

Nouveaux travaux pratiques en nanotechnologies : étude nano-mécanique de micro/nano-objets mous/souples par AFM

R. Gautier^a, C. Petit^a, V. Bolcato^a, E. Planus^b, F. Marchi^{a,c}

^a CIME-Nanotech, Université Grenoble Alpes et G-INP, Grenoble, France

^b Institut Albert Bonniot, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

^c Institut Néel, Université Grenoble Alpes et G-INP, Grenoble, France

Contact email : florence.marchi@neel.cnrs.fr

La caractérisation des propriétés mécaniques de micro et nano-systèmes devient cruciale pour le développement des (bio)MEMS/NEMS. Comme la microscopie à force atomique (AFM) est un instrument de choix pour mesurer les propriétés morphologiques et mécaniques à l'échelle submicronique, nous avons développé un TP AFM en mode *Peak Force* sur cette thématique. Les étudiants effectueront la cartographie 4D d'un échantillon de polymères dont les propriétés mécaniques sont bien différentes. À partir de ces cartographies AFM, les étudiants estimeront les modules de Young en sélectionnant le(s) modèle(s) les plus adéquats. Le savoir-faire ainsi acquis sera ensuite appliqué lors d'un second TP à une cellule de souris fixée pour estimer ses propriétés viscoélastiques.

I. Introduction

L'étude des propriétés mécaniques des objets de taille micro et nanométrique connaît un engouement récent autant dans l'industrie de la microélectronique et des nanotechnologies que dans l'industrie de la santé. En effet dans ces deux industries, l'utilisation des systèmes électromécaniques connus sous l'acronymes (bio)MEMS¹/NEMS² (1,2) augmente régulièrement. Le principe de fonctionnement de ces (bio)MEMS/NEMS repose sur des effets mécaniques élastiques (donc réversibles) qui dépendent des propriétés physiques intrinsèques des matériaux dont le module de Young, E , est un des paramètres essentiels. De récentes études (3,4) indiquent que la valeur de E d'un matériau varie avec la taille de l'objet et son rapport surface sur volume. Comme la taille des MEMS/NEMS se réduit au fur à mesure des progrès des technologies de fabrication et d'intégration, il est donc capital de mesurer la dépendance du module de Young avec la dimension des micro/nano-éléments mécaniques au cœur des (bio)MEMS/NEMS.

D'autre part, dans le domaine de la biologie cellulaire, il a été montré quantitativement grâce à des mesures de force par AFM³, que la rigidité entre cellules saines et cancéreuses varie de manière significative reflétant ainsi leur différence d'organisation au niveau de leur cytosquelette (5). La nano-*'palpation'* se révèle ainsi être potentiellement un outil

¹ MEMS : Micro-Electro-Mechanical Systems

² NEMS : Nano-Electro-Mechanical Systems

³ AFM : Atomic Force Microscope

supplémentaire pour caractériser l'état physiologique des systèmes biologiques à l'échelle cellulaire.

Depuis le milieu des années 1990, la microscopie à force atomique (AFM) est une technique connue et bien établie pour mesurer la réponse mécanique d'un échantillon à une indentation locale grâce aux courbes de force réalisées dans le mode spectroscopie (6). Cette approche connaît un nouvel essor avec le nouveau mode de fonctionnement dit « Peak Force » (7) basé sur le mode '*pulse-force*' (8) et enrichie d'un traitement des données en temps réel qui facilite l'interprétation en ligne des données expérimentales. Ainsi, une cartographie (semi-)quantitative de la réponse mécanique d'un échantillon à l'échelle nanométrique est obtenue en quelques minutes ce qui représente un gain de temps considérable (facteur 1000) comparée au mode « Force-Volume » (FV) jusque-là employé.

Dans ce contexte technologique et scientifique, il nous apparaît important de sensibiliser les étudiants à ce nouveau mode AFM et surtout à l'interprétation des données obtenues qui reste un aspect en discussion et non stabilisé au sein de la communauté de la Micro/Nano(bio)mécanique. Nous avons donc développé un TP « AFM& Nanomécanique » en mode *Peak Force* appliqué à un échantillon de deux polymères non miscibles (des microbilles de LDPE - Low Density PolyEthylene - dispersées dans une matrice de polystyrène- PS) et dont le rapport des modules de Young est autour d'un ordre de grandeur.

Le fonctionnement de ce mode *Peak Force* à présent disponible sur la quasi-totalité des AFM commerciaux de haut niveau, est décrit dans les sections II et III. La section IV présente les deux principaux modèles mécaniques à savoir « Hertz » et « Sneddon », utilisés pour estimer le module de Young local à partir des courbes de forces expérimentales. La section V propose le déroulé du TP en trois parties sur quatre heures.

À la rentrée 2019, ce TP servira d'initiation à l'AFM pour les filières de formation où l'imagerie et la mécanique à l'échelle nanoscopique ont un fort intérêt, tels que le Master Nanosciences&Nanotechnologies⁴ de l'UGA, qui est très interdisciplinaire, ou l'École d'été ESONN⁵.

II. AFM, Courbe de force et Nano-indentation

La microscopie à force atomique est bien connue pour sa capacité à cartographier la morphologie de la surface d'un échantillon ainsi que celle de micro/nano-objets qui y sont supportés (9). Son principe (Figure 1) repose sur la détection des variations de l'interaction entre une surface et une pointe très fine, idéalement terminée par un atome (Figure 1C) qui est fixée à l'extrémité d'un micro-levier flexible simplement encastré (Figure 1A). Suivant l'intensité et la direction de l'interaction pointe-surface, le micro-levier se déforme verticalement (Figure 1E) de manière proportionnelle. En mode statique, afin de maintenir la pointe à l'équilibre, la sonde vérifie le principe fondamental de la dynamique [1] :

$$\sum \vec{F}_P = \vec{F}_{P/S} + \vec{F}_{P/L} = \vec{0} \quad [1]$$

où \vec{F}_P , $\vec{F}_{P/S}$ et $\vec{F}_{P/L}$ sont respectivement les vecteurs forces selon l'axe Z s'appliquant à la pointe, entre la pointe et la surface et entre la pointe et le levier. Comme les déformations verticales du levier sont très faibles (moins d'un micron) comparées à la longueur du micro-

⁴ Master N2 de l'UGA : <https://master-nanosciences.univ-grenoble-alpes.fr/>

⁵ ESONN : European School On Nanosciences and Nanotechnology (www.esonn.fr/)

levier (quelques centaines de microns), le micro-levier travaille dans un régime élastique, qui peut être décrit par un système masse-ressort [2] :

$$\overline{F_{P/L}} = k \cdot \overline{\delta} \quad [2]$$

avec k la raideur statique du micro-levier et $\overline{\delta}$ la déformation du levier (vers le haut ou vers le bas par rapport à sa position de repos).

Dans la majorité des instruments commerciaux, la déformation du levier est détectée via un système optique basé sur un faisceau laser focalisé à l'extrémité libre du levier (donc juste au-dessus de la pointe) puis réfléchi sur une photodiode (Figure 1E).

La sonde AFM (microlevier et pointe) est fixée à un scanner piézoélectrique qui permet de balayer la surface en trois dimensions avec une résolution sub-nanométrique (Figure 1D). Lors du balayage, la topographie de la surface est relevée (Figure 1F) soit en enregistrant la déformation $\overline{\delta}$ du levier (mode statique dit à altitude constante), soit en ajustant le scanner verticalement d'une variation de longueur ΔZ_s qui maintient la force pointe-surface $F_{P/S}$ constante (mode statique dit à force constante) grâce à un système d'asservissement de type PID (gains Proportionnel, Intégral et Dérivé).

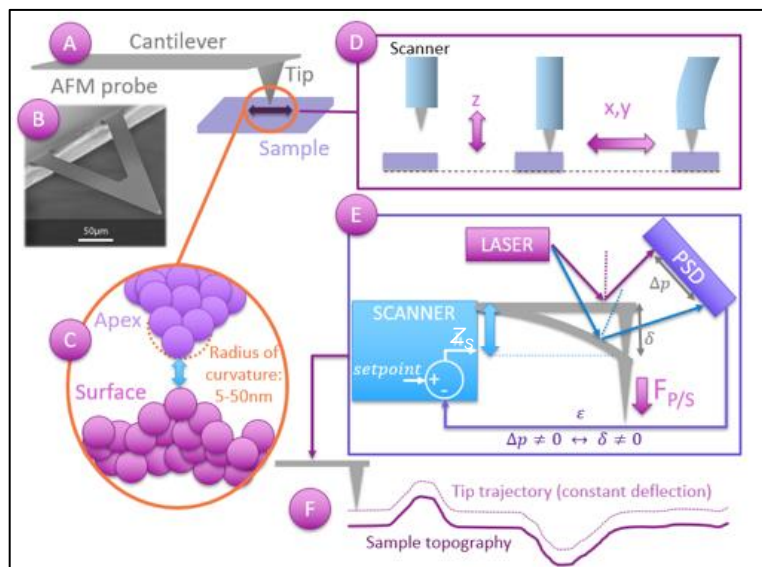


Fig.1. La sonde AFM est constituée par une pointe fine fixée à un micro-levier simplement encastré (A) et (B). L'extrémité de la pointe est modélisée comme une nano-sphère qui confère la résolution latérale à l'échelle nanométrique. Le balayage de l'échantillon est réalisé par un scanner piézoélectrique (D). Les interactions interatomiques entre l'extrémité de la pointe et la surface de l'échantillon induisent la déflexion δ du micro-levier (E). Un faisceau optique, basé sur un laser focalisé au bout du levier au-dessus de la pointe, est réfléchi vers une photodiode (PSD) où il produit un signal Δp proportionnel à δ . En mode contact, la déflexion δ (et donc $F_{P/S}$ la force entre la pointe et la surface) est maintenue constante grâce à une boucle de régulation (E) qui ajuste la position du scanner Z_s verticalement. Ainsi la position de la pointe suit la topographie de la surface ce qui révèle la morphologie de l'échantillon (F).

L'AFM est aussi une technique pour mesurer la nature (attractive ou répulsive) et l'intensité de la force d'interaction agissant entre la sonde et l'échantillon en un point (X,Y) en fonction de la distance pointe-surface (Z) : c'est le mode spectroscopie de force.

Pour accéder aux propriétés (visco)mécaniques de l'échantillon quelle que soit l'échelle d'étude, il faut déformer l'échantillon : un indenteur appuie sur l'échantillon avec une force choisie par l'expérimentateur puis un système mesure la profondeur d'indentation dans le

matériau. En AFM, ceci est réalisé en mode spectroscopie par l'enregistrement puis le traitement des courbes de forces.

Réalisation et interprétation d'une Courbe de force

Pour réaliser une nano-indentation contrôlée et mesurable par AFM, on sélectionne le mode spectroscopie de force : la pointe s'approche du matériau et l'indente jusqu'à atteindre la force d'appui seuil nommée « setpoint » F_{set} qui est fixée par l'expérimentateur, puis se rétracte jusqu'à revenir à une déformation nulle du levier (Figure 2). On obtient ainsi deux tracés, un à l'approche (Figure 2B-trait plein), l'autre au retrait (Figure 2B-trait pointillé), qui constituent une courbe de force. Lorsqu'une courbe de force est réalisée à l'air et à température ambiante, elle présente souvent des points spécifiques où l'intensité de la force varie très rapidement, ainsi qu'un phénomène d'hystérésis. Cette hystérésis est liée à l'utilisation d'un capteur linéaire -le levier- pour sonder un phénomène hautement non linéaire-la force entre la pointe et l'échantillon (10).

Lors de l'approche, la déformation du micro-levier $\bar{\delta}$ est quasi-nulle tant que les forces d'interaction pointe-surface $F_{P/S}$ ne sont pas assez intenses par rapport à la force thermique (entre les points 1 à 2a figure 2B). Lorsque l'intensité de $F_{P/S}$, le plus souvent attractive, dépasse l'agitation thermique, le levier se défléchit légèrement puis la pointe se retrouve au contact avec la surface quand la raideur du levier k est inférieure à la raideur de l'interaction pointe surface ($k < (dF_{P/S}/dZ)$), on appelle ce point le 'saut au contact' (point 2b) où $\bar{\delta} = \bar{\delta}_C$. Le scanner continue sa descente, l'intensité de la force $F_{P/S}$ diminue car l'intensité des forces attractives et répulsives entre la pointe et la surface tendent à s'équilibrer jusqu'à atteindre le point 2c où elles s'égalisent, le levier n'est alors plus déformé. Au-delà du point 2c, $F_{P/S}$ devient répulsive car la pointe commence à indenter l'échantillon, le levier se déforme vers le haut de manière linéaire jusqu'à atteindre la force d'appui F_{set} ($\bar{\delta} = \bar{\delta}_{set}$) fixée par l'expérimentateur (point 3), c'est la phase d'indentation dénommé en mécanique des matériaux la courbe de charge.

Le retrait débute au point 3b, le scanner se contracte afin d'éloigner la sonde de l'échantillon, $F_{P/S}$ perd en intensité donc la déformation du levier diminue et devient nulle (point 3b). Entre les points 3b et 4, l'interaction pointe-surface devient attractive, le levier se déforme à nouveau mais vers le bas, la pointe colle la surface jusqu'à ce que $F_{P/S}$ atteigne son intensité maximale dénommée force adhésive (point 4) où la déformation du levier est alors maximale ($\bar{\delta} = \bar{\delta}_{adh}$). Passé ce point 4, la pointe se décroche subitement de l'échantillon (car $k > (dF_{P/S}/dZ)$), c'est le « saut au décrochage », le levier s'amortit alors rapidement (point 5) pour se stabiliser dans sa position au repos (point 1).

En pratique, la déformation du micro-levier $\bar{\delta}$ est suivie sur la photodiode dont le signal Δp (en volts) traduit le changement de chemin optique du faisceau laser sous l'action de la force s'appliquant au levier (et donc égale à $\overrightarrow{F_{P/S}}$). Les données expérimentales enregistrées lors d'une courbe de force sont donc la déformation du levier $\bar{\delta}$ (en Volt) en fonction mouvement vertical relatif du scanner Z_S (figure 1E).

Pour obtenir la courbe *quantitative* de la force en fonction de la séparation pointe-surface s , il faut suivre une procédure comportant trois étapes.

- Calibration de la photodiode, Γ

Tout d'abord, la photodiode doit être calibrée afin de convertir son signal de sortie Δp (en Volts) qui est linéaire avec la déformation du micro-levier $\bar{\delta}$ en distance (en nanomètre) et ainsi obtenir le facteur de conversion Γ en nm/V. La procédure de calibration repose sur la réalisation d'une courbe de force sur un matériau considéré comme infiniment

rigide, par exemple une surface de saphir (6) ; elle doit être faite à chaque changement de sonde ou de positionnement du faisceau laser à l'extrémité du levier. En effet comme sous l'action d'une force, la déformation du levier augmente le long du micro-levier de la partie encastrée à la partie libre, la position du laser influe sur la valeur de la déformation détectée sur la photodiode. Une fois le facteur Γ déterminé, on obtient des courbes de déformation du micro-levier ($\Gamma \cdot \bar{\delta}$) en fonction de l'extension du scanner Z_S sur l'échantillon à étudier.

- Mesure de la raideur du levier k

Comme la force est reliée à la déformation du levier par sa raideur k , il faut la déterminer. La raideur statique k du levier est calculée la plupart du temps par la méthode du bruit thermique (11) qui est à présent implémentée sur tous les AFM commerciaux de haut niveau. À partir de l'enregistrement de la densité spectrale de puissance du levier induite par l'impact des molécules de l'air (bruit thermique), la raideur k_0 du mode fondamental de vibration du micro-levier (f_0 sa fréquence propre) est calculée.

Comme sa valeur est quasiment identique à k statique (11), on peut alors exprimer la valeur algébrique de $F_{P/S}$ en à toute altitude i avec la relation [3] :

$$\overline{F_{P/S}}(i) = k \cdot \Gamma \cdot \bar{\delta}(i) \quad [3]$$

et ainsi tracer la valeur algébrique de $F_{P/S}$ en fonction de $Z_S(i)$ (figure 2B).

- Définition de la séparation pointe-surface, s

Lors de l'approche et du retrait, le levier se déforme ce qui signifie que la pointe n'est pas toujours à la même altitude que la partie encastrée du levier qui suit la position du scanner Z_S . La distance s séparant l'extrémité de la pointe de la surface au point i dépend de la déformation du levier $\bar{\delta}$ et de la position du scanner Z_S par la relation [4] :

$$s(i) = Z_{Smax} - (\Gamma \cdot \delta_{Set}) - |Z_S(i)| + (\Gamma \cdot \bar{\delta}(i)) \quad [4]$$

où Z_{Smax} et δ_{Set} sont la position haute du scanner au-dessus de la surface (point de départ de la courbe) et la déflexion du levier à la force d'appui maximale F_{Set} tandis que $Z_S(i)$ et $\bar{\delta}(i)$ sont respectivement la position du scanner et la déflexion du levier (valeur algébrique) au point i considéré.

Par convention la séparation pointe-surface égale zéro lorsque la force d'appui pointe-surface atteint F_{Set} , donc $s(F_{Set})$ est nulle.

Une fois effectuées ces trois étapes, on obtient alors la courbe de force dite courbe d'indentation, à savoir la variation expérimentale de la force d'indentation F en fonction de la séparation pointe-surface s (figure 2B) ; Les propriétés mécaniques seront estimées à partir de ce type de courbes d'indentation.

Nanoindentation : définition et identification des paramètres clés

Sur une courbe de force en fonction de la distance pointe-surface (figure 2B), la phase de « charge » où la pointe appuie de plus en plus sur l'échantillon, se situe entre les points 3a et 3b lors de l'approche tandis que la « décharge » est comprise et 3b et 4 lors du retrait.

Durant la compression locale de l'échantillon sous l'effet de la force d'appui, on considère que la pointe et son extrémité gardent leur intégrité (forme et dimension).

L'indentation maximale h_{max} se définit sur l'axe s de la courbe d'approche (figure 2B) et s'exprime par les relations [5a] ou [5b]:

$$h_{max} = s(0) - s(F_{Set}) \quad [5a]$$

$$h_{max} = s(F_{min}) - s(F_{Set}) \quad [5b]$$

où $s(F_{Set})$, $s(0)$ et $s(F_{min})$ sont les positions respectives de la pointe lors que la force est égale à la force d'appui maximale (point 3b figure 2), lorsque la force pointe-surface est nulle (point 3a - figure 2B) et lorsque la force est minimale. La différence entre les équations [5a] et [5b] repose sur la prise en compte de la partie adhésive de la force (12).

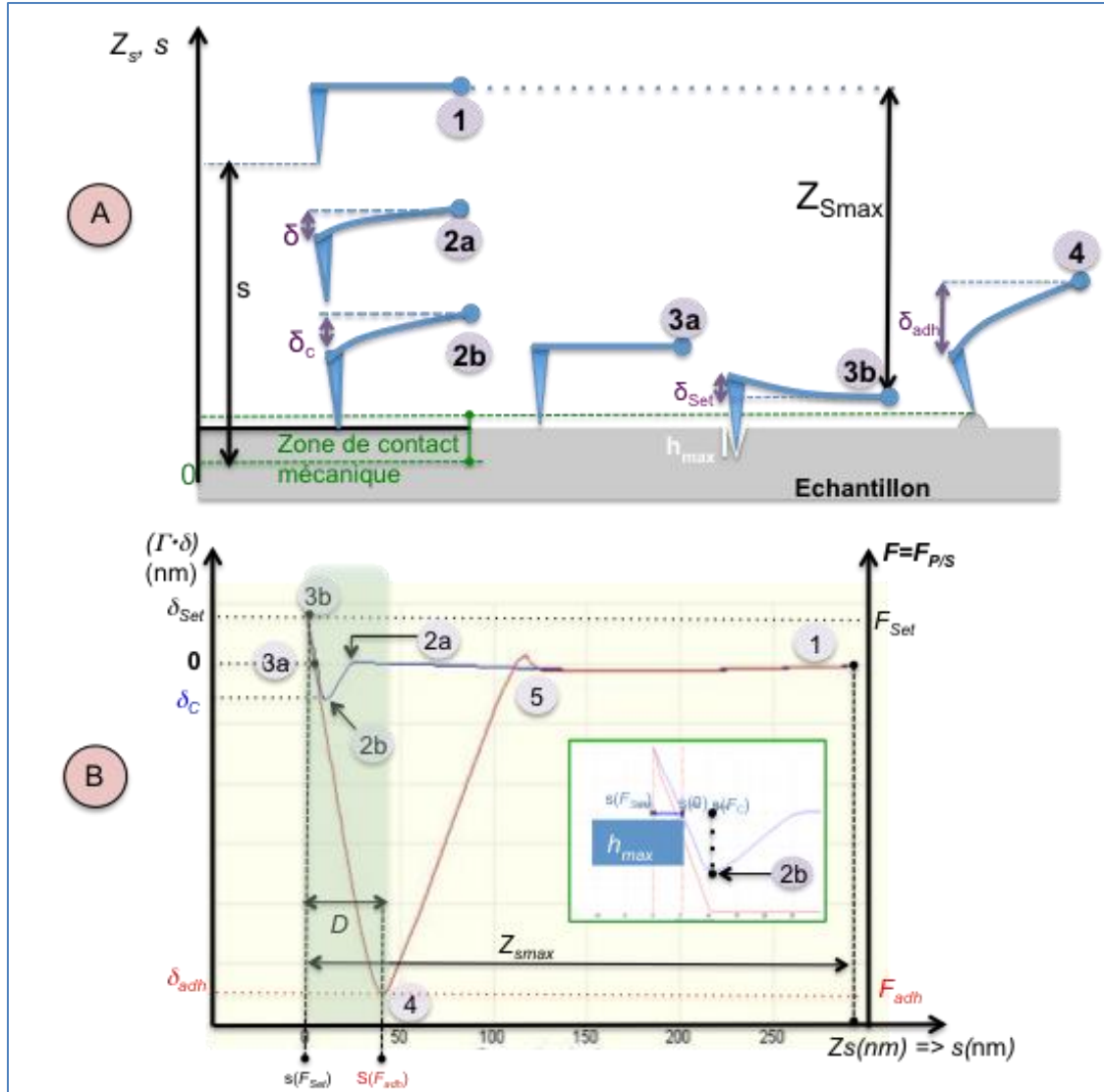


Fig.2. (A) Schéma de la sonde AFM lors des phases clés de la courbe de force réalisée à l'air à température ambiante. (B) Courbe de force : Lors du départ de l'approche le levier est dans son état de repos (point 1) puis quand la force pointe-échantillon dépasse la force thermique (point 2a) et elle attire la pointe vers la surface (point 2a), le levier se défléchit vers le bas (déflexion δ négative), puis la pointe saute au contact (point 2b) où $\delta = \delta_c$; la partie encastée (Z_s) du levier continue de descendre, la force $F_{P/S}$ diminue, passe par zéro (point 3a) puis devient répulsive jusqu'à atteindre la force d'appui maximale F_{set} où la pointe indente le matériaux jusqu'à une profondeur h_{max} (point 3b). Le retrait débute au point 3b, la partie encastée du levier remonte, la force $F_{P/S}$ diminue, s'annule puis devient négative jusqu'à atteindre le point 4 où la surface de l'échantillon peut se déformer et où la force adhésive atteint sa valeur maximale F_{adh} juste avant le saut au décrochage (point 5) où le levier s'amortit rapidement avant de se stabiliser dans son état de repos (point 1). Z_{Smax} est le débattement vertical maximal du scanner (donc de la partie encastée du levier), s est la séparation pointe-surface tandis que $s(0)$, $s(F_c)$, $s(F_{adh})$ et $s(F_{set})$ sont respectivement les séparations pointe-surface lorsque la F est nulle, $F = F_c$, $F = F_{adh}$ et $F = F_{set}$.

Dans la courbe de retrait, la phase d'indentation est suivie d'une phase d'adhésion (entre les points 3b et 4, figure 2) où la pointe et la surface de l'échantillon restent en contact jusqu'à la rupture brutale (point 4), on peut alors mesurer la force d'adhésion F_{adh} associée à ce « saut au décrochage » (Figure 2B).

Lors de l'adhésion, la surface peut suivre la pointe et donc s'étirer (point 4 figure 2A) ; la déformation maximale, D se détermine sur la courbe de retrait selon la relation [6] :

$$D = s(F_{adh}) - s(F_{Set}) \quad [6]$$

où $s(F_{adh})$ est la séparation pointe-surface juste avant le saut au décrochage.

À partir des courbes de nano-indentation, l'élasticité locale de l'échantillon k_{ech} (N/m) se calcule dans la zone de contact selon les méthodes proposées dans la littérature, soit sur la courbe d'approche située entre les points 3a et 3b, soit sur la courbe de retrait entre les points 3b et 4. En ajustant par une droite les valeurs expérimentales obtenues dans la zone de contact, on en déduit l'élasticité k_{ech} selon l'équation [7] :

$$F = k \cdot \Gamma \cdot \delta = k_{ech} \cdot h \quad [7]$$

où h est la séparation pointe-surface dans la zone de contact (rectangle vert, figure 2B) comprise entre zéro et h_{max} sur la courbe d'approche ou entre zéro et D sur la courbe de retrait.

L'exploitation des courbes de force permet donc de caractériser diverses propriétés telles que l'élasticité ou l'adhésion à la surface de l'échantillon. En combinant les modes imagerie et spectroscopie, on peut ainsi obtenir une cartographie multiple associant entre autres, la morphologie aux propriétés rhéologiques, mécaniques de l'échantillon à l'échelle nanoscopique. Les premières cartographies combinées ont été accessibles dans le mode « Force-Volume » et le sont à présent de manière très rapide en mode « Peak Force » (13). Une étude détaillée (14) compare les modes spectroscopie, FV et PF et souligne leur intérêt pour les mesures de nano-rhéologie.

III. Mode *Peak Force* : cartographies combinées rapides

Pour obtenir une cartographie 4D ($X, Y, Z, F(Z)$) combinant morphologie et propriétés (visco)mécaniques, une courbe de force est enregistrée en chaque pixel de l'image une fois la régulation en Z nécessaire pour maintenir l'interaction pointe surface constante effectuée (Figure 3).

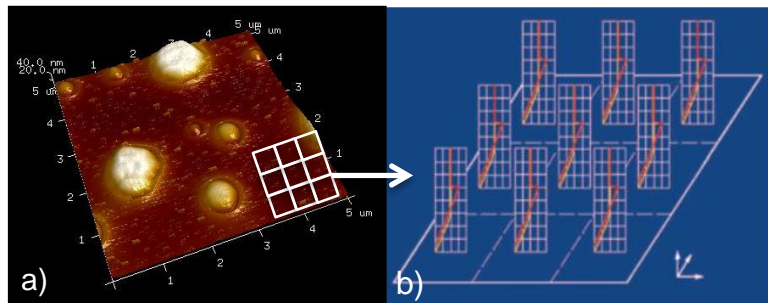
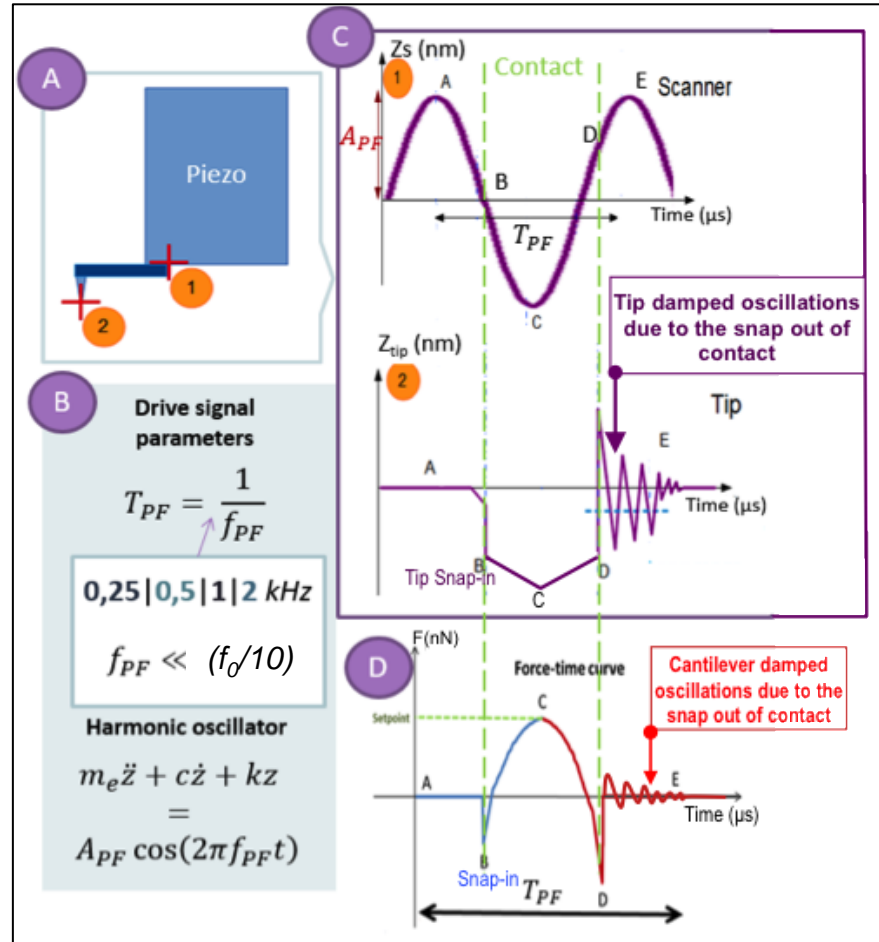


Fig.3. Cartographie AFM de la morphologie d'un échantillon de PS/LDPE (a) où est réalisée une courbe de force en chaque pixel (b) en vue d'obtenir une cartographie 4D de type « Force-Volume ».

Dans le mode « Force-Volume », les courbes de forces sont obtenues en appliquant une descente et remontée linéaires à la sonde, à des fréquences d'environ 1Hz nécessitant donc plusieurs heures (18h environ) pour enregistrer une cartographie 4D pour une matrice de (256*256) pixels (résolution standard pour une image AFM). Cette lenteur limite son utilisation en recherche et le bannit pour un TP où le temps dédié à la caractérisation est contraint par les horaires de la séance. C'est pour remédier à cette lenteur, que le mode « Peak Force » a été développé au début des années 2010 par la société Bruker.

Le mode Peak Force dérive du mode « Force-Volume », sa principale différence repose sur l'application d'un signal sinusoïdal rapide sur le scanner pour approcher et rétracter la sonde AFM vers l'échantillon (Figure 4) tout en révélant la morphologie de la surface de



l'échantillon.

Fig.4. (A) Le scanner piézoélectrique pilote la partie encadrée du micro-levier (point 1) pendant que le système de détection enregistre la déformation de la partie libre du micro-levier au-dessus de la pointe (point 2). (B) La fréquence du signal de pilotage f_{PF} est choisie parmi 4 valeurs (B) afin qu'elle soit bien inférieure à la fréquence propre du levier f_0 ; m_e , c , k et z sont respectivement la masse effective de la sonde, le coefficient d'amortissement du fluide de travail (dans notre cas l'air), la raideur du levier et la position de la sonde. Le signal d'amplitude A_{PF} est appliquée au scanner (C1) afin d'approcher la pointe Z_{tip} vers la surface puis de l'éloigner (C2) pendant que la déformation du levier est enregistrée (D) au cours du temps. Sur la courbe de force temporelle (D), plusieurs phases se succèdent : le saut au contact (point B), l'indentation (points BC) jusqu'à la force setpoint, la décharge (points CD) puis le saut au décrochage (point D) où le micro-levier s'amortit afin de se stabiliser (points DE).

L'amplitude A_{PF} et la fréquence f_{PF} de ce signal sinusoïdal est choisie par l'utilisateur dans les gammes proposées par l'instrument pour travailler « hors résonance » du micro-levier (Figure 4B). En effet f_{PF} doit être bien inférieure (un facteur 10 minimum) à la

fréquence de résonance propre du levier f_0 afin qu'il reste pseudo-statique. Ainsi, une matrice de (256*256) courbes de force est acquise en quelques minutes tout en confinant les phénomènes de résonance du micro-levier lors du saut au décrochage où le levier s'amortit rapidement pour retrouver sa position de repos (Figure 4D). La valeur de A_{PF} souvent inférieure au micron, doit être sélectionnée de manière à ce que la vitesse moyenne du levier reste bien inférieure au temps d'échantillonnage afin d'obtenir un nombre de points significatifs pour reconstruire la courbe de force.

Les informations de morphologie sont obtenues en enregistrant la variation en position verticale du scanner nécessaire pour atteindre F_{set} à mi-parcours du signal sinusoïdal (Figure 4C).

Ainsi ce mode combine les avantages des modes statique et dynamique à savoir la mesure directe de la force en fonction de la distance pointe-surface et de la morphologie tout en évitant les forces de friction qui altèrent souvent des échantillons fragiles.

La spécificité du mode « Peak Force » développé par Bruker, est de proposer l'affichage en temps réel (durant le balayage) de différentes grandeurs mesurables sur les courbes de forces réalisées sur chaque pixel telles que l'adhésion F_{adh} , l'indentation maximale h_{max} ou encore l'élasticité locale de l'échantillon K_{ech} . La figure 5 illustre ces cartographies combinées obtenues à l'air sur l'échantillon de PS/LDPE et accessibles en temps réel.

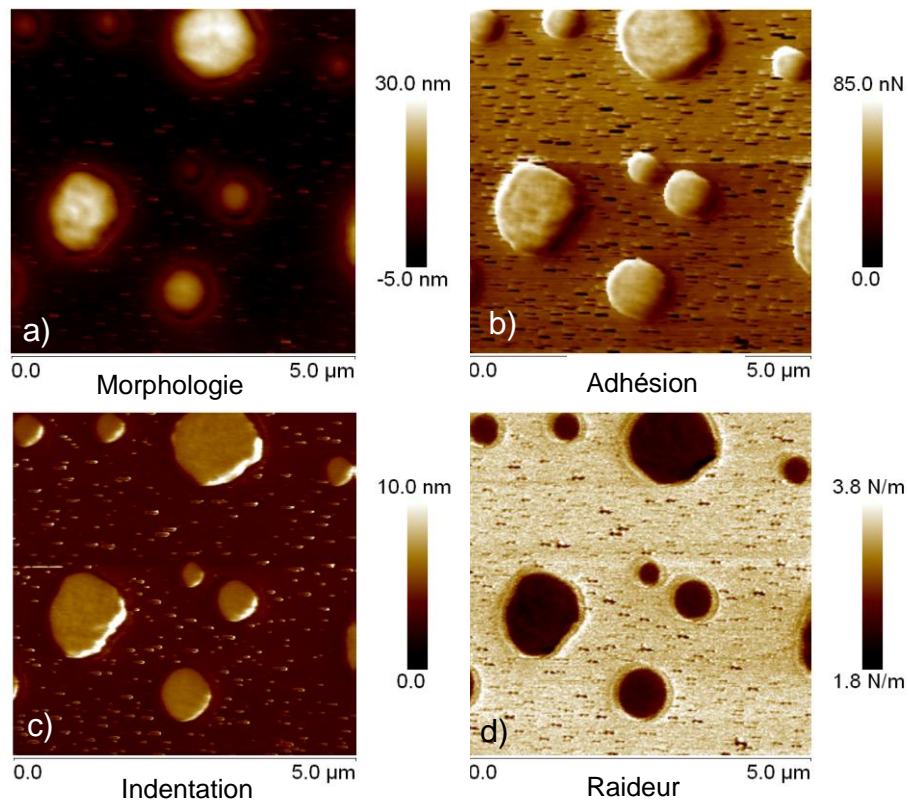


Fig.5. Cartographies combinées affichées en temps réel en mode Peak Force avec un setpoint F_{set} de 10nN et une pointe Scanasyst de raideur calculée k de 1,2N/m, $f_{PF} = 1$ kHz, fréquence de balayage de 0,5Hz : (a) Morphologie de l'échantillon de PS/LDPE ; (b) Cartographie de la Force d'adhésion F_{adh} ; (c) Cartographie de l'indentation maximale h_{max} et (d) Cartographie de la raideur de l'échantillon au contact, k_{ech} .

À partir de ces cartographies combinées il est possible d'estimer le module de Young local à la surface de l'échantillon en chaque pixel (donc point de mesure) grâce au traitement des données issues de chacune des courbes de force correspondantes.

IV. Estimation du module de Young grâce aux modèles de contact

Plusieurs modèles dédiés ou adaptés sont proposés dans la littérature pour estimer le module de Young à partir des courbes de charge et/ou de décharge à l'échelle micro et nanoscopique sur des polymères (15). Les deux modèles disponibles dans notre version du logiciel Brucker sont les modèles basiques de Hertz et de Sneddon. Ces deux modèles sont applicables lorsque l'échantillon reste dans le régime élastique à savoir que la profondeur d'indentation et/ou de déformation maximales sont bien inférieures à son épaisseur.

Modèle de Hertz

Ce modèle (figure 6a) décrit l'indentation h d'un échantillon de module de Young réduit E_r , sous l'effet d'une force F produite par une sphère de rayon R selon l'équation [8] :

$$F = \frac{4E_r\sqrt{R}}{3(1-\nu^2)} h^{3/2} \quad [8]$$

avec $\frac{1}{E_r} = \frac{(1-\nu_p^2)}{E_p} + \frac{(1-\nu^2)}{E_{ech}}$ où E_p et ν_p sont respectivement le module de Young et de Poisson de la pointe (souvent en Silicium) et E_{ech} et ν ceux de l'échantillon.

Ce modèle est bien adapté lorsque la pointe indente peu la surface (h_{max} de l'ordre du nanomètre) par rapport au rayon de l'extrémité de la pointe AFM.

Modèle de Sneddon

Ce modèle (figure 6b) décrit l'indentation h d'un échantillon de module de Young réduit E_r sous l'effet d'une force F par un cône d'angle α selon l'équation [9] :

$$F = \frac{2E_r \tan \alpha}{\pi(1-\nu^2)} h^2 \quad [9]$$

où ν est le module de Poisson de l'échantillon.

Ce modèle est bien adapté lorsque l'extrémité de la pointe ainsi qu'une partie du cône pénètre dans l'échantillon de plusieurs nanomètres, ce qui est le cas lorsque des courbes de forces sont réalisées sur des matériaux dit « mous ».

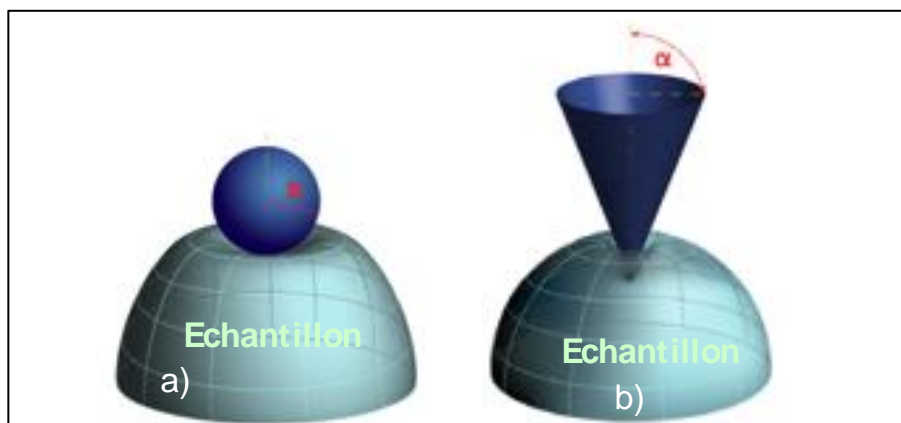


Fig.6. Schéma des deux principaux modèles d'indentation : (a) Hertz où seule l'extrémité de la pointe modélisée comme une sphère de rayon R pénètre dans le matériau ; (b) Sneddon où l'extrémité de la pointe et une partie de son cône d'angle α pénètre l'échantillon.

En pratique, c'est à partir de l'indentation maximale h_{max} déterminée sur chacune des courbes de forces et affichée dans la cartographie de l'indentation (figure 5c), que l'on sélectionnera un des deux modèles afin d'ajuster les courbes de forces expérimentales. Si

la cartographie d'indentation présente de fortes variations, il faudra alors combiner les deux modèles et choisir selon la valeur locale de h_{max} l'un ou l'autre.

V. Déroulement de la séance de TP et traitement des données associées

La séance de TP durera 4h comportera trois parties distinctes à mener si possible dans l'ordre.

Matériel et méthodes :

L'échantillon de PS/LDPE est un échantillon commercial (fourni par Bruker) qui présente des micro-billes de LDPE dans une matrice de PS. L'épaisseur de la couche de polymère déposée sur un substrat de silicium est de quelques microns. Lors de cette séance, les étudiants l'imageront avec un AFM modèle ICON à l'air et à température ambiante avec une sonde AFM de type ScanAsyst air ou liquide ($0.2\text{N/m} < k < 1\text{N/m}$).

À la fin de la séance, les étudiants sauvegarderont les données acquises sur leurs clés USB ainsi qu'une version du logiciel permettant d'ouvrir et de traiter les images obtenues en mode Peak Force. Ils pourront ainsi analyser les images et données chez eux afin de les inclure dans leur compte-rendu (un CR par binôme) qu'ils auront à remettre une semaine plus tard.

Pour s'initier aux courbes de forces, une station de nano-manipulation à retour de force est disponible (16) dans la même salle que le microscope AFM ICON.

Partie 1 : Etude des courbes de force (1h)

À l'aide du nano-manipulateur à retour de force (16), les étudiants étudieront l'impact de la raideur de la sonde AFM sur l'allure des courbes de forces en fonction de l'élasticité de l'échantillon. Ils pourront ainsi comprendre comment choisir la constante de raideur de la sonde AFM en fonction des propriétés mécaniques de l'échantillon pour obtenir des courbes de forces exploitables sans détériorer la surface de l'échantillon (une déformation du levier significative pour une force d'appui raisonnable).

Partie 2 : Calibration de l'AFM et mesure de constante de raideur de la sonde (45mins)

Les étudiants monteront avec l'aide de l'encadrant la sonde et l'échantillon sur le microscope puis calibreront la photodiode sur un substrat de silicium pour déterminer le facteur de conversion, Γ . Un substrat de Si est préféré au saphir pour des raisons de facilité de mise en œuvre et pour minimiser les risques de contamination de la surface de saphir lors des manipulations de montage/démontage.

Ils enregistreront la réponse fréquentielle du levier soumis à l'agitation thermique (Figure 7), sélectionneront le pic à ajuster afin de calculer sa raideur statique k afin de retrouver la valeur donnée par le logiciel de l'AFM. Ils compareront cette valeur expérimentale de k à la gamme fournie sur la fiche technique de la sonde.

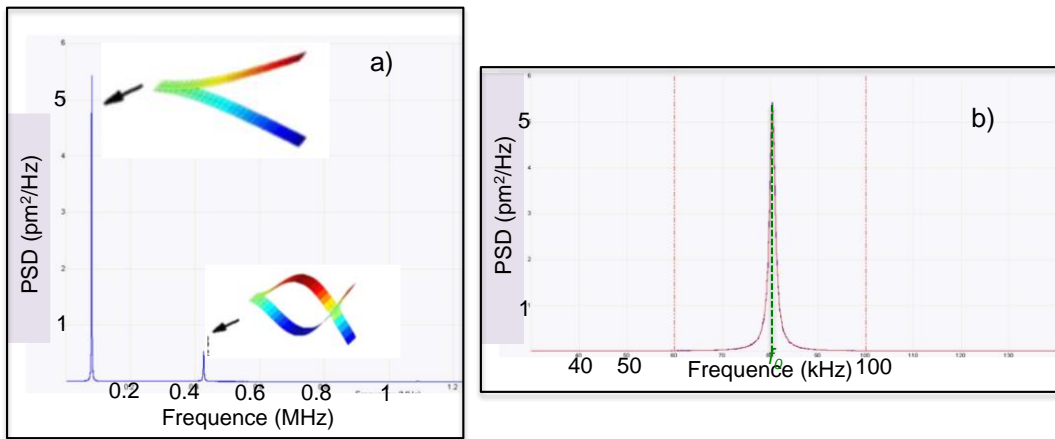


Fig.7. (a) Spectre expérimental de la densité spectrale de puissance du micro-levier induite par le bruit thermique en fonction de la fréquence ; (b) Ajustement (en rouge) de la courbe du pic à la fréquence fondamentale du levier afin de déterminer les valeurs de f_0 puis de k . Données enregistrées lors d'un TP sur l'AFM ICON avec une sonde AFM ScanAsyst.

Partie 3 : Imagerie en mode Peak-force (45mins)

Une fois la pointe engagée sur la surface, les étudiants régleront les principaux paramètres du mode Peak Force pour obtenir une image stable et reproductible de la topographie de l'échantillon de PS/LDPE : f_{PF} , A_{PK} , la synchronisation des courbes approche-retrait et la fréquence de balayage.

Ils discuteront plus particulièrement sur comment choisir la valeur du « setpoint » (F_{set}) qui déterminera par la suite la force d'appui pour les courbes de forces, desquelles seront cartographiées les propriétés mécaniques du mélange de polymères PS/LDPE.

Une fois les paramètres d'imagerie optimisés, ils enregistreront une image multiple comprenant la topographie (Figure 5a), l'indentation (Figure 5c) et le signal d'erreur ; le temps d'acquisition de l'image est estimé à quelques minutes.

Partie 4 : Cartographies combinées en mode PF et traitement associé (1h30)

Pour enregistrer une image 4D, les étudiants activeront le mode PF complet où au moins une courbe de force est enregistrée par pixel et dont le temps d'acquisition total est estimé à une dizaine de minutes.

Sur les images 4D enregistrées, les étudiants s'initieront avec l'aide de l'encadrant au logiciel de traitement d'image notamment pour réaliser des cartographies de modules de Young (Figure 8).

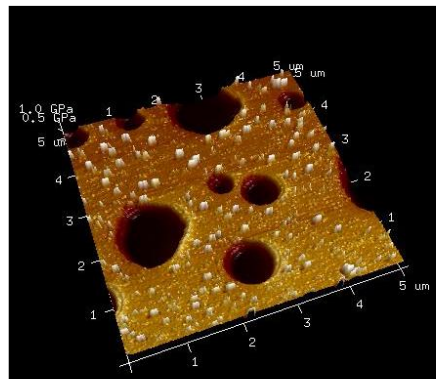


Fig.8. Exemple de Cartographie 3D du module de Young de l'échantillon LDPE/PS obtenue avec le modèle de Sneddon avec adhésion.

Les étudiants listeront les valeurs des modules de Young E obtenues sur le PS puis le LDPE avec chacun des deux modèles en intégrant ou pas la phase d'adhésion (tableau I). Ils compareront leurs résultats à la valeur macroscopique de E de chacun des deux polymères ($2 \text{ GPa} < E_{PS} < 3,5 \text{ GPa}$; $0.1 \text{ GPa} < E_{LDPE} < 0.4 \text{ GPa}$). A la lumière de ces résultats, ils discuteront sur la pertinence de chacun des deux modèles pour déterminer les modules de Young selon les propriétés des deux polymères formant l'échantillon.

TABLEAU I. Évaluation des modules de Young : comparaison des modèles et conditions associées

Matériaux	Inclusion de la partie adhésive de la force	Modèle de Hertz E_{ech} (Pa)	Modèle de Sneddon E_{ech} (Pa)
Matrice de PS	OUI		
Matrice de PS	NON		
Microbille de LDPE	OUI		
Microbille de LDPE	NON		

VI. Conclusion et perspectives

À travers ce TP « AFM et Nanomécanique », nous espérons que les étudiants pourront s'approprier le potentiel d'imagerie et de cartographies combinées offert par ce mode Peak Force qui est récent en AFM et dont l'utilisation croît très rapidement dans la communauté du champ proche et plus particulièrement auprès des microbiologistes. C'est d'ailleurs dans l'optique d'appliquer une démarche similaire sur des cellules de fibroblastes de souris afin d'initier les étudiants à la biomécanique à l'échelle cellulaire que ce TP est proposé. Lors du traitement des données et de leurs interprétations à l'aide de modèles mécaniques, les étudiants pourront exercer leur esprit scientifique en discutant entre autre de la validité des modèles proposés selon leurs conditions d'application et ainsi découvrir un domaine de connaissance, la nano-mécanique, non encore pleinement stabilisé.

Remerciements

La proposition de ce nouveau TP s'appuie sur les travaux de stage de C. Petit (2017) et R. Gautier (2018) financés conjointement par le CIME-Nanotech et l'Institut pour l'Avancée des Biosciences. L'achat de l'AFM ICON a été possible grâce à un co-financement entre le CIME-Nanotech et le GIP-CNFM.

Références

1. M. Alvarez and L. M. Lechuga, *Analyst*, **135**, 827–83 (2010).
2. AC Fischer *et al.*, *Microsystems & Nanoengineering*, **1**, 15005 (2015).
3. S.D. Patil, P.B. Shinde, M.V. Takale, *International Journal of Chemical and Physical Sciences*. **3** 2319-6602, Special Issue – NCRTSM (2014).
4. D.Guo *et al.*, *Langmuir*, **24** 7206-12 (2014).
5. M. Lekka, *BioNanoScience*, **6** (1), pp. 65-80 (2016).
6. H.J. Butt *et al.*, *Surface Science Reports*, **59**, pp. 1-152 (2005).
7. B. Pittenger, N. Erina, and C. Su, *Bruker Application Note #128* (2011).

-
8. H.U Krotil, *Surf. Interface Anal.* **27** pp. 336-340 (1999).
 9. N. Jalili, K. Laxminarayana, *Mechatronics*, **14** pp. 907–945 (2004).
 10. Y. Seo and W. Jhe, *Rep. Prog. Phys.* **71** 016101 (2008).
 11. R. Levy and M. Maaloum, *Nanotechnology* **13**, pp. 33-37 (2002).
 12. L. Sirghi and F. Rossi, *Nanotechnology*, **20** 365702 (2009).
 13. B. Pittenger *et al.*, « Mechanical Property Mapping at the Nanoscale Using PeakForce QNM Scanning Probe Technique », in *Nanomechanical Analysis of High Performance Materials*, A. Tiwari, Éd. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 31- 51 (2014).
 14. B. Pittenger* and A. Slade, www.microscopy-today.com, November (doi:10.1017/S1551929513001077) (2013).
 15. M.R. VanLandingham *et al.*, *Macromol. Symp*, **167**, pp. 15-43 (2001).
 16. F. Marchi *et al.*, *Revue électronique J3eA*, **9** (2010).