspension mère de silice de référence ERM®-FD101b (silice bi-populée dont un mode est certifié à $(83,7 \pm 2,2)$ nm ($k=2$)) est diluée 500 fois dans de l'eau milliQ (Ultrapure). Une goutte de 7,5 μL de suspension est alors déposée sur le substrat implanté à l'Azote à travers une grille (200 mesh) et l'évaporation du solvant est observée par microscope optique.

L'évaporation de la goutte sur le substrat s'effectue en trois étapes représentées sur la Figure 114 :

- Dans un premier temps la hauteur de la goutte diminue progressivement. Le surface de goutte en contact avec le substrat n'évolue que très peu (Étape 1).
- Par la suite, en plus de la hauteur de la goutte, la surface en contact avec le substrat diminue progressivement (Étape 2).
- Pour finir, lorsque la hauteur de goutte est très faible, le solvant s'évapore très rapidement (Étape 3).

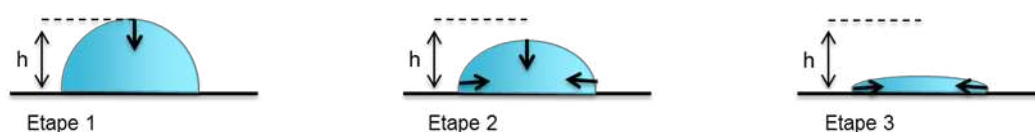


Figure 114 : Schéma présentant les trois étapes observées lors de l'évaporation de la goutte.

Lors de l'étape 2, on constate potentiellement l'influence de l'implantation sur l'évaporation du solvant. En effet, en observant le bord de la goutte à grossissement $\times 10$ (Figure 115-a), on constate la présence de zones où le front liquide n'est pas linéaire. La présence de zones hydrophobes, où la vitesse d'évacuation du solvant est plus grande, pourrait expliquer ce phénomène.

La répartition des NPs sur le substrat après évaporation complète du solvant est alors étudiée par imagerie MEB et est présentée en Figure 115-b. L'observation par microscopie électronique montre qu'une très grande majorité des NPs est située sur la zone qu'occupait la goutte au début de la 3^{ème} étape. Très peu de particules sont déposées sur le substrat lors de l'étape 2.

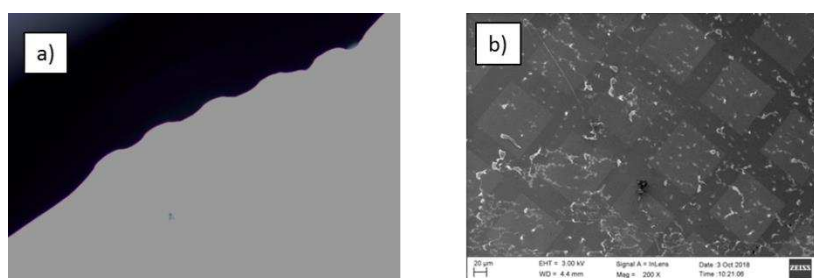


Figure 115 : (a) Image par microscopie optique ($\times 10$) du bord de la goutte lors de l'étape 2, (b) Observation par MEB de la répartition des NPs sur substrat implanté par Azote après dilution $\times 500$.

4.6 Dépôt de NPs de silice à pH acide

L'effet de l'implantation sur le comportement de la goutte lors de son évaporation a été mis en évidence. Cet effet se caractérise par une évacuation rapide du liquide des zones implantées (hydrophobes). Par conséquent, les zones masquées par la grille constituent le trajet privilégié pour l'évacuation du solvant.

Cet effet a été observé par microscopie optique lors de l'étape 2 de l'évaporation du solvant. Cependant, aucun effet notable n'a été observé par la suite sur la répartition des NPs sur le substrat. L'hypothèse ainsi avancée est donc qu'en l'absence d'interactions favorables entre le substrat et les NPs, ces dernières suivent le bord de goutte et se déplacent le long des zones masquées sans adhérer au substrat.

Par conséquent, afin de mettre en évidence l'effet de l'implantation sur des dépôts de suspensions fortement diluées, la charge des particules a été modifiée afin de favoriser leur interaction avec le substrat. Ainsi, quelques μL d'acide chlorhydrique 1M ont été ajoutés à la suspension afin d'abaisser le pH de cette dernière autour de 1. De ce fait, la charge en surface des particules de silice devient positive.

Le même type de dépôt a été réalisé par la suite : une goutte de $7,5 \mu\text{L}$ de suspension a été déposée et Les résultats obtenus par microscopie optique montrent que l'implantation a bien une influence sur le front d'évacuation du solvant lors de l'évaporation de la goutte, comme vu précédemment. Cependant,

cette fois, les NPs ont naturellement tendance à adhérer au substrat. Ainsi, en observant le dépôt de NPs pendant évaporation en microscopie optique en champ sombre, il est possible de mettre en évidence la présence de particules sur un motif correspondant à celui d'une grille de microscopie (Figure 116-a). L'observation de la même zone du substrat post-dépôt par imagerie MEB confirme cette observation, une grande majorité des NPs s'est déposée sur les zones masquées tandis que les zones implantées sont quasiment vierges en particules (Figure 116-b).

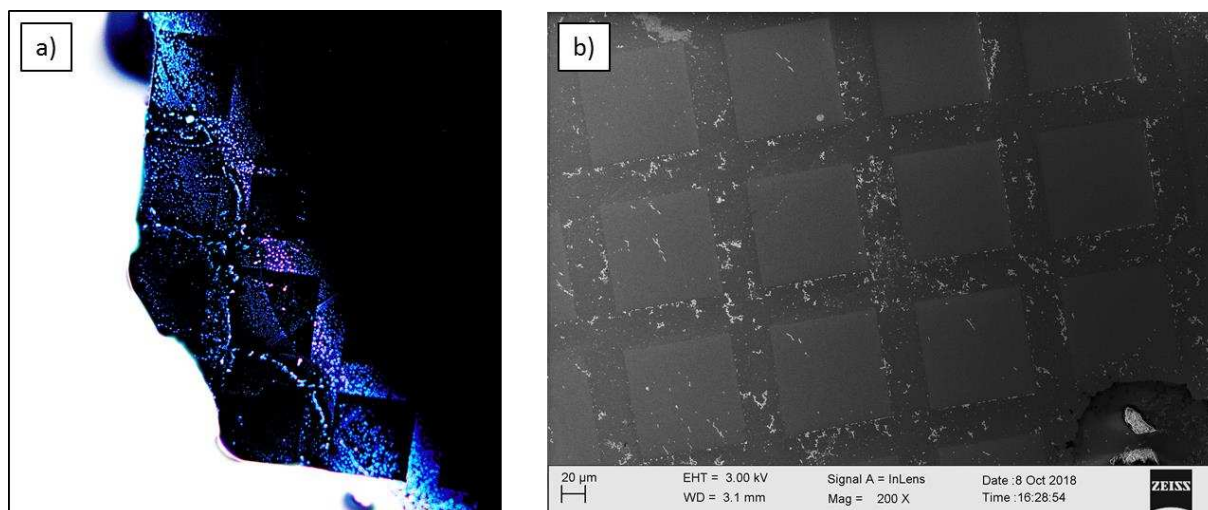


Figure 116 : (a) Image de microscopie optique en champ sombre (grandissement x20) du bord de la goutte lors de son évaporation, (b) Image MEB de la répartition des NPs sur le substrat après évaporation complète de la goutte.

L'observation du dépôt en microscopie optique en champ sombre directement lors de l'évaporation de la goutte permet de confirmer l'ensemble des hypothèses avancées. En effet, le front d'évaporation ne se déplace pas linéairement au fur et à mesure que la goutte s'évapore. Lors du passage sur les zones implantées, le bord de la goutte se déplace rapidement et marque un temps d'arrêt sur les zones masquées, épousant alors le motif de la grille. Ainsi, le front d'évaporation de la goutte se déplace par « sauts » en limitant au maximum le temps passé sur les zones implantées.

5 CONCLUSIONS

L'objectif était d'utiliser le dopage par implantation ionique pour modifier localement les forces électrostatiques exercées en surface. Pour cela, le dopage P des substrats par implantation d'ions Bore (colonne III) devrait, en théorie, créer un déficit d'électrons en surface dans le Si et donc attirer les charges négatives entourant les particules en surface (cf. Chapitre 2). Cependant, l'effet inverse a été obtenu, les NPs se concentrent majoritairement sur les zones non implantées lors du dépôt. L'étude de l'implantation par des ions de la colonne V (azote) au sein du substrat (dopage N), aboutit aux mêmes résultats. Ainsi, l'implantation a bien un effet très marqué qui peut être utilisé, mais pas celui initialement prévu.

Nous avons finalement observé que les propriétés d'hydrophobicité du substrat jouaient un rôle prépondérant quant au comportement de la goutte de suspension déposée lors de son évaporation. Il a été observé que, lors du séchage de cette dernière, le front liquide/air passe préférentiellement par les zones masquées. Ainsi les modifications de l'hydrophobicité du substrat par implantation ont été mises en évidence et quantifiées par des mesures d'angle de goutte sur des substrats implantés sans masque. Ce phénomène est principalement attribué à l'adsorption par le substrat de molécules organiques, présentes dans la chambre lors de l'implantation. L'ajout d'acide chlorhydrique dans la suspension pour abaisser son pH a permis d'observer directement le dépôt en cours d'évaporation de la goutte et ainsi de valider les hypothèses avancées.

Ainsi, l'implantation ionique, indépendamment de l'espèce utilisée, permet de modifier les propriétés locales du substrat et d'influencer le front d'évaporation de la goutte de suspension colloïdale déposée. Par conséquent, en effectuant l'implantation au travers d'un masque, il est possible de contrôler l'évaporation de la goutte et de déposer les particules sur certaines zones sur le substrat.

L'étape suivante consistera alors à développer un masque afin que les particules se déposent sur certaines zones spécifiques visibles et identifiables par microscopie optique pour l'AFM ou par MEB.

RÉFÉRENCES

1. Chivers DJ (1992) Freeman ion source: An overview (invited). *Review of Scientific Instruments* 63:2501–2506 . <https://doi.org/10.1063/1.1142874>
2. Grosseron FICHE TECHNIQUE TRITON X 100 PUR
3. Pizzi A (2003) *Handbook of Adhesive Technology, Revised and Expanded*, 2nd ed. CRC Press
4. Ziegler JF, Ziegler MD, Biersack JP (2010) SRIM – The stopping and range of ions in matter (2010). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 268:1818–1823 . <https://doi.org/10.1016/j.nimb.2010.02.091>
5. Han W (2008) *Introduction to Scanning Microwave Microscopy*
6. Buchter A, Hoffmann J, Delvallée A, Brinciotti E, Hapiuk D, Licitra C, Louarn K, Arnoult A, Almuneau G, Piquemal F, Zeier M, Kienberger F (2018) Scanning microwave microscopy applied to semiconducting GaAs structures. *Review of Scientific Instruments* 89:023704 . <https://doi.org/10.1063/1.5015966>
7. Gramse G, Kasper M, Fumagalli L, Gomila G, Hinterdorfer P, Kienberger F (2014) Calibrated complex impedance and permittivity measurements with scanning microwave microscopy. *Nanotechnology* 25:145703 . <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/14/145703>
8. Bull SJ, Page TF (1995) The effects of ion implantation on the friction behaviour of sapphire. *Journal of Materials Science* 30:5356–5370 . <https://doi.org/10.1007/BF00351545>
9. Metya A, Ghose D, Roy N (2014) Development of hydrophobicity of mica surfaces by ion beam sputtering. *Applied Surface Science* 293:18–23 . <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.11.163>

ANNEXE 2 – INFLUENCE DE LA TENSION D’ACCÉLÉRATION SUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES D’UNE POPULATION DE NANOPARTICULES PAR MEB.. 250

1	INTRODUCTION	251
2	ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D’ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE SILICE	251
3	ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D’ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE COMPOSITIONS CHIMIQUES DIFFÉRENTES	253
3.1	Étude sur des particules d’or	253
3.2	Étude sur des particules de polystyrène Latex (PSL)	254
4	DISCUSSIONS	255
	RÉFÉRENCES.....	258

ANNEXE 2 – INFLUENCE DE LA TENSION D’ACCÉLÉRATION SUR LA MESURE DES PROPRIÉTÉS DIMENSIONNELLES D’UNE POPULATION DE NANOPARTICULES PAR MEB

La tension d’accélération est un paramètre déterminant lors de l’imagerie par MEB. Généralement, chaque opérateur sélectionne une tension d’accélération pour acquérir ses images soit selon les recommandations du constructeur, soit selon son expérience. Ainsi, il est nécessaire de se questionner sur la comparabilité de processus de mesurage (étalonnage et mesure) effectués à des niveaux de tension différents. En effet, comme nous le détaillerons par la suite, l’utilisation de suspensions de référence pour étalonner le MEB nécessitent certaines précautions. Par exemple, nous verrons par la suite que la variabilité de la mesure du diamètre équivalent des particules en fonction de la tension appliquée est fonction de la taille et de la composition chimique de ces dernières.

Ainsi, ces résultats sont placés en annexe car toutes les mesures réalisées dans ces travaux de thèse ont été menés sur des particules de silice dont la taille correspondait à des suspensions de référence de même taille et de même composition chimique. Ainsi, l’influence de la tension d’accélération pouvait être négligée dans le cadre de ces travaux. Cependant, il est nécessaire de joindre ces travaux au manuscrit afin de mettre en évidence l’influence de ce paramètre lors de la mesure de particules dont la taille ou la composition chimique est différente de celle des particules de référence utilisées pour l’étalonnage de l’instrument. Ces travaux ont également pour objectif de montrer l’importance du développement et de la mise sur le marché de nouvelles suspensions de référence, de composition chimique et de taille différentes.

1 INTRODUCTION

Plusieurs études ont été menées afin d'évaluer l'effet de la tension d'accélération (Extra High Tension (EHT)) sur la mesure de la largeur d'une ligne [1] ou du diamètre d'une population de nanoparticules par MEB [2]. Ces études ont mis en évidence une évolution de la mesure effectuée en fonction de la tension utilisée. En effet, la tension d'accélération influence directement la taille de la poire d'interaction dans le matériau irradié. En effet, plus l'énergie du faisceau incident augmente, plus la probabilité d'interaction des électrons primaires avec ceux constitutifs des atomes de l'échantillon diminue. Ce phénomène a pour conséquence de provoquer une pénétration plus importante des électrons primaires dans le matériau.

Ainsi, dans ces travaux de thèse, nous proposons d'évaluer l'influence de la tension d'accélération sur la mesure du diamètre équivalent en surface projetée d'une population de nanoparticules par MEB.

- Dans un premier temps, l'étude sera menée sur les particules de référence utilisées dans le cadre de ces travaux.
- Par la suite, l'étude sera étendue à des particules de compositions chimiques différentes (or et polystyrène).
- Une discussion sera finalement portée sur les précautions à prendre lors de l'utilisation de particules de référence pour étalonner le MEB.

2 ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D'ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE SILICE

Deux suspensions de silice de référence (ERM®-FD304 et ERM®-FD101b) ont été étudiées dans une gamme de tension d'accélération variant entre 1 kV et 9 kV. Pour rappel, pour les particules de référence ERM®-FD304, le mode de distribution, pondéré en nombre, pour le diamètre équivalent en surface projetée, utilisé pour la microscopie électronique, est seulement donné à titre indicatif et est égal à 27,8 nm avec une incertitude élargie de 1,5 nm ($k = 2$).

Le deuxième matériau de référence, ERM®-FD101b, est composé d'une suspension de silice bimodale. Le certificat de référence sur le mode de distribution, pondéré en nombre, pour le diamètre équivalent en surface projetée est uniquement établi pour la seconde population et donne un diamètre de référence de $(83,7 \pm 2,2)$ nm ($k = 2$).

La gamme de tension minimale sélectionnée (1 kV) correspond à la limite en deça de laquelle il est difficile d'obtenir une image nette des particules. Ce phénomène est lié à l'augmentation importante de la taille du faisceau lorsque l'énergie de ce dernier devient extrêmement faible. Au-delà de la gamme

de tension maximale utilisée (9 kV), le rapport signal sur bruit augmente fortement et il devient difficile d'obtenir un contraste suffisant sur les images pour segmenter les particules.

Afin d'éviter tout phénomène de charge ou de contamination de la surface de l'échantillon, une population différente est imagée pour chaque tension d'accélération. Ainsi, afin d'obtenir des populations suffisamment représentatives de l'ensemble de l'échantillon, un minimum de 250 particules est sélectionné pour chacune des populations. Le diamètre équivalent en surface projetée des particules imagées est mesuré à la suite de l'utilisation de la segmentation par Active Contour, décrite dans la section 2.3.1 du chapitre 2. La Figure 117 représente l'évolution du mode de distribution du diamètre équivalent en surface projetée en fonction de la tension d'accélération appliquée pour les deux suspensions de référence.

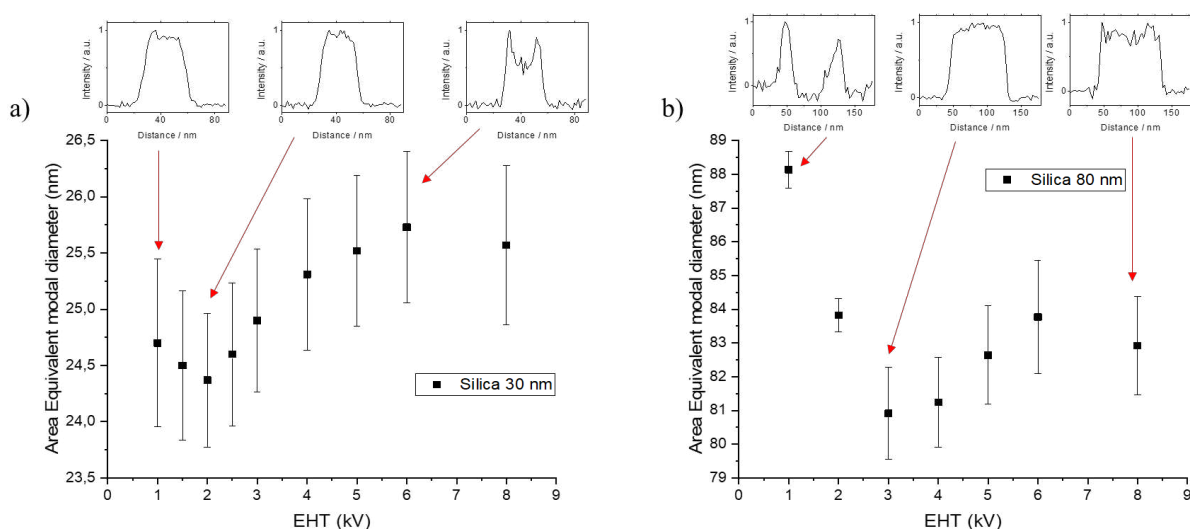


Figure 117 : Modes de distribution du diamètre équivalent en surface projetée mesurés en fonction de la tension d'accélération appliquée pour les suspensions de silice de référence a) ERM®-FD304 et b) ERM®-FD101b. Les barres d'erreurs représentent l'incertitude sur la mesure MEB, telle que décrite dans le chapitre 3. L'influence de la taille du faisceau n'est pas prise en compte. Les inserts sur les deux graphiques présentent les profils d'intensité en électrons secondaires extraits sur une ligne de balayage passant par le centre d'une particule sélectionnée aléatoirement sur les images.

Concernant la suspension de silice de référence ERM®-FD304, l'écart pic-à-pic entre les mesures en fonction de la tension d'accélération n'excède pas 1,2 nm. Cette valeur est à mettre en relation avec l'incertitude de mesure, estimée à 0,7 nm ($k = 1$) pour l'ensemble des mesures réalisées sur ces particules. Ainsi, cet écart n'est pas significatif dans cette gamme de tension.

Pour la population de silice de référence ERM®-FD101b, un écart pic-à-pic plus important est observable : 7,2 nm. En effet, les valeurs obtenues pour des tensions très basses (1 kV et 2 kV) sont très grandes par rapport à celles obtenues au-delà de ces valeurs. Lorsque seules les valeurs pour des tensions d'accélération supérieures ou égales à 3 kV sont conservées, l'écart pic-à-pic diminue

drastiquement pour atteindre 2,7 nm. De plus, cet écart n'apparaît pas significatif au regard de l'incertitude de mesure (1,4 nm ($k = 1$)).

Il est également important de noter que bien que la première se distingue sur une gamme plus réduite, les deux courbes observent les mêmes variations : lorsque la tension d'accélération augmente, la mesure du diamètre équivalent diminue pour atteindre sa valeur minimale pour 3 kV, puis la valeur mesurée augmente par la suite jusqu'à atteindre un plateau. L'étude des profils d'intensité en électrons secondaires, extraits le long d'une ligne de balayage passant par le centre d'une particule, permet de mettre en évidence un autre point commun entre les deux courbes : la « forme » des profils semble suivre un comportement similaire. Ainsi, à très faible tension où le diamètre mesuré est maximal, une chute du rendement en électrons secondaires est observée au centre de la particule. Pour la tension d'accélération où le diamètre mesuré est minimal, un plateau est observé au centre de la particule. À plus haute tension, une chute du signal au centre de la particule apparaît à nouveau. Ces effets sont plus marqués pour les grosses particules à faible tension et pour les petites particules à haute tension.

Nous avons ainsi souhaité savoir si cette allure de courbe se reproduisait sur d'autres matériaux : un métal et un polymère avec des populations de tailles semblables à celles des particules de silice étudiées.

3 ÉVOLUTION DE LA MESURE DU DIAMÈTRE ÉQUIVALENT EN FONCTION DE LA TENSION D'ACCÉLÉRATION POUR DES PARTICULES DE COMPOSITIONS CHIMIQUES DIFFÉRENTES

3.1 Étude sur des particules d'or

La même étude a été menée sur deux suspensions de particules d'or, ayant des diamètres indicatifs respectivement égaux à 30 nm et 50 nm. Les deux suspensions ont été synthétisées dans le cadre du projet EMPIR nPSize par le laboratoire LGC (Teddington, Royaume-Uni). La masse volumique de l'or étant plus importante que celle de la silice, la gamme de tension sélectionnée a pu être étendue. En effet, pour les particules de 50 nm, un rapport signal sur bruit suffisant a été observé jusqu'à 15 kV. Les gammes sélectionnées sont ainsi de 1 kV à 8 kV pour l'or 30 nm et de 1 kV à 15 kV pour la population d'or de 50 nm. La Figure 118 représente l'évolution du mode de distribution du diamètre équivalent en surface projetée en fonction de la tension d'accélération appliquée pour les deux suspensions d'or.

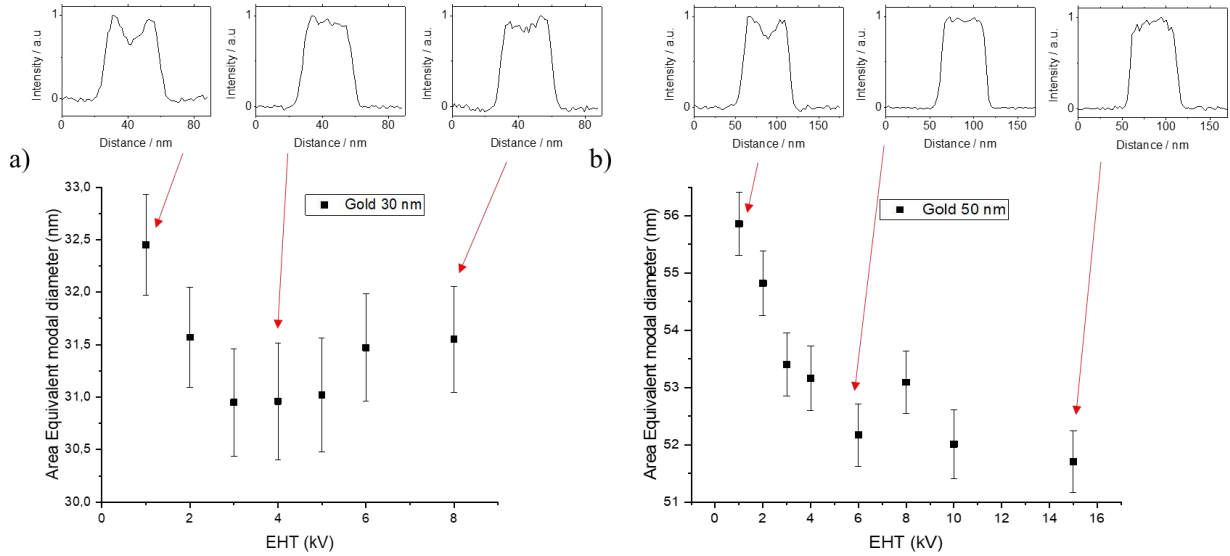


Figure 118 : Modes de distribution du diamètre équivalent en surface projetée mesurés en fonction de la tension d'accélération appliquée pour les suspensions d'or a) 30 nm et b) 50 nm. Les barres d'erreurs représentent l'incertitude sur la mesure MEB, telle que décrite dans le chapitre 3. L'influence de la taille du faisceau n'est pas prise en compte. Les inserts sur les deux graphiques présentent les profils d'intensité en électrons secondaires extraits sur une ligne de balayage passant par le centre d'une particule sélectionnée aléatoirement sur les images.

L'écart pic-à-pic est respectivement égal à 1,5 nm et 3,0 nm pour les populations d'or 30 nm et 50 nm. Compte tenu des incertitudes de mesures associées à chacune des mesures, cet écart n'est pas significatif pour la population d'or de 30 nm sur la gamme de tension d'accélération étudiée. Cependant, pour les particules d'or de taille 50 nm, cet écart devient significatif.

Aussi, une nouvelle fois, le même comportement de variation de la mesure en fonction de la tension d'accélération appliquée est observé pour la population d'or de 30 nm. Concernant la population d'or de 50 nm, il semble que seul le début du comportement est observé : il n'y a pas de remontée des valeurs de diamètre mesurées. Pour la population d'or de 30 nm, la mesure minimale est obtenue entre 3 kV et 4 kV, c'est-à-dire pour une tension d'accélération légèrement supérieure à celle nécessaire pour obtenir la mesure minimale avec les particules de silice. Pour la population d'or de 50 nm, un minimum local sur la mesure du diamètre équivalent en surface projetée est obtenu à 6 kV. Pour les deux derniers points sur la courbe (10 kV et 15 kV), il est à noter que des facettes deviennent visibles sur les particules. Ce phénomène pourrait ainsi potentiellement introduire un biais sur la mesure et expliquer pourquoi la courbe ne suit plus le comportement attendu pour ces deux points en particulier.

3.2 Étude sur des particules de polystyrène Latex (PSL)

Durant cette étude, une seule suspension de particules de polystyrène Latex (PSL) de diamètre indicatif égal à 90 nm été accessible. C'est pour cela qu'aucune étude en fonction de la taille des

particules n'est présentée. À cause de leur faible masse volumique, le rapport signal sur bruit sur les images ne permet pas de réaliser des images avec un contraste suffisant au-delà d'une tension de 8 kV. La gamme de tension d'accélération sélectionnée est ainsi comprise entre 1 kV et 8 kV. La Figure 119 présente la variation de mesure de diamètre équivalent en fonction de la tension d'accélération appliquée sur cette population.

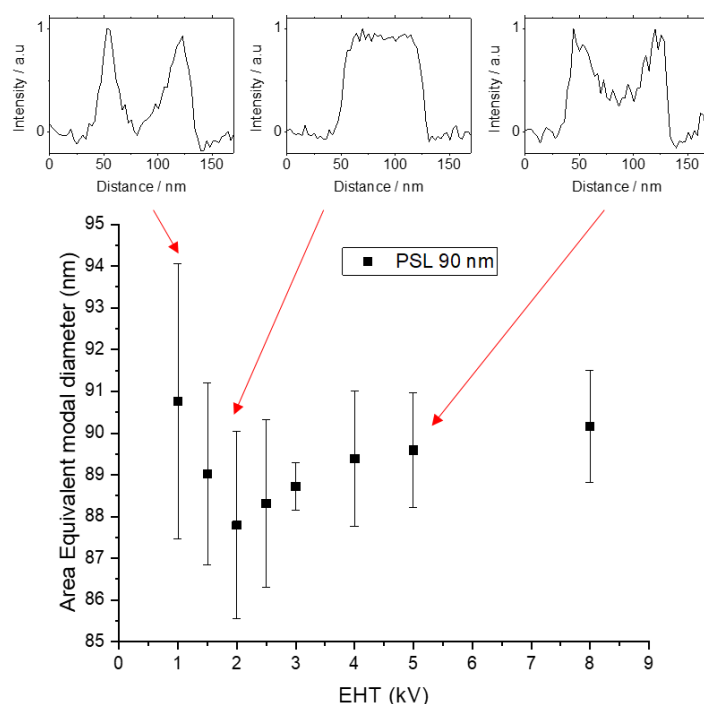


Figure 119 : Modes de distribution du diamètre équivalent en surface projeté mesurés en fonction de la tension d'accélération appliquée pour la suspension de PSL. Les barres d'erreurs représentent l'incertitude sur la mesure MEB, telle que décrite dans le chapitre 3. L'influence de la taille du faisceau n'est pas prise en compte. Les inserts sur le graphique présentent les profils d'intensité en électrons secondaires extraits sur une ligne de balayage passant par le centre d'une particule sélectionnée aléatoirement sur les images.

L'écart pic-à-pic est de nouveau significatif, atteignant 3,0 nm sur la gamme étudiée. Le même comportement est observé que pour les autres matériaux étudiés : une diminution jusqu'à une valeur minimum (dans ce cas 2 kV) suivie d'une remontée et un plateau.

4 DISCUSSIONS

Comme nous venons de le voir, la mesure du diamètre équivalent d'une population de nanoparticules dépend de la tension d'accélération appliquée. De plus, indépendamment de la taille et de la composition chimique des particules étudiées, un comportement similaire est observé sur les différentes courbes décrivant le diamètre mesuré en fonction de la tension d'accélération appliquée. En effet, lorsque la tension d'accélération augmente, le diamètre mesuré diminue jusqu'à atteindre une

valeur minimale. Cependant, la tension à laquelle ce minimum apparaît diffère selon les particules étudiées : de 2 kV pour les particules de PSL jusqu'à 6 kV pour les particules d'or de 50 nm. Par la suite, la mesure du diamètre augmente avec la tension d'accélération jusqu'à atteindre un plateau.

L'étude des profils d'intensité en électrons secondaires, extraits le long d'une ligne de balayage passant par le centre d'une particule, a permis de mettre en évidence un autre point commun entre les différentes courbes décrivant le diamètre mesuré en fonction de la tension appliquée. En effet, la forme des profils semble également suivre un comportement similaire pour toutes les particules étudiées : à très faible tension où le diamètre mesuré est maximal, une chute du rendement en électrons secondaires est observée au centre de la particule. Cependant, cette chute apparaît beaucoup plus marquée pour les grosses particules (ERM[®]-FD101b et PSL 90 nm). De plus, pour les tensions d'accélération où le diamètre mesuré est minimal, un plateau est observé au centre de la particule. Par la suite, à plus haute tension, une chute du signal au centre de la particule apparaît à nouveau. Ainsi, on observe un lien entre la « forme » des profils et le diamètre mesuré.

Ces observations soulèvent ainsi plusieurs questions sur l'utilisation de particules de référence pour étalonner les microscopes électroniques à balayage. En effet, actuellement, peu de suspensions sont disponibles sur le marché. Par exemple, au cours de ces travaux de thèse nous avons seulement à disposition deux suspensions de référence, toutes deux composées de particules de silice de diamètre certifié ($18,2 \pm 1,6$) nm ($k = 2$) (ERM[®]-FD102) et ($83,7 \pm 2,2$) nm ($k = 2$) (ERM[®]-FD101b). Ainsi, des précautions doivent obligatoirement être prises si l'on souhaite utiliser ces particules pour étalonner le microscope afin d'imager des particules inconnues. En effet, à partir de la mesure obtenue sur les particules de référence, une correction sera appliquée sur la mesure des particules inconnues. Par exemple, prenons le cas où les particules de silice de référence ERM[®]-FD101b servent à étalonner le microscope avant d'effectuer des mesures sur les particules de PSL 90 nm. Pour les particules de référence, le certificat annonce une valeur certifiée égale à ($83,7 \pm 2,2$) nm ($k = 2$). Ainsi, selon la tension appliquée un facteur correctif sera appliqué. Ce même facteur sera par la suite également appliqué pour les mesures sur les particules de PSL pour donner les mesures corrigées. Une comparaison entre les mesures non corrigées et corrigées sur les particules de PSL 90 nm est présentée sur la Figure 120.

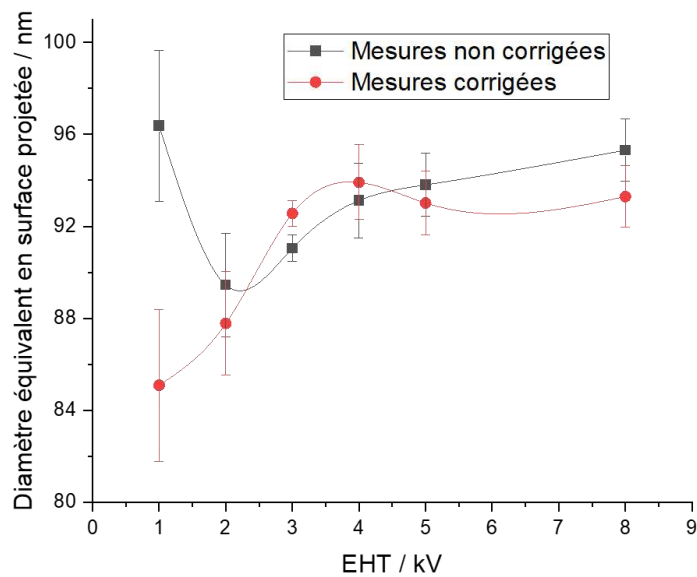


Figure 120 : Modes de distribution du diamètre équivalent en surface projetée non corrigé et corrigé en utilisant les particules de référence ERM®-FD101b.

Les résultats montrent qu'un écart significatif est obtenu entre les différentes mesures corrigées selon la tension d'accélération utilisée. De plus, les incertitudes de mesure ne permettent pas d'expliquer ces écarts.

Ces résultats montrent qu'utiliser des particules de référence pour étalonner son microscope électronique à balayage nécessite certaines précautions. La plus importante consiste à utiliser des particules de référence de composition chimique identique à celle des particules que l'on souhaite mesurer. De plus, la taille des particules de référence doit également être proche de celle des particules à mesurer. Ces résultats montrent qu'il convient alors d'annoncer la tension d'accélération utilisée lorsqu'une mesure est fournie. Aussi, cette remarque est encore plus importante pour les certificats d'étalonnage qui pourraient recommander une gamme de tensions d'accélération dans laquelle la valeur certifiée est valable.

RÉFÉRENCES

1. Postek MT, Keery WJ, Larrabee RD (1988) The relationship between accelerating voltage and electron detection modes to linewidth measurement in an SEM. *Scanning* 10:10–18 .
<https://doi.org/10.1002/sca.4950100104>
2. Vladár AE, Hodoroaba V-D (2020) Chapter 2.1.1 - Characterization of nanoparticles by scanning electron microscopy. In: Hodoroaba V-D, Unger WES, Shard AG (eds) *Characterization of Nanoparticles*. Elsevier, pp 7–27