Société Française des Microscopies

X^{ème} Colloque



Organisé en collaboration avec le GN-MEBA et le Cercle Français de Pathologie Ultrastructurale







Société Française des Microscopies

X^{ème} Colloque – Grenoble – 5-8 juin 2007

Organisé en collaboration avec le GN-MEBA et le Cercle Français de Pathologie Ultrastructurale

Table des matières

Préface	3
Organisation	5
Remerciements	6
Programme du colloque	7
Exposition scientifique	23
Recueil des résumés	37
_iste des participants	29

Préface

Chères et chers collègues,

C'est avec un grand plaisir que nous vous accueillons à Grenoble pour ce X^{ème} colloque de la Société Française des Microscopies auquel se sont associés le Cercle de Pathologie Ultrastructurale et le GN-MEBA. Il sera placé sous le signe de l'ouverture et de l'innovation à de multiples niveaux.

Manifestation généraliste quoique toujours centrée sur le thème particulier de la microscopie, mais désormais dans son acception la plus large. Nous l'espérons donc premier pas vers un espace de rencontre où les multiples composantes, sociétés et groupes de recherche qui



constituent aujourd'hui la microscopie en France s'associeront régulièrement pour un échange entre spécialités connexes. Elle sera la réponse à la plus grande spécialisation de la recherche, à la gestion "efficiente" des projets et à leur internationalisation, à l'offre de techniques de plus en plus large, autant de raisons qui ont conduit à une multiplication des sociétés, groupes de travail, groupes de recherche et d'intérêt aux objectifs très spécifiques. Elle complète en ce sens les réunions de la Fédération Réaumur des Sciences du Vivant (Grenoble, octobre 2007) et de la Fédération Française des Matériaux (Dijon novembre 2006) qui couvrent les domaines de la biologie et des matériaux en général.

Innovation : d'abord un triplet de conférences plénières dévolues à l'état de l'art de trois microscopies complémentaires : optique, électronique et rayons X. Puis l'animation des pauses café par les présentations des constructeurs, l'intégration de la cérémonie du Prix Favard dans l'inauguration de l'exposition qui visent à une meilleure intégration de l'information technique et un renforcement de notre dialogue avec les exposants. Enfin le choix de thèmes de symposiums focalisé sur les domaines les plus actifs ou récents. D'aucuns pourront regretter l'absence de sujets plus classiques et néanmoins toujours riches. Certes, mais l'objectif était de limiter le programme à trois sessions parallèles, une seule par grande spécialité, de vous encourager ainsi à franchir les limites de vos spécialités respectives et à élargir votre horizon.

Le choix de Grenoble s'est rapidement imposé. Il y a longtemps que la SFµ ne s'était pas déplacée dans cette région. Mais surtout le dynamisme de la ville est aussi celui d'un pôle important de la microscopie en France tant en matériaux qu'en biologie. Université, Institut polytechnique, CNRS, CEA, ESRF...: autant d'institutions où de nombreux groupes pratiquent les microscopies électronique, photonique et RX, de l'inerte au vivant, et auxquels s'ajoute l'intérêt de nombreuses industries régionales pour ces techniques. Hier, les efforts d'Alain Bourret faisaient progresser l'imagerie de la matière à l'échelle atomique et dotaient la France du premier microscope HRTEM moderne. Aujourd'hui la plateforme de caractérisation de MINATEC s'équipe du premier microscope Titan 300 keV avec correcteur d'aberration de sphéricité HRSTEM en France.

Cette somme de compétence constituait le germe critique propice à la réunion de l'ensemble de la communauté des microscopistes, où chacun retrouvera l'expert comme l'ami. Une équipe pluridisciplinaire s'est dévouée depuis plusieurs mois pour en faire une réunion parfaitement organisée offrant des ateliers et un programme attractif. Nos partenaires industriels ont accepté de rejoindre l'exposition de matériel et d'apporter leur support financier. Les pouvoirs publics et sponsors ont contribué par leurs subventions à réduire les frais d'inscription. Nos remerciements les plus vifs vont à chacun, ainsi qu'à vous tous aujourd'hui présents à Grenoble et grâce à qui le succès de cette réunion est d'ores et déjà assuré.

Bon travail,

Philippe-André Buffat *Président de la SFµ* Marie-Claude Cheynet Coordonnatrice du colloque

Organisation

Comité local d'organisation

Maria Bacia - Laboratoire de Cristallographie, CNRS/UJF Pascale Bayle-Guillemaud - DRFMC, CEA Grenoble Marie Cheynet - LTPCM, CNRS/INP-Grenoble (Coordinatrice) Patricia Donnadieu - LTPCM, CNRS/INP-Grenoble Danielle Dupeyre - CERMAV, CNRS/UJF Eric Gautier - SPINTEC, CEA/CNRS/UJF Thierry Gautier - Institut Albert Bonniot, CNRS/UJF Laure Guétaz - LITEN, CEA Grenoble Irina Gutsche - IVMS, CNRS/UJF Pierre-Henri Jouneau - DRFMC, CEA Grenoble Holger Klein - Laboratoire de Cristallographie, CNRS/UJF Sergio Marco - Institut Curie, Paris Emmanuelle Neumann - Institut de biologie structurale, CEA/CNRS/UJF Isabelle Paintrand - CERMAV, CNRS/UJF Florence Robaut - CMTC, INP-Grenoble Catherine Souchier - Institut Albert Bonniot, CNRS/UJF

Secrétariat : Sylvia Vénuat (SFµ), Patricia Vives (SFµ), Jessica Fernandes (SIMAP)

Comités scientifiques

Physique / Matériaux	Biologie / Matière molle
Cyril Cayron - LITEN, CEA Grenoble	Jean-Luc Putaux - CERMAV, Grenoble
Patricia Donnadieu - LTPCM, Grenoble	Marek Haftek - Université de Lyon
Francois Grillon - ENSMP, Paris	Danièle Hernandez - IJM, Paris
Holger Klein - Labo. de Cristallographie, Grenoble	Amélie Leforestier - LPS, Orsay
Jean-Paul Morniroli - LMPGM, Lille	Jorge Navaza - IBS, Grenoble
Roland Pantel - STMicroelectronics, Crolles	Dominique Ploton - Université de Reims
Christian Ricolleau - ENSPCI, Paris	Michel Robert-Nicoud - IAB, Grenoble
Jean-Luc Rouvière - DRFMC, CEA Grenoble	Marc Schmutz - ICS, Strasbourg
Etienne Snoeck - CEMES, Toulouse	Guy Schoehn - IVMS, Grenoble
Jany Thibault - TECSEN, Marseille	Jean Susini - ESRF, Grenoble
	Yves Usson - TIMC-IMAG. Grenoble

Remerciements

Nous tenons à remercier l'ensemble des institutions et des sociétés qui par leur support financier ont contribuées au succès de SFµ-2007.







SANTÉ

Rhône















Office de Tourisme de Grenoble

Mardi 5 juin			
12.30-14.00 Accueil et installation des posters			
14.00-16.00	 Cérémonie d'ouverture du colloque SFµ 2007 Conférences plénières Jany Thibault-Pénisson (Marseille) - La microscopie électronique en transmission : de l'observation à la mesure Christoph Cremer (Heidelberg) - Nouveaux développements en microscopie photonique 		
16-00-17.15		Pause café et session posters	
17.15-18.00	Jean Susini	Conférences plénières (suite) (Grenoble) - Etat de l'art et actualité en m	icroscopie X
18.00-20.00	Inaugurati	on de l'exposition : remise des prix Favar	d et apéritif
		Mercredi 6 juin	
08.30-10.30		Symposium commun Nouveaux développements techniques	i
10.30-11.00		Pause café, session posters et exposition	
11.00-12.45	Symposium Physique / Matériaux Microscopie quantitative	Symposium GN-MEBA Nouveaux développements techniques	Symposium Bio / Matière molle Développements techniques en microscopie photonique
12.45-13.30		Déjeuner	1
13.30-14.30	Contributions "Au café de l'ex	des exposants po - I (physique)"	Contributions des exposants "Au café de l'expo - I (biologie)"
14.30-16.30	Symposium commun Phys Mesures des textures, déf	ique / Matériaux / GN-MEBA ormations et contraintes - I	Symposium Bio / Matière molle Les virus : structures et mécanismes d'infection
16.30-17.00		Pause café, session posters et exposition	
17.00-18.30	Symposium Physique / Matériaux Matériaux pour les transports et l'énergie	Symposium GN-MEBA Mesures des textures, déformations et contraintes	Symposium Bio / Matière molle Microscopie et rayonnement synchrotron
18.30-19.00			
19.30		Réception au Musée de Grenoble	
		Jeudi 7 juin	
08.30-10.30		Symposium commun Imagerie 3D et reconstruction	
10.30-11.00		Pause café, session posters et exposition	
11.00-12.45	Symposium Physique / Matériaux Nano-objects	Symposium GN-MEBA Imagerie 3D et reconstruction	Symposium Bio / Matière molle Approche 3D en imagerie moléculaire et cellulaire
12.45-13.30		Déjeuner	I
13.30-14.30		Contributions des exposants "Au café de l'expo - II"	
14.30-16.00	Assemblée générale de la SFµ	Symposium GN-MEBA Imagerie 3D et reconstruction	Assemblée générale de la SFµ
16.00-16.30		Pause café, session posters et exposition	
16.30-18.30	Symposium Physique / Matériaux Mesures des textures, déformations et contraintes - II		Symposium Bio / Matière molle Approche 3D en imagerie tissulaire et intra-vitale
20.00		Banquet	
		Vendredi 8 juin	
8.30-10.30	Symposium Physique / Matériaux Matériaux fontionnels I - Dispositifs électronique, optiques, mécaniques		Symposium Bio / Matière molle Nano particules et coloïdes organiques ou hybrides
10.30-11.00		Pause café et session posters	
11.00-12.45	Symposium Physique / Matériaux Matériaux fontionnels II - Dispositifs magnétiques et thermoélectriques		Symposium Bio / Matière molle Autoassemblage, auto-organisation, cristaux liquides
		Fin du colloque	

Conférences plénières Mardi 5 juin – 14.00-18.00

Animateurs : Marie Cheynet (LTPCM, Grenoble), Philippe-André Buffat (EPFL, Lausanne)

Conférenciers invités

14:30-15:15 – <i>Jany Thibault-Pénisson</i> (TECSEN, Marseille) La microscopie électronique en transmission : de l'observation à la mesure	39
15:15-16:00 – <i>Christoph Cremer</i> (Kirchhoff Institute for Physics, Heidelberg) Nouveaux développements en microscopie photonique	40
17:15-18:00 – <i>Jean Susini</i> (ESRF, Grenoble) Etat de l'art et actualité en microscopie X	44

Nouveaux développements techniques Symposium commun – Mercredi 6 juin – 8.30-10.30

Animateurs : Jean-Luc Rouvière (DRFMC, CEA Grenoble), Michel Robert-Nicoud (IAB, Université de Grenoble)

Il apparaît maintenant certain que la commercialisation des correcteurs d'aberration sphérique marquera la microscopie pour la décennie à venir. L'avenir nous dira si ces correcteurs apporteront une véritable rupture dans l'évolution des techniques de microscopie, c'est à dire une véritable révolution, ou s'ils ne constitueront en fait qu'une simple évolution spectaculaire. Bien sur ce symposium donnera la parole à quelques uns des premiers utilisateurs de ces correcteurs qui chercheront à montrer leurs applications en biologie ou physique. Mais ce symposium commun présentera également les évolutions importantes de quelques techniques plus traditionnelles comme la microscopie optique et la microscopie à balayage environnementale, et de techniques qui dans un passé proche étaient encore peu répandues comme le XPEEM ou la sonde atomique. L'objectif de ce symposium commun est que chaque communauté puisse avoir dans un minimum de temps, un aperçu de l'état de l'art dans des techniques qui ne lui sont pas forcément familières, mais qui pourraient le devenir dans un futur proche. Toutes les contributions orales et posters seront les bienvenues.

Conférenciers invités

8:30-9:00 – <i>Angus Kirkland</i> (Université d'Oxford) Aberration corrected electron microscopy - Prospects and applications	46
9:00-9:30 – <i>Hervé Rigneault</i> (Institut Fresnel, Marseille) Microscopie Raman stimulée CARS : développements récents et applications	48
9:30-9:50 – <i>Olivier Renault</i> (LETI, CEA Grenoble) Spectro-microscopie de photoélectrons XPEEM pour l'imagerie chimique des surfaces : principes et premières applications	50
9:50-10:10 – <i>Agnès Bogner</i> (MATEIS, INSA de Lyon) Le wet-STEM, imagerie en transmission dans un ESEM	52
10:10-10:30 – <i>Bernard Deconihout</i> (GPM, Université de Rouen) Imagerie 3D à l'échelle atomique par sonde atomique tomographique assistée par impulsions lasers femtoseconde	54

Microscopie quantitative : imagerie, diffraction et spectroscopie Symposium Physique / Matériaux – Mercredi 6 juin – 11.00-12.45

Animateurs : Thierry Epicier (GEMPPM, INSA de Lyon), Jany Thibault-Pénisson (TECSEN, Marseille)

La microscopie électronique du 21ème siècle se veut de plus en plus quantitative. D'une part, les développements technologiques récents (correcteurs de Cs image et sonde, ainsi que monochromateurs) permettent de nouvelles avancées notamment en matière de performances ; d'autre part, la disponibilité aujourd'hui courante de médias d'enregistrement de haute dynamique (imaging plates, capteurs Slow-Scan CCDs, détecteurs scintillateurs) permet des mesures quantitatives jusqu'à l'échelle atomique. Ce symposium couvrira ces différents aspects quantitatifs, dans les domaines de l'imagerie, de la diffraction et de la spectroscopie. Des contributions sont souhaitées aussi bien au niveau des méthodologies expérimentales que des traitements et des résultats en sciences des matériaux et en biologie.

Conférenciers

11:00-11:30 – invité – *Robert F. Klie* (Brookhaven National Laboratory, Chicago, Illinois) Atomic-scale studies of complex oxide interfaces using aberration-corrected Z-contrast imaging and EELS 75

11:30-11:45 – Florian Hüe (CEMES, Toulouse)

	11:45-12:05 – invité – <i>Holger Klein</i> (Laboratoire de cristallographie, Grenoble) Cristallographie électronique sur un échantillon "réel" : la structure de Mn ₂ O ₃ résolue par diffraction électronique en précession	. 79
	12:05-12:20 – <i>Damien Alloyeau</i> (LEM, Onera Chatillon) Phénomènes ordre–désordre dans les nanoparticules de CoPt - Etudes quantitatives par microscopie électronique	. 81
	12:20-12:50 – invité – <i>Christian Colliex</i> (LPS, Orsay) EELS spectroscopy in a TEM : new possibilities, new measurements, new applications	. 83
Po	sters	
	P4-1 – <i>Cyril Ailliot</i> (LETI, CEA Grenoble) Holographie electronique off-axis : applications, limites, et perspectives	. 85
	P4-2 – <i>Gérard Balossier</i> (LMEA, INSERM Reims) TF_Quantif : un algorithme de quantification des films minces sur substrats hétérogènes en microanalyse X	. 87
	P4-3 – <i>Marie Cheynet</i> (SIMAP, Saint Martin d'Hères) Investigation de films minces d'HfO ₂ par HRTEM et spectroscopie de pertes d'énergie des électrons (EELS)	. 89
	P4-4 – <i>David Cooper</i> (LETI, CEA Grenoble) Improvement of off-axis electron holography on semiconductor device specimens using the FEI Titan transmission electron microscope	. 91
	P4-5 – <i>Mohamed Yacine Debili</i> (Université d'Annaba) TEM study of the decomposition of some rf-sputtered aluminium-iron thin films	. 93
	P4-6 – <i>Florent Houdellier</i> (CEMES, Toulouse) Dichroïsme circulaire magnétique EMCD (Electron Energy Loss Magnetic Chiral Dichroïsm) dans un microscope électronique en transmission équipé d'un correcteur d'aberration sphérique	. 96
	P4-7 – <i>Damien Jacob</i> (LSPES, Villeneuve d'Ascq) Apport de la diffraction électronique en précession pour la caractérisation microstructurale des défauts : cas du maclage dans la coesite	. 98
	P4-8 – <i>Vincent Mauchamp</i> (MATEIS, INSA de Lyon) Effets d'anisotropie sur les structures ELNES en spectroscopie de perte d'énergie des électrons : cas du trichroïsme	100
	P4-9 – <i>Jean-Paul Morniroli</i> (USTL, ENSCL, CNRS, Villeneuve d'Ascq) Comment interpréter les clichés de précession électronique à l'aide de la diffraction en faisceau convergent à grand angle (LACBED)	102
	P4-10 – <i>Jean-Paul Morniroli</i> (USTL, ENSCL, CNRS, Villeneuve d'Ascq) Etude par précession électronique des abaissements de symétrie dans les perovskites LaGaO ₃ et LSGM	104
	P4-11 – <i>Jean-Paul Morniroli</i> (USTL, ENSCL, CNRS, Villeneuve d'Ascq) Apport de la précession électronique à l'identification d'un nouvel hydrure de zirconium	106
	P4-12 – <i>Guillaume Radtke</i> (Université Paul Cézanne, Marseille) La structure électronique du SrCu ₂ (BO ₃) ₂ en EELS : anisotropie et corrélations électroniques	108
	P4-13 – <i>Virginie Serin</i> (CEMES, Toulouse) New Fullerene like materials: TEM and EELS study of the formation of curved MoS ₂ fringes	110

Nouveaux développements techniques Symposium GN-MEBA – Mercredi 6 juin – 11.00-12.45

Conférenciers invités

11:00-11:25 – <i>Jacky Larnould</i> (Jeol Europe) JSM 7700F, le premier ACSEM commercial (aberration corrected SEM)	
11:25-11:50 – <i>Rabah Benbalagh</i> (Cameca) La technique LEXES appliqué aux semi-conducteurs	
11:50-12:15 – <i>David Balloy</i> (Ecole Centrale de Lille) Analyses combinées WDS/EDS au MEB	323
12:15-12:40 – Aurélie Wauthier (LPMTM, CNRS Villetaneuse - Arcelor) EBSD à haute température, recristallisation d'un acier IF dans un MEB à colonne inclinée	
Résumés du symposium	322

Développements techniques en microscopie photonique Symposium Biologie / Matière molle – Mercredi 6 juin – 11.00-12.45

Animateurs : Alexeï Grichine (IAB, Université de Grenoble), Hervé Rigneault (Institut Fresnel, Marseille)

De nouveaux outils et technologies en microscopie optique permettent aujourd'hui de repousser les limites des résolutions spatiales et temporelles ou de la profondeur de pénétration de la lumière. De surcroît, émerge et se répand de plus en plus une nouvelle approche d'imagerie combinée avec l'intervention active de l'opérateur au niveau des microstructures observées : activation / extinction locale du signal ou des processus biologiques, micromanipulation ou encore mesure des paramètres physico-chimiques sur des molécules / particules individuelles. L'imagerie et l'intervention se font désormais en temps réel directement sur l'entité vivante et dans les conditions d'innocuité. Ceci est devenu possible grâce à l'utilisation des nouvelles formes de lumière et la maîtrise de ses interactions linéaires et non-linéaires avec la matière. Ces progrès seront illustrés par les méthodes de super-résolution en microscopie de fluorescence, d'excitation multiphotonique et de détection des harmoniques dans les tissus épais et de piégeage et de manipulation des micro-objets par des pinces optiques. De nombreuses applications en biologie seront discutées.

Conférenciers

11:00-11:25 – invité – <i>Emmanuel Beaurepaire</i> (Ecole Polytechnique, Palaiseau) Microscopie non linéaire multimodale (2PEF, SHG, THG) pour l'imagerie de tissus intacts	
11:25-11:50 – invité – Serge Monneret (Institut Fresnel, Marseille) Microscopie de fluorescence de membranes de cellules biologiques individuelles stimulées par pinces optiques holographiques 114	
11:50-12:15 – invité – <i>Olivier Haeberlé</i> (IUT, Mulhouse) Du microscope au nanoscope ? Développements récents en microscopie optique 3D	
12:15-12:40 – <i>Antoine Delon</i> (Laboratoire de Spectrométrie Physique, Saint Martin d'Hères) Spectroscopie à corrélation spatiale de fluorescence : mesures locales du transport moléculaire	

Contributions des exposants - "Au café de l'expo" - I (physique) Mercredi 6 juin 13.30-14.30

Animateur : Eric Gautier (SPINTEC, Grenoble)

Ce symposium regroupe les présentations scientifiques faites par les ingénieurs d'application des exposants pour présenter leurs nouveautés.

Conférenciers

13:30-13:50 – Keith Dicks (Oxford Instrument)	
Advances in High-Speed EBSD orientation mapping	318
13:50-14:10 – Eric Pasquier (Oxford Instrument)	
Détecteurs analytiques ADD sans azote liquide - Plateforme INCA en nanoanalyses	
14:10-14:30 – Philippe Lasson (Synergie4)	

Cartographies quantitatives et imagerie élémentaire rapide par sonde à sélection d'énergie (EDS) silicon drift droplet (SDD) en microscopie électronique

Contributions des exposants - "Au café de l'expo"- I (biologie) Mercredi 6 juin 13.30-14.30

Animateur : Eric Gautier (SPINTEC, Grenoble)

Ce symposium regroupe les présentations scientifiques faites par les ingénieurs d'application des exposants pour présenter leurs nouveautés.

Conférenciers

13:30-14:00 – *Christian Feuillet* (Olympus) FV1000, au-delà de la microscopie confocale

14:00-14:30 – *Daniel Studer* (Université de Bern, Suisse) (Proposé par Leica Microsystems) La congélation rapide haute pression et ses extensions

Mesures de textures, déformations et contraintes - I Diffraction STEM, EBSD, Kossel Symposium commun Physique / Matériaux / GN-MEBA – Mercredi 6 juin – 14.30-16.30

Animateurs : Muriel Véron (LTPCM, INPG Grenoble), François Grillon (ENSMP, Paris)

La mesure des textures à partir de la diffraction des électrons rétrodiffusés est devenue pratique courante sur les microscopes électroniques à balayage équipés d'outils "EBSD". Des techniques similaires sont en voie de développement pour les microscopes électroniques en transmission et permettent de confronter directement les images en champ clair aux cartes d'orientation cristallographique. En parallèle, l'amélioration constante à la fois du matériel et des procédures de traitement de l'information permet d'envisager la quantification des déformations et, en conséquence des contraintes internes et ce à partir des lignes de Kikuchi ou de Kossel. Ce symposium a pour vocation de faire le point sur ces différentes avancées.

Conférenciers invités

15:00-15:30 - Edgard Rauch (GPM2, INP-Grenoble) 130 ACOM/TEM - Automated Crystal Orientation Mapping with a TEM 130 15:30-15:50 - Roland Fortunier (Ecole des Mines de Saint-Etienne) 131 Determination of local elastic strain by using the EBSD technique 131 15:50-16:10 - Adam Morawiec (Institute of Metallurgy and Materials Science, Cracovie, Pologne) 133 TEMStrain - a software package for elastic strain determination from CBED patterns 133 16:10-16:30 - Patrice Gergaud (LETI, CEA Grenoble) 135 Détermination des contraintes par diffraction de Kossel 135 Poster 135 Port1 - Aicha Serier (Université M'hamed Bougara, Boumerdes) 137		14:30-15:00 – <i>David Dingley</i> (TSL, Utah USA and Bristol University) Elastic strain measurement from analysis of EBSD patterns	129
15:30-15:50 - Roland Fortunier (Ecole des Mines de Saint-Etienne) 131 Determination of local elastic strain by using the EBSD technique 131 15:50-16:10 - Adam Morawiec (Institute of Metallurgy and Materials Science, Cracovie, Pologne) 133 TEMStrain - a software package for elastic strain determination from CBED patterns 133 16:10-16:30 - Patrice Gergaud (LETI, CEA Grenoble) 135 Détermination des contraintes par diffraction de Kossel 135 Poster 135 Poster 137 Port1 - Aicha Serier (Université M'hamed Bougara, Boumerdes) 137		15:00-15:30 – <i>Edgard Rauch</i> (GPM2, INP-Grenoble) ACOM/TEM – Automated Crystal Orientation Mapping with a TEM	130
15:50-16:10 - Adam Morawiec (Institute of Metallurgy and Materials Science, Cracovie, Pologne) TEMStrain - a software package for elastic strain determination from CBED patterns 133 16:10-16:30 - Patrice Gergaud (LETI, CEA Grenoble) Détermination des contraintes par diffraction de Kossel 135 Poster P7-1 - Aicha Serier (Université M'hamed Bougara, Boumerdes) Degradation induced by recycling process of polypropulane 137		15:30-15:50 – <i>Roland Fortunier</i> (Ecole des Mines de Saint-Etienne) Determination of local elastic strain by using the EBSD technique	131
 16:10-16:30 - Patrice Gergaud (LETI, CEA Grenoble) Détermination des contraintes par diffraction de Kossel		15:50-16:10 – <i>Adam Morawiec</i> (Institute of Metallurgy and Materials Science, Cracovie, Pologne) TEMStrain - a software package for elastic strain determination from CBED patterns	133
Poster P7-1 - Aicha Serier (Université M'hamed Bougara, Boumerdes) Degradation induced by recycling process of polypropylene 137		16:10-16:30 – <i>Patrice Gergaud</i> (LETI, CEA Grenoble) Détermination des contraintes par diffraction de Kossel	135
<i>P7-1 – Aicha Serier</i> (Université M'hamed Bougara, Boumerdes)	Ро	ster	
Degradation induced by recycling process of polypropyrene		P7-1 – Aicha Serier (Université M'hamed Bougara, Boumerdes)Degradation induced by recycling process of polypropylene	137

Les virus : structure et mécanismes d'infection

Symposium Biologie / Matière molle - Mercredi 6 juin - 14.30-16.30

Animateurs : Guy Schoehn (EMBL, Grenoble), Jorge Navaza (IBS, Grenoble)

La plupart des particules virales sont trop petites pour être observées par microscopie optique et trop grosses ou trop irrégulières pour être cristallisées. La microscopie électronique est donc la méthode de choix pour une visualisation directe de la morphologie des virus et, le cas échéant de leurs sous-particules associées. Si la microscopie électronique est couplée avec l'analyse d'images, nous pouvons accéder à une information structurale à moyenne résolution (10-20 Å). Ces structures tridimensionnelles obtenues par microscopie électronique peuvent être combinées avec les données recueillis au moyen d'autres techniques biophysiques, comme la cristallographie aux rayons X, dans le but d'obtenir des modèles tridimensionnels figés du virus, à une résolution quasi-atomique. La microscopie peut également apporter des informations dynamiques concernant le "cycle de vie" des virus comme, par exemple, l'encapsidation de l'ADN par les phages ou, en combinaison avec la diffusion des rayons X et des neutrons, la décapsidation pH-dépendante des virus.

14:30-14:55 – invité – <i>Jean Lepault</i> (CNRS / VMS, Gif-sur-Yvette) Dissection des fonctions d'une protéine virale : une étude par cryo-microscopie électronique corrélée à la radiocristallographie et la RMN	258
14:55-15:20 – invité – <i>Amélie Leforestier</i> (LPS, Orsay) DNA ejection from bacteriophage T5 analysed by cryo-electron microscopy	259
15:20-15:40 – invité – <i>Ricardo Aramayo</i> (IMPMC, Jussieu) Etude structurale de l'auto-assemblage des protéines de capsides virales par microscopie électronique	261
15:40-16:00 – invité – <i>Guy Schoehn</i> (EMBL, Grenoble) Analyse structurale de l'adenovirus par cryo microscopie electronique et analyse d'images	263
16:00-16:15 – <i>Romuald Patient</i> (Faculté de Médecine, Tours) Morphogenèse et trafic intracellulaire des particules sous-virales d'enveloppe du virus de l'hépatite B	264
16:15-16:30 – <i>Christophe Hourioux</i> (Faculté de Médecine, Tours) Mécanismes d'assemblage de la protéine de capside du virus de l'hépatite C (VHC) et importance de sa variabilité dans un modèle de stéatose viro-induite in vitro	266

P13-1 – *Ahlem Ayadi* (Faculté de Médecine de Tunis)

Intracellular behaviour of the lactating mammary gland cells after aluminium injection. An ultrastructural	
study	268
P13-2 – Elizabeth Hewat (Institut de Biologie Structurale, Grenoble)	
Non-neutralizing HRV2-specific monoclonal antibody 2G2 attaches to a region that undergoes most dramatic	
changes upon release of the viral RNA	270

Matériaux pour les transports et l'énergie

Matériaux de structures, matériaux pour les piles, les batteries et le photovoltaïque Symposium Physique / Matériaux – Mercredi 6 juin – 17.00-19.00

Animateurs : Abdelkrim Redjaimia (INPL, Nancy), Cyril Cayron (LITEN, CEA Grenoble)

Même si les « matériaux nano-architecturés » ont pris le devant de la scène, les matériaux "traditionnels" (polymères, métaux, alliages, superalliages, céramiques et composites) restent indispensables à l'industrie des transports (automobile, aéronautique) et de l'énergie (fabrication, transport et stockage). On s'intéressera dans ce symposium à l'apport des différentes techniques de microscopie pour la caractérisation des microstructures (texture, joints de grains, précipitation, structures de dislocations). On s'attachera aussi aux modèles physiques sous-jacents et aux techniques de simulations qui permettent de mieux comprendre les liens microstructure / mode d'élaboration et microstructure / propriétés.

	17:00-17:30 – invité – <i>Richard Portier</i> (ENCP, Paris) Les alliages à mémoire de forme : des matériaux aux propriétés mécaniques singulières	. 149
	17:30-17:45 – <i>Florence Pettinary-Sturmel</i> (CEMES, Toulouse) Apport de la microscopie in-situ à l'étude quantitative locale de la déformation du Ti-6Al-4V	. 151
	17:45-18:00 – <i>Robin Schaeublin</i> (EPFL-CRPP, Villigen, Suisse) Caractérisation par MET de défauts cristallins nanométriques dans les aciers: qu'en disent les simulations d'image ?	. 152
	18:00-18:15 – <i>Cécile Garcia</i> (LCTS, Pessac) Etude par MEB et MET de carbone pyrolytique pour combustible nucléaire	. 153
	18:15-18:30 – Aïcha Hessler-Wyser (EPFL-CIME, Lausanne) Caractérisation d'hétérojonctions a-Si:H/c-Si pour cellules photovoltaïques	. 155
	18:30-18:45 – <i>Lucile Joly-Pottuz</i> (MATEIS, INSA de Lyon) Le FIB/EFTEM : un outil original pour la compréhension des modifications structurales par frottement de couches carbonées	. 157
	18:45-19:00 – <i>Bertrand Van de Moortèle</i> (ENS Lyon) Observation par microscopie électronique des effets de chocs dans trois météorites martiennes	. 159
Ро	sters	
	P9-1 – <i>Loic Boulanger</i> (SRMP, CEA Saclay) Boucles de dislocation dans des alliages ferritiques et martensitiques irradiés par des ions krypton à 500 et 550°C	. 161
	P9-2 – <i>Cyril Cayron</i> (LITEN, CEA Grenoble) Grain boundary engineering and $\Sigma 3^n$ multiple twinning	. 163
	P9-3 – <i>Cyril Cayron</i> (LITEN, CEA Grenoble) Crystallographic considerations on phase transition materials and their applications to the reconstruction of parent grains from EBSD data	. 165
	P9-4 – <i>Antonin Faes</i> (EPFL-CIME, Lausanne) Étude de réduction et d'oxydation de l'anode d'une pile à combustible à oxyde solide à support anode (SOFC)	. 167
	P9-5 – <i>Laure Guetaz</i> (LITEN, CEA Grenoble) Etude des différents composants d'électrodes de piles à combustible PEMFC	. 169
	P9-6 – Vanessa Vidal (CEMES, Toulouse) Apport et complémentarité de différentes techniques de microscopie électronique pour la caractérisation de nano-précipités dans un acier martensitique	. 171
	P9-7 – <i>Xiao-Chuan Xiong</i> (Ecole des Mines, Nancy) Orientation relationships between ferrite and Fe ₄ N nitride in hypoeutectoid iron-nitrogen binary alloy	. 173
	P9-8 – <i>Oussama Yousfi</i> (SIMAP, Grenoble) Caractérisation structurale multi-échelle par microscopies de la transformation allotropique $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS	. 175

Conférenciers invités

 17:00-17:30 - David Dingley (TSL, Utah USA and Bristol University) Techniques in phase identification and determination using EBSD. Progress in the determination of orientation maps and phase determination using the dark field conical scan technique in the transmission electron microscope. 	
17:30-17:50 – <i>Anne-Laure Etter</i> (LPCES, CNRS Orsay) Etude de l'évolution des textures de déformation lors de la recristallisation en fonction de l'énergie stockée, force motrice en recristallisation. Application au fer et au cuivre.	
17:50-18:10 – <i>Frank Esposito</i> (Alcan, Centre de Recherches de Voreppe) Sur la reconstruction des cartes EBSD dans les microstructures restaurées	
18:10-18:30 – <i>Kangying Zhu</i> (LPMTM, CNRS Villetaneuse) Etude de la recristallisation dans un alliage de zirconium par la technique EBSD	
Résumés du symposium	. 324

Microscopie et rayonnement synchrotron

Symposium Biologie / Matière molle – Mercredi 6 juin – 17.00-19.00

Animateurs : Jose Baruchel (ESRF, Grenoble), Jean Susini (ESRF, Grenoble)

Le développement des techniques d'imagerie utilisant les rayons X avec une résolution spatiale sub-micronique a longtemps été ralenti par l'absence d'optiques et de sources adaptées. L'évolution des sources synchrotrons, dites de troisième génération, caractérisées par une grande brillance et un degré de cohérence élevé, autorise aujourd'hui de nouveaux concepts expérimentaux. Le développement concomitant d'optiques de plus en plus performantes a permis par ailleurs un gain significatif de résolution spatiale sur toute la gamme spectrale, des rayons X mous aux rayons X durs. Le contexte est donc très favorable aux développements de nouvelles méthodes d'imagerie X fournissant des informations, morphologiques, structurales ou/et chimiques. Ce symposium sera l'occasion de faire le point sur l'évolution de ces techniques de microscopie utilisant le rayonnement synchrotron, des rayons X à l'infrarouge. Cette évolution sera illustrée par des exemples d'application dans des domaines divers des sciences des matériaux et de la matière molle.

Conférenciers invités

Po

17:00-17:30 – Christian Riekel (ESRF, Grenoble) Applications of micro-diffraction to the study of fibres 12:00-17:30 – Christian Riekel (ESRF, Grenoble)	0
17:30-18:00 - Eva Pereiro (Synchrotron ALBA, Barcelone)X-ray microscopy and biological applications12	1
18:00-18:30 – <i>Marine Cotte</i> (C2RMF, Le Louvre, Paris) Les nouveaux développements en micro-spectroscopie infrarouge utilisant le rayonnement synchrotron	3
18:30-19:00 – Wolfgang Ludwig (CNRS, Lyon) Caractérisation 3D de la microstructure d'absorption et cristalline dans les matériaux polycristallins par tomographie en contraste de diffraction	5
ster	
P6-1 – Danielle Dupeyre (CERMAV, Grenoble)	

Les grains d'amidons géants de l'orchidée Phajus grandifolius 127

Imagerie 3D et reconstruction Symposium commun – Jeudi 7 juin – 8.30-10.30

Animateurs : Patricia Donnadieu (LTPCM, Grenoble), Dominique Ploton (Université de Reims)

La représentation à 3D devient de plus en plus incontournable pour comprendre de nombreux mécanismes dans le domaine de la biologie comme des matériaux. Qu'il s'agisse de microscopie optique, électronique en transmission ou en balayage, à différentes échelles et dans une grande diversité de systèmes, l'activité en imagerie et en reconstruction 3D est actuellement foisonnante. Ce symposium tentera de faire le point sur ces techniques, leurs possibilités et leurs limites à travers des exposés des travaux récents touchant à l'imagerie 3D (tomographie, reconstruction stéréographique, "SPA", coupe sériée, microscopie confocale...)

Conférenciers invités

8:30-9:10 - Wolfgang Baumeister (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried)	
Mapping molecular landscapes inside cells by cryoelectron tomography	56

<i>9:1</i> 0-9:35 – <i>Yves Usson</i> (IN3S, Grenoble) Approches de microscopie photonique 3D	: sectionnement optique et tomographie 57
<i>9:35-10:10 – Stefan Zaefferer</i> (Max Planck 3D-orientation microscopy in a FIB-SEM	Institute for Iron Research, Duesseldorf) a new dimension of microstructure characterisation
<i>10:10-10:30 – Lydia Laffon</i> t (Université d'A	amiens)
Tomographie en contraste STEM-HAADF	: applications aux nanomatériaux 59
Posters	
P3-1 – <i>Samir Benlekbir</i> (MATEIS, INSA d	e Lyon)
Solutions non-commerciales pour tomogra	phie de nano-matériaux en microscopie électronique par
transmission en mode "STEM"	
P3-2 – Samir Benlekbir (MATEIS, INSA d	e Lyon)
Stéréoscopie en microscopie électronique e	en transmission : application aux nano-composites Or/Silice
P3-3 – Samir Benlekbir (MATEIS, INSA d	e Lyon)
Tomographie en microscopie électronique	en transmission : formes complexes de nanoparticules Pd 65
P3-4 – <i>Nicolas Boisset</i> (IMPMC, Universit	é Pierre et Marie Curie, Paris)
Etude structurale de la Glutamate Synthase	bactérienne par cryomicroscopie électronique et modélisation
moléculaire	
P3-5 – <i>Ovidiu Ersen</i> (IPCMS - GSI, Strasb	ourg)
Application de la microscopie électronique	3D à l'étude des matériaux pour la catalyse hétérogène
P3-6 – <i>Pijarn Jornsanoh</i> (MATEIS, INSA	de Lyon)
Imagerie tridimensionnelle en microscopie	électronique à balayage à pression contrôlée
P3-7 – <i>Wolfgang Ludwig</i> (MATEIS, INSA	de Lyon)
Simultaneous characterization of 3D absor	ption and grain microstructure in undeformed materials by
diffraction contrast tomography	
P3-8 – <i>Cédric Messaoudi</i> (Institut Curie, O	rsay)
<i>Aberrant pixel removal tool for electron m</i>	icroscopy images

Nano-objets

Nanoparticules, colloïdes, nanotubes, nanofils, auto-organisation Symposium Physique / Matériaux – Jeudi 7 juin – 11.00-12.45

Animateurs : Christian Ricolleau (Université Paris VII), Suzanne Giorgio (CRMCN, Marseille)

On assiste aujourd'hui au développement spectaculaire des recherches menées sur les nano-objets aussi bien au niveau de leur croissance par des techniques variées que de leurs propriétés structurales, électroniques et physiques. Cet essor s'est accompagné du développement et/ou de l'amélioration de techniques de caractérisation permettant d'aller plus loin dans la connaissance ultime des nano-objets. On s'intéressera dans ce symposium aux nanoparticules obtenues par des méthodes de croissance très diverses allant des méthodes sous ultra-vide aux méthodes de chimie douce, à l'organisation de nano-objets ainsi qu'aux propriétés structurales de ces nano-objets, abordées par différentes techniques de microscopies, à leurs propriétés physiques et leurs applications.

220
222
224
226
228
230
2 2 2 2 2 2

Posters

P12-1 – France Beauchesne Simonet (IRCELYON, Villeurbanne)	
Comparaison et optimisation de techniques d'observations microstructurales à l'aide d'échantillons tests non	
conducteurs	. 232
P12-2 – Catherine Bougerol (Equipe NPSC, Grenoble)	
Etude par microscopie électronique en transmission de nano-fils de semiconducteurs II-VI obtenus par	
épitaxie par jets moléculaires	. 234
P12-3 – Martiane Cabié (CRMCN, Marseille)	
Suivi en conditions réactionnelles des propriétés d'agrégats d'or par microscopie électronique	226
environnementale a naute resolution (E-HRTEM)	. 236
P12-4 – Thierry Epicier (MATEIS, INSA de Lyon)	220
Chimie de nano-particules en STEM-HAADF	. 238
P12-5 – Mathias Kobylko (LPS, Orsay)	
experiments	240
$P_{12} = M_{12} + L_{12} + L$. 240
P12-0 - Melanie Lamirand (ICMCB, Pessac) Les apports de la MET aux techniques d'analyses plus globales - Application à des matérieux papestructurés à	à
base de terres rares	242
P12-7 - Cyril Langlois (Université Paris 7)	
Synthèse de nanoparticules cœur-coquilles, étude par HRTEM et EFTEM	. 244
P12.8 = Stefano Mazzucco (I PS Orsav)	
Développement d'un système pour la détection ou l'injection de lumière dans un microscope électronique à	
balayage en transmission (STEM)	. 246
P12-9 – Nicolas Menguy (IMPMC, Paris)	
Croissance de nano-magnétites intracellulaires	. 248
P12-10 – Valérie Potin (Institut Carnot de Bourgogne, Dijon)	
Etude de la croissance de nanobatonnets de WO ₃ sur mica	. 250
P12-11 – Béatrice Vacher (LTDS, Ecole Centrale de Lyon)	
Caractérisation de nano-oignons de carbone: corrélation entre leurs propriétés physiques et leurs propriétés	
tribologiques	. 252
P12-12 – Alberto Zobelli (LPS, Orsay)	
Irradiation de systèmes nanotubulaires	. 254
P12-13 – Carine Zoller (LSPES, Villeneuve d'Ascq)	
Caractérisation de nanoparticules de silicium dans une matrice de silice par EFTEM	. 256

Imagerie 3D et reconstruction Symposium GN-MEBA – Jeudi 7 juin – 11.00-12.45 et 14.30-16.00

Conférenciers invités

11:00-11:40 – *Denis Boivin* (ONERA, Châtillon) Reconstruction 3D de surface à partir d'images de microscopie électronique à balayage et de microscopie optique sériée

11:40-12:10 – *Elisabeth Bouchaud* (CEA Saclay) Traitement multi-échelle des surfaces

12:15-12:40 – *Anne Colonna* (L'Oréal Recherche) La microscopie confocale : un moyen d'investigation volumique et temporel d'échantillons biologiques

14:30-14:50 – *Marie-Anne Prévost* (ONERA, Châtillon) Suivi de joints de grains par AFM

14:50-15:10 – *Catherine Sant* (LMN, Université d'Evry) Caractérisation de dépôts nanométriques par réflectivité des rayons X

15:10-15:35 - Serge Carras (Altimet)

Le chromatisme axial en lumière blanche, une métrologie optique des surfaces à caractère normatif

15:35-16:05 – *Brigitte Gaillard-Martinie* (INRA, Clermont-Ferrand) L'organisation d'un centre commun de Microscopie. Mise en place de la démarche qualité.

Approches 3D en imagerie moléculaire et cellulaire Symposium Biologie / Matière molle – Jeudi 7 juin – 11.00-12.45

Animateurs : Danièle Hernandez-Verdun (IJM, Paris), Yves Usson (IN3S-Grenoble)

La compréhension des interactions moléculaires en biologie passe nécessairement par une phase d'analyse de la distribution spatiale de ces molécules au sein des différents compartiments intracellulaires ainsi que par l'étude de leur diffusion ou leur transport au sein ou entre compartiments. Le développement d'approches multiples en microscopies photonique et électronique permet d'appréhender ces relations en 3D à basse et haute résolution.

Conférenciers

	11:00-11:30 – invité – <i>Jean-baptiste Sibarita</i> (Institut Curie, Paris) Analyse de la dynamique par imagerie de FRAP-4D, ou 4D-FRAP imaging	272
	11:30-12:00 – invité – <i>Marc Tramier</i> (Institut Jacques Monod, Paris) FLIM par imagerie multifocale	274
	12:00-12:30 – invité – <i>Dominique Ploton</i> (MéDIAN, Reims) Microscopie corrélative	276
	12:00-12:45 – <i>Rana Ibrahim</i> (Institut Curie, Paris) Etude tomographique des centrioles isolés: structure interne centriolaire et appendices subdistaux	277
Ро	sters	
	P14-1 – <i>Jéril Degrouard</i> (Développement et Evolution, Orsay) Les cellules dendritiques libèrent du glutamate pour communiquer à la synapse immunologique	279
	P14-2 – <i>Christopher Parmenter</i> (University of Warwick, Coventry) Cryo-electron microscopy of FVIII bound to phospholipid vesicles	280

Contributions des exposants - "Au café de l'expo"- II Symposium commun – Jeudi 7 juin – 13.30–14.30

Animateur : Eric Gautier (SPINTEC, Grenoble)

Ce symposium regroupe les présentations scientifiques faites par les ingénieurs d'application des exposants pour présenter leurs nouveautés.

Conférenciers

13:30–13:45 – William Signac (Olympus)	
Donner à la métrologie une nouvelle dimension: le nouveau microscope confocal LEXT	320
13:45-14:00 – Nicolas Medard (Selco-Nanolane, proposé par Scientec)	
SARFUS : une nouvelle solution optique pour l'imagerie d'objets nanométriques	321

14:00-14:15 – *Régis Ravelle-Chapuis* (Jeol Europe SAS)

Breakthrough by Cs-corrected TEM in atomic resolution and analytical electron microscopy

14:15-14:30 – Laurent Roussel (FEI Company)

Very low damage thin sample preparation for HRTEM - the usecase of the LaB₆ emitter failure analysis

Mesures de textures, déformations et contraintes - II	
CBED, HRTEM	
Symposium Physique / Matériaux – Jeudi 7 juin – 16.30-18.30	

Animateurs : Jean-Paul Morniroli (ENS Chimie, Lille), Martin Hytch (CEMES, Toulouse)

Ce second symposium sur les mesures de textures, déformations et contraintes concernera plus particulièrement les méthodes expérimentales réalisables sur un microscope électronique en transmission fonctionnant avec un faisceau incident fixe (mode TEM). Les méthodes expérimentales basées sur l'observation d'images (images en deux-ondes et en haute résolution, lignes d'égale inclinaison....) ou de clichés de diffraction électronique (diffraction en aire sélectionnée, microdiffraction, CBED, LACBED...) seront décrites durant ce symposium. On insistera sur les avantages et limites de ces différentes techniques.

16:30-17:00 – invité – Emmanuel Bouzy (LETAM, Metz)	
Cartographie d'orientations par MET	139
17:00-17:30 – invité – Florent Houdellier (CEMES, Toulouse)	
CBED quantitatif pour la mesure de la déformation de couches épitaxiées	141

17:30-17:50 – <i>Laurent Clément</i> (NXP Semiconductors, Crolles) Quantitative strain measurement in 45-65 nm CMOS transistors by energy-filtered convergent beam electron diffraction at low temperature	. 143
17:50-18:10 – Armand Béché (LEMMA, CEA Grenoble) Mesure de contraintes et déformations sur des lignes de silicium contraintes	145
18:10-18:30 – <i>Ludovic Largeau</i> (LPN, Marcoussis) Détermination de l'asymétrie de déformation dans le plan de GaAs (001) par diffraction électronique en faisceau convergent	147

Approches 3D en imagerie tissulaire et intra-vitale
Symposium Biologie / Matière molle – Jeudi 7 juin – 16.30-18.30
(Organisé sous les auspices du Cercle Français de Pathologie Ultrastructurale)

Animateurs : Marek Haftek (Université Lyon 1), Jean-Luc Coll (IAB, Grenoble)

Depuis l'introduction de la microscopie électronique à transmission, il y a presque une siècle, les biologistes se sont habitués à observer et reconnaître les structures tissulaires et subcellulaires visualisées après fixation chimique, déshydratation et contraste des échantillons. Fatalement, il s'agit d'artefacts introduits lors de procédés incompatibles avec la vie mais indispensables pour pouvoir observer l'ultrastructure dans le vide et sous un faisceau d'électrons. L'expérience aidant, nous savons maintenant interpréter ces images car il s'agit de résultats tout à fait reproductibles et exploitables. Toutefois, de nouvelles techniques sont au train d'émerger qui nous autoriseront à réviser nos connaissances de la morphologie à l'état natif. D'abord employés pour étudier de petites structures en suspension (comme les virus), les méthodes de vitrification, d'observation en état congelé et de reconstruction tridimensionnelle peuvent être à présent appliquées aux tissus. Certes, non dépourvues de nouveaux problèmes d'interprétation, ces approches révolutionneront, à terme, notre vision du monde du vivant à l'échelle subcellulaire.

Conférenciers

	16:30-17:05 – invité – <i>Jacques Dubochet</i> (LAU, Lausanne, Suisse) Comment "lire" les images de la cryo-microscopie électronique	. 282
	17:05-17:40 – invité – <i>Danièle Spehner</i> (IGBMC–INSERM, Illkirch) Analyse tridimensionnelle de la cellule par tomographie électronique	. 283
	17:40-18:05 – invité – Véronique Josserand (Institut Albert Bonniot, Grenoble) Imagerie optique du corps entier du petit animal en 2 et 3D	. 285
	18:05-18:17 – <i>Olivier Lambert</i> (CBMN, Talence) Etude des jonctions adhérentes interendotheliales : approche par cryo-microscopie électronique et vidéomicroscopie de fluorescence sur membranes modèles et biologiques	. 287
	18:17-18:30 (et P15-2) – <i>Stéphane Woerly</i> (CERMAV, Grenoble) Étude multi-échelle en microscopies d'un hydrogel glycosylé implanté dans le cerveau du rat	. 289
Ро	ster	
	P15-1 – Amélie Leforestier (LPS, Orsay) Caenorhabditis elegans vu par cryo-microscopie électronique de sections vitreuses (CEMOVIS) : analyse du collagène cuticulaire et mice en évidence d'un processus d'auto assemblage de type cristal liquide lors de la	

conagene cancalane et mise en evidenet	a un processus a uno	ussemblage de type eristar riquide lo	is de la
sécrétion du collagène par l'hypoderme			291

Matériaux fonctionnels - I Dispositifs électronique, optiques, mécaniques Symposium Physique / Matériaux – Vendredi 8 juin – 8.30-10.30

Animateurs : Roland Pantel (STMicroelectronics, Crolles), Philippe Venneguès (CRHEA, Sophia Antipolis)

Cette session regroupe les analyses par microscopie des micro et nanostructures développées pour leurs propriétés spécifiques liées en particulier à leurs très petites dimensions. Ces objets fabriqués à l'aide de techniques issues de l'industrie de la microélectronique (dépôt de couches minces, épitaxie, gravure plasma, lithographie optique ou électronique) sont par exemple : les boites quantiques, les MEMS/NEMS (micro /nano electro mechanical systems), les structures semi-conductrices Si, Ge, III-V, II-VI, passives ou actives, isolées ou assemblées (circuits, capas, selfs, transistors, jonctions, diodes électroluminescentes, capteurs optiques, etc.). Par contre les nano objets tels que les nanotubes et les objets magnétiques seront traités dans d'autres sessions (symposiums 3 et 6).

8:30-9:00 – invité – <i>Gilles Patriarche</i> (LPN, Marcoussis) Etude de la croissance de nanofils de semiconducteurs III-V	. 177
9:00-9:15 – <i>Pierre David Szkutnik</i> (L2MP, Marseille) Formation de nanocristaux de Ge sur SiO ₂ par démouillage : application à des mémoires non volatiles	. 178

9:15-9:30 – <i>Véronique Madigou</i> (L2MP, Toulon) Caractérisation par microscopie électronique haute résolution de nanofeuillets de Bi _{3.25} La _{0.75} Ti ₃ O ₁₂	180
9:30-10:00 – invité – Laurens Kwakman (NXP Semiconductors - Crolles)	
Transmission Electron Microscopy for characterization of nanometer scale CMOS devices	182
10:00-10:15 – Patricia Donnadieu (SIMAP, Grenoble) A combined FEG-SEM and TEM study of silicon nanodot deposit	183
10:15-10:30 – <i>Christian Turquat</i> (L2MP, Toulon) Investigation of copper-7,7',8,8'-tetracyanoquinodimethane as memory material for resistive switching memories	185
Poster	
P10-1 – <i>Marie Cheynet</i> (SIMAP, Grenoble) Investigation of "low-k" material using EFTEM, Z-contrast imaging and low-loss spectroscopy	187
P10-2 – Radoslaw Chmielowski (Université du Sud Toulon-Var, La Garde) Caractérisation par TEM de bicouches oxyde ferroélectrique / électrode oxyde Bi _{3.25} La _{0.75} Ti ₃ O ₁₂ / Sr ₄ Ru ₂ O ₉	189
P10-3 - Antoine Demolliens (L2MP, La Garde)	
Analyses microstructurales de mémoires non volatiles et métrologie des couches ultraminces par microscop électronique en transmission	ie 190
P10-4 – Abdelkhalek Kammouni (Université Paul Cézanne, Marseille) Effet de la température d'entrée dans le domaine bainitique sur le taux d'austénite résiduelle dans des aciers TRIP	s 192
P10-5 – <i>Maxim Korytov</i> (CRHEA, Valbonne) Apport de l'amincissement ionique basse tension pour la préparation d'hétérostructures épitaxiées de semi- conducteurs	194
P10-6 – Sabine Lay (SIMAP, St Martin d'Hères) Etude des interfaces prismatiques WC/Co dans les alliages WC-Co	195
P10-7 – <i>Amélie Lintanf</i> (SIMAP, Saint Martin d'Hères) Ta ₂ O ₅ thin films for integrated circuits applications elaborated by electrostatic spray deposition: SEM and TEM characterizations	197
P10-8 – <i>Frédéric Pailloux</i> (LMP, Poitier) Observation in-situ de l'évolution de nanotubes dans GaN, sous irradiation électronique	199
P10-9 – <i>Frédéric Pailloux</i> (LMP, Poitier) Analyse de défauts lacunaires linéaires créés par implantation d'hélium dans GaN	201
P10-10 – <i>Elena Igorevna Suvorova-Buffat</i> (EPF Lausanne) Structure of Ce doped Na _{0.5} La _{0.5} MoO ₄ single crystals	203
P10-11 – Philippe Vennéguès (CRHEA, Valbonne) Etude par microscopie électronique en transmission de films non-polaires de ZnO déposés sur saphir plan R par épitaxie par jets moléculaires	205
P10-12 – <i>Guillaume-Yangshu Wang</i> (ICMPE, Vitry sur Seine) Alliages granulaires de Cu ₈₀ Fe ₁₀ Ni ₁₀ préparés par hypertrempe, étude micro-structurale par EFTEM et EDX	X 206

Nanoparticules et colloïdes organiques ou hybrides Symposium Biologie / Matière molle – Vendredi 8 juin – 8.30-10.30

Animateur : Marc Schmutz (ICS, Strasbourg)

Des nanoparticules organiques de formes et de structures variées sont préparées à partir de polymères naturels ou synthétiques, de protéines ou de lipides. Des formulations hybrides qui marient phases organiques et inorganiques sont par ailleurs mises au point. Ces nanoparticules peuvent être utilisées sous la forme de suspensions colloïdales, par exemple à des fins biomédicales, comme vecteurs de principes actifs ou bien comme traceurs. Elles peuvent aussi jouer le rôle de brique élémentaire dans la préparation de matériaux nanocomposites. Une connaissance précise de la morphologie et de la structure de ces objets est indispensable pour comprendre leurs propriétés. Des exemples divers de nanoparticules seront présentés au cours de cette session ainsi que les techniques de microscopie adaptées à leur observation, en particulier la cryomicroscopie électronique.

8:30-9:10 – invité – Jean-Luc Putaux (CERMAV, Grenoble)	
Morphologie et structure de nanoparticules composites et multi-compartimentées observées par	
cryomicroscopie électronique	293

	9:10-9:50 – invité – <i>Matthias Ballauff</i> (Université de Bayreuth, Allemagne) Cryogenic transmission electron microscopy and small-angle scattering: the structure of colloidal gels revisited	295
	9:50-10:10 – <i>Christopher Parmenter</i> (University of Warwick, Coventry) Cryo-electron microscopy study of asymmetric PEG-b-PMMA block-copolymers	296
	10:10-10:30 – <i>Emilie Pouget</i> (Eindhoven University of Technology) Etude 3D par cryo-TEM "résolue en temps" de la cristallisation de CaCO ₃ sur un template organique auto- assemblé	299
Pos	ster	
	P16-1 – Nicole Montesanti (CERMAV, St Martin d'Hères) Cristallisation de courtes chaînes d'amylose en solution diluée	300

Matériaux fonctionnels - II Dispositifs magnétiques et thermoélectriques Symposium Physique / Matériaux – Vendredi 8 juin – 11.00-12.45

Animateurs : Pascale Bayle-Guillemaud (DRFMC, CEA Grenoble), Etienne Snoeck (CEMES-Toulouse)

Les nanomatériaux magnétiques telles que les couches minces, les multicouches, les nanoparticules, les nanofils présentent de fortes potentialités d'applications que ce soit dans le domaine de l'électronique de spin ou celui de l'enregistrement magnétique. Les propriétés magnétiques et de transport de ces matériaux sont exclusivement déterminées par leur structure et leur environnement local. Ce symposium tentera de faire le point sur les techniques croisées permettant d'étudier les rapports de structure-propriétés de ces matériaux fonctionnels. Il se concentrera sur la caractérisation de la structure de ces matériaux magnétiques et l'étude de leurs propriétés magnétiques locales par des techniques telles que la microscopie électronique à haute résolution (MEHR), les techniques dérivées de la spectroscopie de perte d'énergie (EELS EFTEM), la microscopie de Lorentz et l'holographie. Une partie de ce symposium sera également dédiée à d'autres techniques de microscopie magnétique (XPEEM, MFM,...).

Conférenciers

	11:00-11:30 – invité – <i>Nicolas Rougemaille</i> (Institut Néel, Grenoble) Microscopie d'électrons lents polarisés en spin pour l'imagerie de systèmes magnétiques de faible dimensionnalité	. 208
	11:30-11:45 – Aurélien Masseboeuf (LEMMA, CEA Grenoble) Etude de couches minces FePd par Microscopie de Lorentz	210
	11:45-12:00 – <i>Katia March</i> (LPS, Université Paris-Sud, Orsay) Interfaces de jonctions tunnel magnétiques épitaxiées CoFe/MgO/CoFe (001)	212
	12:00-12:15 – <i>Laurence Latu-Romain</i> (LITEN, CEA Grenoble) Croissance et caractérisations de nanofils Si, Si/SiGe pour la thermoélectricité	214
	12:15-12:30 – <i>Jean-Pierre Ayoub</i> (L2MP, Marseille) Etude de la précipitation d'agrégats de Ge ₃ Mn ₅ dans des couches minces de GeMn déposées par épitaxie jets moléculaires	216
Ро	ster	
	P11-1 – <i>Etienne Snoeck</i> (CEMES, Toulouse) Modification par implantation ionique du couplage d'échange dans des jonctions tunnel magnétiques épitaxiales Fe/MgO/Fe	218

Auto-assemblage, auto-organisation, cristaux liquides Symposium Biologie / Matière molle – Vendredi 8 juin – 11.00-12.45

Animateur : Jean-Luc Putaux (CERMAV, Grenoble)

Dans ce symposium, nous nous intéresserons aux systèmes auto-assemblés aux échelles moléculaires et supramoléculaires. L'auto-assemblage de molécules permet de générer des assemblages supramoléculaires bien définis et éventuellement fonctionnels. Les systèmes ainsi obtenus peuvent ensuite être utilisés dans des contextes variés. L'étude structurale de tels systèmes est abordée au moyen différentes techniques d'imagerie et de diffusion, les microscopies restant les méthodes de choix. Nous nous intéresserons en particulier aux organogélateurs et à leur utilisation pour la conception de nouveaux matériaux, ainsi qu'à l'auto-organisation de colloïdes pour former des structures cristallines. Du temps sera réservé à quelques conférences orales sélectionnées parmi les résumés.

	11:00-11:35 – invité – <i>Philippe Mésini</i> (ICS, Strasbourg)	
	Nanotubes de diamides auto-assemblés en solvants organiques: études structurales et utilisation comme gabarits	302
	11:35-12:10 – invité – Volkert de Villeneuve (Van't Hoff Laboratory, Utrecht, Hollande) Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals	304
	12:10-12:30 – <i>Frédéric Gobeaux</i> (Université Pierre et Marie Curie, Paris) Auto-assemblage du collagène en phases denses : du cristal liquide au gel fibrillaire	312
	12:30-12:50 – <i>Samira Elazzouzi-Hafraoui</i> (GMCM, Université Rennes 1) Auto-organisation de microcristaux de cellulose de coton en suspension dans l'eau ou dans les solvants organiques apolaires	314
Ро	oster	
	P17-1 – Joëlle Léonil (INRA Rennes)	

P17-1 – Joelle Leonii (INKA, Rennes)	
La caséine kappa : quel rôle dans la structuration de la micelle de caséines ?	316

Andor Technology

7 Millennium Way Springvale Business Park BT12 7AL Belfast, Northern Ireland

Tél : +44 28 9023 7126 Email : E.McClintock@andor.com Site internet : www.andor.com

Société et produits exposés

Andor Technology, fabricant de caméras numériques hautes performances pour la recherche scientifique est un leader européen pour les applications d'imagerie et de spectroscopie. Pionnier de la technologie EMCCD, Andor a mis son savoir-faire au service de la microscopie confocal rapide avec un système de Nipkow baptisé Revolution.

Le système Andor Revolution combine la rapidité et la sensibilité des caméras EMCCD iXon+ avec la résolution de la tête confocale de Yokogawa. La station confocal comprend également un combineur de laser à état solide lui aussi conçu et fabriqué par Andor et associant jusqu'à cinq longueurs d'ondes différentes ainsi que toute une gamme d'accessoires, comprenant notamment un choix de platines piézo-électriques. L'ensemble est piloté et synchronisé avec précision par le logiciel Andor iQ qui permet de tirer les meilleures performances des composants du système. Andor Revolution est système d'imagerie confocale rapide qui combine les meilleures technologies disponibles sur le marché en un seul instrument, facile à utiliser, quasiment sans maintenance et évolutif. D'ailleurs un module FRAP vient tout juste de sortir pour le compléter.

D'autre part, Andor a également mis la technologie EMCCD à la porté du plus grand nombre sous la forme de la caméra lucaEM.

Exposant(s)

Mr Jean-Edouard COMMUNAL Ingenieur Commercial - Andor Technology Tél : 0437650845 - Mobile : 0607091898 email : je.communal@andor.com

Mme/MIIe Severine DUBROECQ

Ingenieur commercial - Andor Technology Tél : 01 39 51 46 61 - Mobile : 06 78 01 27 72 email : s.dubroecq@andor.com

Carl Zeiss SAS

60 route de Sartrouville BP 66 78230 Le Pecq, France

Tél : 01 34 80 20 00 Email : micro@zeiss.fr Site internet : www.zeiss.fr

ZEISS

Société et produits exposés

La société Carl Zeiss Microlmaging GmbH, une entreprise du groupe Carl Zeiss, propose des solutions et des systèmes de microscopie pour la recherche, les laboratoires, les travaux pratiques, l'industrie ainsi que des capteurs spectraux pour le marché analytique. Elle développe, produit et commercialise des instruments, des logiciels et des accessoires qui sont destinés aux systèmes de microscopie. Elle fournit également les procédés qui y sont liés ainsi que les solutions spécifiques pour les techniques d'analyse.

SteREO Discovery.V12

Les nouveaux systèmes optiques modulaires intégrant les SteREO Discovery.V12 élargissent les possibilités d'observation en stéréomicroscopie avec l'obtention d'images au contraste et à la résolution encore améliorés. La prise en main du SteREO Discovery.V12 est immédiate avec ses interfaces ergonomiques de contrôle sous forme de panneau de commande HIP (Human Interface Panel) et tactile SyCoP (System Control Panel), réunissant toutes les fonctions essentielles pour piloter le stéréomicroscope à votre guise.

Vous activez la mise au point et le zoom, réglez le contraste et l'éclairage, avec en simultané l'affichage de vos paramètres d'observation : le champ objet, le grandissement, la profondeur de champ et la résolution sont alors disponibles en temps réel ! Il permet en effet de mettre au point l'image par paliers maximaux de 350 nm dans une grande plage de mise au point de 340 mm. Les nouveaux systèmes d'éclairage à diodes électroluminescentes (DEL), les dispositifs d'amélioration du contraste en lumière transmise et réfléchie, le tube photographique ergonomique, la protection d'échantillon, la tourelle à 3 objectifs, les gestionnaires de vitesse de focalisation et de luminosité, figurent ainsi parmi les innombrables composants novateurs que Carl Zeiss a spécialement développé pour la stéréomicroscopie



appliquée aux sciences des matériaux.

Exposant(s)

Mr Patrick CHETAILLE

Conseiller technique - Carl Zeiss SAS Tél : 04 72 91 26 69 - email : chetaille@zeiss.fr

Mr Leif LISSMYR

Directeur Service Microscopie & Systèmes - Carl Zeiss SAS Tél : 01 34 80 20 43 - email : lissmyr@zeiss.fr

Mr Mickaël MORGANT

Conseiller technique - Carl Zeiss SAS Tél : 01 34 80 20 45 - Mobile : 06 79 97 40 14 email : m.morgant@zeiss.fr

Mr Fabrice SCHMITT

Responsable des ventes - Carl Zeiss SAS Tél : 01 34 80 20 49 - Mobile : 06 82 84 35 56 email : fschmitt@zeiss.fr

Carl Zeiss SMT

27 rue des peupliers 92752 Nanterre, France

Tél : 01 41 39 92 10 Email : info-fr@smt.zeiss.com Site internet : www.smt.zeiss.com/nts



Société et produits exposés

Carl Zeiss SMT est un des 6 départements du groupe Carl Zeiss. A la pointe de la technologie en microscopie par faisceau d'électrons et faisceau d'ions, nous proposons une large gamme de microscopes:

Microscopes Electroniques à Balayage : EVO® , SUPRA® et ULTRA®, Microscopes Electroniques en Transmission: LIBRA® 120 et LIBRA® 200 Microscopes à Faisceau d'Ions Focalisés CrossBeam® Nvision 40 et Nvision 300

Exposant(s)

Mr Frédéric GAUTIER

Ingénieur vente - Carl Zeiss SMT Tél : 01 41 39 92 10 - email : gautier@smt.zeiss.com

Mr Gabriel KANN

Directeur - Carl Zeiss SMT Tél : 01 41 39 92 10 - email : kann@smt.zeiss.com

Mr Pierre LANDOUAR

Ingénieur applications - Carl Zeiss SMT Tél : 01 41 39 92 10 - email : landouar@smt.zeiss.com

Elexience

9 rue des Petits-Ruisseaux BP 61 91371 Verrières-le-Buisson, France

Tél : 01 69 53 80 00 Email : **t.grenut@elexience.fr** Site internet : **www.elexience.fr**



Société et produits exposés

Depuis 25 ans, le département Physique d'Elexience commercialise des gammes complètes d'équipements high-tech pour les laboratoires scientifiques et l'industrie du semi-conducteur.

Avec 18 fournisseurs, Elexience propose des produits pour chaque technique :

- Microscopie Electronique à Balayage et à Transmission Hitachi
- Microanalyse X Thermo Fisher Scientic
- Accesoires et préparation pour microscopie électronique Quorum Technologies/Emitech, KE Developments, Kammrath & Weiss, Quantomix, Bal-TEC/RMC, AMT, Ditabis

- Serveurs d'images et d'équipements Quartz PCI
- SIMS Milbrook-Instruments
- Nano-indentation Hysitron

Vente, suivi administratif, service après-vente, applications, démonstrations, formations...Elexience est votre interlocuteur unique.

Exposant(s)

Mr Marc BRIANT

Responsable produits spéctométries - **Elexience** Tél : 01 69 53 80 29 - Mobile : 06 13 02 24 31 email : **m.briant@elexience.fr**

Mme/MIIe Emilie CHANTALOU

Assistante communication - Elexience Tél : 01 69 53 80 35 - email : e.chantalou@elexience.fr

Mr Benoît DUFOUR

Ingénieur commercial - Elexience Tél : 01 69 53 80 38 - Mobile : 06 03 62 20 11 email : **b.dufour @elexience.fr**

Mr Thierry GRENUT

Responsable des ventes Caractérisation des surfaces - **Elexience** Tél : 01 69 53 80 23 - Mobile : 06 03 81 50 16 email : **t.grenut@elexience.fr**

Mr Grégoire MERCIER

Ingénieur commercial - Elexience Tél : 01 69 53 80 17 - Mobile : 06 10 34 86 92 email : g.mercier@elexience.fr

Mr Joël RHOUY

Ingénieur commercial - **Elexience** Tél : 05 63 58 21 54 - Mobile : 06 10 34 51 64 email : **j.rhouy@elexience.fr**

Eloïse

Paris Nord II 33 rue des chardonnerets BP 68039 95971 Roissy CDG cedex, France

Tél : 01 48 63 20 00 Email : contact@eloise-sarl.fr Site internet : www.eloise-sarl.fr

Société et produits exposés

Eloïse commercialise des instruments scientifiques pour le travail et la recherche en microscopie électronique. Nous avons sélectionné pour vous les appareils les plus performants, conçus et réalisés par des leaders mondiaux dans leurs domaines d'application. Notre expérience de 30 ans en microscopie électronique, le sérieux et la compétence de notre service après-vente, sont les vecteurs de notre réputation.

TESCAN, une large gamme de MEB

fondée en 1991, TESCAN propose des microscopes électroniques à balayage de conception moderne et originale, largement diffusés dans de nombreux pays.

EDAX, à la pointe de la microanalyse

Une gamme complète de systèmes de microanalyse EDS, WDS et EBSD. L'intégration de ces techniques en différentes combinaisons ouvre de nouveaux horizons pour l'analyse.

Olympus Soft Imaging Solution, nouvelles caméras, nouveau logiciel

OSIS (ex-SIS) est reconnue comme leader pour les caméras CCD pour les MET, avec une gamme enrichie de nouveaux modèles pilotées par le logiciel iTEM.

NanoMEGAS, méthode de précession pour la diffraction électronique

Interface universelle pour la précession en diffraction électronique. Diffractomètre numérique pour la mesure des intensités des taches de diffraction.

Cressington, évaporateurs et métalliseurs

Une gamme complète de métalliseurs et évaporateurs performants et fiables, une station d'évaporation destinée aux applications haute technologie et à la recherche.

Pelco International

Notre gamme ne serait pas complète sans le catalogue PELCO, qui regroupe l'ensemble des articles dont vous



avez besoin pour la préparation, l'observation et le stockage de vos échantillons.

Spicer Consulting

Appareils de mesure des champs magnétiques et des vibrations, équipements pour la compensation des champs magnétiques.

Services Eloïse

Eloïse vous propose tous les services utiles, contrats de maintenance, formation, support, et une offre de MEB et MET d'occasion, révisés et garantis pour débuter ou accroître votre activité.

Exposant(s)

Mr Bernard JEAN Gérant - Eloïse Tél : 01 48 63 20 00 - Mobile : 06 80

Tél : 01 48 63 20 00 - Mobile : 06 80 47 62 81 email : **bjean@eloise-sarl.fr**

Mr Guillaume WILLE

Ingénieur application - Eloïse Tél : 01 48 63 20 00 - Mobile : 06 80 47 62 94 email : gwille@eloise-sarl.fr

EOTECH

1 ZI du Fond de Prés 91460 Marcoussis, France

Tél : 01 64 49 71 30 Email : jj.servant@eotech.fr Site internet : www.eotech.fr

Société et produits exposés

Spécialisée dans la promotion des techniques optiques pour la mesure sans contact, notre entreprise propose des techniques complémentaires pour caractériser les surfaces du nanomètre au mètre :

- Microscopie AFM combinée avec la microscopie interférométrique à décalage de phase et à balayage de frange
- Profilométre optique par capteur point OCT
- Profilomètre optique par projection de franges
- · Capteurs 3D par triangulation optique et projection de franges

Exposant(s)

Mr Jean-Jacques SERVANT Directeur Commercial - EOTECH Mobile : (0)1 64 49 71 30 email : jj.servant@eotech.fr

FEI France

10 place Charles Béraudier 69428 Lyon cedex 03, France

Tél : 01 73 03 65 26 Email : feifrance@fei.com Site internet : www.fei.com

Société et produits exposés

Semi-conducteurs et supports de stockage de données

Caractérisation, analytique et données de métrologie de qualité supérieure pour un développement plus rapide, de meilleurs rendements et des déviations de procédés moins fréquentes.

Recherche

Série d'outils aux performances les plus poussées de FEI permettant d'imager, caractériser, analyser et manipuler des objets de taille subatomique pour des données d'échantillons quantitatives.

Biologie et sciences de la vie

Les solutions d'imagerie robustes donnent des résultats époustouflants dans les technologies d'imagerie de particules et d'analyse structurale et fonctionnelle.

Industrie

De la préparation d'échantillons à la caractérisation par imagerie et aux expériences dynamiques, les outils FEI permettent aux sociétés de créer des produits plus résistants, plus efficaces et de meilleure qualité.





Mr Jean-Jacques DUPUY

Ingénieur d'affaires - **FEI France** Tél : 04 72 11 46 60 - Mobile : 06 80 11 48 51 email : **jean-jacques.dupuy@fei.com**

Mr Hans KEMPENEERS

Ingénieur des ventes - FEI France Tél : +32 477 255018 - email : hans.kempeneers@fei.com

Mr Hervé MACE

Ingénieur d'affaires - **FEI France** Mobile : 06 71 45 51 61 email : **herve.mace@fei.com**

Mr Olivier MESSAGER

Ingénieur des ventes - FEI France Tél : 01 45 20 18 26 - Mobile : 06 79 72 01 79 email : olivier.messager@fei.com

Mr Alberto TINTI

Sales manager - **FEI France** Tél : +33 1 73 03 65 26 - Mobile : +39335464970 email : **alberto.tinti@fei.com**

Contribution(s) orale(s)

Titre : Very low damage thin sample preparation for HRTEM - the usecase of the LaB6 emitter failure analysis Orateur : Laurent ROUSSEL (FEI Company) Proposé par : FEI France

Fondis Electronic

Quartier Europe 4 rue Galilée 78285 Guyancourt cedex, France

Tél : 01 34 52 10 30 Email : info@fondiselectronic.com Site internet : www.fondiselectronic.com



Société et produits exposés

Depuis plus de 25 ans, nous apportons au monde scientifique une expertise globale en instrumentation d'analyse et de contrôle. Quel que soit votre besoin, vous choisissez parmi les technologies les plus innovantes : spectrométrie IR ou EOS, fluorescence X, µFluorescence X, GC/MS, Fast GC, diffraction X, microscopies Auger, ESCA, XPS, TOF SIMS et D-SIMS, microscopie AFM, microanalyse EDS ou profilométrie optique. La richesse de notre gamme vous permettra de trouver le matériel adapté à vos applications.

Vous bénéficiez d'un engagement de services unique : conseils et supports clients personnalisés, laboratoire d'applications, études de faisabilité, service technique de pointe et maintenance préventive.

Exposant(s)

Mr Olivier KERKAR

Ingénieur technico commercial - Fondis Electronic Tél : 01 34 52 10 30 - email : o.kerkar@fondiselectronic.com

Mr Jean-Pierre SAEZ

Ingénieur technico-commercial - Fondis Electronic Tél : 01 34 52 10 30 - email : jp.saez@fondiselectronic.com

Mr Eric VAN BALINGHEM

Directeur scientifique - Fondis Electronic Tél : 01 34 52 10 30 - email : e.vanbalinghem@fondiselectronic.com

Gatan

3 bis chemin du Haut Breuil 78113 Grandchamp, France

Tél : 01 34 94 44 07 Email : dmonville@gatan.com Site internet : www.gatan.com



Société et produits exposés

GATAN, leader mondial des accessoires pour Microscopes électroniques, fournit une gamme complète allant depuis la préparation d'échantillons jusqu'à l'analyse en perte d'énergie en passant pas les sytèmes d'acquisition d'images, les porte-objets, les platines de traction, chauffantes, refroidissantes, de transfert, les systèmes de cathodo-luminescence, EBIC,... pour MEB et MET.

Exposant(s)

Mr Daniel MONVILLE

Gatan Tél : 01 34 94 44 07 - Mobile : 06 80 13 51 39 email : dmonville@gatan.com

HORIBA Jobin Yvon

16-18 rue du Canal 91165 Longjumeau, France

HORIBAJOBIN YVON

Tél : 01.64.54.13.00 Email : info@jobinyvon.fr Site internet : www.jobinyvon.com

Société et produits exposés

Fondé il y a près de 190 ans, HORIBA Jobin Yvon est un des principaux fabricants d'instrumentation analytique et de composants de spectroscopie optique.

Membre du groupe HORIBA depuis 1997, nous sommes désormais l'une des plus importantes compagnies d'instrumentation dans le monde, avec un chiffre d'affaires annuel de plus d'un milliard de dollars et un nombre d'employés supérieur à 4400.

HORIBA Jobin Yvon fournit des équipements dans lesquels la spectroscopie optique est le dénominateur commun et compte un très grand nombre d'utilisateurs dans l'industrie et les domaines de la recherche publique et privée.

Analyse microscopique et moléculaire

- Spectroscopie Raman
- Spectrofluorométrie
- Microfluorescence X

Analyse Elementaire

- Fluorescence X
- Spectroscopie ICP Etincelle SDL
- Analyseurs élémentaires

Optique

- Réseaux et Spectromètres OEM
- Instrumentation VUV
- Spectroscopie Optique Modulaire

Analyse Granulométrique

Techniques Emergentes

- Caractérisation optique des couches minces
- Sciences criminalistiques

Exposant(s)

Mr François-Xavier VANBEVER Ingénieur commercial - HORIBA Jobin Yvon Tél : 03 20 59 18 00 - email : mma-info@jobinyvon.fr

JEOL (Europe) SAS

Espace Claude Monet 1 allée de Giverny 78290 Croissy sur Seine , France

Tél : 01 30 15 37 37 Email : sales@jeol.fr Site internet : www.jeol.com

Exposant(s)

Mr Bruno ACHARD Directeur commercial - JEOL (Europe) SAS



Tél : 01 30 15 37 37 - email : achard@jeol.fr

Mr Lionel CACHOULET Service Technique Rhone-Alpes - JEOL (Europe) SAS

Mr Patrice CAILLER Responsable Commercial Régional - JEOL (Europe) SAS

Mr Franck CHARLES Responsable Applications MEB - JEOL (Europe) SAS

Mr Etienne FREYRIA Directeur Technique - JEOL (Europe) SAS

Mr Jacky LARNOULD Service Technique - Responsable Régional Septimanie - JEOL (Europe) SAS

Guillaume LATHUS Responsable Commercial Régional - JEOL (Europe) SAS

Mr François LOPEZ Responsable Commercial Régional - JEOL (Europe) SAS

Mr Bernard PANTEL Service Technique - Responsable Régional Rhone-Alpes - JEOL (Europe) SAS

Mr Régis RAVELLE-CHAPUIS Responsable Applications MET - JEOL (Europe) SAS

Contribution(s) orale(s)

Titre : Breakthrough by Cs-corrected TEM in Atomic Resolution and Analytical Electron Microscopy Orateur : Dr Régis RAVELLE-CHAPUIS (JEOL EUROPE SAS) Proposé par : JEOL (Europe) SAS

Leica Microsystems

86 avenue du 18 Juin 1940 92563 Rueil-Malmaison, France

Tél : 06 15 19 65 38 Email : frederic.gilleron@leica-microsystems.com Site internet : www.leica-microsystems.com/EM_Specimen_Prep

Exposant(s)

Mr Frédéric GILLERON Leica Microsystems Mobile : 06 15 19 65 38 email : frederic.gilleron@leica-microsystems.com

Contribution(s) orale(s)

Titre : La congélation rapide haute pression et ses extensions Orateur : Daniel Studer (Université de Bern, Suisse) Proposé par : Leica Microsystems

LOT-ORIEL

4 allée des Garays 91120 Palaiseau, France

Tél : 01 69 19 49 49 Email : **soares@lot-oriel.fr** Site internet : **www.lot-oriel.fr**

Société et produits exposés

LOT-ORIEL est un groupe européen de distribution de matériels optiques et magnétiques destinés essentiellement au monde de la recherche. Fondé il y a plus de trente ans, sa présence dans chaque pays est assurée au travers d'un réseau de filiales disposant de leurs propres ingénieurs et service technique, la maison mère étant basée en allemagne. Si originellement LOT-ORIEL s'est spécialisé en optique et instrumentation optique, de nouveaux domaines d'activité se sont ajouté au cours du temps. Aujourd'hui, LOT-ORIEL est devenu un acteur majeur de l'analyse des surfaces et des couches minces par voie optique et de la caractérisation des matériaux, tant optique, thermique que magnétique. L'expertise de LOT-ORIEL est aujourd'hui reconnue dans de nombreux domaines, comme l'interférométrie, la profilométrie, l'ellipsométrie spectroscopique, la microscopie à champ proche ou la magnétométrie.



Ligne de produits présentés au colloque: Microscopes à Forces Atomiques et Microscopie à champ proche (JPK instruments, PNI, Witec) Systèmes d'imagerie multispectrale de CRI (Nuance, Maestro) et système d'imagerie en lumière polarisée (Aprio).

Exposant(s)

Mme/MIIe Anne DUPRAT Ingénieur - LOT-ORIEL Tél : 01 69 19 49 49 - email : duprat@lot-oriel.fr

Mr Nicolas TCHERBAK LOT-ORIEL email : tcherbak@lot-oriel.fr

Noesis

Espace Technologique de Saint-Aubin 91193 Gif sur Yvette

Tél : 01 64 86 78 50 Email : info@noesis.fr Site internet : www.noesis.fr



Société et produits exposés

Depuis plus de 20 ans, **Noesis** s'appuie sur sa plate forme **Visilog** pour proposer des solutions de traitement et d'analyse d'images dans de nombreux secteurs d'activités, aussi bien dans le domaine des matériaux que des sciences du vivant.

De nombreux laboratoires d'analyse, de contrôle ou de recherche font appel à ces solutions pour exploiter en routine leurs préparations, en particulier en microscopie électronique ou optique.

Le module Stage permet de piloter les platines motorisées et les principaux microscopes optiques du marché. Il est utilisé pour réaliser de véritables automates de contrôles permettant d'obtenir un grand nombre de mesures tout en déchargeant l'opérateur de manipulations fastidieuses.

Ces systèmes offrent une excellente répétabilité des mesures et peuvent être complétés par un module de contrôle d'accès et d'audit trail très utilisés en particulier dans l'industrie pharmaceutique (CFR 21 part 11).

Parmi de nombreux systèmes développés, on retiendra :

Dans le domaine des matériaux :

Mesure de taille de grains, mesure de la décarburation, mesure de la cotation inclusionnaire, contrôle de pollution sur membranes transparisées ou non, granulométrie d'agglomérats type béton, contrôle de dosimètres, contrôle de tamis

Dans le domaine des sciences du vivant :

Analyse granulométrique de poudre (industrie pharmaceutique), test de l'UDS (toxicologie génétique), test du micro noyau (toxicologie génétique), test des Daphnies (toxicologie environnementale), étude de la division cellulaire (microscopie à fluorescence)

Agence des Ulis 6-8 Rue de la réunion, ZA Courtabœuf 91540 les Ulis Tel : 33 (0)1 64 86 78 50

Agence de Crolles 283 rue Louis Néel, 38920 Crolles Tel : 33 (0)4 76 92 07 95

Exposant(s)

Mr Joseph BAPTISTA Ingénieur commercial - Noesis

Tél : 01 64 86 78 59 - email : jb@noesis.fr

Mr Laurent BERNARD

Chef de projet - **Noesis** Tél : 04 76 92 07 95 - Mobile : 06 31 67 95 17 email : **Ib@noesis.fr**

Mr Olivier DUFOUR

Ingénieur détude - **Noesis** Tél : 0476920796 - email : **od@noesis.fr**

Mr Sébastien FAVE Ingénieur d'étude - Noesis Tél : 0476920772 - email : sf@noesis.fr

Olympus

74 rue d'Arceuil 94533 Rungis, France



Your Vision, Our Future

Tél : 01 45 60 23 30/71/09 Email : microscopie.ofr@olympus.fr Site internet : www.olympus.fr

Société et produits exposés

Olympus France fait partie des leaders du domaine de l'optique et de l'imagerie numérique. Les produits qui découlent de cette technologie sont variés et Olympus utilise la transversalité de ses savoir-faire pour répondre aux besoins spécifiques d'activités pourtant différentes. Ainsi Olympus France, pour le domaine des sciences des matériaux et de l'Industrie, distribue une gamme complète de microscopes optiques. La particularité des microscopes Olympus est leur modularité qui leur permet de couvrir les besoins des utilisateurs aussi bien dans le domaine de la Recherche que celui de la production ou de contrôle. Olympus a pour objectif de proposer une solution complète à ses clients c'est-à-dire un microscope optique équipé d'un appareil ou d'une caméra numérique avec un logiciel d'analyse et de traitement de l'image. A ceci, la filiale française assure un Service Après Vente unique qui comprend la mise en service, la formation et l'entretien du matériel.

Exposant(s)

Mme/MIIe Najla AMIRA Chef de Produits - Olympus email : najla.amira@olympus.fr

Mr Christian FEUILLET Spécialiste applications Imagerie Sciences de la vie - Olympus email : christian.feuillet@olympus.fr

Mr Laurent JABOIN Délégué Technico-Commercial - Olympus email : laurent.jaboin@olympus.fr

Mr Vincent LIEVREMONT

Délégué Technico-Commercial - Olympus email : vincent.lievremont@olympus.fr

Mr William SIGNAC

Spécialiste applications Imagerie Sciences des Matériaux - Olympus email : william.signac@olympus.fr

Contribution(s) orale(s)

Titre : Donner à la métrologie une nouvelle dimension: le nouveau microscope confocal LEXT Orateur : William SIGNAC (Olympus) Proposé par : Olympus

Titre : FV1000, au-delà de la microscopie confocale Orateur : Christian FEUILLET (Olympus) Proposé par : Olympus

Oxford Instruments

Domaine Technologique de Saclay Bâtiment Ariane 4 rue René Razel 91892 Saclay



Tél : 01 69 85 25 24 Email : analytical-info@oxford-instruments.fr Site internet : www.oxford-instruments.com

Société et produits exposés

OXFORD INSTRUMENTS fournisseur sur le marché international de matériels d'instrumentation scientifique pour la recherche, le contrôle, l'expertise et les applications industrielles. EDS, EBSD, WDX. INCAEnergy, systèmes EDX rapides, puissants, intégrés, regroupant toutes les solutions analytiques en nanoanalyses avec une nouvelle génération de détecteurs :

- INCAx-act ADD (Analytical Drift Detector) sans azote liquide,
- INCAPentaFET-x, détecteur de 30mm2 3 fois plus sensible qu'un détecteur de 10mm2 avec les mêmes performances analytiques,
- HKL Premium, système à très haute vitesse d'indexation des clichés EBSD, intégré dans la plateforme INCA (INCASynergy),
- INCAWave, un système WDX performant à haute sensibilité pour les éléments traces avec un logiciel d'intégration EDX/WDX (INCAEnergy+).

Exposant(s)

Mr Dominique CONDAMIN

Ingénieur commercial - **Oxford Instruments** Tél : 01 68 85 25 24 - Mobile : 06 07 72 18 54 email : **dominique.condamin@oxford-instruments.fr**

Mr Keith DICKS

Ingénieur support EBSD - Oxford Instruments Tél : +44 (0)1494 442255 - email : keith.dicks@oxinst.co.uk

Mr Georg FROSCH

Directeur commercial Europe - Oxford Instruments Tél : +49 (0) 6122 937 176 - email : g.frosch@oxford.de

Mr Eric PASQUIER

Ingénieur applications - **Oxford Instruments** Tél : 01 69 85 25 24 - Mobile : 06 85 10 07 66 email : **eric.pasquier@oxford-instruments.fr**

Contribution(s) orale(s)

Titre : Détecteurs analytiques ADD sans azote liquide - Plateforme INCA en nanoanalyses Orateur : Eric Pasquier (Oxford Instruments) Proposé par : Oxford Instruments

Titre : Techniques de l'EBSD Orateur : Keith Dicks (Oxford Instruments) Proposé par : Oxford Instruments

SAMx

1554 route de la Roquette 06670 Levens, France

Tél : 04 97 00 10 00 Email : jft@samx.com Site internet : www.samx.com

Société et produits exposés

SAMx est une société spécialisée dans le domaine de la Microanalyse. Depuis 17 ans de nombreux produits ont été développés :

- Couches Minces STRATAGem
- Automatisation de Microsondes XMAS
- Système EDS incluant l'imagerie spectrale IDFix
- Logiciel stéréo 3D_TopX
- Logiciel de Monte Carlo Hurricane

Exposant(s)

Mr Marc LALANDE

Ingénieur technico commercial - **SAM**x Tél : 04 97 00 10 00 - Mobile : 06 70 48 25 55 email : **ml@samx.com**

ScienTec

ZA de Courtaboeuf 17 avenue des Andes Bâtiment Le Cèdres 91940 Les Ulis, France

Tél: 01 64 53 27 00





Société et produits exposés

La société ScienTec est à votre disposition sur son stand pour vous présenter ses équipements de mesure de surface :

Département mesure de surface :

Le département Mesure de surface regroupe les microscopies :

- AFM, STM (Agilent Technologies / Molecular Imaging)
- SNOM / RAMAN (Nanonics)
- Microscopie et profilométrie optique : interférométrie, confocal, technologie Sarfus, holographie. (Sensofar, Nanolane, Lyncee Tec)
- Profilométrie mécanique (KLA-Tencor)
- Nano-indentation. (Micro-Materials)

Quatre personnes sont spécialisées dans les problèmes d'application. Ce service application est épaulé par un support technique composé d'ingénieurs et de techniciens supérieurs. Afin de répondre au mieux aux besoins spécifiques des laboratoires, ScienTec dispose d'une équipe R&D qui développe des accessoires ou instruments sur mesure. Des collaborations se mettent ainsi en place pour optimiser vos mesures.

Microscopies champ proche (AFM, STM, SNOM):

Les microscopies à champ proche comptent entre autres les microscopies AFM, STM (Agilent Technologies / Molecular Imaging, Sensofar), et SNOM (Nanonics). Ces microscopes permettent de faire des analyses de l'échelle micrométrique à l'échelle atomique tout en préservant vos échantillons. De très nombreux modes de fonctionnement sont disponibles (magnétique, acoustique, current sensing, modulation de force...) et des analyses sont possibles sur tout type d'échantillon (biologie, polymères, couches minces...) dans différentes conditions comme en environnement contrôlé, en température contrôlée, en milieux liquides...

Profilométrie et microscopie 2D/3D :

Les techniques de profilométrie permettent également d'analyser les topographies de vos échantillons. La technologie Sarfus peut visualiser des objets uniques de dimension inférieure à la limite de diffraction optique. Cette technologie permet également des mesures de hauteur de 1nm à 60nm et de visualiser des évolutions en temps réel. Les microscopies optiques, notamment l'holographie (mesure 3D en dynamique), l'interférométrie et la microscopie confocale, sont adaptées pour les mesures tridimensionnelles non destructives. La profilométrie mécanique fait appel à un palpeur, venant analyser la rugosité et l'ondulation de vos surfaces.

Nano-indentation et magnétométrie :

La nano-indentation et la magnétométrie font aussi partie de nos axes de compétences. La magnétométrie permet de faire apparaître les propriétés magnétiques de vos matériaux, et ceci jusqu'à de très basses températures (de l'ordre de quelques Kelvins).

La nano-indentation permet de déterminer la fatigue, l'élasticité ainsi que les résistances à l'impact, à la rayure ou encore à l'usure. Notre nano-indenteur permet de pratiquer des tests jusqu'à 500°C.)

Exposant(s)

Mr Louis PACHECO

Ingénieur applications ventes - ScienTec Tél : 01 64 53 27 00 - email : pacheco@scientec.fr

SERMA Technologies

30 avenue Gustave Eiffel 33608 Pessac, France

Tél : 05 57 26 08 88 Email : **am.puyastier@serma.com** Site internet : **www.serma.com**



Société et produits exposés

Spécialisée dans l'analyse, le contrôle, l'expertise et le conseil dans les composants, cartes et systèmes électroniques et matériaux, SERMA Technologies accompagne ses clients dans le développement, la fiabilité, la pérennité et la sûreté de fonctionnement de leurs produits.

La société est à votre disposition sur son stand pour vous présenter ses différents types de prestations, et plus particulièrement celles liées à la Microscopie Electronique en Transmission (TEM) : 1/ Préparation de lames minces.

2/ Analyses TEM.

Nos compétences portent aussi bien sur des analyses de structure que de composition chimique effectuées sur des matériaux variés tels que semi-conducteurs (Si, Ge, GaAs...), métaux et alliages, composites à matrice céramique, quartz, poudres, nanofils, etc...

Les moyens de préparations de lames minces proposés sont :

1/le polissage tripode ;

2/ l'amincissement par ions Ar+ (Precision Ion Polishing System - PIPS) ;

3/ l'amincissement par ions Ga+ (Focused Ion Beam - FIB).

Ces méthodes permettent l'obtention de lames localisées pour l'observation TEM en vue de dessus ou de côté.

Les techniques d'analyses TEM proposées sont :

1/ la microscopie conventionnelle ("deux-ondes", "faisceaux faibles");

2/ la microscopie électronique en transmission haute résolution (HRTEM) ;

3/ la diffraction électronique ;

4/ la microscopie électronique en transmission à balayage (STEM) ;

5/ la spectroscopie de rayons X en dispersion d'énergie (X-EDS) ;

6/ la spectroscopie & cartographie chimique par pertes d'énergie des électrons (EELS & EFTEM).

Exposant(s)

Mr Sylvain DULPHY Ingénieur commercial - SERMA Technologies Tél : 04 38 02 36 91 - Mobile : 06 77 10 37 40 email : s.dulphy@serma.com

Synergie4

7 rue des cerisiers - ZI de l'églantier - CE 1546 LISSES 91015 Evry, France

Tél: 01 60 86 08 48 Email : infos@synergie4.com Site internet : www.synergie4.com

Société et produits exposés

L'équipe Synergie4 vous accueillera sur son stand pour vous présenter

- EDS Bruker : Système Quantax avec détecteur Xflash sans azote liquide (disponible en 30mm²)

- EBSD HKL Technology : Channel 5
- Logiciel Xfilm d'analyse de couches minces
- FISCHIONE Instruments : préparation d'échantillons en microscopie électronique en transmission
- SKYSCAN : microtomographie
- DENTON : dépôt sous vide pour la préparation des échantillons en microscopie électronique

Exposant(s)

Mr Daniel GALY

Responsable application - Synergie4 Tél : 01 60 86 08 48 - Mobile : 06 08 49 28 21 email : d.galy@synergie4.com

Mr Philippe LASSON

Directeur technique - Synergie4 Tél : 01 60 86 08 48 - Mobile : 06 10 49 19 01 email : p.lasson@synergie4.com

Mr Alan ROBINS

représentant Fischione Instruments - Synergie4 Tél : 00 44 1293 417 144 - email : ac_robins@fischione.com

Thermo Fisher Scientific

Thermo Electron SAS 16 avenue du Québec SILIC 765 91963 Courtaboeuf cedex, France



Thermo Fisher SCIENTIFIC

Email : analyze.fr@thermofisher.com Site internet : www.thermo.fr

Société et produits exposés



Synergie⁴
analytiques, matériels, consommables et fournitures de laboratoire, ainsi que des technologies révolutionnaires utilisées dans de nombreux domaines : la spectrométrie de masse, l'analyse élémentaire, la spectrométrie moléculaire, la préparation des échantillons, l'informatique, la culture cellulaire, la chimie fine, l'analyse d'interférence ARN, les tests d'immunodiagnostics, ainsi que le contrôle de la qualité de l'eau, de l'air et le contrôle des procédés. Avec un CA Annuel de 9 milliards de dollars, nous proposons nos services à plus de 350 000 clients issus d'horizons divers : sociétés pharmaceutiques et de biotechnologie, hopitaux et laboratoires de diagnostic clinique, universités, organismes de recherche et agences gouvernementales et nous intervenons également dans le cadre du contrôle des processus gouvernementaux et industriels.

La gamme Microanalyse X (EDX, WDX,EBSD) pour la microscopie électronique est représentée en France par la société ELEXIENCE, présente également sur ce colloque

Exposant(s)

Mr Bruno BECCARD

Expert technique - Thermo Fisher Scientific Tél : 01 60 92 48 67 - Mobile : 06 87 86 90 30 email : bruno.beccard@thermofisher.com

Mr Olivier BOURDIN

Sales account manager - Thermo Fisher Scientific Tél : 04 67 82 48 60 - Mobile : 06 87 86 90 38 email : olivier.bourdin@thermofisher.com

Mr Claude FAYOLLE

Sales manager - Thermo Fisher Scientific Mobile : 06 80 62 25 41 email : claude.fayolle@thermofisher.com

Mr Stephane LE BRAS

Ingénieur des ventes - **Thermo Fisher Scientific** Tél : 04 74 27 06 75 - Mobile : 06 89 49 52 60 email : **stephane.lebras@thermofisher.com**

Veeco Intruments

Z.I. de la Gaudrée11 rue Marie PoussepinBP 6004391412 Dourdan cedex, France

Tél : 01 64 59 35 20 Email : sales@veeco.fr Site internet : www.veeco-europe.com

Société et produits exposés

Veeco Instruments est le fabricant mondial le plus avancé d'équipements de procédés de gravure et de dépôt de précision, et d'outils de métrologie tels que la microscopie à force atomique, l'interférométrie optique et la profilométrie mécanique, conçus aussi bien pour l'industrie que pour la recherche.

Veeco sert les principaux fabricants de dispositifs pour le stockage de masse, l'opto-télécommunication et les semi-conducteurs ainsi que de nombreux industriels et chercheurs.

Les objectifs de Veeco se résument en trois points : 1.Rester performant dans le domaine de la haute technologie, 2.Développer toutes ses lignes de produits, 3.Introduire continuellement des produits nouveaux. De plus amples informations sont disponibles sur notre site internet http://www.veeco-europe.com

Exposant(s)

Mr Mickaël FEBVRE Ingénieur d'application - Veeco Intruments

Tél : 01 64 59 35 20 - email : mfebvre@veeco.fr

Mr Emmanuel PARIS

Sales manager metrology - Veeco Intruments Tél : 01 64 59 35 20 - email : emparis@veeco.fr



Recueil des résumés

Symposiums

1 – Conférences plénières	39
2 - Nouveaux développements techniques	46
3 – Imagerie 3D et reconstruction	56
4 - Microscopie quantitative	75
5 – Développements techniques en microscopie photonique	114
6 - Microscopie et rayonnement synchrotron	120
7 - Mesures de textures, déformations et contraintes - I	129
8 - Mesures de textures, déformations et contraintes - II	139
9 - Matériaux pour les transports et l'énergie	149
10 – Matériaux fonctionnels – I	177
11 – Matériaux fonctionnels – II	208
12 - Nano-objets	220
13 – Les virus : structure et mécanismes d'infection	258
14 – Approches 3D en imagerie moléculaire et cellulaire	272
15 – Approches 3D en imagerie tissulaire et intra-vitale	282
16 – Nanoparticules et colloïdes organiques ou hybrides	293
17 – Auto-assemblage, auto-organisation, cristaux liquides	302
18 - Contributions des exposants « Au café de l'expo »	318

Symposiums propres GN-MEBA

1 – Nouveaux développements techniques	322
2 – Mesures des textures, déformations et contraintes	324
3 – Imagerie 3D et reconstruction	326

La Microscopie Electronique en Transmission : de l'observation à la mesure

Jany THIBAULT-PENISSON

TECSEN-UMR6122-CNRS ; Université Paul Cézanne Aix-Marseille III, 13397 Marseille cedex

Cette présentation montrera que le microscope électronique en transmission doit être considéré maintenant comme un véritable instrument de mesure. Il a non seulement permis de découvrir de nouveaux "objets" : mais aussi d'explorer la matière "dure ou molle" grâce aux nombreux modes de fonctionnements disponibles sur les instruments en faisceau fixe ou sonde balayée : imageries, diffractions, spectroscopies. En plus l'ajoût d'accessoires (prisme pour holographie..) ou portes-objets spéciaux (refroidissants, chauffants, déformants...) permet d'accéder à des informations plus spécifiques sur les propriétés physiques des matériaux étudiés faisant du microscope un véritable "nano laboratoire". La révolution informatique permettant d'acquérir, numériser et traiter tout type de signal a grandement contribué à cette transformation d'une microscopie électronique d'observation à une microscopie de mesure.

Une brève introduction rappellera les jalons historiques théoriques et expérimentaux du développement de la microscopie en transmission. Les "observations" TEM qui ont marqué la science des matériaux et la biologie seront rappelées. C'est en effet grâce aux observations TEM que furent imagées par exemple les organites des cellules, les dislocations, et mis en évidence de nouveaux "objets" comme les quasicristaux et les nanotubes de carbone.

Parmis les nombreux résultats passionnants obtenus grâce à la microscopie en transmission, quelques exemples choisis de façon tout à fait "subjective" seront présentés illustrant la puissance de cette technique dans ses différents modes de fonctionnement. L'apport des "correcteurs d'aberrations et des monochromateurs" ne sera abordé qu'en conclusion car cette révolution de l'optique électronique qui après une longue gestation arrive enfin sur les microscopes du commerce sera largement développée tout au long de ce congrès.

New Developments in Photonic Microscopy : Laseroptical Nanoscopy of Cellular Structures

Christoph Cremer

Applied Optics& Information Processing, Kirchhoff-Institute for Physics, and Biophysics of Genome Structure, Institute for Pharmacy and Molecular Biotechnology University Heidelberg, D-69120 Heidelberg;

Institute for Molecular Biophysics, The Jackson Laboratory/University of Maine, Bar Harbor/ME 04609

e-mail: cremer@kip.uni-heidelberg.de

Organisms are made up of single cells; single cells contain a large number of highly structured macromolecule complexes ("biomolecular machines", BMMs) to perform essential tasks, such as replication, transcription and repair of DNA, RNA splicing, protein synthesis and degradation, intracellular molecular transport, or the transfer of ions and proteins across cell membranes. Typically, such BMMs have a size in order of few tens of nm to about 100 nm. Furthermore, experimental and theoretical evidence is accumulating that small chromatin domains in the cell nucleus may also form functional nanostructures and thus constitute an additional class of BMMs [1]. For example, a current topic of research is the relation between the three dimensional (3D) folding of the DNA fibers in the cell nucleus and the regulation of gene expression. Since the individual cell is the basic structure of life, it is of utmost importance for understanding the complex system of the cell to complement biochemical and molecular biology analyses (typically based on the disruption of many cells into its constituents) with the study of the individual cell itself. This requires appropriate single cell analysis tools, in particular a combination of molecular labelling and optical imaging.

While Electron microscopy and other ultrastructure imaging methods based on ionizing radiation have the great advantage of an unprecedented optical resolution, 'visible' light (range from near ultraviolet to near infrared) offers other advantages, such as simultaneous identification of multiple types of appropriately labeled molecules in single, three-dimensionally intact cells, even in living ones. Thus, it should be highly useful to complement the potential of ultrastructure procedures with novel approaches to perform high resolution analyses of cellular structures also using visible light microscopy.

Presently, light optical techniques like Fluorescence Energy Transfer (FRET) or Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP)/Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) allow to measure distances between two interacting molecule types down to the few nanometer level and to analyse intracellular mobilities of labelled molecules [2,3]. For a full understanding of functional cellular processes, however, additional structural information is necessary. A serious problem to achieve this goal is the conventional light microscopical resolution limited to about 200 nm laterally (about half the wavelength used) and 600 nm axially; that means that cellular nanostructures cannot be adequately resolved to provide full functional information.

Various recently introduced laser optical "nanoscopy" approaches allow to overcome this problem.

Spectral Precision Distance Microscopy [SPDM; 4–7]. SPDM is a method of Localization Microscopy to determine positions and mutual distances far below the conventional optical resolution limit (COR). Originally, this limit has been defined as the smallest distance detected between two point like objects (Abbe 1873); implicitly, it is assumed that both objects have the same 'color', i.e. the same spectral signature (any label by which one can 'sort' the photons registered by the two objects, characterized e.g. by differences in absorption, fluorescence spectrum, lifetime etc.). It is obvious that in the case two point like objects can be distinguished by their spectral signature and thus the diffraction images of the two objects can be registered independently from each other, the distance resolution is not any more determined by COR but by the localization precision of the individual objects and by the capability to correct for optical aberrations. In this case, in addition to the distances, one obtains also the positions of the individual objects. This idea is well established since decades in Astronomy and can also be applied to the analysis of cellular nanostructures by visible light microscopy. In this case, it comprises the following steps: 1) Molecular labelling of the nanostructures to be analysed in such a way that in a given observation volume (corresponding to the Full-Width-at-Half-Maxima [FWHM] of the Point Spread Function [PSF] of the microscope system used), at a given time only one object/molecule of a given spectral signature is present; various 'point like' objects/molecules within the observation volume are labeled with different spectral signatures; 2) For each spectral signature, the microscopic image is registered separately; 3) For each registered object of a given spectral signature, the object/molecule position is determined from the respective diffraction images by appropriate algorithms, for example by adaptation of a Gaussian, a PSF, or simply by calculating its bary center (fluorescence intensity 'gravity center'); 4) Optical aberrations are carefully corrected for. Especially important are the aberrations caused by the use of different spectral signatures (e.g. chromatic aberrations); 4) The corrected positions of the objects are listed and can be presented as an image like in the 'pointilistic' paintings of impressionism. Therefore, localization microscopy techniques have also been referred to as 'pointilism' (R. Heintzmann).

In this way, the measurement of positions and mutual distances of 'point-like' fluorescent cellular structures in a range far below the conventional resolution limit was achieved. For example, confocal SPDM allowed an intracellular 3D distance resolution of about 50 nm, or 1/10 of the wavelength used. Examples for the application of SPDM in nuclear genome structure research are the analysis of the BCR-ABL region [8]; or of the distribution of genes in the active and inactive X-chromosome territory [9].

Spatially Modulated Illumination [SMI] far field light microscopy [10-13] allows a highly improved localization precision and is capable to measure the diameter of individual fluorescent subwavelength sized small objects with high accuracy. Its principal idea is 1) To create a standing wave field by two counter propagating laser beams. This can be achieved e.g. by focusing two beams derived from the same laser source into the back focal planes of two opposing high numerical aperture objective lenses. 2) The fluorescence labelled object structures positioned in the standing wave field are excited, according to their position; the object is moved in small steps (e.g. 20 nm, or 40 nm) along the optical axis; at each axial position, an image is registered. The axial intensity profile of a fluorescent object. Both theoretical considerations/simulations, and experimental calibration results using objects of known diameter revealed that under certain conditions, the axial extension of the objects (size) can be determined down to few tens of nm. In addition, the localization precision of small fluorescent objects is highly improved (down to the 1.0 nm regime). Several application examples indicated the usefulness of SMI-"nanoscopy" for the study of gene compaction on the level of nuclear protein complexes like transcription factories [14] and individual gene regions [15, 16].

<u>Confocal laser scanning 4Pi-microscopy</u> is a microscope approach to scan the object by laser light focused from all sides ("4Pi" geometry) and to detect confocally the fluorescence excited [17]. Using two opposing high numerical aperture lenses, confocal laser scanning 4Pi-microscopy [18- 20] has now become an established "nanoscopy" method, allowing an axial optical resolution and hence a size determination down to the 100 nm regime. Recently, this method has been offered by a commercial manufacturer and introduced in a number of biophysically oriented laboratories. Application examples presented are the analysis of ion channel distribution in the cell membrane (collaboration with E. Zitron, C. Karle, Cardiology Dept. Univ. Heidelberg) and the analysis of replication factories in the nucleus of individual cells (collaboration with M.-C. Cardoso, MDC Berlin).

Stimulated Emission Depletion (STED) microscopy was pioneered by Stefan Hell and his group and has made it possible to overcome by many times the classical "Abbe limit" of optical resolution. The principal idea of STED is to excite a diffraction limited small area (e.g. of 200 nm diameter) by a first laser beam; then the fluorescence in this area is depleted by a second 'STED' laser beam (using a slightly other wavelength) *except* a very narrow central area (e.g. of 20 nm diameter). Under these conditions, only this tiny center will emit fluorescence photons of a given energy (wavelength) and thus be registered. The optical resolution (smallest distance resolvable for objects of the same spectral signature) corresponds to the diameter of the tiny fluorescent center created by the STED process. The image is realized by point by point scanning; in the end the image can be reconstructed from the site dependent fluorescence intensities as in conventional laser scanning microscopy. Using STED microscopy, the protein distribution on membranes has been studied with an effective optical resolution of about 15 nm, i.e. down to the macromolecular level [21].

Patterned excitation microscopy [22, 23] provides another way to overcome the conventional "Abbe limit" of light microscopy. In this approach, a structured illumination pattern combines with high-spatial frequencies in a sample to produce low-frequency moiré patterns that are registered; mathematical techniques are then used to form a real image at enhanced resolution from multiple individual moiré images acquired using different illumination pattern orientations. The resolution enhancement depends on the spatial frequencies contained in the illuminating pattern. Presently, around 100 nm laterally and 200 nm axially are achieved.

Photoactivated Localization Microscopy (PALM/FPALM) was introduced recently by the E. Betzig and S. Hess groups [24,25]. A similar method was published by Rust et al. [26]. As in Spectral Precision Distance Microscopy (SPDM), (F)PALM is a localization microscopy method based on very precise (nanometer) positioning of subwavelength sized objects, in this case single molecules. Whereas SPDM, however, requires objects of different spectral signature to resolve them spatially within the observation volume given by the microscope used, (F)PALM allows an effective optical resolution in the 10 nm range even in the case that all objects are labelled with the same type of fluorochrome.

To achieve this, the cellular structure to be analysed is labeled with fluorescent molecules (e.g. proteins) which can be photoactivated. Photoactivation occurs stochastically and when performed in the low dose regime only a small fraction of molecules will be activated. By appropriately small intensities, just one molecule within an observation volume is activated. This enables the discrimination of single molecules which would otherwise be indistinguishable from their neighbors. These activated molecules are then excited to fluorescence emission by a read out laser beam. By determining the center of the fluorescence emission of a photoactivatable molecule through a statistical fit of an approximate PSF to its measured photon distribution, the position of the molecule can be determined with an accuracy considerably superior to the conventional optical resolution limit of ~200nm (laterally). By bleaching the fluorophores irreversibly during the fluorescence read out and repeating the activation and measurement steps, another fraction of the molecules can be measured. After an appropriate number of repetitions (e.g. 20,000) an image with a much improved (few tens of nanometers) spatial resolution can be obtained.

Instead of spatial scanning of the object like in 4Pi-, STED, SMI, or patterned excitation microscopy, this microscopy approach requires the registration of multiple (thousands) of images of the same specimen, i.e. the optical resolution is improved by 'scanning' the fourth coodinate of the space-time continuum. If the smallest size of photoswitchable fluorophores is assumed to be in the 1 - 2 nm range, then (F)PALM should in principle allow to realize an effective optical resolution at the molecular level; it should be combined advantageously with other nanoscopy approaches, e.g. SMI/patterned excitation, STED, or SPDM.

To summarize, it is anticipated that these and other novel developments in laseroptical nanoscopy will eventually bridge the gap between ultrastructure methods (nm optical resolution) and visible light far field microscopy (conventionally hundreds of nm optical resolution) in such a way that the same cellular structure can be imaged at almost similar (down to molecular) spatial resolution. This will provide an essential contribution to a direct insight into the 'machinery' of life on the individual cell level, from the replication and repair of DNA to the change in folding of the chromatin fiber at the activation/silencing of a gene, to its transcription, to the processing of the mRNA produced, to the transport of mRNA to the cytoplasm through the nuclear pores and its translation into proteins, to the assembly and disassembly of macromolecular complexes, up to the signal transduction at the cell membrane and the molecular interaction between neigboured individual cells. Beyond these exciting prospects for fundamental biophysical research, it is anticipated that laseroptical nanoscopy methods will also provide additional valuable tools for the analysis of the interaction of 'biomolecular machines' and pharmaceutical drugs on the level of single cells/single BMMs.

References

- [1] Cremer, T. and C. Cremer (2001) Nature Rev. Genet. 2, 292 301.
- [2] Jares-Erijman E.A. and T.M. Jovin (2003) Nature Biotechnology21:1387 1395.
- [3] Braga J., J.M.P. Desterro, and M.Carmo-Fonseca (2004) Mol. Biol. Cell 15: 4749 4760.
- [4] Bornfleth, H., K. Sätzler, R. Eils, and C. Cremer (1998) J. Microsc. 189, 118-136.
- [5] Van Oijen, A. M., J. Köhler, J. Schmidt, and G.J. Brakenhoff (1998) Chem. Phys. Letters, 292, 183-187.
- [6] Lacoste, T.D., X. Michalet, F. Pinaud, D.S. Chemla, A.P. Alivistatos, and S. Weiss, S. (2000). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 9461-9466.
- [7] Schmidt, M., M. Nagorni, and S.W. Hell (2000) Rev. Sci.Instr. 71, 2742-2745.
- [8] Esa, A., P. Edelmann, L. Trakthenbrot, N. Amariglio, G. Rechavi, M. Hausmann, and C. Cremer, C. (2000) J. Microscopy 199: 96 105.
- [9] Dietzel, S., K. Schiebel, G. Little, P. Edelmann, G.A. Rappold, R. Eils, C. Cremer, and T. Cremer (1999) Exp. Cell. Res. 1; 252, 363-375.
- [10] Albrecht B., A. Schweitzer, A.V. Failla, P. Edelmann, and C.Cremer (2002) Applied Optics 41: 80 87.

- [11] Failla A.V., A. Cavallo, and C. Cremer (2002a) Appl. Optics 41: 6651 6659.
- [12] Failla A.V., B. Albrecht, U. Spoeri, A. Kroll, and C. Cremer (2002b) Applied Optics 41: 7275 7283.
- [13] U. Spöri, A. V. Failla, C. Cremer (2004) J. Applied Physics 95: 8436-8443
- [14] Martin S., A.V. Failla, U. Spöri, C.Cremer, and A. Pombo (2004) Molecular Biology of the Cell 15: 2449–2455.
- [15] Hildenbrand G., A. Rapp, U. Spoeri, Ch. Wagner, C. Cremer, and M. Hausmann (2005) Biophys. J. 88:4312-4318.
- [16] Mathee H., D. Baddeley, C. Wotzlaw, J. Fandrey, C. Cremer, U. Birk (2006) Nanostructure of specific chromatin regions and nuclear complexes. Histochem. Cell Biol. 125: 75 82
- [17] Cremer C. and T. Cremer (1978) Microsc. Acta 81: 31 44.
- [18] Hell S.W., E. H. K. Stelzer, S. Lindek, and C. Cremer (1994) Optics Lett. 19: 222-224.
- [19] Hänninen, P.E. S. W. Hell, J. Salo, E. Soini, C. Cremer, (1995) Appl. Phys. Lett 66: 1698-1700.
- [20] Egner A., S. Jakobs, and S.W. Hell (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 3370 3375.
- [21] Donnert, G., Keller, J., Medda, R., Andrei, M.A., Rizzoli, S.O., Lührmann, R., Jahn, R., Eggeling, C., Hell, S.W. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 11440 – 11445.
- [22] Heintzmann, R., T. Jovin, and C. Cremer (2002) J. Opt. Soc. Am. A 19:1599 1609.
- [23] Gustafsson, M.G. (2005) Proc Natl Acad Sci U S A. 102:13081-6.
- [24] Betzig E., G.H. Patterson, R. Sougrat, O.W. Lindwassser, S. Olenych, J.S. Bonifacino, M.W. Davidson, J. Lippincott-Schwart, and H.F. Hess (2006) Sciencexpress August 10, 2006.
- [25] Hess S.T., T.P.K. Girirajan, and M.D. Mason (2006) Biophys. J. 91: 4258 4272.
- [26] Rust M.J., M. Bates and X. Zhuang Nature Methods 3, 793 796 (2006).

Acknowledgments

This work was supported by funds from the State of Baden-Wuerttemberg, the Deutsche Forschungsgemeinschaft, the Bundesminister für Bildung und Forschung (BMBF), and the European Union. For further details and acknowledgements see also www.kip.uni-heidelberg.de

Etat de l'art et actualités en microscopie X

Jean Susini

European Synchrotron Radiation Facility, BP220, 6, rue Jules Horowitz, 38043 Grenoble

Résumé - Cet exposé fera le point sur les évolutions récentes en microscopie X tant sur le plan instrumental que sur celui des applications. L'accent sera plus particulièrement mis sur les nouveaux développements dans la gamme des rayons X durs, tels que développés à l'ESRF. Deux configurations seront considérées : le mode imagerie avec ou sans optique et le mode microsonde à balayage couplée à des techniques de spectroscopie d'absorption X et de fluorescence X. Les avantages et inconvénients des microscopies X seront discutés et illustrés à l'aide d'exemples d'applications.

1. Introduction

Dès la découverte des rayons X par Röntgen en 1896, la possibilité de faire de l'imagerie avec des photons de très courtes longueurs d'onde a motivé un grand nombre de développements visant à faire de la microscopie X une alternative à la microscopie électronique. Les absences concomitantes d'optiques X performantes et de sources X intenses, ont fait que ces efforts sont restés infructueux et que la microscopie X n'a pas connu l'essor espéré en particulier en comparaison avec le développement considérable de la microscopie électronique et visible. Depuis une quinzaine d'années, le contexte a considérablement évolué. La microscopie X bénéfice aujourd'hui de sources synchrotrons dites de troisième génération qui offrent une grande brillance (10 ordres de grandeur plus intense qu'un tube à rayons X classique), une grande extension en longueur d'onde, un contrôle de la polarisation ainsi que de la cohérence. Les microscopes X actuels utilisent des optiques perfectionnées, produits des techniques modernes de microélectronique, qui permettent d'atteindre des résolutions inférieures à 50nm [1-3]. Enfin, le développement de nouveaux détecteurs X pour l'imagerie médicale et l'astrophysique apparaît comme un facteur d'évolution supplémentaire.

2. Deux regions spectrales distinctes

Deux domaines spectraux distincts sont à considérer. Ils diffèrent non seulement par leur instrumentation (monochromateurs, lentilles, détecteurs) mais aussi par leurs domaines d'application qui sont intrinsèquement liés aux spécificités des interactions rayonnement-matière [4].

Le domaine des *X mous* s'étend environ de 200 à 1500 eV. Ce domaine inclut d'une part la *fenêtre de l'eau*, région spectrale comprise entre le seuil K du carbone (284 eV) et celui de l'oxygène (543 eV), dans lequel le rayonnement est faiblement absorbé par l'eau (pénétration de plusieurs microns), mais assez fortement absorbé par la matière organique pour obtenir un contraste naturel sur des objets hydratés et n'ayant subi qu'un minimum de préparation. L'autre extrémité du domaine spectral, autour de 1 keV, est très riche pour la spectroscopie car il contient les seuils K de quelques éléments de grande importance biologique mais aussi les seuils L des éléments de transition et les seuils M des terres rares. Les contrastes d'absorption et de phase étant ici les mécanismes de base pour l'imagerie. Les applications vont de la biologie en milieu hydraté jusqu'à l'analyse de polymères. Cependant l'imagerie tridimensionnelle d'échantillons biologiques reste encore aujourd'hui l'un des objectifs majeurs de la microscopie X dans la fenêtre de l'eau [5]. Les avantages et les inconvénients de la microscopie en biologie sont discutés en détail dans les références [6, 7]. En parallèle aux projets utilisant le rayonnement synchrotron, des projets de microscope X de laboratoire sont également à l'étude [8].

Le domaine des *X durs* couvre approximativement une région spectrale entre 2 keV et 50 keV. Les contrastes privilégiés sont la fluorescence X et les effets de phase. La très grande pénétration des X durs associée à la grande longueur focale des optiques en font une microsonde idéale pour les études in-situ, qui nécessitent des environnements contrôlés (température, pression, hydratation, pH, ...). Les instruments récents se caractérisent par une approche multimodale combinant plusieurs types de détections allant de la micro-diffraction, micro-fluorescence et micro-spectroscopie [9] (voir figure 1). L'utilisation de faisceaux monochromatiques, polarisés permet des seuils de détection très inférieurs au ppm et limite aussi les effets radiatifs. Les techniques émergentes sont la fluorescence X tridimensionnelle [10], la détection de métaux traces et la cartographie chimique appliquées à des domaines aussi variés que la biologie, les sciences des matériaux, l'archéologie et les sciences de l'environnement.

3. Une nouvelle approche: « Coherent X-ray Diffraction Imaging - CDI »

L'évolution de la microscopie vers des résolutions latérales nanométriques reste encore limitée par les lentilles de focalisation. Leurs efficacités et leurs ouvertures numériques restent trop faibles pour atteindre des résolutions inférieures à 10nm. Par ailleurs la profondeur de champ (de l'ordre de 1 μ m) et la longueur focale (300 μ m) limiteront, dans tous les cas, l'épaisseur des échantillons et la possibilité d'analyse *in-situ*. Ces limitations ont motivé le développement de nouvelles approches qui s'affranchissent en grande partie de l'utilisation de lentilles. L'une des plus prometteuses est basée sur la combinaison de l'analyse d'images de diffraction ou de

speckle, obtenues sur les échantillons non-périodiques, en éclairage cohérent [12]. Contrairement au cas d'un éclairage en lumière incohérente, la diffraction en mode cohérent contient non seulement l'information sur l'amplitude mais aussi sur les variations de phases. La reconstruction dans l'espace réel est alors réalisée par divers algorithmes de sur-échantillonnage utilisant des contraintes initiales [13]. La démonstration expérimentale a été réalisée avec succès sur des systèmes biologiques [14] et des matériaux durs [15]. Il a été montré que la morphologie tri-dimensionnelle est accessible à des résolutions de l'ordre de 7nm.



Figure 1: schéma de principe d'une ligne de lumière synchrotron moderne utilisant une microsonde X.

4. Références

- [1] W. Chao, B. Harteneck, J. Liddle, E. Anderson, et D. Attwood, Soft x-ray microscopy at a spatial resolution better than 15 nm, Nature **435** (2005) 1210-1213.
- [2] H. Mimura, H. Yumoto, S.Matsuyama, Y. Sano, K. Yamamura, Y. Mori, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, T. Ishikawa et K. Yamauchi, *Efficient focusing of hard x rays to 25 nm by a total reflection mirror*, Applied Physics Letters, **90** (2007) 051903-051906.
- [3] H. Kang, J. Maser, G. Stephenson, C. Liu, R. Conley, A. Macrander et S. Vogt, Nanometer linear focusing of hard X rays by a mulilayer Laue lens, Physical Review Letters **96** (2006) 127401-127044.
- [4] M. Howells, C. Jacobsen et T. Warwick, *Principles and applications of zone plate X-ray microscopes, Science of Miscrocopy*, Eds. Peter W. Hawkes & John C.H. Spence, XXXVI, Berlin, Springer (2007).
- [5] C.A. Larabell et M.A. Le Gros, X-ray tomography generates 3D reconstruction of the yeast, Saccharomyces cerevisiae, at 60 nm resolution, Mol. Biol. of the Cell **15** (2004) 957-962.
- [6] R. Henderson, *The potential and limitations of neutrons, electrons, and X-rays for atomic resolution microscopy of unstained biological molecules*, Q. Rev. Biophys. **28** (1995) 171-193.
- [7] J. Kirz, C. Jacobsen, et M. Howells, *Soft X-ray microscopes and their biological applications*, Q. Rev. Biophys. **28** (1995) 33–130.
- [8] J.F. Adam, J.P. Moy et J. Susini, Top table water window transmission x-ray microscopy: Review of the key issues and conceptual design of an instrument for biology, Review of scientific instruments 76 (2005) 0910301-0910315.
- [9] A. Manceau, M. A. Marcus, et N. Tamura, *Quantitative speciation of heavy metals in soils and sediments* by synchrotron X-ray techniques, Applications of Synchrotron Radiation in Low-Temperature Geochemistry and Environmental Sciences **49** (2002) 341-428.
- [10] J. Susini, Synchrotron Based X-ray Microscopy and Micro-Spectroscopy:Multidisciplinary Tools, Microscopy and Microanalysis 11 (2005) 678-679, Cambridge University Press.
- [11] B. Golosio, A. Somogyi, A. Simionovici, P. Bleuet, L. Lemelle et J. Susini, Non destructive Threedimensional elemental micro-analysis by combined helical X-ray micro-tomographies, Applied Physics Letters 84 (2004). 2199-2201.
- [12] D. Sayre et H. N. Chapman, X-ray microscopy, Acta Crystallogr. A 51 (1995) 237–252.
- [13] J. Miao, P. Charalambous, J. Kirz, et D. Sayre, *Extending the methodology of X-ray crystallography to allow imaging of micrometre-sized non-crystalline specimens*, Nature **400** (1999) 342-344.
- [14] D. Shapiro, P. Thibault, T. Beetz, V. Elser, M. Howells, C. Jacobsen, J. Kirz, E. Lima, H. Miao, A. M. Neiman, et D. Sayre, *Biological imaging by soft x-ray diffraction microscopy*, PNAS **102** (43) (2005) 15343-15346.
- [15] G. J. Williams, M. A. Pfeifer, I. A. Vartanyants et I. K. Robinson, *Three-dimensional imaging of microstructure in gold nanocrystals*, Phys. Rev. Lett. **90** (2003) 175501-175506.

Aberration Corrected Electron Microscopy: Prospects and Applications.

A I Kirkland^{a,*}

^a Department of materials, Parks Road, Oxford, OX1 3PH, UK

Abstract- Aberration correction in the TEM is now relatively well established with more than 20 corrected instruments installed worldwide. This paper will review these instrumental advances and will also describe the underlying theory and computation required to optimise data acquisition and interpret aberration corrected images. Finally the combination of direct electron optical correction and indirect aberration compensation in exit wave reconstruction will be described.

1. Introduction

The modern High Resolution Transmission Electron Microscope (HRTEM), operating at voltages between 200 and 400kV provides sufficient resolution to directly determine the projection positions of atoms in many solids. In addition a variety of additional signals can be acquired using bright nanometre sized electron probes that provide complementary chemical and electronic structure information. It is also now possible to acquire multiimage datasets that can be reconstructed to give a full three dimensional representation of materials, albeit not currently at atomic resolution.

Over the last few years the performance of electron microscopes has undergone a dramatic improvement with significant advances in both resolution and spectroscopic capability. This has been made possible through the development of sophisticated electron optical components for the correction of the intrinsic spherical aberration present in conventional electromagnetic round lenses. It is now possible to acquire atomic resolution structural data from a wide range of materials using several alternative optical geometries and to determine electronic structure and composition with single atom sensitivity.

Aberration correction has also required advances in theory and computation. It is essential that the coefficients of the wave aberration function are measured reliably and to high accuracy using the information present in general samples including crystalline materials.

2. Instrumentation

A JEOL 200kV FEG(S)TEM with both probe and imaging aberration correctors and an in column energy filter was installed in Oxford in 2003 [1,2] (Figure 1 (a)). The correctors are based on a design due to Rose and Haider [3] in which the primary elements consist of a pair of strong hexapoles and two round-lens doublets. In practice adjustment of the imaging corrector is achieved using a Zemlin tableau of diffractograms calculated from images of a thin amorphous foil and recorded at several tilt azimuths with constant tilt magnitude [4]. These datasets provide measurements of the tilt-induced defocus and 2-fold astigmatism yielding linear estimates for the coefficients of the wave aberration function. For practical measurement a computationally efficient algorithm in which each experimental diffractogram is compared to a library of precalculated diffractograms is used [5]. The spherical aberration and other aberration coefficients may be set to zero for pure amplitude contrast, or the spherical aberration coefficient may be set to a small negative value for optimum phase contrast [6,7].

3. Combining Direct and Indirect Methods

Direct correction offers the advantage that it may be achieved on line with a single image and does not require post acquisition processing. However with current generation optical elements correction of aberrations in the TEM extends to third order and the recorded data comprises intensity only. In contrast indirect compensation of the aberrations recovers the complex exit wave and correction to any order is theoretically possible, limited only by the measurement accuracy. The disadvantage is that this is an off-line technique requiring multiple image datasets.

Indirect and direct methods used in combination provide further advantages. For the focal series geometry, the elimination of tilt-induced axial coma relaxes the requirement of using parallel illumination. For a tilt series dataset, the elimination of tilt induced axial coma gives rise to less critical focus conditioning for a given tilt magnitude and multiple tilt magnitudes are possible without any induced focus change. Localised compensation of higher order aberrations up to 5th order is also possible.

Figure 1(b) illustrates a typical phase plates obtained after initial electron optical correction to third order followed by compensation to fifth order using locally determined values of the aberration coefficients, with the latter clearly showing a clear improvement in the extent of transfer within a $\pi/4$ phase limit to sub 0.1nm levels.





Figure 1. (a) The 200kV double aberration corrected TEM installed in Oxford. (b) Phase plate after local refinement of aberrations to 5^{th} order. Black to white represents a phase shift of π . Inner and outer circles represent resolution limits of 0.1 and 0.08nm.

3. Conclusion

We have demonstrated the successful installation and testing of the world's first double aberration corrected instrument and have illustrated its use in a range of materials problems. The development of combination methods employing both direct and indirect correction of the aberrations has also been described.

4. References

- [1] J. L. Hutchison et al. Ultramicroscopy 103 (2005) 7-15
- [2] H. Sawada et al. J. Electron Microscopy 54 (2005) 119-121
- [3] M. Haider et al. Ultramicroscopy 75 (1998) 53-60
- [4] F. Zemlin et al. Ultramicroscopy. 3, (1978) 49-60
- [5] S. Uhlemann & M. Haider Ultramicroscopy 72 (1998) 109-119
- [6] M. Lentzen et al. Ultramicroscopy 92 (2002) 233-242
- [7] A. I. Kirkland et al. *Microscopy and Microanalysis* 12 (2006) 461-468.

Microscopie Raman stimulée CARS: développements récents et applications

Hervé Rigneault

Institut Fresnel, Mosaic group, CNRS UMR 6133, Univ. Paul Cézanne, Domaine Universitaire St Jérôme, 13397 Marseille Cedex, France

Résumé - Voir les molécules sans les marquer, voici l'objectif que s'est fixé la microscopie Raman stimulée. Plus connue sous le nom de microscopie CARS pour Coherent Antistokes Raman Scattering, cette approche consiste à faire interagir de manière sélective une liaison chimique avec des champs lasers incidents et focalisés sur l'échantillon. Dans cet exposé nous reviendrons sur l'origine du contraste CARS, sa mise en œuvre et nous donnerons des exemples d'application en biologie cellulaire et tissulaire.

L'utilisation de la microscopie optique en biologie est motivée par le fait qu'elle est une des seules à pouvoir être mise en oeuvre in vivo. La microscopie de fluorescence, à un ou deux photons, est l'une des techniques les plus utilisées de nos jours. Malgré sa simplicité d'utilisation, elle requiert le marquage des espèces chimiques d'intérêt par des molécules fluorescentes. Ces dernières peuvent être photoblanchies, altérer le comportement de la cellule vivante, voire se révéler phototoxiques vis-à-vis de celle-ci. Les techniques de microscopie nonlinéaire (microscopie par génération de seconde ou de troisième harmonique par exemple) développées depuis les années 90 visent à s'affranchir de cette étape de marquage. Parmi ces approches, la microscopie CARS (Coherent Anti-stokes Raman Scattering) tient un rôle particulier¹. En effet, le mécanisme de contraste des images se base sur la présence ou non de molécules possédant des modes vibrationnels ou rotationnels particuliers. Pour la première fois mise en oeuvre par Duncan et al.², cette technique a été proposée en configuration colinéaire par Zumbusch et al.³. Sa mise en oeuvre nécessite deux sources lasers synchronisées (appelées « pompe » et « Stokes ») générant des impulsions ultracourtes de pulsations centrales respectives ω_p et ω_s . Ces impulsions sont spatialement superposées et focalisées par le biais d'un objectif de forte ouverture numérique dans l'échantillon d'intérêt. Un rayonnement cohérent est alors émis à la fréquence $\omega_{as} = \omega_n - \omega_s$ par un processus de mélange à quatres ondes⁴. Lorsque la différence de fréquences ω_{n} - ω_{s} est égale la fréquence vibrationnelle Ω d'une espèce moléculaire présente dans le milieu, cette émission à la pulsation ω_{as} (appelée émission CARS) est exaltée (Figure 1 (C)).



Figure 1 - (A) Processus Raman spontané Stokes utilisé dans la diffusion Raman, (B) Processus Raman spontané anti-Stokes, (C) Processus CARS

Ce phénomène est classiquement décrit par le tenseur non-linéaire du troisième ordre $\chi^{(3)}$. Celui-ci fait apparaître un terme résonant $\chi^{(3)}_{R}$ d'origine vibrationnelle ainsi qu'un terme non-résonant $\chi^{(3)}_{NR}$ d'origine électronique¹. La nature cohérente de l'émission CARS induit une dépendance de son diagramme de rayonnement vis-à-vis de la taille et de la forme de l'objet imagé^{5, 6}. Il est alors possible de mettre en place une détection du rayonnement CARS en avant (Forward-CARS) et en arrière (Epi-CARS) de l'échantillon observé⁷.

Au delà de sa sélectivité chimique, la microscopie CARS permet une imagerie tridimensionnelle sans trou confocal ⁸. La figure 2 présente une imagerie standard DIC (Figure 2 (A)) et une imagerie CARS (Figure 2 (B) et (C)) de la liaison C-H aliphatique (2845cm⁻¹).



Figure 2 - Images de cellules COS-7 obtenues par microscopie DIC (A) et par microscopie CARS (B, C) (images F-CARS). Les deux faisceaux laser d'excitationde pulsations $\omega_P à 13\ 699\ cm^{-1}(\lambda_P = 730nm)$ et $\omega_S à 10\ 854\ cm^{-1}(\lambda_S = 921nm)$ produisent une onde Anti-stokes $\omega_{AS} à 16\ 544\ cm^{-1}(\lambda_{AS} = 604nm)$ correspondant à la fréquence de vibration Raman de la liaison symétrique aliphatique C-H présente surtout dans les membranes lipidiques plasmique et intracellulaires. Les puissances des lasers pompe et Stokes sont de l'ordre de 800 µW pour une fréquence de répétition de 2 MHz.

L'emploi de lasers émettant dans le proche infrarouge prévient les phénomènes d'absorption préjudiciables aux objets biologiques. En outre, le caractère stimulé de l'émission CARS rend cette technique beaucoup plus sensible que la microscopie Raman spontanée.

Références

- 1. A. Volkmer, "Vibrational imaging and microspectroscopies based on coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy," J. Phys. D: Appl. Phys. **38**, R59-R81 (2005).
- 2. M. D. Ducan, J. Reintjes, and T. J. Manuccia, "Scanning coherent anti-stokes Raman microscope," Opt Lett **7**, 350-352 (1982).
- 3. A. Zumbusch, G. R. Holtom, and X. S. Xie, "Vibrationnal microscopy using coherent anti-Stokes Raman scattering," Phys. Rev. Lett. **82**, 4014-4017 (1999).
- 4. Y. R. Shen, *The principles of non linear optics* (Wiley, New York, 1984).
- 5. A. Volkmer, J.-X. Cheng, and X. S. Xie, "Vibrational Imaging with High Sensitivity via Epidetected Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy," Phys. Rev. Lett. **87**, 23901 (2001).
- 6. N. Djaker, D. Gachet, N. Sandeau, P. F. Lenne, and H. Rigneault, "Refractive effects in coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy," Applied Optics. 20 Sept. 2006; 45(27): 7005 11 (2006).
- 7. N. Djaker, D. Marguet, and H. Rigneault, "Microscopie Raman stimulée (CARS) : principes et applications," Médecine-Sciences **22**, 853-858 (2006).
- N. Djaker, P.-F. Lenne, D. Marguet, A. Colonna, C. Hadjur, and H. Rigneault, "Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy (CARS): Instrumentation and applications," Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 571, 177-181 (2007).

Spectro-microscopie de photoélectrons par XPEEM pour l'imagerie des surfaces : principes et premières applications

Olivier Renault^{a,*}, Aude Bailly^a, Luiz F. Zagonel^b, Nick Barrett^b

^a CEA-LETI, MINATEC, 17, rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 09. ^b CEA-DRECAM, SPCSI, CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex.

Résumé – Dans cette contribution, nous présentons le principe de fonctionnement et les premières applications d'un nouveau type de microscope à photoélectrons (PEEM), le *NanoESCA*, doté de capacités spectroscopiques optimisées (filtrage en énergie par double analyseur hémispérique). Le premier exemplaire commercial est installé sur la Plateforme de Nanocaractérisation du CEA-Grenoble à MINATEC et peut être opéré ponctuellement sur la ligne X-mous (ID08) de l'ESRF.

La spectromicroscopie d'électrons photo-excités par rayons X (XPEEM : X-ray PhotoElectron Emission Microscopy) ou UV est une technique innovante d'imagerie électronique des surfaces [1] arrivée récemment à maturité avec le filtrage en énergie. Elle s'avère très fructueuse pour la caractérisation physique des matériaux et nanostructures depuis l'échelle mésoscopique jusqu'à la dizaine de nm. Fonctionnant sur le principe des techniques de photoémission par rayons X ou UV (XPS-UPS), cette technique combine des capacités à la fois microscopiques et spectroscopiques qui en font une sonde locale complète en caractérisation avancée des matériaux. Le spectromicroscope *NanoESCA* [2], à haute résolution spatiale et énergétique, est un PEEM spectroscopique multi-source de dernière génération conçu pour fonctionner en environnement aussi bien laboratoire que synchrotron. Le premier instrument de ce type au monde a récemment été installé sur la Plateforme ouverte de Nanocaractérisation du CEA-MINATEC.

Cet exposé abordera en première partie les principes de la technique d'XPEEM spectroscopique, en la situant par rapport aux méthodes d'imagerie XPS traditionnelles par balayage et par rapport aux autres techniques de microscopie et spectroscopie électronique (MEB, MET, EELS, Auger); en particulier, les mécanismes de constrastes spécifiques à l'XPEEM seront introduits : contraste de travail de sortie local, contraste élémentaire et chimique (états de liaison). Dans une seconde partie, un bref passage en revue de l'état de l'art instrumental permettra d'introduire aux spécificités et aux deux points fort du microscope *NanoESCA* : disponibilité d'une gamme complète de sources d'excitation (UV, X de laboratoire et X-mous synchrotron), capacité spectroscopique avancée (filtrage énergétique).



Figure 1 –(a) Image par PEEM spectroscopique d'une surface de cuivre polycristallin (hv=4.9 eV, électrons de 4.45 eV d'énergie cinétique), et (b) nanospectres des zones marquées en (a) ; le décalage des seuils à basse énergie indique une variation locale de travail de sortie dûe à la différence d'orientation cristalline de chaque grain [3].

Enfin, les premiers résultats obtenus avec cet instrument seront présentés : imagerie de travail de sortie local de matériaux polycrystallins (cuivre – Fig.1, SrTiO₃, Fig. 2) et de nanostructures (nanofils de silicum, Fig. 3) ; imagerie élémentaire et chimique avec source X de laboratoire et x-mous (ESRF, ligne ID08, résolution <120

^{*} Auteur à contacter : orenault@cea.fr – Tél : 04 38 78 96 48.

nm). Les résolutions latérales démontrées jusqu'à présent, rassermblées dans le tableau 1, et estimées de façon rigoureuse (d'après l'extension spatiale d'une augmentation d'intensité 16-84% mesurée sur un profil d'intensité en marche) seront commentées pour chaque mode d'excitation utilisés. Elles sont mesurées sur un réseau de multicouches GaAs/AlGaAs épitaxiées d'épaisseur comprises entre 1 et 700 nm spécifiquement conçu dans ce but. Des couches aussi fines que 20 nm sont clairement détectables (Fig. 4).



Figure 2 – Image XPEEM d'une surface de SrTiO₃ polycristallin (hv=1486.6 eV, électrons de 4.6 eV d'énergie cinétique).Champ d e vue : 38 μm.



Figure 3 – Image XPEEM de nanofils de silicium oxydés de 200 nm de diamètre (hv=700 eV, ESRF-ID-08, photoélectrons de cœur 1s de l'oxygène). Encart : image au seuil de photoémission (électrons secondaires).Champ de vue : 18 μm.



Figure 4 – Image au seuil de photoémission par PEEM spectroscopique d'un réseau GaAs (sombre)/AlGaAs (clair) (hv=400 eV, électrons de 6 eV d'énergie cinétique). Champ de vue : 18 µm.

Excitation	Electrons collectés	Résolution (nm)
UV, lampe Hg, hv=4.9eV	secondaires	40
X-mous, ESRF ID08, hv=500eV	coeur	120
X-mous, AlK _{α} laboratoire, hv=1487eV	coeur	650

 Table 1 – Résolutions latérales démontrées avec le NanoESCA (mode PEEM spectroscopique) dans différents modes d'imagerie (excitation et type d'électrons collectés) [3, 4].

- [1] E. Bauer, J. Electron. Spectrosc. Related Phenom. 114-116, 975 (2001).
- [2] M. Escher et al., J. Phys: Condens. Matter 17, 1329 (2005).
- [3] O. Renault et al., Surface Interface Anal. 38, 375 (2006).
- [4] O. Renault, N. Barrett et al., Surf. Sci. 2007 (accepté pour publication).

Le wet-STEM, imagerie en transmission dans un ESEM

Agnès Bogner^{a,b}, Catherine Gauthier^a, Pierre-Henri Jouneau^{a,b}, Gilbert Thollet^{a,*}, Gilbert Fuchs^c, Dominique Basset^d

^a MATEIS, UMR CNRS 5510, INSA de Lyon, Bât. B. Pascal, 7 Avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne Cedex, France
 ^b Plateforme de nanocaractérisation Minatec, CEA de Grenoble, 17 Rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9, France
 ^c Arkema, Centre de Recherche Rhône-Alpes, rue Henri Moissan, BP 63, 69493 Pierre-Bénite Cedex, France
 ^d Total France, Centre de Recherche de Solaize, BP 22, 69360 Solaize Cedex, France

Résumé – Le wet-STEM est un mode d'imagerie récemment développé en microscopie électronique à balayage environnementale (ESEM). Analogue au mode STEM-en-SEM, il est basé sur la collection des électrons transmis mais dans un SEM environnemental. Ce papier décrit le développement du wet-STEM en insistant sur ses caractéristiques en terme de résolution et de contraste. Il présente pour cela diverses observations de nano-objets dans un film mince liquide, permettant d'appréhender le type de contraste obtenu et de s'intéresser à l'interprétation de phénomènes d'inversion de contraste parfois observés.

1. Introduction

Ce papier décrit le principe et les caractéristiques du wet-STEM, un nouveau mode d'imagerie basé sur la collection des électrons transmis dans un SEM environnemental, particulièrement adapté à la caractérisation de nano-objets inclus dans une matrice liquide.

Si le mode STEM (pour l'acronyme anglais *Scanning Transmission Electron Microscopy*) est parfois réalisé dans des instruments dédiés, il est le plus souvent un mode d'imagerie hybride : l'équipement d'un TEM avec un module de balayage permet ainsi de travailler en STEM-en-TEM, mais la collection des électrons transmis est également possible dans un SEM s'il on travaille sur un objet mince et que l'on place un détecteur sous l'objet. Ces configurations peuvent différer principalement par l'énergie des électrons incidents ainsi que les angles de collection des électrons transmis, paramètres expérimentaux qui vont directement influencer les contrastes obtenus, la résolution atteinte ainsi que les épaisseurs 'traversées' [1].

Le STEM-en-SEM allie à la versatilité du SEM (instrument très répandu dans les laboratoires, relativement facile d'utilisation, et équipé d'une vaste enceinte) une très bonne résolution (de l'ordre de la taille de sonde qui subit uniquement un élargissement dans l'épaisseur de l'échantillon). Par ailleurs, il est important de considérer les faibles tensions d'accélération et grands angles de collection qui le caractérisent et permettent une grande efficacité à la fois d'interaction et de détection (donc engendrent de forts contrastes et des épaisseurs traversées importantes) [2].

2. Le 'wet-STEM' ou mode STEM en milieu hydraté

Grâce à la présence d'un environnement autour de l'échantillon, l'ESEM (pour l'acronyme anglais *Environmental Scanning Electron Microscope*) dont le développement a abouti à la fin des années 1990 a permis d'envisager l'observation en microscopie électronique d'échantillons non conducteurs et hydratés dans leur état naturel [3]. Cependant, l'observation d'échantillons partiellement ou totalement liquides en ESEM a montré des limites :

- en terme de contraste (excepté dans le cas d'apparition de contrastes de charges [4]) car la surface des liquides est typiquement non topographique
- en terme de résolution (50-200 nm dans le cas d'émulsions eau-huile)
- en information puisqu'on ne caractérise que la proche surface des échantillons (les objets non émergeants de la surface du liquide ne sont pas observés ou très mal définis)



Figure 1 – Le montage wet-STEM développé au laboratoire MATEIS (ex-GEMPPM) [5] et [6]

Auteur à contacter : Gilbert.Thollet@insa-lyon.fr - Tel : 04-72-43-84-95

Le développement du mode d'imagerie wet-STEM a pour objectif de repousser les limites de caractérisation de l'ESEM, jusqu'alors non adapté à la caractérisation d'échantillons liquides comportant des caractéristiques nanométriques [5]. Le montage wet-STEM développé au laboratoire MATEIS est schématisé à la figure 1 [6] ; il est placé sous environnement de vapeur d'eau. Le faisceau d'électrons incidents convergent i arrive sur une grille de carbone à trous qui maintient un film mince de liquide contenant des objets nanométriques, refroidi grâce à une platine Peltier a. Un détecteur annulaire c est placé sous l'objet de sorte à aligner son trou central avec l'axe optique (on ne collecte donc pas les électrons transmis directement) ce qui permet une surface de détection annulaire des électrons diffusés à travers l'échantillon : il s'agit d'imagerie de type champ sombre annulaire à grands angles. La pression partielle de vapeur d'eau et le contrôle de la température de l'échantillon permettent de se placer à l'état d'équilibre de l'eau et donc d'observer l'échantillon dans son état natif liquide. Par ailleurs, préalablement à l'observation en mode STEM, il est possible de jouer sur les conditions de température et de pression pour ajuster *in situ* l'épaisseur du film d'eau.

Des suspensions aqueuses modèles ont été observées dans ces conditions, et les images obtenues ont été confrontées à des simulations de Monte Carlo réalisées avec le logiciel Hurricane de la société SAMx étendu aux électrons sortants. Cette approche a permis d'avancer sur différents points : 1. Estimer les épaisseurs traversées dans ce mode : les simulations montre qu'un film d'eau est transparent jusqu'à une épaisseur de plusieurs micromètres ; 2. Estimer la résolution atteinte : de l'ordre de 5 nm sur des nanoparticules d'or en suspension dans l'eau (image wet-STEM de la figure 2a) ; 3. Déterminer que le contraste obtenu est de type masse-épaisseur ; 4. Comprendre des phénomènes d'inversion de contraste liés à la variation locale de l'épaisseur d'eau.



Figure 2 – Images wet-STEM en champ sombre annulaire : a. suspension de particules d'or de 20 nm de diamètre ; b. mini-émulsion de styrène dans l'eau.

Enfin, les objets observés ont permis de mettre en évidence les apports de ce type d'imagerie pour la caractérisation à l'échelle nanométrique de nano-objets inclus dans une matrice liquide, ce qui est illustré dans le domaine des mini-émulsions et des latex. Une image wet-STEM de mini-émulsion est présentée à la figure 2b [7] : elle montre qu'il est possible d'observer un échantillon totalement liquide - des gouttes de liquide (styrène) dans une matrice d'eau – avec une résolution et des contrastes importants et des informations volumiques.

3. Conclusion

Le développement du wet-STEM a permis d'étendre les aptitudes de l'ESEM à la caractérisation d'échantillons liquides à l'échelle nanométrique. Les faibles tensions d'accélération et grands angles de collection utilisés permettent d'obtenir des contrastes et des épaisseurs traversées importantes. Si ce nouveau mode de caractérisation montre un grand intérêt dans le domaine des suspensions, mini-émulsions et latex, il semble très adapté à l'observation de certains liquides non aqueux mais également d'échantillons biologiques.

4. Références

[1] A. Bogner et al., A history of scanning electron microscopy developments : Towards 'wet-STEM' imaging, Micron **38** (2007) 390-401

[2] U. Golla et al., *Contrast in the transmission mode of a low-voltage scanning electron microscope*, Journal of Microscopy **173-3** (1994) 219-225

- [3] G. Danilatos, Introduction to the ESEM instrument, Micr. Research and Tech. 25 (1993) 354-361
- [4] D.J. Stokes et al., Dynamic Secondary Electron Contrast Effects in Liquid Systems Studied by Environmental Scanning Electron Microscopy, Scanning 22 (2000) 357-36
- [5] A. Bogner, thèse INSA de Lyon, Octobre 2006
- [6] A. Bogner et al., *Wet STEM: A new development in environmental SEM for imaging nano-objects included in a liquid phase*, Ultramicroscopy **104** (2005) 290-301
- [7] M. do Amaral, A. Bogner et al., *Novel Experimental Technique for the Determination of Monomer Droplet Size Distribution in Miniemulsion*, Macromol. Rapid Commun. **26** (2005) 365-368

Imagerie 3D à l'échelle atomique par sonde atomique tomographique assistée par impulsions lasers ultrabrèves

B. Deconihout, F. Vurpillot, A. Vella, G. Matthieu, E. Cadel, A. Bostel and D. Blavette

Groupe de Physique des Matériaux, UMR 6634 CNRS - Université de Rouen – Avenue de l'université - BP 12 - 76801 Saint Etienne du Rouvray France

Résumé – La sonde atomique tomographique est un instrument d'imagerie 3D analytique très simple développé dans les années 90 en Europe. Elle a donné des résultats inédits, en particulier dans l'analyses des alliages en donnant des informations qui échappent à l'acuité des techniques conventionnelles d'analyse. Depuis deux ans, nous développons une nouvelle génération d'instrument dans lequel les atomes sont arrachés au moyen d'impulsions laser ultra brèves. Cela permet d'éplucher des matériaux peu conducteurs voire isolants ouvrant la technique au large champ de la nanoélectronique. Dans cet exposé nous présenterons l'état de l'art de la technique, les informations originales qu'elle peut apporter en sciences des matériaux mais aussi dans le domaine plus vaste des microscopies à sonde locale.

Le Groupe de Physique des matériaux de Rouen (UMR CNRS 6634) a mis au point le prototype de sonde atomique tomographique en 1993[1]. Cet instrument est le seul microscope analytique produisant des cartographies 3D de la distribution des espèces chimiques avec une résolution atomique au sein d'un matériau. La résolution spatiale obtenue dans les images est de quelques angströms. Les plans atomiques peuvent ainsi être imagés et l'ordre chimique dans une phase dispersée révélé. Un des points forts de cet instrument est la quantitativité des mesures de composition. Basé sur l'évaporation par effect de champ électrique, le matériau est pulvérisé atome par atome avec un rendement d'ionisation de 100%. Tous les éléments sont donc imagés, en particulier les éléments légers. La sonde tomographique s'est ainsi révélée un outil de premier choix pour l'étude des nanomatériaux et nanostructures (précipitation, ségrégation d'impuretés sur les défauts (joints, fautes, dislocations)). Des résultats de inédits ont ainsi été produits ces dix dernières années. Citons, par exemple, la reconstruction en trois dimensions d'atmosphères de Cottrell, rassemblements d'impuretés autour de la ligne de dislocations coins[2].





Dans la SAT, les atomes sont arrachés à des instants précis grâce à des impulsions H.T. brèves (1ns) permettant leur identification par spectrométrie de masse à temps de vol. La nécessité de transmettre ces impulsions de champ à l'extrémité de la pointe a longtemps limité le champ d'application aux matériaux bons conducteurs de l'électricité. Nous avons récemment incorporé un laser femtoseconde afin d'arracher les atomes de la surface de matériaux semiconducteurs ou isolants[3,4,5]. En outre, cette nouvelle technologie a permi d'accroître la surface sondée d'un facteur 25. Cette nouvelle génération de sonde atomique tomographique « laser » (LaWaTAP pour Laser assisted wide angle tomographic atom probe) est désormais commercialisée par la société CAMECA. Cette innovation ouvre l'instrument notamment aux semi-conducteurs et oxydes, matériaux clés en nano-électronique [6,7]. Parmi les problématiques intéressantes, mentionnons celle des nano-contacts électriques sur les parties actives des transistors MOS (source, drain), les barrières tunnel ou encore les multicouches magnétiques. Un exemple d'application de cette nouvelle technique est l'analyse de contacts à base de siliciures pour la nanoélectronique. Le nickel a l'avantage de former un siliciure (NiSi) de bonne conductibilité électrique qui peut-etre stabilisé par dopage au Pt. La figure ci-dessous montre l'image 3D d'un petit

élément de volume analysé en SAT. La distribution du Pt montre une ségrégation aux interfaces. Alors que la ségrégation entre les deux siliciures est localisée sur une épaisseur relativement faible (1 nm), celle observée à l'interface Ni/Ni₂Si est très étalée et est interprétée comme un effet chasse neige se produisant lors de la migration de l'interface (de la gauche vers la droite). Cet exemple illustre le potentiel de la sonde en micro-electronique. La miniaturisation croissante des circuits intégrés place la SAT comme un instrument prometteur.



Fig. 2. *Reconstruction 3D d'un élément de volume analysé (Ni(5at.%Pt) déposé sur Si <001>) par tomographie atomique. Notez la ségrégation de Pt aux interfaces.*

Dans cet exposé, nous rappelrons les principes de base de la sonde atomique tomographique et du microscope à effet de champ qui permit d'observer les atomes 20 ans avant le microscope électronique ou le microscope à effet tunnel. Nous décrirons également les processus mis en jeu dans l'intéraction entre des impulsions ultrabrèves et une pointe de dimensions sub-longueur d'onde. C'est là une physique complexe et passionnante, et la technique permet de répondre à des questions ouvertes dans une large gamme de microsocpies (SNOM, PSTM...). Enfin nous illustrerons la puissance de la technique à travers des applications sur des alliages métalliques, des échantillons à base ded silicium ou des oxydes utilisés en microélectronique.

Références

[1] D. Blavette, A. Bostel, J. M. Sarrau, N. Deconihout and A. Menand, *An atom-probe for three dimensional tomography*, Nature 363 (1993) 432-435

[2] D. .Blavette, E. . Cadel, A.Fraczkiewicz, A.Menand, *Three-dimensional atomic-scale imaging of impurity segregation to line*defects, science Dec 17 (1999) 2317-2319

[3] B. Deconihout, F. Vurpillot, B. Gault, G. Da costa, M. Bouet, A. Bostel, Hideur, G. Martel, M. Brunel and D. Blavette, *toward a laser assisted wide-angle tomographic atom probe*, Surface and Interface Analysis, (2006) p. 38.

[4] B. Gault, F. Vurpillot, M. Gilbert, A. Vella, A. Menand, D. Blavette and B. Deconihout, *Performance of a lrser assisted tomographic atom probe*, Review of Scientifics Instruments, Vol. 043705, (2006) p 77.

[5] A. Vella, F. Vurpillot, B. Gault, A. Menand and B. Deconihout, (2006), Phys. Rev. B., Vol. 165416, p. 73

[6] B.Gault, A. Menand, F. De Geuser, R. Danoix , and B. Deconihout (2006), Appl. Phys. Lett. 114101, p.88.

[7] Hoummada K., Cadel E., Mangelinck D., Perrin-Pellegrino C., Blavette D. and Deconihout B. (2006), *Appl. Phys. Lett.*, 181905 Vol. 18, p.89.

MAPPING MOLECULAR LANDSCAPES INSIDE CELLS BY CRYOELECTRON TOMOGRAPHY

Wolfgang Baumeister Max-Planck-Institute of Biochemistry Am Klopferspitz 18, D-82152 Martinsried, Germany

Electron Tomography (ET) is uniquely suited to obtain three-dimensional (3-D) images of large pleiomorphic structures, such as organelles or even whole cells. While the principles of ET have been known for decades, its use has gathered momentum only in recent years. Technological advances have made it possible to develop automated data acquisition procedures. This, in turn, allowed reducing the total electron dose to levels low enough for studying radiation sensitive biological materials embedded in vitreous ice. As a result, we are now poised to combine the power of high-resolution 3-D imaging with the best possible preservation of the specimen.

In the past, ET has mainly been used to examine thin sections of plastic-embedded materials. This approach has provided valuable insights into cellular architecture, but it falls short of revealing the macromolecular organization inside cells. ET of frozen-hydrated whole prokaryotic cells or thin eukaryotic cells grown directly on EM grids provides 3-D images of macromolecular structures unperturbed and in their functional environment at molecular resolution (2-4 nm).

Such tomograms contain vast amounts of information; essentially they are 3-D images of the cell's entire proteome and they should ultimately enable us to map the spatial relationships of macromolecules in a cellular context. However, it is no trivial task to retrieve this information, because of the poor signal-to-noise ratio of such tomograms and the crowded nature of the cytoplasm. Advanced pattern recognition methods are needed for detecting and identifying specific macromolecules based on their structural signature. Provided that high- or medium-resolution structures of the molecules of interest are available, they can be used as templates for a systematic interrogation of the tomograms. Once the challenges of obtaining sufficiently good resolution and comprehensive libraries of template structures become available, we will be able to map the supramolecular landscape of cells systematically.

References:

- 1. A. Sali, R. Glaeser, T. Earnest and W. Baumeister, "From Words to Literature in Structural Proteomics" *Nature* **422**, 216-225 (2003).
- 2. V. Lucic, F. Förster and W. Baumeister, "Structural Studies by Electron Tomography: From Cells to Molecules" *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 833-865 (2005).
- 3. J. Ortiz, F. Förster, J. Kürner, A. Linaroudis and W. Baumeister, "Mapping 70S Ribosomes in Intact Cells by Cryoelectron Tomography and Pattern Recognition" *J. Struct. Biol.* **156**, 334-341 (2006).
- 4. S. Nickell, C. Kofler, A. Leis and W. Baumeister, "A Visual Approach to Proteomics" *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 225-230 (2006).

Approches de microscopie photonique 3D : sectionnement optique et tomographie

Yves Usson^{a,*}

^a Laboratoire TIMC-IMAG CNR5525, INPG Grenoble

L'exploration 3D des structures biologiques est une aide précieuse pour la compréhension de nombreux mécanismes biologiques que ce soit au niveau d'assemblages moléculaires, d'organelles subcellulaires, de cellules ou de tissus. Tout comme en microscopie électronique, l'accès à des informations 3D n'était possible que par l'intermédiaire de coupes physiques sériées des objets. Grâce au développement de l'informatique d'une part et de l'instrumentation optique (sources lasers cohérentes, modulateurs acousto-optiques) aux cours des deux dernières décennies, le microscopiste photonique dispose d'outils performants pour l'investigation 3D.

Les approches pour collecter l'information en 3D reposent sur le principe de la ségrégation de l'information lumineuse.

Les méthodes de ségrégation seront :

- la réjection de la lumière « hors focale » pour la microscopie confocale (CLSM),
- le confinement de l'excitation lumineuse pour la microscopie à excitation bi-photonique (TPE),
- l'identification des contrastes élevés pour la microscopie à illumination structurée,
- la réaffectation des photons en microscopie à déconvolution numérique,
- l'interférence cohérente pour la tomographie cohérente optique (OCT).

^{*} Auteur à contacter : yves.usson@imag.fr – Tel : 04 56 52 00 74

3D-orientation microscopy in a FIB-SEM : a new dimension of microstructure characterisation

Stephan Zaefferer^{a,*}

^a Max-Planck-Institute for Iron Research, Max-Planck-Str. 1, 40237 Duesseldorf, Allemagne

The presentation describes our recent progress in development, optimisation and application of a technique for the 3-dimensional high resolution characterisation of crystalline microstructures.

The technique is based on automated serial sectioning using a focused ion beam (FIB) and characterisation of the sections by orientation microscopy based on electron backscatter diffraction (EBSD) in a combined FIB-scanning electron microscope (SEM). The technique extends all the powerful features of 2-dimensional EBSD-based orientation microscopy into the third dimension of space. This allows new parameters about the microstructure to be obtained, for example the full crystallographic characterisation of all kinds of interfaces, including the morphology and the crystallographic indices of the interface planes.

The technique is illustrated by a number of examples, including the characterisation of pearlite colonies in a carbon steel, of twins in pseudo-nanocrystalline NiCo thin films and the description of deformation patterns formed under nano-indents in copper single crystals.

Auteur à contacter : s.zaefferer@mpie.de - Tel : +49 211 6792 803

Tomographie en contraste STEM – HAADF : application aux nanomatériaux

L. Laffont^{a,*}, M. Weyland^b, J.M. Thomas^b, P. Midgley^b

^a Laboratoire de réactivité et chime des solides, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue Saint Leu, 80039 Amiens Cedex
 ^b Department of Materials Science and Mettalurgy University of Cambridge, Pembroke street, Cambridge CB2 3QZ

Résumé – La tomographie conventionnelle est basée sur l'acquisition d'une série d'images en champ clair (BF TEM) qui est peu utilisée en sciences des matériaux. Dans notre travail, nous avons utilisé des images obtenues en MET en mode balayage avec un détecteur annulaire champ sombre à grand angle (HAADF STEM) afin de s'affranchir des effets de diffraction mais aussi pour obtenir des images dont le contraste est relatif au numéro atomique (Z). La tomographie HAADF STEM est particulièrement utile pour l'étude de nanomatériaux tels que la structure de magnétites dans une bactérie, la distribution 3D de nanoparticules bimétalliques supportées par une membrane mésoporeuse et la variation de composition chimique de nanoparticules Fer – Nickel (tomographie EFTEM).

1. Introduction

La tomographie reconstruit en 3D, un objet à partir d'une série d'images ou de projections bidimensionnelles obtenues à différents tilts. Cette technique développée depuis les années 1960 principalement pour l'analyse de molécules biologiques est maintenant utilisée pour l'analyse de macromolécules avec une résolution nanométrique [1].

La tomographie conventionnelle est peu utilisée en sciences des matériaux car les images en champ clair contiennent souvent un contraste de diffraction et de Fresnel qui résulte de la force et de la cohérence du processus de diffusion entraînant des artéfacts dans la reconstruction. A la place, une image est obtenue soit en collectant les électrons qui ont été diffusés inélastiquement aux grands angles grâce à un détecteur annulaire grand angle en mode STEM ou par filtrage en énergie en mode TEM (EFTEM).

2. Principe de la tomographie en STEM – HAADF

Une série d'images est obtenue en mode STEM-HAADF en tiltant l'échantillon le long d'un axe avec des incréments réguliers, en corrigant la position de l'échantillon et la mise au point, avant l'acquisition de chaque projection 2D. La résolution 3D de la reconstruction dépend du nombre d'images 2D obtenues durant la série de tilt. Une série typique peut être de 80 ou 160 images le long de la gamme de tilt ($-80^\circ - +80^\circ$) effectuée manuellement ou en mode automatique en utilisant le logiciel FEI eXplore3D.

La reconstruction s'effectue en utilisant des procédures écrites dans le langage IDL (Interactive Data Language). Les projections sont alignées en utilisant un algorithme de cross-corrélation appliqué séquentiellement sur les images [2]. L'axe commun de rotation est déterminé avec précision. La reconstruction est effectuée grâce à une méthode de reprojection pondérée (weighted backprojection) ou par une technique de reconstruction itérative simultanée (SIRT) utilisant 15 à 30 itérations [3]. La visualisation s'effectue grâce au logiciel Amira.

3. Tomographie en STEM – HAADF

La tomographie nous permettra d'étudier la structure de magnétites dans une bactérie [4], la variation de composition chimique de nanoparticules Fer – Nickel (tomographie EFTEM) [4] ainsi que la distribution de nanoparticules bimétalliques de $Ru_{10}Pt_2$ maintenues par un support de silice mésoporeux MCM-41 [5].

Ce dernier exemple de matériau catalytique est utilisé dans la conversion de l'acide trans-trans muconique dérivé du sucre en acide adipique normalement produit par un dérivé du pétrole, qui est communément utilisé dans la production de polyamide. La différence de numéro atomique entre le support de silice et les nanoparticules métalliques fournit un contrast idéal en imagerie STEM-HAADF et par conséquent pour la reconstruction tomographique.

Une série STEM-HAADF a été effectuée sur le catalyseur contenant des nanoparticules de $Ru_{10}Pt_2$ de 1nm de diamètre fixées sur les parois de la structure silice MCM-41 composée de pores de 3 nm de diamètre. Une image typique de ce matériau est montrée sur la Figure 1a. La série a été obtenue sur une petite région de 150 nm de diamètre constituée de 72 images allant de -71° à +71°. La reconstruction a été faite en utilisant la procédure 'weighted backprojection'. Deux projection 2D extraites de la reconstruction 3D, Figures 1b et 1c, montrent que les mésopores et les nanoparticules sont clairement résolues dans toutes les directions. Une large proportion de nanoparticules sont incluses dans la structure silice.

^{*} lydia.laffont@u-picardie.fr – Tel : 03 22 82 79 01



Figure 1 – a) Image STEM HAADF d'une zone typique de MCM-41 contenant des nanoparticules de Ru₁₀Pt₂ - b)c) 2 projections perpendiculaires extraites d'une partie de la reconstruction (zone hachurée) montrant la forme hexagonale des pores

Ces résultats démontrent que la reconstruction de la structure interne d'un objet est possible. Il montre aussi que la résolution spatiale obtenue est de 1 nm dans toutes les directions. Donc la tomographie STEM-HAADF permet de résoudre des nanoparticules individuelles avec une résolution sub-nanométrique dans les trois directions de l'espace. La répartition des nanoparticules dans les pores sera aussi développée ainsi que les autres exemples au cours de l'exposé.

4. Conclusion

Une des limitations majeures pour l'analyse des nanomatériaux en MET est la perte d'information dûe à l'information 2D de l'image. Ceci peut être surmonté par l'utilisation de la tomographie STEM-HAADF et de la tomographie EFTEM. Ces techniques permettent d'avoir des informations structurales et chimiques à l'échelle nanométrique.

5. Références

- A.J. Koster, U. Ziese, A.J.V. Verkleij, A.H. Janssen and K.P. De Jong, *Three-dimensional transmission electron microscopy : a novel characterisation technique with nanometer resolution for materials science*, J. Phys. Chem. B **104** (2000) 9368-9370
- [2] R. Guckenberger, *Determination of a common origin in the micrographs of tilt-series in three-dimensional electron microscopy*, Ultramicroscopy **9** (1981) 167-173
- [3] P. Gilbert, *Iterative methods for the three-dimensional reconstruction of an object from projections*, J. theoretical Biology **36** (1972) 105-117
- [4] M. Weyland, T.J.V. Yates, R.E. Dunin-Borkowski, L. Laffont and P. Midgley, Nanoscale analysis of three-dimensional structures by electron tomography, Scripta Materials 55 (2006) 29-33
- [5] P.A. Midgley, J.M. Thomas, L. Laffont, M. Weyland, R. Raja, B.F.G. Johnson and T. Khimyak, *High-Resolution Scanning transmission electron tomography and elemental analysis of zeptogram quantities of heterogeneous catalyst*, J. Phys. Chem. **108** (2004) 4590-4592

Stéréoscopie en microscopie électronique en transmission : application aux nano-composites Or/Silice

Samir Benlekbir^{a,1}, Thierry Epicier^a, Boucar-Noël Diop^b, Stéphane Roux^b, Mégui Ou^a, Pascal Perriat^a

^a Laboratoire MATEIS, umr CNRS 5510, INSA de Lyon, 20 Av. Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex ^bLaboratoire LPCML, umr CNRS 5620, Université Lyon1,10 rue André-Marie Ampère, 69622 Villeurbanne Cedex

Résumé – Une approche de stéréoscopie en microscopie électronique en transmission en mode STEM-HAADF est utilisée, afin de caractériser la distribution '3D' de nano-particules d'or dans des nano-composites Or/Silice, avec une résolution spatiale de quelques nanomètres. Cette approche présente un avantage par rapport à la tomographie, dans la mesure où elle nécessite d'acquérir moins d'images, et permet par conséquent un temps d'exposition de l'échantillon plus court. Le but est de mesure avec précision des paramètres décrivant la géométrie de cette distribution, et de la relier aux conditions de synthèse des nano-composites.

1. Introduction

Le développement de nano composites or/silice présente un intérêt à la fois pour des études fondamentales en optique (transfert d'énergie entre le plasmon des particules d'or et d'éventuels colorants organiques encapsulés dans la silice) et des applications en médecine (en particulier l'hyperthermie par absorption par l'or des rayonnements IR). Chacun de ces aspects réclame un contrôle rigoureux de la morphologie de ces composites (pour ajuster la distance de transfert colorants/particule d'or ou contrôler la position énergétique du plasmon de surface). Pour une meilleure caractérisation de cette morphologie, nous avons développé un outil de stéréoscopie en microscopie électronique permettant de quantifier des paramètres clés comme le nombre de particules d'or par bille de silice, la distance moyenne entre particules d'or ou leur distance moyenne par rapport à la surface de la bille de silice.

2. Synthèse

La synthèse des nano-composites or/silice est réalisée selon une voie micellaire classique, l'optimisation des conditions de synthèse (pH, quantité de surfactants, ordre d'ajout des composants...) permettant de modifier l'architecture du composite. La synthèse des particules d'or est faite en utilisant le protocole décrit par Brust [1], qui consiste à réduire HAuCl₄,3H₂O par NaBH₄ en présence de thiols (surfactants) (Fig.1) [2].

Les nano-composites se composent ainsi de 2 types d'objets : des nano-particules d'or de diamètre 2 - 5 nm, et des billes de silice de diamètre 50 - 100 nm (cf. figure 2 a)).

A terme deux architectures extrêmes seront étudiées, l'une où les particules d'or se trouvent principalement au cœur des billes de silice, l'autre où ces particules sont plutôt dispersées en surface des billes.



Figure1 : Diffraction et MET des particules d'or.

¹ Auteur à contacter : samir.benlekbir@insa-lyon.fr – Tel : 04 72 43 70 33

3. Description de l'approche stéréoscopique

Afin de mesurer les caractéristiques de la distribution '3D' des nano-particules d'or, des essais en tomographie 'traditionnelle' ont été tentés (plus d'une centaine d'images dans une gamme d'inclinaisons de 120° minimum), mais qui se sont malheureusement avérés infructueux : d'une part, les objets ont une tendance forte à se 'contaminer' (pollution par le carbone) lors d'une exposition prolongée aux électrons, d'autre part, la position relative des billes de silice, agglomérées entre elles par des forces d'interaction faibles, change en cours d'inclinaison.

Il s'avère que les 2 types de nano-particules possèdent ici une géométrie quasi-sphérique, et par conséquent, une approche de type 'stéréoscopie' est suffisante. Nous avons ainsi utilisé une dizaine d'images rapidement acquises dans un intervalle angulaire d'inclinaisons de l'ordre de 100°. Une fois les images alignées, on extrait les cordonnées projetés (x_{j}^{i}, y_{j}^{i}) de chaque nano-particule j dans chaque image i correspondant à un angle de 'tilt' α_{i} , et un traitement numérique simple des trajectoires $x_{j}^{i} = f(\cos[\alpha_{i}])$ permet de remonter à la 'profondeur' z_{j} de chaque particule, et donc de reconstruire l'échantillon en '3D' (Fig. 2 b-c). Ce traitement a été réalisé en développant un script spécifique en langage DigitalMicrograph [3].



Figure 2 : Analyse 3D de l'arrangement de nano-particules d'or et de silice (images STEM-HAADF). De gauche à droite : image expérimentale à une inclinaison de 73.5°, projection calculée à partir d'une reconstruction tri-dimensionnelle (les particules d'or sont les petits cercles), superposition du contour des particules reconstruites sur l'image expérimentale.

4. Conclusion

Une approche de stéréoscopie en microscopie électronique en transmission a été utilisée pour caractériser la distribution tri-dimensionnelles des nano-particules d'or par rapport aux billes de silice dans des nano-composites or-silice à vocation d'application bio-médicale.

Les différents paramètres mesurés sont : le diamètre des nano particules, la densité volumique et surfacique des nano particules d'or par rapport aux particules de silice, et la distance moyenne entre les particules d'or à l'intérieur de chaque bille de silice. Ces informations sont précieuses pour permettre un 'feetback' sur les conditions de synthèse, et une quantification objective des propriétés d'emploi des nano-composites.

5. Références

- [1] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R.J. Whyman, R. J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1994) 801-802.
- [2] P.J. Debouttière, S. Roux, F. Vocanson, C. Billotey, O. Beuf, A. Fave-Réguillon, Y. Lin, S. Pellet-Castaing, R. Lamartine, P. Perriat, O. Tillement, *Adv. Funct. Mater.* 16 (2006) 2330-2339.
- [3] D.R.G. Mitchell, B. Schaffer, Scripting-customised microscopy tools for Digital Macrograph, *Ultramicrosc*. 103 (2005) 319- 332.

Tomographie en microscopie électronique en transmission : formes complexes de nanoparticules Pd

Samir Benlekbir^{a,1}, Thierry Epicier^a, Martha Bausach^b, Mimoun Aouine^b, Gilles Berhault^b

^a Laboratoire MATEIS, UMR CNRS 5510, INSA De LYON, 20 Av. Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex ^bLaboratoire IRCELYON, UMR 5256, CNRS-Université LYON 1, 2 avenue Albert Einstein, 69626 Villeurbanne Cedex

Résumé – La synthèse de nanoparticules de palladium de morphologie contrôlée conduit à des formes polyédriques complexes difficilement observables en microscopie 2D. Une approche de tomographie est utilisée ici pour reconstruire des nanoparticules d'aspect triangulaire 2D afin de déterminer leur véritable morphologie en 3D et cela avec une résolution spatiale de quelques nanomètres.

1. Introduction

Le contrôle morphologique de nanoparticles métalliques (Au, Ag, Pd, Pt) de géométrie précise (cubes, bâtonnets ou *rods*, icosaèdres, tétraèdres,...) ouvre la voie à de nouvelles applications en optique, électronique, détecteurs biologiques ou chimiques, catalyse où la forme du nano-objet détermine directement les propriétés physicochimiques [1]. La connaissance de la forme exacte à l'échelle nanométrique des différents nano-objets formés est alors essentielle à la compréhension des mécanismes mis en jeu dans la synthèse de ces nanoparticules métalliques. Or, la microscopie 2D ne permet pas toujours de lever les ambiguïtés concernant la morphologie des particules : une approche tomographique est donc indispensable.

Nous avons réalisé cette étude par tomographie électronique en utilisant un microscope JEOL2010F [2] équipé d'un accessoire STEM et d'un détecteur en Champ Sombre Annulaire à Grand Angle (HAADF : High Angle Annular Dark Field), en mettant en œuvre des solutions 'maison' : porte-objet à large capacité d'inclinaison (+/-85°), et logiciel de pilotage semi-automatique (script DigitalMicrograph, © Gatan), telles qu'explicitées dans une autre contribution à ce colloque (S. Benlekbir, T. Epicier et H. Idrissi). Les tomogrammes sont reconstruits à l'aide du logiciel TOMOJ développé à l'université Paris VI - Jussieu [3].

2. Images acquises et reconstruction

La figure 1 montre une vue à faible grandissement de nombreuses particules de palladium supportées sur un film de carbone et imagées en *HAADF*.



Figure 2 : illustration d'une série 'tiltée' de projections de nano particules de Palladium acquise en mode STEM-HAADF.

¹ Auteur à contacter : samir.benlekbir@insa-lyon.fr – Tel : 04 72 43 70 33

Dans l'exemple ci-dessous (figure 2), l'approche tomographique a été appliquée à des nanoparticules de Pd qui présentent facilement un aspect triangulaire en projection 2D (voir notamment la micrographie de la fig. 1c)). En se basant sur des résultats de microscopie 2D, la morphologie tridimensionnelle de telles particules avait été précédemment attribuée, de façon incertaine, soit à des particules tétraédriques soit à des particules bipyramidales [4]. Grâce à la tomographie, nous montrons sans ambiguïté qu'il s'agit de bipyramides (cf. figure 3).



Figure2 : illustration d'une série 'tillée' de projections de nano particules de Palladium acquise en mode STEM-HAADF.

D'autres particules ont également été étudiées en 3D, notamment les 'bâtonnets' ou *rods* présents en grand nombre (voir vue générale de la figure 1). La tomographie montre clairement que ces particules ont une section pentagonale.



Figure 3 : Visualisation du volume reconstruit d'une particule bipyramidale (rendu de surface sous 3 angles à intervalle d'environ 110°)

3. Conclusion

Des nanoparticules de Palladium de quelques dizaines de nanomètres ont été visualisées en 3D par tomographie électronique en transmission en mode STEM-HAADF. Cette technique a permis d'identifier, de manière formelle, des géométries originales de type 'bipyramide', mais également 'prismatiques à section pentagonale'.

4. Références

[1] G. Berhault, M. Bausach, L. Bisson, L. Becerra, C. Thomazeau, D. Uzio, *Journal of Physical Chemistry C* **111** (2007) 5915.

[2] Le CLYME (Consortium Lyonnais de Microscopie Electronique) est remercié pour l'accès au microscope 2010F.

[3] www.snv.jussieu.fr/~wboudier/softs.html

[4] B.J. Wiley, Y. Xiong, Z-Y. Li, Y. Yin, Y. Xia, Nano Letters 6 (2006) 765.

Solutions non-commerciales pour tomographie de nanomatériaux en microscopie électronique par transmission en mode 'STEM'

Samir Benlekbir^{*,a}, Thierry Epicier^a, Hosni Idrissi^{a,b}

^aLaboratoire MATEIS, umr CNRS 5510, INSA de Lyon, 20 Av. Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex ^bLSPES, umr CNRS 8008, Université des Sciences et Technologies de Lille, Bât. C6, 59655 Villeneuve d'Ascq

Résumé - La tomographie en microscopie électronique par transmission (MET) s'avère aujourd'hui être un outil précieux d'analyse des nano-objets en 3D, et ce grâce notamment au mode d'imagerie balayage en Champ Sombre Annulaire (STEM HAADF), insensible aux effets d'orientation cristalline (qui permet donc d'observer un objet sous différents angles de vue sans artefact de contraste). Nous présentons les développements effectués au laboratoire sur un microscope électronique en transmission équipée d'une pièce polaire à faible 'gap' *a priori* inadaptée à l'enregistrement de séries d'images dans un large domaine angulaire, afin de l'adapter à acquérir une série optimale de tomographie, d'une manière semi automatique (c'est-à-dire avec un pilotage informatique extérieur).

1. Introduction

Une expérience de tomographie par 'série tiltée' en MET se déroule en 4 étapes : (i) préparation adéquate de l'échantillon (compte-tenu des contraintes géométriques imposées par la large gamme d'inclinaison nécessaire), (ii) l'enregistrement d'une centaine d'images en projections sous différents angles d'observation, (iii) la reconstruction du 'tomogramme' avec des algorithmes dédiés [1], et (iv) l'exploitation et la caractérisation du volume à l'aide de logiciels de visualisation et de dépouillement. Durant la phase d'acquisition, des corrections optiques et mécaniques sont effectuées, afin d'améliorer le contraste et la netteté des images, et de rattraper les décalages entre images successives, et/ou la dérive de l'échantillon. Les deux premières phases sont celles ou les aspects techniques deviennent rapidement rédhibitoires : d'une part il faut effectivement pouvoir incliner l'objet sur un intervalle angulaire d'au moins 120° (sur un simple 'tilt') pour espérer une reconstruction raisonnable, d'autre part il faut optimiser le temps de l'expérience, sachant que les divers réglages et corrections à effectuer d'une prise de vue à l'autre conduisent à des temps d'exposition au faisceau électronique de plusieurs heures.

2. Inclinaison du porte-objet

Nous avons entrepris un travail en tomographie sur un microscope JEOL 2010F, équipé d'une pièce polaire 'ultra-haute résolution' limitant l'inclinaison de l'échantillon à environ $\pm -20^{\circ}$ à l'aide des porte-objets 'standards'. Pour cet instrument, le porte-objet fourni par le onstructeur possède un embout amovible qui est la partie la plus limitante de la latitude d'inclinaison : en modifiant très simplement cet embout, il est très simple d'atteindre des angles d'inclinaisons très larges (cf. figure 1), allant jusqu'à $\pm -85^{\circ}$.



Figure 1. Illustration de la latitude d'inclinaisons du porte-objet modifié sur le 2010F : de gauche à droite, 'tilts' de -81, 0 et +75°.

3. Pilotage et spécificités du STEM

Pour la phase d'acquisition des images, nous avons développé un script sous Digital Micrograph (DM, © Gatan) qui permet, au travers d'une interface graphique (cf. figure 2), de piloter une grande partie de l'enregistrement des images et de leurs réglages. La communication avec le microscope se fait, à l'instar de nombreux logiciels précédemment proposés dans la littérature [3], au travers de la liaison RS232 du microscope.

^{*} Auteur à contacter : samir.benlekbir@insa-lyon.fr - Tel : 04 72 43 70 33

🕆 DigitalWicrograph					
File Edit Object Process Analysis Window Microscope Custom Help					
	🖶 Tomo Interface A 💶 🗖 🔀	🛱 Start Interface Acquisition 📃 🗖 🔀	1		
Standard Tools N	Tilt Parameters Save Images Start Acquisition Managing Files Close Interface ®Samir Benlekbir & Thierry Epicier, June 2006 Immai 30 Immai X //Tilt variablest	Acquiring Tilt Series Tilt Image Image: 0 MAG ; ??? Present tilt: ??? Tilt To Be Reached : MOE REACH Correct Shift Versus Previous Image Previous Image, doesn't exist. Recorded at tilt: not measured Run Correction Show Previous Image Coc_shift: oy_shift:	DigiScan Search Preview Record		
	number 1t,st,nt,Tt,1t1=40,st taggroup Button1 = DLGCreater TagGroup Button3 = DLGCreater TagGroup Button3 = DLGCreater TagGroup Button7 = DLGCreater //Save Images: number returnno string targettype,targettype1 taggroup strfield1, strfield2	APPLY Dynamic Focus Apply Current Focus To Top Line Top FOCUS: Apply Current Focus To Bottom Line Bot FOCUS:	Hestatt Stop Image Size Pixel Time (µs) Rotation Angle Image Size Control Beam Movelram Monitor		
Display Control Image Status Acquisition Status Target	<pre>TagGroup popup_items1; TagGroup popup1 = DLGCreatePc string extension, entete //start Acquisition: image image1, image2 number erreur=0.4, pt=9999,1 //string MagVal TagGroup PresentTilt= DLGCrea</pre>	Focus Loop Pixel Time (µs): [20.0] Current Time For a Single Loop(s): 5.24288 Total Duration Of The Loop (s): [20.0] PROCEED	Calibration Color Mix Color Mix Mage Info Saving		
	TagGroup Button2 = DLGCreateF V	SAVE LAST IMAGE NEXT TILT			

Figure 2. Interface graphique associée au script DM de pilotage du 2010F en mode 'tomographie'.

Un des points les plus importants de ce pilotage conserve un des inconvénients majeurs de l'imaergie HAADF, à savoir la faible profondeur de champ qui peut rendre inutilisable toute image d'un objet très incliné, du fait de l'incapacité d'avoir le 'haut' et le 'bas' du champ de vue au même focus simultanément (cf. figure 3). Nous avons ainsi développé une routine de mise au focus 'dynamique' pendant l'acquisition STEM.



Figure 3. Micrographies à faible grandissement d'un film de carbone à trous recouvert de nanoparticules, et incliné de 73°(l'axe de tilt est horizontal). De gauche à droite : mise au focus manuelle en 'haut' de l'image, en 'bas' de l'image, et mise au focus 'dynamique' en cours d'acquisition.

4. Conclusion

La tomographie en microscopie électronique en transmission est un outil de caractérisation en 3D à l'échelle nanométrique, qui peut servir d'une part à l'étude détaillée d'objets individuels (par exemple, morphologie de nano-particules complexes) ou de populations d'objets (i.e. analyse statistique de distribution et répartition volumiques). Ce type d'applications sera démontrée dans d'autres contributions à ce colloque.

5. Références

- [1] S. Marco, T. Boudier, C. Messaoudi, and J.-L. Rigaud, Electron Tomography of Biological Samples, *Biochemistry (Moscow)* 69 11 (2004) 1219- 1225.
- [2] P.A. Midgley, M. Weyland, 3D electron microscopy in the physical sciences : the development of Z-contrast and EFTEM tomography, *Ultramicroscopy*, **96**, (2003), 413-431.
- [3] D.R.G. Mitchell, B. Schaffer, Scripting-customised microscopy tools for Digital Micrograph, Ultramicroscopy 103 (2005) 319- 332 ; Michel Ribardières et Bernard Pantel d'une part (JEOL Europe SA), Bernd Krauss et Rudi Rodemeier (Gatan Gmbh) d'autre part, sont remerciés pour leurs précieux conseils en matière de programmation de scripts.

Etude Structurale de la Glutamate Synthase bactérienne par cryomicroscopie électronique et modélisation moléculaire

Cottevieille M^{a,}, Jonic S^a, Larquet E^a, Svergun D^b, Vannoni MA^c, Boisset N^{a*}

 ^a Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Universités P6, P7, UMR 7590 du CNRS, IPGP, case 115, F-75252 Paris cedex 05, France.
 ^b European Molecular Biology Laboratory, Hamburg Outstation, EMBL c/o DESY, Notkestrasse 85, D-22603 Hamburg, Germany.
 ^c Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Universita' degli Studi di Milano, Via Celoria 26, I-20133 Milano, Italy.

Résumé – La glutamate synthase bactérienne bactérienne comprend plusieurs copies de deux types de sousunités catalytiques alpha et beta. Jusqu'à présent la stœchiométrie des sous-unités au sein du complexe était inconnue. Nous décrirons comment nous avons obtenu un volume de cryoMET de la NADPH-GltS avec une résolution comprise entre 9,5 Å (FSC_{0.5}) et à 8 Å (FSC_{1/2bit}), et comment nous avons recalé des données atomiques dans ce volume, déterminant ainsi la stœchiométrie du complexe.

1. Introduction

La glutamate synthase (GltS) est un complexe enzymatique qui forme, avec la glutamine synthétase, la principale voie métabolique d'assimilation de l'ammoniac chez les microorganismes et les plantes. La GltS catalyse la synthèse de L-glutamate à partir de 2-oxoglutarate (2-OG) et de L-glutamine. Les bactéries contiennent une forme NADPH-dépendante de l'enzyme (NADPH-GltS), composée de deux types de sousunités (alpha, 162 kDa, et beta, 52,3 kDa). Une alpha et une beta suffisent à former une forme active, qui contient 1 FAD, 1 FMN, et 3 clusters fer-soufre. Néanmoins un assemblage macromoléculaire de cette enzyme a été découvert, contenant plusieurs copies de ces sous-unités.

La sous-unité beta fonctionne comme une NADPH oxydoréductase FAD-dépendante, en transférant les produits d'oxydoréduction jusqu'au site de synthèse du glutamate situé dans la sous-unité alpha, par l'intermédiaire d'au moins deux des trois clusters Fe-S. Sa structure n'a pas été résolue, mais un modèle par homologie est proposé.

La sous-unité alpha, dont la structure a été résolue par diffraction des rayons X, contient 2 sites catalytiques : l'un où la L-Gln est hydrolysée en L-Glu et NH_3 , qui est transféré à travers un "tunnel" jusqu'au deuxième site, où le 2-OG est transformé en 2-iminoglutarate (2-IG), qui donne à son tour une molécule de L-Glu en recevant du FMN des produits d'oxydoréduction.



Figure 1. A) Champ typique de CryoMET de la glutamate synthase. B) Onze classes d'images ont été caractérisées, et quatre d'entre elles (cercles de couleur) utilisée pour le calcul de volumes primaires. C) Représentation de surface du complexe à 25 Å sans imposer de symetrie. D) Recalage moléculaire des models atomiques des sous-unités alpha et beta sur le volume à 8 - 9.5 Å de résolution de la Glutamate synthase obtenu sur le JEOL 2100F de l'IMPMC.

2. Obtention d'un volume de référence par reconstruction conique alétoire

Un premier volume de reconstruction (~25 Å) a été calculé à partir de 2x12 champs de cryomicroscopie sous des inclinaisons de 45° and 0° avec un grossissement de ×45,000 (*Fig. 1A*). Les négatifs ont été numérisés sur un scanner Nikon Coolscan 8000ED, avec un pixel de 4 Å de côté. Au total, 437 images de particules isolées ont été sélectionnées à l'aide des logiciels SPIDER et WEB d'analyse d'images [1], et soumises à la méthode de reconstruction conique aléatoire [2]. Parmi onze classes d'images, quatre ont été sélectionnées pour cacluler de volumes primaires (*Fig. 1B*), qui après alignement 3D et regroupement avec les autres classes d'images ont conduit au calcul d'un premier volume de référence isotrope. A ce stade, nous avons utilisé les techniques

^{*} Auteur à contacter : <u>nicolas.boisset@impmc.jussieu.fr</u> – Tel : 01 44 27 45 85

d'alignement itératif par projection 3D[3] pour affiner cette structure. Bien qu'aucune symétrie n'ait été imposée durant les cycles de reconstruction, le complexe laisse apparaître un stochiométrie de type (alpha 6, beta 6), ainsi qu'une architecture comprenant un axe de symétrie d'ordre 3 et trois axes de symétrie d'ordre 2 (*Fig. 1C*).

3. Calcul d'un volume à 8 – 9.5 Å de résolution et modélisation moléculaire du complexe

Une nouvelle série d'images du complexe GltS a été obtenue sur le microscope JEOL JEM-2100F, avec un voltage de 200kV, un Cs de 0.5mm, et une gamme se sousfocalisation de -1.7 à -3.2 microns. Après trie semiautomatique des meilleurs images en utilisant le nouvel algorithm des « spectres de puissances améliorés » [4] développé au laboratoire, les 13000 meilleurs images de particules isolées ont été soumises à de nombreux cycles d'alignement itératif par projection 3D et correction de la fonction de transfert de contraste par filtration de Wiener. Le volume s'est stabilisé sur une structure de résolution comprise entre 9,5 Å (FSC_{0.5}) et à 8 Å (FSC_{1/2bit}), avec une symétrie de type D₃. Les modèles atomiques des sous-unités alpha et beta ont ensuite été recalés à l'aide du logiciel Chimera [5], et sont analysés en détail dans le mémoire de Thèse de Magali Cottevielle [6], ainsi que dans un article soumis à publication.

4. Références

- [1] J. Frank, M. Radermacher, P. Penczek, J. Zhu, Y. Li, M.Ladjadj, A. Leith. SPIDER and WEB: processing and visualization of images in 3D electron microscopy and related fields. J. Struct. Biol. 116 (1996) 190-9.
- [2] M. Radermacher. *Three-dimensional reconstruction of single particles from random and nonrandom tilt series*. J. Electron Microsc. Tech. **9** (1988) 359-94.
- [3] P. Penczek, R. Grassucci, J. Frank, *The ribosome at improved resolution: new techniques for merging and orientation refinement in 3D cryo-electron microscopy of biological particles*. Ultramicroscopy **53** (1994) 251-70.
- [4] S. Jonic, C.O.S. Sorzano, M. Cottevieille, E. Larquet, N. Boisset. A novel method for improvement of visualization of power spectra for sorting cryo-electron micrographs and their local areas, J. Struct. Biol. 157 (2007) 156–167.
- [5] E.F. Pettersen, D. Goddard, C. Huang, G.S. Couch, D.M. Greenblatt, E.C. Meng, T.E. Ferrin. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research ans analysis. J. Comput. Chem. 25 (2004) 1605-12.
- [6] M. Cottevieille. *Etudes structurales de complexes multienzymatiques par cryomicrsocopie électronique, reconstruction 3D, modélisation moléculaire et recalage de données atomiques.* Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Soutenue le 27 Mars 2007, à l'IMPMC.
- [7] Nous remercions la Commission Européenne pour son soutien au réseau d'excellence "3D-EM" contrat LSHG-CT-2004-502828, ainsi que la Région Ile-de-France pour la convention SESAME 2000 E 1435 de support à l'installation du microscope JEOL 2100Fà l'IMPMC.

Application de la microscopie électronique 3D à l'étude des matériaux pour la catalyse hétérogène

Ovidiu Ersen^{a,*}, Jacques Werckmann^a, Corinne Ulhaq^a, Charles Hirlimann^a, Fanny Tihay^b, Cuong Pham-Huu^c, Corinne Crucifix^d, Patrick Schultz^d

> ^a Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg ^b Institut Français de Petrole ^c Laboratoire des Matériaux, Surfaces et Procédés pour la Catalyse ^d Institut de Génetique et Biologie Moléculaire et Céllulaire

La microscopie électronique 3D en mode conventionnel a été appliquée à l'étude des nano-objets dans le but d'obtenir des informations quantitatives sur la morphologie ou la structure interne des objets, ainsi que sur la distribution spatiale des nano-composants dans une matrice. Pour un ensemble de catalyseurs distribués dans un volume, en utilisant la reconstruction obtenue à partir d'une série de projections, l'analyse statistique de leurs caractéristiques géométriques, positions ou densité volumique devient ainsi possible. La sensibilité de cette technique au caractère volumique des objets nous permet d'obtenir des informations difficilement accessibles par d'autres techniques de caractérisations, comme par exemple la porosité ou la surface spécifique d'un nanomatériau poreux, paramètre d'une importance cruciale en catalyse.

Les derniers progrès réalisés en science des matériaux nécessitent une détermination et un contrôle de la microstructure à une échelle parfois subnanométrique. Il s'agit surtout des nanomatériaux qui sont présents dans de nombreux domaines d'intérêt majeur, comme la catalyse, l'électronique de spin, l'industrie pharmaceutique, les bioénergies. Leurs propriétés macroscopiques dépendent étroitement de leur structure, morphologie ou composition chimique à l'échelle nanométrique. Pour caractériser et améliorer ces nanostructures composites artificielles qui deviennent de plus en plus complexes, il faut donc mettre en place des techniques capables de fournir des informations réelles sur leur organisation à cette échelle et de préférence dans toutes les dimensions de l'espace. En microscopie électronique, la technique associée est la microscopie électronique à trois dimensions (3D-TEM) [1,2] qui permet de reconstruire le volume d'un objet à partir des observations faites à deux dimensions.

Une première classe d'objets à laquelle nous avons appliqué cette technique concerne les systèmes dans lesquels des nanotubes de carbone ont été utilisés comme support pour insérer des catalyseurs à l'intérieur sous forme de nanoparticules ou de nanofils à partir d'un sel métallique en solution aqueuse. Ainsi, pour un système composé d'un nanotube et des nanoparticules de Pd, l'exploitation quantitative du volume reconstruit nous a permis d'obtenir une distribution statistique de la taille de particules, mais également d'estimer la proportion des particules situées à l'intérieur par rapport au nombre total, ce qui est impossible à partir des projections. De cette manière nous avons pu mettre en évidence l'influence du diamètre intérieur du nanotube sur le processus d'insertion des nanoparticules et montrer que, pour un diamètre inférieur à 15 nm, les forces capillaires ne sont plus suffisantes pour faire pénétrer dans le nanotube la solution de sel métallique. De plus, l'analyse du volume reconstruit de l'objet a également mis en évidence la présence d'une phase résiduelle située à l'intérieur et à l'extérieur du nanotube, avec un contraste nettement amélioré dans les sections volumiques pas rapport aux projections de départ (Figures 1b et 1c).



Fig. 1 : Application de la TEM-3D à un nanomatériau de structure interne complexe, composé d'un nanotube de carbone, une phase résiduelle à l'intérieur et entourant la surface externe, des nanoparticules de palladium et des billes d'or : a) image en champ clair appartenant à la série de projections de départ; b) section par le volume reconstruit de l'ensemble; c) modélisation de la reconstruction (le nanotube de carbone en vert, la phase résiduelle en orange, les particules de Pd en bleu et les billes d'Au en rouge).

^{*} Auteur à contacter : ovidiu.ersen@ipcms.u-strasbg.fr – Tel : 03 88 10 71 02

Pour un autre système composé d'un nanotube de carbone avec des agrégats métalliques à l'intérieur organisés sous forme de nanofils, l'utilisation de la la TEM-3D nous a permis entre autres de déterminer la quantité du métal inséré à l'intérieur par rapport au volume totale disponible.

Une étude similaire a été réalisée sur des systèmes dans lesquels des nanoparticules aux propriétés catalytiques (Pd) sont dispersées dans une matrice (ici un mésoporeux de type SBA15). Dans ce cas particulier, en modélisant le volume obtenu par reconstruction séparément pour les particules et pour le support, nous avons pu obtenir de manière très précise la densité volumique des particules insérées, ainsi que leur distribution en taille.

Un deuxième exemple concerne les applications où les paramètres d'intérêt sont étroitement liés à la morphologie d'un objet ou d'un ensemble d'objets. Dans ce cas, les reconstructions obtenues nous permettent d'accéder à la topographie de la surface de séparation entre deux nano-objets (figure 2a) ou à l'ensemble des morphologies individuelles des objets appartenant à une collection qui sont difficiles à analyser à partir d'une projection à cause de la superposition des détails les concernant (figure 2b).

Une application typique de la microscopie électronique 3D concerne l'étude des matériaux à porosité contrôlée dédiés à la catalyse. L'analyse des volumes obtenus par reconstruction permet d'accéder à une représentation directe du réseau poreux, information très utile pour comprendre la réactivité du solide catalytique. Dans ce contexte, la microscopie 3D peut apporter des informations d'une grande importance comme le type de porosité (ouverte ou fermée) ou la forme de pores, mais également des estimations des paramètres quantitatifs d'intérêt comme le volume poreux ou la surface spécifique. De telles études ont été effectuées sur des zéolites dans lesquels une partie de l'alumine a été éliminée par une attaque acide pour créer des mésopores à l'intérieur et favoriser la diffusion des réactifs et produits (Figure 2c).



Fig. 2 : Sections par les volumes obtenus suite à l'application de la microscopie électronique 3D à l'étude des nanoobjets avec des buts très variés: a) pour déterminer la surface de séparation entre une particule métallique et la bille de silice sur laquelle elle a été déposée ; b) pour résoudre individuellement la morphologie des cavités sphériques arrangées périodiquement et leur connectivité (structure mésoporeuse de type FDU-12) ; c) afin de calculer le volume poreux et la surface spécifique d'une zéolite désaluminée.

A travers les différents exemples présentés nous avons souhaité mettre en évidence l'apport essentiel de la microscopie électronique 3D à l'étude des nanomatériaux de structure interne et organisation complexe. De plus, notre but est de montrer qu'il ne s'agit pas uniquement d'une technique d'observation et de représentation en 3D des nano-objets, elle permet aussi d'obtenir des paramètres quantitatifs difficilement accessibles par d'autres techniques d'investigation directe de la structure.

- [1] P.A. Midgley, M. Weyland, 3D electron microscopy in physical science: development of Z-contrast and EFTEM tomography, Vol. 96, 2003, p. 413.
- [2] A.J. Koster, U. Ziese, A.J. Verkleij, A.H. Janssen and K.P. de Jong, *Three-Dimesional Transmission Electron Microscopy: A Novel Imaging Characterization Technique with Nanometer Scale Resolution for Materials Science*, J. Phys. Chem. B, Vol. 104, 2000, p. 9368.
Imagerie tridimensionnelle en microscopie électronique à balayage à pression contrôlée

Pijarn Jornsanoh^{a,*}, Gilbert Thollet^a, Karine Masenelli-Varlot^a, Catherine Gauthier^a

^a MATEIS UMR 5510, INSA-Lyon, 7 avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne

Résumé – Un contraste de type masse-épaisseur peut être obtenu en mode transmission dans un microscope électronique à balayage (MEB) à pression contrôlée. Ceci offre une possibilité de développer la tomographie électronique en MEB qui, tenant compte l'échelle d'observation, propose un volume d'analyse plus important par rapport à la tomographie électronique en microscopie électronique à transmission (MET). Un composite à base PVC a été étudié par la tomographie en MEB. Une visualisation tridimensionnelle (3D) montre la dispersion des charges minérales de taille micronique et des modifiants choc de taille inférieure à 100 nm dans la matrice. Les mousses ont été également étudiées. La structure 3D des cellules a été observée en mode transmission combinée avec une rotation 360°

1. Introduction

Le progrès de la tomographie offre, aujourd'hui, un moyen puissant d'imagerie et d'analyse pour la caractérisation de structures tridimensionnelles que ce soit dans la recherche en biologie ou en science des matériaux. La tomographie au rayon X permet d'analyser un volume de quelques mm³ jusqu'à quelques cm³ avec une limite de résolution d'environ un micron. La tomographie électronique en microscopie électronique à transmission (MET), quant à elle, permet d'atteindre une résolution autour d'un nanotmètre, malgré des images manquantes (tilt limité dans le MET). Par contre, l'échelle d'observation en MET limite la taille de volume à analyser (cube de coté au mieux quelques centaines de nanomètres). Le but de ce papier est de décrire une nouvelle technique d'imagerie tridimensionnelle (3D) basée sur le MEB. Cette technique offre une vision 3D à une échélle intermédiaire entre la tomographie X et la tomographie électronique en MET.

2. Développement de la tomographie en MEB à pression contrôlée

Un dispositif « Tomo-STEM » [1] a été conçu pour développer la tomographie dans un MEB à pression contrôlée. Un contraste de type masse-épaisseur, approprié à la tomographie, peut être obtenu en plaçant un détecteur à deux secteurs semi-annulaires sous l'échantillon pour collecter des électrons diffusés aux grands angles. Ces angles de collection peuvent être choisis en faisant varier la distance entre l'échantillon et le détecteur. Cette configuration d'imagerie en mode transmission dans un MEB, utilisée dans [2], permet d'accéder à des informations en volume à travers d'une épaisseur importante avec un bon constraste.

Le système est utilisé en mode « low-vacuum » dans un microscope électronique à balayage à pression contrôlée, ce qui permet d'étudier des échantillons non conducteurs sans métallisation. D'autres détecteurs classiques sont également disponibles pour observer, entre autres, la surface des échantillons en mode électrons secondaires. Par ailleurs, le porte-objet a été conçu pour une rotation complète 360° des échantillons dans la chambre du microscope. Ce dispositif permet, d'une part, de résoudre le problème du cône manquant de la tomographie électronique en microscopie électronique à transmission et, d'autre part, d'ouvrir des nouvelles perspectives pour l'imagerie de type topographique 3D.



Figure 1 – Schéma du dispositif « Tomo-STEM » : a) système de réglage de l'eucentrique ; b) génération de rotation de 360° ; c) échantillon ; d) détecteur à deux secteurs semi-annulaires, e) faisceau d'électrons incidents

^{*} Auteur à contacter : pijarn.jornsanoh@insa-lyon.fr – Tel : 04 72 43 70 33

3. Résultats

Parmi les matériaux étudiés, on présentera un exemple d'un composite à base PVC. Le compromis entre la résolution et l'échelle d'observation de la technique permet la reconstruction 3D montrant, dans la figure 2, à la fois comment des charges microniques et des modifiants choc de taille inférieure à 100 nm sont dispersés dans la matrice PVC. Dans ces condition expérimentales, le volume reconstruire est de $5x5x2\mu m^3$ et la résolution spatiale est inférieure à 40 nm. Des observations de mousses seront également présentées. Des parties sombres de la figure 3 correspondent à des zones épaisse de l'échantillon, que les électrons ne peuvent pas traverser. Malgré ce type de contraste non approprié à la reconstruction tomographique, la rotation 360° de l'échantillon permet d'observer la finesse des parois et la structure des cellules.



Figure 2 – Visualisation 3D de la dispersion des charges minérales et des modifiants choc dans une matrice PVC. (Volume reconstruit : $5x5x2 \ \mu m^3$)



Figure 3 – Image en mode transmission d'une mousse polyuréthane présentant à la fois des zones minces (parties claires) et des zones épaisses (parties sombres).

- [1] P. Jornsanoh, G. Thollet, K. Masenelli-Varlot, C.Gauthier, FR Patent 06-09-708, (2006)
- [2] A Bogner, G. Thollet, D. Basset, P.-H. Jouneau, C. Gauthier, Wet STEM: A new development in environmental SEM for imaging nano-objects included in a liquid phase, Ultramicroscopy, 104, (2005), 290-301

Simultaneous characterization of 3D absorption and grain microstructure in undeformed materials by diffraction contrast tomography

Wolfgang Ludwig^{a,c*}, Andrew King^b, Greg Johnson^b, Marcelo Gonzalves-Hoennicke^c, Peter Reischig^c,

^a Laboratoire MATEIS, UMR5510 CNRS, INSA-Lyon, 25 av. Jean Capelle, 69621 Villeurbanne, France ^b University of Manchester, UK

^c European Synchrotron Radiation Facility, BP 220, 38043 Grenoble, Cedex

Résumé - The principles of a novel technique for non-destructive and simultaneous mapping of the 3D grain and absorption microstructure of a material are explained. The grains are imaged using the occasionally occurring diffraction contribution to the X-ray attenuation coefficient each time a grain fulfils the diffraction condition. The 3D grain shapes are reconstructed from a limited number of projections using an algebraic reconstruction technique.

In recent years EBSD has become an enormously important technique for the characterisation of polycrystalline microstructures in materials science and engineering. However, without destructive sectioning techniques it is limited to two dimensional surface measurements.

Here we describe a technique based on synchrotron x-ray imaging which has been used to produce full 3D grain maps (both grain shapes and orientations) in annealed aluminium alloy and stainless steel samples containing around 500 grains. The technique is termed diffraction contrast tomography [1,2], underlining its similarity to conventional absorption contrast tomography with which it shares a common experimental setup.

The sample is illuminated using a highly monochromatic synchrotron x-ray beam. Grains are imaged using the extinction contrast that appears in the transmitted beam during rotation of the sample when grains are aligned in the diffraction condition. The beams of radiation diffracted by the grains are captured simultaneously on the same detector as the direct beam image. The combination of diffraction and extinction information greatly aids the grain indexing operation, in which extinction images are assigned to grain sets. Grain shapes are determined by algebraic reconstruction from the limited number of extinction projections, while grain orientation is found from the diffraction geometry.

The potential and the limitations of the technique will be illustrated on recent applications such as the study of stress corrosion and fatigue crack propagation mechanisms.



Figure 1 - Some examples of 3D polycrystalline microstructure imaged using diffraction contrast tomography

- [1] W. Ludwig, S. Schmidt, E.M. Lauridsen, H.F. Poulsen, *Diffraction contrast tomography: a novel technique for 3D grain mapping in polycrystals. Part I: direct beam case*, J. Appl. Cryst., submitted
- [2] G. Johnson, A. King, M. Gonzalves-Hoennicke, W. Ludwig, *Diffraction contrast tomography: a novel technique for 3D grain mapping in polycrystals. Part II: the combined case*, J. Appl. Cryst., submitted

^{*} Auteur à contacter : wolfgang.ludwig@insa-lyon.fr – Tel : 04 76 88 29 73

Aberrant pixel removal tool for electron microscopy images

Cédric Messaoudi^{1,2}, Rana Ibrahim^{1,2}, Sergio Marco^{1,2}

¹ Institut Curie, Section Recherche, Laboratoire d'Imagerie Intégrative, Centre Universitaire d'Orsay, 91405 Orsay, France.
² INSERM U 759, Centre Universitaire d'Orsay, Bât. 112, 91405 Orsay cedex, France

Recent approaches in electron microscopy have been facilitated by the use of ssCCD camera that quickens the images digitalization process. Digitized images can then be processed to recover three-dimensional or chemical information by computing methods such as single particle analysis, electron tomography or energy filtered electron microscopy. Theses techniques make use of quantitative information in the image. Therefore, they are highly dependent on the values present in each pixel. Nevertheless, ssCCD cameras produce some artifacts due to X-rays or electrical noise that induce very bright or dark "aberrant" pixels with inconsistent values. The aberrant pixels can sometime be detected by thresholding and can be eliminated by using classical image filtering such as median filter. However these filters modify the values of all pixels in the image. So it cannot be used in quantitative methods. We propose here a new method to detect aberrant pixels and individually replace them with values coherent with the surroundings.

As an aberrant pixel has high variation with its neighborhood, we evaluate this criterion for each pixel in the image. To this purpose a distance algorithm is used. The scoring of the distance between central pixel and its neighborhood is calculated using the mean square difference. $Msd=\Sigma(P(x,y)-P(x0,y0))^2/N$ where P(x,y) is the value of the pixel in the image at the coordinate (x,y), x0 and y0 are the coordinates of the central pixel of the neighborhood and N is the number of pixels of the neighborhood considered. The higher this score is the higher is the difference between a pixel and its neighborhood. Using this approach, we obtain an image of distance. Then, we determine where is the limit of distance value above which we consider the pixel aberrant. To this purpose the histogram of the image of distance is considered. On the histogram, non aberrant pixels will have low distance values and aberrant pixels will have high values and will be represented by a very few numbers of pixels with the same value of distance. The distribution of distances in the histogram follows a curve that decrease to 0 and then stabilize at zero except for values corresponding to aberrant pixels. To determine the limit between normal and aberrant distance values we detect where the histogram curve becomes zero and remains constant. From this point, all values of the histogram different from 0 are considered as aberrant pixels and replaced by the average value of their neighborhood but excluding any other aberrant pixels in the neighborhood.

The procedure has been applied on experimental tilt series and their tomograms have been computed before and after aberrant pixels elimination.

Atomic-Scale Studies of Complex Oxide Interfaces Using Aberration-Corrected Z-Contrast Imaging and EELS

R.F. Klie^{1*}, Y. Zhao¹, G. Yang¹, and Y. Zhu²

¹ Department of Physics, University of Illinois, Chicago, IL 60607, USA ² Institute for Analytical Electron Microscopy, Brookhaven National Laboratory, Upton, NY 11973, USA

Abstract – The recent development of probe aberration-correctors has enabled us to directly study the atomicscale structure-property relationships of interfaces in complex oxides. In particular, by using correlated Zcontrast imaging and electron energy-loss spectroscopy (EELS), the structure, composition and bonding at complex oxide interfaces can all be characterized directly with a spatial and energy resolution that cannot be achieved by any other technique. In this paper, we will demonstrate that the combination of Z-contrast imaging and EELS can be used to analyze a wide range of properties in complex oxide materials, such as CMRs, high- κ dielectrics and high- T_c superconductors.

1. Introduction

Interfaces in complex oxide materials have been an enduring theme in materials physics, where the interplay of the reduced dimensionality, proximity effects, as well as surface relaxation, reconstruction and segregation creates interfacial states that are distinct from their bulk counterparts. It has long been recognized that interfaces and grain boundaries in strongly correlated oxide systems can have profound effects the material's properties, creating potentially novel states and behaviors. The combination of aberration-corrected Z-contrast imaging and EELS provides the ability to measure these features directly on a truly atomic scale.

2. Instrumentation

In this presentation, atomic-resolution Z-contrast imaging and column-by-column EELS of interfaces in strongly correlated oxides will be shown. More specifically, we utilize the aberration-corrected JEOL JEM2200FS at Brookhaven National Laboratory (BNL), the aberration-corrected VG HB-601UX at UIC, and the VG HB-501UX at Oak Ridge National Laboratory (ORNL).

The BNL JEOL-JEM2200FS is equipped with a 200 kV Schottky field-emission electron gun, a CEOS probe aberration-corrector [1] and an in-column energy filter. Imaging the dumbbells in a Si [110] sample, we can show that a probe-size of less than 1.0 Å can be achieved (see Figure 1). The VG DSTEMs at ORNL and UIC are equipped with a NION aberration-corrector,[2] a cold-field emission gun and a Gatan Enfina post-column spectrometer, which allows single atom spectrum-imaging.[3]



Figure 1: a) Z-contrast image of Si [110] acquired with a probeconvergence angle of 25 mrad, a collection angle of 60 mrad, and an acquisition time of 8.4s. The image clearly shows the two Si-atoms of the dumbbell structure resolved. b) The power-spectrum of a) shows both the (400), (511), as well as the (600) spots, indicating that a probe-size of ~0.907Å can be achieved in the aberration-corrected JEOL-JEM2200FS.

3. Applications

Figure 2 shows a high-resolution Z-contrast image of a pristine and a Ca-doped dislocation core in a 4° [001] tilt grain boundary of YBa₂Cu₃O₇ (YBCO). The atomic structure of these two dislocation cores appear to be quite different.[4] Not only do the Ca-doped cores exhibit one additional atomic column on the Y/Ba sublattice (Fig 2b), the Cu-O column right next to the dislocation core appear significantly brighter than any Cu-O column in the bulk, while the third Cu-O column to the right appears significantly darker. Moreover, our EELS spectra show that the local charge carrier concentration in the vicinity of the Ca-doped dislocation core is higher than in the pristine sample.[5] Atomic-column resolved EELS will be used to explore difference in the Cu-O image contrast and measure the profile of the local charge carrier concentration.

^{*} Email: <u>rfklie@uic.edu</u>, Tel: +1-312-996-6064



Figure 2: Structural differences in pristine and Ca-doped YBCO. a) Z-contrast image of pristine 4° [001] tilt grain-boundary dislocation core on the Cu-O sublattice. The pentagon shows the center of the dislocation core typically found in perovskite oxide grain boundaries.[4] b) Cadoped grain-boundary: the Y/Ba column arrangement in the dislocation core encircles three columns, two on the Cu-O and one on the Y/Ba sublattice.

Figure 3 shows an aberration-corrected Z-contrast image of the misfit-layered structure $Ca_3Co_4O_9$, which consists of triple rock salt-type layers Ca_2CoO_3 and single CdI_2 -type CoO_2 -layers stacked along the *c*-axis (see Fig. 3b).[6] It was previously suggested that the Co-valence alternates from Co^{4+} in the CoO_2 -layers to Co^{2+} in the rocksalt layer. The EELS spectra taken from the middle of the rock-salt layer CoO and from the CoO_2 layer (Fig 3c) shows a lower Co-concentration and Co-valence state in the rock-salt layer compared to the spectra taken from the CoO_2 layers. Moreover, the O K-edge pre-peak in the rock-salt layer is significantly lower than in the CoO_2 layers. We will discuss the reduced image contrast in the rocksalt Co-O layers and its influence on the charge transfer at the different Co-sites.



Figure 3: a) Aberration-corrected Z-contrast image of $Ca_3Co_4O_9$ [100]; b) proposed model for this misfit layered structure (taken from [5]); c) EELS spectra taken from the two distinct Co-sites.

4. Conclusions

We have shown that the combination of atomic-resolution Z-contrast imaging and EELS in an aberrationcorrected STEM can be used to characterize the effects of charged interfaces and defects in functional nanomaterials. In the future, these experiments will be expanded to include in-situ heating and cooling capabilities while maintaining atomic resolution and sub-eV energy resolution.

5. References

- [1] M. Haider, *et al.*, "A spherical-aberration-corrected 200 kV transmission electron microscope," *Ultramicroscopy*, vol. 75, pp. 53-60, 1998.
- [2] O. L. Krivanek, *et al.*, "Towards sub-0.5 angstrom electron beams," *Ultramicroscopy*, vol. 96, pp. 229-237, 2003.
- [3] M. Varela, *et al.*, "Spectroscopic imaging of single atoms within a bulk solid," *Physical Review Letters*, vol. 92, 2004.
- [4] N. D. Browning and S. J. Pennycook, "Direct experimental determination of the atomic structure at internal interfaces," *Journal Of Physics D-Applied Physics*, vol. 29, pp. 1779-1798, 1996.
- [5] R. F. Klie, *et al.*, "Enhanced current transport at grain boundaries in high-T_c superconductors," *Nature*, vol. 435, pp. 475-478, 2005.
- [6] A. C. Masset, *et al.*, "Misfit-layered cobaltite with an anisotropic giant magnetoresistance: Ca₃Co₄O₉," *Physical Review B*, vol. 62, pp. 166-175, 2000.

Etude par microscopie électronique en transmission à correcteur d'aberrations des systèmes Si_{1-x}Ge_x/Si dédiés à la microélectronique

Florian Hüe^{a,*}, Martin Hÿtch^a, Jean-Michel Hartmann^b, Yann Bogumilowicz^c Alain Claverie^a

^a Cemes, CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse ^b CEA-Leti, CEA-G, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble ^c STMicroelectronics, 850 rue Jean Monnet, 38921 Crolles

Résumé – Cet article présente l'apport important de la microscopie électronique en transmission pour l'étude des contraintes dans les dispositifs à base de semi-conducteurs. Nous présentons ici une étude qui porte sur des couches de Silicium de différentes épaisseurs épitaxiées sur des substrats virtuels de Si_{1-x}Ge_x de différentes compositions. Les différentes composantes de déformations sont calculées par Géometric Phase Analysis (GPA) à partir d'images haute résolution. Les couches de Silicium en tension biaxiale sont en compression dans l'axe de croissance. Pour vérifier nos mesures, des simulations par éléments finis couplées à du calcul multislice d'image HREM ont été réalisées.

1. Introduction

Dans le domaine de la microélectronique, les nanostructures à base de SiGe sous contrainte sont d'un intérêt technologique majeur pour les dispositifs à venir. Les contraintes dans les couches actives augmentent la mobilité des porteurs par rapport au massif, et donc les performances des dispositifs [1]. La microscopie électronique à haute résolution est un outil de choix pour l'étude de telles nanostructures. La méthode d'Analyse de Phase Géométrique (GPA) [2,3] nous permet de cartographier les déformations à l'échelle nanométrique à partir d'image HREM. De plus, le fait de travailler avec un correcteur d'aberration sphérique nous permet d'obtenir des images HREM d'une meilleure résolution avec un meilleur rapport signal sur bruit et ainsi nous pouvons mesurer de petites déformations avec une précision allant jusqu'à 0,1% [4]. La figure 1 présente une image haute résolution d'une couche de 10 nm de Silicium sur un substrat virtuel de Si₆₀Ge₄₀ obtenue sur le SACTEM de Toulouse avec le calcul de la déformation associée dans la direction de croissance, ε_{zz} .



Figure 1 – (a) Image haute résolution avec sa FFT associée (b) ε_{zz} calculés à partir des rangées (111) et (1-11) et son profil.

Notre étude a porté sur une série d'échantillons ayant différentes compositions de substrat virtuel et ayant, pour chaque gamme de composition, des épaisseurs de couche de Silicium variables. Etant donné la finesse des échantillon TEM (quelques dizaines de nanomètres) nous avons dû prendre en compte le phénomène de relaxation de lame mince pour interpréter nos résultats.

^{*} Auteur à contacter : hue@cemes.fr – Tel : 05 62 25 78 31

2. Simulations des déformations

Pour simuler les déformations de lames minces, nous avons effectué des modélisations par éléments finis [5] en utilisant la théorie de l'élasticité.



Figure 2 – (a) Simulation d'une lame mince (b) supercell (c) simulation JEMS (d) ε_{zz} par GPA avec son profil

La figure 2 montre la démarche que nous avons suivie pour simuler des images HREM pour ensuite les comparer à nos résultats expérimentaux. Tout d'abord nous simulons par éléments finis (FEM) la déformation de l'échantillon aminci, puis nous créons une supercell correspondant au cristal de SiGe dans l'axe [110] avec les déplacements de chaque atome, et finalement nous effectuons une simulation par JEMS pour recréer l'image HREM [6].

3. Conclusion

Notre étude s'étant portée sur une grande quantité d'échantillons, nous avons pu voir l'évolution de la contrainte en fonction de différents paramètres : la concentration en Germanium dans le substrat virtuel, l'épaisseur de la couche de Silicium mais également l'épaisseur de l'échantillon TEM. Cela nous a permis également de montrer la grande utilité de la microscopie haute résolution pour mesurer avec précision les contraintes à l'échelle atomique, mais également pour cartographier les déformations avec une précision de 2 nm.

- [1] Deleonibus S, Eur. Phys. J.: Appl. Phys. 36 (2006) 197-214
- [2] Hÿtch M J, Snoeck E, and Kilaas R, Ultramicroscopy 74 (1998) 131-146
- [3] GPA Phase, a plug-in for DigitalMicrograph (Gatan), available from HREMResearch Inc.: www.hremresearch.com
- [4] Houdellier F and Hÿtch M J, Microelectronics Engineering 84 (2007) 460-463
- [5] Tillmann K, Lentzen M, and Rosenfeld R, Ultramicroscopy 83 (2000) 111-128
- [6] JEMS software: P. Stadelmann, http://cimewww.epfl.ch/people/Stadelmann/jemsWebSite/jems.html

Electron crystallography applied to a "real" sample: the structure of Mn₂O₃ solved by precession electron diffraction

Holger Klein^{*}

Institut Néel, CNRS et UJF, 25 av. des Martyrs, BP 166, 38042 Grenoble, France

Abstract – Electron crystallography is a useful tool for structure determination in cases where X-ray diffraction is not sufficient, e.g. multi-phase (nanometre-sized) powders. The feasibility of different methods of electron crystallography has been shown on many different materials. In this contribution we apply the method of precession electron diffraction on a "real" sample. The structure of a Mn_2O_3 impurity in a nanometre-sized powder of MnO_2 was solved by direct methods. The influence of experimental parameters and the treatment of the obtained data are discussed.

1. Introduction

The emerging electron crystallography is a powerful tool for the determination of the atomic structures of crystals. Many examples have been shown in which electron crystallography has been able to solve even complex structures correctly (for recent examples see [1]). However, compared to X-ray crystallography it remains a delicate and time consuming method. Therefore it finds its real application in cases where X-rays are not sufficient to solve the structures. Prominent examples are multi-phase powders constituted of nanometre sized grains. In this work we present one of these "real" cases.

2. Sample

The sample studied is a nanometer-sized powder of MnO_2 , which is interesting for applications in batteries, but which contained a few percent of an unexpected phase [2]. Powder X-ray diffraction showed the expected peaks of the β -MnO₂ phase and a few additional peaks not consistant with this phase. However, these peaks were insufficient for a phase determination. Figure 1 shows the secondary phase particle amongst clusters of MnO_2 crystals and the corresponding X-ray powder diffraction pattern.



Figure 1 – (left) TEM micrograph showing clusters of MnO_2 crystals and a single particle of Mn_2O_3 (arrow). (right) X-ray powder diffraction pattern: peaks not due to MnO_2 are marked by *

3. Experimental

The electron diffraction was performed in a Philips CM300ST equipped with a GATAN Slowscan CCD camera and the "spinning star" precession device. Using selected area electron diffraction (SAED) we identified the minority phase to be pseudo-cubic α -Mn₂O₃ with cell parameter a = 9.4 Å and space group Ia3.

For the structure determination a total of 17 zone axes covering the asymetrical unit of the cubic cell were recorded in classical SAED conditions and in precession mode with different precession angles up to 4°. The intensities of the reflections corresponding to real space distances d > 0.8 Å were measured using the ELD program of the CRISP package [3]. The intensities of equivalent reflections in each single EDP were merged and then the data sets corresponding to a same precession condition were merged using the program Triple (CRISP). After an additional merging of symetry equivalent reflections in these data sets we obtained the intensities of 196 independent reflections in the complete data set.

The data were used as input for the SIR97 [4] program for structure determination. Since the diffracting crystal was not very thin we assumed the measured intensities to be proportional to the structure factor amplitude [5].

^{*} Auteur à contacter : holger.klein@grenoble.cnrs.fr – Tel : 04 76 88 79 41

4. Discussion

The importance of the precession technique for electron diffraction in order to obtain diffracted intensities close to those expected in kinematical theory becomes evident just by optical inspection of the EDPs. Figure 2 shows the [1 1 1] zone axis obtained by classical SAED (left) and by the precession technique with a precession angle of 2° (right). In SAED the intensities are very homogenous (except for a hexagon of slightly more intense reflections) and decrease with increasing diffraction vector modulus. In the precession EDP where multiple diffraction is reduced the differences in the intensities of different reflections are much more pronounced.



Figure 2 –Electron diffraction patterns of the [1 1 1] zone axis obtained by SAED (left) and the precession technique (right)

The better quality of the precession electron diffraction (PED) data also becomes evident when merging symmetry equivalent reflections or when merging intensities from different zone axes. Merging the intensities of different zone axes obtained in SAED yielded R factors between 10 % and 20 %. The R factors for merging the same zone axes obtained with a precession angle of 2° were between 4 % and 12 %. Consequently it was no surprise that the PED data was more suitable for structure determination by direct methods. The SIR97 program using the PED data yielded three predominant peaks in the electron density map corresponding to the 3 independent atoms of the structure. The spurious additional peaks are of much weaker intensity (table 1). The peaks in the electron density map obtained from the SAED data are of essentially the same height and it is impossible to determine the real atom positions.

Results of SIR97 with PED data				Results of SIR97 with SAED data						
Atom He	eight x	у	Z	Ato	m	Height	х	у	Z	
Mn 1 24	400 0.500	0.000	0.500	0	1	686	0.231	0.028	0.223	
Mn 2 14	405 0.250	-0.273	0.500	Mn	2	546	0.424	0.000	0.250	
O 3	676 0.376	-0.159	0.416	0	3	533	0.330	0.040	0.165	
O 4	414 0.247	-0.279	0.457	0	4	476	0.393	-0.139	0.199	
Q 5	361 0.434	-0.066	0.566	0	5	458	0.132	0.132	0.132	
0 6	345 0.209	-0.296	0.492	0	6	343	0.000	0.000	0.000	
O 7	316 0.208	-0.208	0.292	Q	7	339	0.501	0.073	0.239	
O 8	300 0.500	-0.250	0.423	0	8	303	0.004	0.004	-0.003	
Final residual value = 25.42%			Final residual value = 34.89%							

Table 1 - Comparison of the electron density peaks obtained by PED and SAED

5. Conclusion

We have shown that electron crystallography can solve the structure of a minority phase in a nanometric powder sample. While the data obtained in SAED was not suitable for use in direct methods, the precession electron diffraction technique yields intensities close enough to kinematical theory to solve the structure unambiguously.

6. References

- [1] Proceedings of the Electron Crystallography School 2005, ELCRYST 2005: New Frontiers in Electron Crystallography, Ultramicroscopy **107** (June-July 2007) 431-558
- [2] Chr. Poinsignon, E. Djurado, H. Klein, P. Strobel, F. Thomas, *Electrochemical and surface properties of nanocrystalline beta-MnO₂ in aqueous electrolyte*, Electrochimica Acta, **51**, (2006) 3076-3085
- [3] http://www.calidris-em.com/
- [4] http://www.ic.cnr.it/registration_form.php
- [5] M. Gemmi and S. Nicolopoulos, *Structure solution with three-dimensional sets of precessed electron diffraction intensities*, Ultramicroscopy **107** (2007) 483-494

Phénomènes Ordre – Désordre dans les Nanoparticules de CoPt - Etudes Quantitatives par Microscopie Electronique -

D. Alloyeau^{a,b*}, C. Ricolleau^a, C. Langlois^a, Y. Le Bouar^b, A. Loiseau^b

^aMatériaux et Phénomènes Quantiques (Univ. Paris 7 - CNRS), 2 place Jussieu, 75251 Paris ^bLaboratoire d'Etude des Microstructures (ONERA - CNRS), B.P. 72, 92322 Châtillon Cedex

Résumé - Les nanoparticules magnétiques, de part leurs remarquables propriétés, sont l'une des solutions envisagées pour augmenter la densité de stockage de l'information. Le présent travail porte sur l'étude des effets de taille sur les propriétés thermodynamiques des nanoparticules de CoPt. A l'état massif, l'alliage équiatomique CoPt présente une transition de phase à 825° C, entre une phase quadratique ordonnée (L1₀) qui possède une forte anisotropie magnétique et une phase cubique faces centrées (CFC) désordonnée à haute température [1]. Grâce au contrôle de la croissance des nanoparticules de CoPt synthétisées par ablation par laser pulsé (PLD), nous avons réalisé une étude quantitative des phénomènes d'ordre – désordre par Microscopie Electronique à Transmission (MET).

1. Synthèse de nanoparticules de taille, composition et structure contrôléespar PLD

Les nanoparticules de CoPt ont été élaborées par ablation par laser pulsé, en utilisant un laser excimer KrF (λ =248 nm) dans un bâti ultra vide. Cette approche originale est basée sur la déposition alternée des atomes de cobalt et de platine depuis une phase vapeur obtenue par l'interaction d'un pulse laser avec la cible métallique correspondante. Cette technique permet d'avoir un contrôle fin des paramètres comme la taille, la forme, la densité, l'environnement local et la structure des particules formées. Ainsi, on acquiert une meilleure compréhension des propriétés physiques des nanoparticules.

Pour caractériser la structure et la forme de ces objets nanométriques nous avons utilisé la MET conventionnelle, la diffraction électronique quantitative et l'imagerie haute résolution. L'analyse EDX (*Energy Dispersive X-ray spectroscopy*) a permis de déterminer la composition relative des alliages. Nous avons démontré que cette dernière varie de façon linéaire en fonction du paramètre cristallin, mesuré en diffraction électronique, suivant la loi de Végard. Ce résultat nous a permis d'optimiser les conditions de synthèse de façon à obtenir des nanoparticules de composition ciblée et mesurable avec une précision de 2%.

Les propriétés thermodynamiques de nanoparticules d'environ 15 nm ont été étudiées au cours de recuits *in situ* dans un microscope. Les nanoparticules, après leur synthèse, sont dans une phase CFC hors équilibre comparée au diagramme de phase du CoPt à l'état massif. Ensuite, au dessus de 600°C les particules adoptent une structure L1₀ ordonnée, alors qu'on retrouve la structure CFC désordonnée pour dès que la température est supérieure à celle de transition de phase (825° C). Les mécanismes de coalescence, qui font évoluer la morphologie de nanoparticules vers des agrégats de plus en plus gros, sont observés à partir de 710°C. Ces expériences nous ont éclairci sur la relation entre la température et les phénomènes cinétiques que sont la mise en ordre et la coalescence des particules. Nous avons pu ainsi optimiser les paramètres expérimentaux de synthèse afin d'élaborer des particules ordonnées (L1₀) de taille calibrée sans recuit post-synthèse (Fig. 1) [2].



Figure 1 - Images haute résolution de nanoparticules de CoPt ordonnées L1₀, sans recuit postsynthèse, orientées selon la direction [110].

2. Effets de taille sur la mise en ordre

Afin d'observer des effets de taille sur les phénomènes d'ordre - désordre, nous avons recuit pendant une heure à 650°C, 700°C et 750°C, des échantillons de nanoparticules désordonnées ayant des tailles moyennes de deux et trois nanomètres. Nous avons tout d'abord constaté que les mécanismes de coalescence étaient très dépendants de la densité de particules sur le substrat. Lorsque celle-ci est faible, les particules étant alors plus isolées les unes des autres, les mécanismes de coalescence requièrent une température plus élevée ou un temps de traitement plus long. D'un point de vue structural, nous avons observé que les particules ayant conservé une taille inférieure à 2.9 nm ne s'ordonnaient pas au cours de ces traitements. Ce résultat est en accord avec les études théoriques et expérimentales que l'on peut trouver dans la littérature [3] et démontrent la diminution de la température de mise en ordre lorsque la taille des particules décroît. De plus, les nanoparticules ayant la même taille dans le plan du substrat présentent des états structuraux différents. La microscopie électronique nous a permis d'apporter deux explications à ce phénomène. En utilisant des séries focales, nous avons montré que l'épaisseur des particules ordonnées (= 3 nm) était supérieure à celle des nanoparticules désordonnées (= 2nm) (Fig. 2). Par ailleurs, des mesures EDX en mode nanosonde ont montré des inhomogénéités en concentration entre les particules dont la taille avait augmenté au cours du recuit et celles dont la taille a diminué. Ce gradient de concentration n'est pas présent sur les nanoparticules brut de fabrication et on a montré que les mécanismes de coalescence tendent à homogénéiser la concentration des particules. Ces inhomogénéités en concentration peuvent s'expliquer par une cinétique du mûrissement d'Oswald des nanoparticules différente pour le Platine et le Cobalt. Les phénomènes d'ordre - désordre dans une nanoparticule de CoPt lors d'un recuit sont fortement dépendants de l'évolution de sa morphologie 3D et de sa composition.



Figure 2 - Série focale d'une nanoparticule désordonnée de 3 nm dans le plan d'observation, et de 2 nm d'épaisseur. (a) Série focale expérimentale ; (b) série focale calculée à partir d'une nanoparticule simulée.

3. Etude quantitative du paramètre d'ordre

La morphologie à 3D des nanoparticules a été étudiée par tomographie électronique. Les particules ont une forme ellipsoïdale et facettée. Le rapport de leur hauteur sur leur diamètre moyen dans le plan du substrat diminue quand leur taille augmente. Les mesures de taille au cours de ces expériences de tomographie, corrélées aux résultats des séries focales et aux observations en section transverse, sont très efficaces pour déterminer l'épaisseur des particules. Cette valeur est un paramètre clef pour mesurer le paramètre d'ordre.

Nous travaillons actuellement sur la mesure quantitative du paramètre d'ordre. Nous avons mis au point une procédure sur un échantillon massif. La technique « weak beam », en géométrie à deux ondes a été utilisée pour mesurer le gradient d'épaisseur de l'échantillon (Fig. 3). Une diffraction, le plus proche des conditions d'axe de zone, est réalisée et les lignes de Kikuchi sont utilisées pour mesurer l'orientation du cristal avec une précision du dixième de degré. En corrélant des simulations de diffraction dynamique (Fig. 4) réalisées dans les mêmes conditions d'orientation que la diffraction expérimentale, nous avons montré qu'il est possible de déterminer précisément le paramètre d'ordre en comparant l'intensité des réflexions fondamentales et de surstructures. La corrélation, à 2% près, entre la valeur déterminée par diffraction et lui donne même une précision de mesure encore jamais atteinte par MET. Ce protocole expérimental est appliqué aux nanoparticules en utilisant une sonde électronique de taille nanométrique afin d'obtenir la diffraction d'une particule unique (Fig. 5). Ainsi, la mise à profit des développements de la microscopie quantitative nous permet de mesurer le paramètre d'ordre dans des objets de taille nanométrique.



[1] Y. Le Bouar, A. Loiseau, A. Finel, Phys. Rev. B 68 (2003) 224203

gradient en épaisseur de la zone observée.

[2] D. Alloyeau, C. Langlois, C. Ricolleau, Y. Le Bouar, A. Loiseau, soumis à J. Applied Phys. (2006)

1-11 en fonction de l'épaisseur.

selon l'axe de zone [114].

^[3] T. Miyazaki, O Kitakami, S Okamoto, Y. Shimada, Z. Akase, Y Murakami, D. Shindo, Y. K. Takahashi, K. Hono, Phys. Rev 72 (2005) 144419.

EELS spectroscopy in a TEM : new possibilities, new measurements, new applications

C. Colliex^{*}, O. Stéphan, M. Kociak, M. Tencé, A. Gloter, D. Imhoff, M. Walls, J. Nelayah, K. March, M. Couillard

Laboratoire de Physique des Solides (UMR CNRS 8502), Bldg. 510, Université Paris Sud XI, 91405 Orsay, France

Summary- This abstract reports recent trends in the development and use of Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) in a TEM environment. It points out how new fields of investigations are being opened as a consequence of advances in instrumentation, methodology and associated theory.

1. Introduction

Measuring the energy lost by the primary electron beam in an electron microscope, when travelling through the specimen, has been recognized as a powerful source of information since its early days. Electron Energy-Loss Spectroscopy (EELS) has now reached a mature role and it constitutes a major component of any new electron microscope, in particular for materials science studies. When dealing with characteristic core-loss signals, it is commonly used for elemental mapping, in which case atomic resolution and single atom sensitivity have been demonstrated [1, 2], and it has found wide areas of applications in many scientific domains. In the low-energy loss domain, it detects individual (interband transitions) or collective (plasmons) responses of the electron gas of the material and it provides novel routes, yet often unexplored, to map electronic or optical properties with an unprecedented resolution. In all cases, the optimized extraction of an useful information relies on the parallel development of theoretical tools for simulating the experimentally recorded data, in particular on an advanced understanding of the physics of excited states which is involved in typical spectroscopies under the primary beam of particles.

2. New possibilities

Progress in instrumentation, data processing and simulation have been performed in parallel to fully offer and exploit new possibilities. Among the wide diversity of recent developments, major increments in spatial and energy resolution have been obtained by the introduction in (S)TEM columns, of new electron optics devices such as C_s correctors or monochromators, which make available a simultaneous intrinsic performance of respectively 0.1 nm in microscopy and 0.1 eV in spectroscopy. The present overview focuses onto new aspects of spectrum acquisition (dual detection, multi-dimensional spectrum-imaging modes) and processing (deconvolution) introduced on our own equipment.

Figure 1 : Examples of spectra recorded for different probe positions on the surface of a single Ag triangular thin prism (on apex in blue, on edges in red, on centre in black) deposited on a mica substrate. After deconvolution and subtraction of a deconvoluted zero-loss peak, after realignment of multiple spectra acquired with very short times (typically 50 spectra with <5ms per spectrum), they clearly exhibit signals with satisfactory signal-to-noise ratio in a spectral domain encompassing the visible optical range and extending down to about 1 eV, see [3].



^{*} Contact author: colliex@lps.u-psud.fr – Tel: +33 1 69 15 53 70

3. New measurements

With these advanced tools in hand, a large varsity of new problems can be investigated and new measurements be realized. The spectrum-imaging approach [4] allows to raster the probe over a given specimen area and to collect spectra for every successively addressed position. For instance, in the case of core-loss signals, refined ELNES measurements, close and at the apex of interfaces between different materials, have to be compared with simulated spectra, including as intermediate steps *ab initio* modelling of the local atomic structures and calculations of the electron density of states (DOS).

In the low energy-loss part of the spectrum, new routes are now opened to disentangle the local electronic response of the material in terms of band structure (band gap, interband transitions, excitons) from the long-range response of the neighbouring architecture, encompassing the electromagnetic fields generated by surface and interface plasmons (see fig. 2). A satisfactory understanding of the recorded data then requires extensive modelling, relying on a well suited adaptation of classical models and formulae.

Figure 2 : EELS spectra (top curves in figs (c) and (d) left, and D in (a) and (b)) acquired for different positions of the incident electron beam travelling through the HfO_2 layer incorporated within the cross-sectioned multicomponent stack shown below. They must be compared with simulated spectra corresponding to the relevant experimental conditions, derived in a dielectric continuum description. In these conditions only, one can disentangle the local response from long-range effects (coupled interface plasmons, in particular), which are generated in such a complex case, see [5] for full discussion.





4. New applications

Using the new ultimate performance, bond mapping deduced from the spatial variations of the fine EELS structures on characteristic core-edges (ELNES), constitutes a key to relate the transport properties to the interfacial electronic structure and atomic scale chemistry in microelectronics devices or in spin tunnel junctions (see abstract by K. March et al., this conference). When studying the mechanical behaviour of crystalline materials, a similar approach can be followed to evaluate bond strength at clean interfaces (or grain boundaries) or in the presence of segregated impurities. In both cases, only the use of angström size probes delivered by aberration corrected illumination optics will reveal its full power (see abstract by R.F. Klie at this conference).

As for low-loss signals, their impact to map electronic or optical properties is evident. When applied to isolated metallic nanoparticles, we have recently demonstrated that the measured EELS signal is closely related to the electromagnetic density of states (EMDOS) determined by the nanostructure shape and dimensions, thus opening new access to the comprehension of plasmon physics and to the mastering of plasmon engineering, both of direct relevance for future progress in nanophotonics (see [3] and abstract by J. Nelayah, this conference).

[1] K. Suenaga et al., Science 290 (2000) 2280

[2]M. Varela et al., Phys. Rev. Lett. 92 (2004) 095502

[3] J. Nelayah et al., *Nature Physics* **3** (2007) on line 1st April 2007

- [4] C. Jeanguillaume and C. Colliex, Ultramicroscopy 28 (1989) 252
- [5] M. Couillard et al., submitted (2007)

Holographie Electronique Off-Axis: Applications, limites, et perspectives.

Cyril Ailliot^{a,*}, François Bertin^a, David Cooper^a, Pierrette Rivallin^a

^a LETI, CEA, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9

Résumé L'Holographie Electronique est une technique de caractérisation séparant la phase et l'amplitude d'une onde porteuse. La phase change selon le potentiel rencontré par l'onde, ainsi que le champ magnétique, qu'ils soient dans un matériau ou à distance. En particulier, on peut caractériser la concentration de dopants en sites actifs. Cette technique possède une résolution spatiale théorique sub-nanométrique et une sensibilité au potentiel excellente ; qui ne sont pas atteints en raison de difficultés dans la préparation d'échantillons. Cette présentation s'intéressera aux limites de la technique, ainsi qu'à ses avantages et inconvénients.

1. Principe de l'Holographie Electronique Off-Axis

L'Holographie Electronique est une technique de caractérisation par Microscopie Electronique. Contrairement à l'imagerie TEM classique, cette technique permet de séparer la phase et l'amplitude de l'onde porteuse. On obtient cette information par l'interférence d'une onde électronique de référence avec une onde porteuse. L'Holographie électronique nécessite une source la plus cohérente possible afin d'obtenir une plage d'interférence étendue. On utilise un Biprisme, un fil de très faible épaisseur porté à un potentiel pour dévier les faisceaux autour de lui, ce qui crée deux sources secondaires. La première est la source de référence, la seconde celle de l'onde porteuse du signal.



Figure 1 : Schéma de principe de l'Holographie Electronque Off-Axis

Soit r le vecteur des coordonnées d'un point de la projection de la surface de l'échantillon sur l'écran ou se forme l'hologramme. On se place dans l'hypothèse d'une lame ultramince. L'onde de référence quant à elle est une onde plane caractérisée par un vecteur d'onde q relatif à la position des deux sources. On obtient le signal dans le plan de l'écran en sommant les deux ondes, et son intensité par la norme du signal.

$$S(\vec{r}) = A(\vec{r}) \times e^{i\phi(\vec{r})} + e^{iq.r}$$
(1)

$$I(\vec{r}) = S(\vec{r}) \times S(\vec{r}) = 1 + A(\vec{r})^2 + A(\vec{r}) \times 2\cos(2\Pi \vec{q}.\vec{r} + \varphi(\vec{r}))$$
(2)

Ou A(r) est l'amplitude et $\varphi(r)$ la phase de l'onde porteuse en r. La transformée de Fourier de l'intensité se compose de trois termes : un pic central et deux bandes latérales. Le pic central est deux fois plus étendu qu'une bande latérale.

$$F(I(\vec{r})) = \delta(\vec{u}) + F(A(\vec{r})^2) + \delta(\vec{u} - \vec{q}) \otimes F(A(\vec{r}) \times e^{i\varphi(\vec{r})}) + \delta(\vec{u} + \vec{q}) \otimes F(A(\vec{r}) \times e^{-i\varphi(\vec{r})})$$
(3)

Les informations concernant la phase sont contenues dans les bandes latérales. En isolant une des bandes qu'on centre sur la fréquence nulle (simple translation dans l'espace de Fourier), puis en réalisant une transformée de Fourier inverse ; on obtient une image complexe dont l'amplitude et la phase sont celles du signal [1].

2. Caractérisation par Holographie Electronique

L'Holographie Electronique permet de conserver l'information sur la phase de l'échantillon. Dans l'approximation d'une lame mince, la phase est reliée au potentiel V et au champ magnétique B rencontrés par l'onde. Ici, on considère que r défini plus haut se projette sur un repère par x et y.

^{*} Auteur à contacter : cyril.ailliot@cea.fr

$$\varphi(x, y, z) = CE \int_{E_z} V(x, y, z) d(z) - \frac{e}{h} \iint_{Snorm} B(x, y) d(s)$$
(4)

Où CE est une constante dépendant de l'énergie des électrons, e la charge de l'électron, et h la constante de Planck. Ez est le parcours d'intégration selon le trajet de l'onde, *Snorm* est une surface d'intégration normale au faisceau.

On utilise l'Holographie Electronique pour caractériser soit le champ magnétique, soit le potentiel ; dans un matériau, ou autour dans le vide. On peut donc caractériser les champs électrique et magnétiques autour d'un dispositif (une pointe MFM par exemple), le profil de dopants, et la présence de particules magnétiques [2].

Si on se place en absence de champs magnétique, et dans l'hypothèse d'un potentiel du au matériau seul et indépendant de l'épaisseur, on obtient

$$p(x, y, z) = CeV_m(x, y) \times t(x, y)$$

Avec Vm le potentiel moyen aux coordonnées (x, y), t l'épaisseur du matériau. Dans le cas de la détection de dopants, le potentiel est lié à la concentration de sites dopés actifs, l'Holographie Electronique permet de caractériser le dopage d'un échantillon.

3. Limites de l'Holographie Electronique

La limite de résolution spatiale théorique de l'Holographie est liée à la formation de l'hologramme. Des considération sur la transformé de Fourier, on trouve une résolution de trois fois l'interfrange de l'hologramme [1]. En théorie, on peut obtenir une résolution sub-nanométrique et une excellente sensibilité en potentiel. Néanmoins, celles-ci sont dominéed par les artefacts de préparation (couche amorphe lors de préparation FIB des échantillons, parallélisme et planéité des faces de l'échantillon), Les franges de Fresnel réalisées par la diffraction de l'onde par le biprisme, les effets d'illumination et de charge de l'échantillon (qui modifient la structure électronique de l'échantillon), Les artefacts induits par la diffraction dynamique de l'échantillon (dans le modèle utilisé, l'onde directrice de l'échantillon n'est pas déviée, alors que la diffraction produit plusieurs ondes secondaires selon les directions du cristal).

4. Conclusion

Lors de cette présentation seront montrés les limites de l'Holographie Electronique Off-Axis pour la caractérisation des profils de dopants. L'Holographie sera également comparée au autres techniques alternatives de caractérisation, afin de determiner ses avantages et inconvénients, et de montrer la pertinence et les possibilités celle-ci.

- [1] P.A Midgley, An introduction to off-axis electron holography, Micron. 32 (2001) 167-184
- [2] R.E Dunin-Borowski, M.R McCartney et. D.J Smith, *Electron Holography of nanostructured Materials*, Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology. **10** (1-59)

TF_Quantif : un algorithme de quantification des films minces sur substrats hétérogènes en microanalyse X

Nicolas Dumelié^{a,*}, Hicham Benhayoune^a, Gérard Balossier^a

^a LMEA INSERM ERM0203, 21 rue Clément Ader, 51685 Reims Cedex 2

Résumé - Le but de ce travail est de présenter un nouvel algorithme de quantification en microanalyse X appelé "TF_Quantif". Cet algorithme permet de réaliser des cartographies quantitatives de films minces sur substrats hétérogènes. Dans un premier temps, nous décrivons brièvement cet algorithme, puis nous montrons un exemple application sur une cartographie quantitative d'un film mince de nickel-cuivre sur un substrat de silicium rendu hétérogène par la présence d'une marche d'or

1. Introduction

L'hypothèse fondamentale de la microanalyse X est que la variation du signal X émis est directement relié à la variation des concentrations des éléments constituant l'échantillon et, dans le cas d'échantillons stratifiés, cette variation des concentrations peut aussi être associée à une variation d'épaisseur du ou des films analysés. Les différents modèles de corrections (X-Phi, PAP, XPP) [1, 2] qui s'appliquent aux films minces nécessitent une description détaillée de la structure de l'échantillon (nombre de couches constituant l'échantillon à analyser, ordre de ces couches, nombre et la nature des éléments présents dans chaque couche). Dans le cas d'échantillons dont la structure n'est pas parfaitement connue, les logiciels de quantification actuels vont se trouver limités (car ils nécessitent une description complète de l'échantillon). Nous proposons, dans le travail qui suit, une méthode de quantification plus simple qui peut être appliquée pour réaliser des cartographies quantitatives de films minces en microanalyse X. Cette méthode s'appuie sur un nouvel algorithme de quantification appelé "TF_Quantif". Cet algorithme est issu du développement d'un modèle de correction de rétrodiffusion appelé "Formalisme Auger" qui consiste à prendre en compte l'hétérogénéité du substrat par une mesure directe du coefficient de rétrodiffusion η.

2. Théorie

Dans le cadre du "Formalisme Auger" l'intensité X d'un élément A d'un film mince peut s'écrire [3] :

$$I^{X}(A) = I_{o}N_{o}C_{A}\phi(0)_{A/S}Q_{A}\omega_{ij}T_{X}\left[\frac{1 - \exp(-\mu_{A}t/\sin\theta)}{\mu_{A}/\sin\theta}\right]$$
(1)

où N_0 est la densité atomique de l'élément A (~5·10²² at/cm³), Q_A est la section efficace d'ionisation de l'élément A, $\phi(O)_{A/S}$ la fonction d'ionisation en surface, ω_{ij} le rendement d'émission X, T_X est l'efficacité de détection de l'analyseur et le terme dans l'exponentielle traduit l'atténuation des photons générés à la profondeur massique ρ_Z (avec $\mu_A = (\frac{\mu_A}{\rho_A}) \cdot \rho_A$, le coefficient d'absorption massique et θ , l'angle d'émergence par rapport au détecteur).

La fonction d'ionisation en surface $\phi(0)_{A/S}$ peut s'exprimer en fonction de η le coefficient de rétrodiffusion de l'échantillon [3] :

$$\phi(0)_{A/S} = 1 + \frac{4\eta}{1+\eta} (1 - \frac{1}{U_0}) \left[1 + \frac{\ln(\frac{1+\eta}{2})}{\ln U_0}\right]$$
(2)

avec U₀, le taux d'excitation

A partir de l'expression (1) nous avons développé l'agorithme de quantification présenté dans la figure 1. Cet algorithme se divise en quatre étapes. La première étape consiste à calculer les valeurs initales à partir des rapports d'intensité K_i entre l'élément et son témoin. Dans la seconde étape, nous évaluons les facteurs correctifs et dans la troisième étape nous calculons de nouvelles concentrations et d'estimer l'épaisseur massique en reprenant la formule donnée par Waldo [4]. Enfin dans la dernière étape, nous testons la différence entre deux valeurs de concentrations et deux valeurs épaisseurs successives pour effectuer une nouvelle itération ou stopper le calcul [5].

^{*} Auteur à contacter : nicolas.dumelie@univ-reims.fr- Tel : 03 26 82 35 86



Figure 1 – Schéma de l'algorithme d'itération

3. Exemple d'application

Nous avons appliqué notre algorithme pour le quantification d'un film mince de nickel-cuivre (de concentrations atomiques respectives 47% et 53%) de 40nm d'épaisseur évaporé sur une marche d'or sur un substrat de silicium (figure 2). Nous avons réalisé une cartographie de 64x64 pixels couvrant une surface d'environ 90x90 μ m² avec un temps d'acquisition de 10s/pixel et une énergie primaire E_0 =20keV. Pendant l'acquisition l'échantillon a été polarisé à une tension de +50V pour mesurer le coefficient de rétrodiffusion η . Les figures 3a et 3b représentent les cartographies de concentration de nickel et de cuivre obtenues à partir de l'algorithme. Elles montrent que les concentrations sont homogènes malgré la présence de l'hétérogénéité. La figure 3c représente la cartographie d'épaisseur. On peut voir que la présence de l'hétérogénéité n'influe pas sur les valeurs calculées qui restent proches de la valeur nominale ; ceci est clairement illustré par la distribution d'épaisseur du revêtement de la figure 3d.



Figure 2 - Schéma de l'échantillon analysé



Figure 3 - Cartographies de concentration atomique (a) du nickel, (b) du cuivre, (c) cartographie d'épaisseur du revêtement et (d) distribution des épaisseurs du revêtement

4. Conclusion

Nous avons présenté un nouvel algorithme de quantification des films minces sur substrats hétérogènes. Cet algorithme permet de réaliser des cartographies de films minces sans connaître à priori la structure complète de l'échantillon. Nous envisageons d'améliorer cet algorithme en incluant les corrections de fluorescence et développant l'algorithme dans le cas des échantillons multi-couches.

- [1] Merlet, C. Mikrochim. Acta 114/115 (1994) 363
- [2] Pouchou J.L; Pichoir F. in Microbeam Analysis; D. E. Newbury (Ed.); San Francisco Press: San Fancisco, CA, (1988)
- [3] H. Benhayoune, N. Dumelié and G. Balossier, Thin Solid Film, 493 (2005) 113-123.
- [4] Waldo, R.A. in Microbeam Analysis; D. E. Newbury (Ed.); San Francisco Press: San Fancisco, CA, (1988)
- [5] N. Dumelié, H. Benhayoune et G.Balossier, Journal of physics D : Applied Physics 40 (2007) 2124-2131

Investigation de films minces d'HfO₂ par HRTEM et spectroscopie de pertes d'énergie des électrons (EELS).

Marie Cheynet^{a,*}, Simone Pokrant^b, Frans Tichelaar^c, Jean-Luc Rouvière^d

^a Laboratoire des Sciences et Ingéniérie des Matériaux et Procédés (SIMAP), ENSEEG BP 75 - 38402 Saint Martin d'Hères ^b 1NXP, 860 rue Jean Monnet F-38926 Crolles, France

^cDelft University, Kavli Institute of Nanoscience, National Centre for HREM, 2628 CJ, Delft, Netherlands. ^dJean-Luc Rouvière, DRFMC, CEA Grenoble, Avenue des Martyrs 38041Grenoble Cedex France

Résumé : Ce travail illustre la pertinence de la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons couplée à la Microscopie Electronique en Transmission à Haute Résolution (HRTEM) pour suivre simultanément des variations de composition chimique et des variations de gap à travers des couches nanométriques de dioxyde d'hafnium élaborée par ALD (Atomic Layer Deposition) ou CVD (Chemical Vapor Deposition).

Crystal Structure and Band Gap determination of HfO₂ thin films. M. Cheynet, S. Pokrant, F. Tichelaar, J.L. Rouvière. Journal of Applied Physics **101**, 054101 (2007).

1. Introduction

Le dioxyde d'hafnium est un matériau à grand gap ($E_g = 5.25 \text{ eV}$ à 5.95 eV) qui se caractérise par une constante diélectrique élevée ($\epsilon = 25$ to 29). Il se place par conséquent parmi les matériaux susceptibles de remplacer SiO₂ dans les futurs dispositifs de la microélectronique [1]. Bien que des travaux théoriques et expérimentaux [2][3] aient montré qu'il suffisait de deux à trois monocouches pour reproduire les propriétés du SiO₂ massif, de nombreux papiers rapportent, qu'à l'échelle de quelques nanomètres, l'état structural, le degré de cristallinité et à la qualité chimique des films minces peuvent notablement s'écarter des caractéristiques du «bulk» et peuvent ainsi conférer au matériau des propriétés physiques très différentes. Dans le contexte des films minces d'oxyde de grille pour la microélectronique, les techniques de dépôt et les traitements post-dépôt peuvent conduire à piéger des espèces chimiques indésirables via les précurseurs, à faire diffuser des éléments comme l'oxygène, à stabiliser des structures métastables ou bien encore à introduire des contraintes et des défauts structuraux. Il est évident que chacun de ces phénomènes est susceptible de modifier les propriétés des films. Afin d'interpréter les propriétés électroniques obtenues en fonction des paramètres de dépôt, pour les films minces, il est par conséquent indispensable d'étudier en parallèle la chimie et la structure afin de les corréler

2. L'expérience

Trois structures contenant un film mince (~ 4 nm) de dioxyde d'hafnium i.e. a) Si-SiO₂-HfO₂-poly-Si b) Si-SiO₂-HfO₂-poly-Ge et c) Si-SiO₂-HfO₂-Al₂O₃ ont été élaborées soit par Atomic Layer Deposition (structure a et b) soit par Chemical Vapor Deposition (structure c). Des échantillons en section transverse ont été amincis soit par tripode soit par FIB (Focussed Ion Beam). Ils ont été observés par microscopie électronique en Transmission à Haute Résolution (Jeol 400EX) et analysés par spectroscopie de pertes d'énergie des électrons de valence (FEI TECNAI F20 et FEI TECNAI F20ST). Les images HRTEM ont été interprétées par differentes methodes en terme de microstructure (cristallinité, taille de grains) et en terme de structure cristalline de la couche HfO₂. Les spectres EELS enregistrés en mode line-scan a travers les trois structures ont été dépouillés et interprétées ne terme d'épaisseur « vrai » d'oxyde HfO₂. Pour chaque type de couche l'énergie de gap et la constante diélectrique électronique ont été calculées.

3. Résultats

3-1 HREM : tableau 1

3-2 Spectroscopie de pertes d'énergie (EELS): tableau 2 et tableau 3

^{*} Auteur à contacter : marie.cheynet@ltpcm.inpg.fr – Tel : 04 76 82 66 08



Tableau 1 – Microstructure et structure cristalline des trois films d'HfO2 élaborés par ALD et CVD



Tableau 2 – Profils chimiques établis à travers les films d'HfO2 élaborés par ALD

	Si-SiO ₂ -HfO ₂ -polySi	Si-SiO ₂ -HfO ₂ -polyGe	Si-SiO ₂ -HfO ₂ -Al ₂ O ₃
Ce travail : $(E-Eg)^{1/2}$	$5.8 \pm 0.5 \text{ eV}$	$5.3 \pm 0.5 \text{ eV}$	$4.6 \pm 0.7 \text{ eV}$
Ce travail Rafferty Brown	$5.9 \pm 0.85 \text{ eV}$	$5.3 \pm 0.8 \text{ eV}$	
Littérature expérience		5.25 eV à 5.65 eV	
Littérature théorie	5.8 eV	5.65 eV	

Tableau 3 – Energies de gap déterminées pour les trois films d'HfO₂ après analyse des spectres EELS. Comparaison avec les résultats expérimentaux et théoriques de la littérature.

4. Conclusion

Les variations d'énergie de gap déterminées à partir des spectres de pertes d'énergie associés à chacun des films de dioxyde d'hafnium sont corrélées à des effets de taille de grains et à des effets de structure cristallographique dans le cas des films ALD. Dans le cas du film élaboré par CVD elles sont attribuées à des effets de contamination de la couche par le carbone provenant des précurseurs utilisés pour le dépôt.

- [1] Wilk G.D., Wallace M., and Antony J. M. Journal of Applied Physics, 89 (2001) 5343-5275.
- [2] Muller D., Sorsch T., Moccio S., Baumann F., Evans-Lutterrodt K. and Timp G., Nature, 399 (1999) 758.
- [3] Beaton J. B., Muller D. A., and Ascroft, Phys. Rev. Lett., 85 (2000) 1298.

Improvement of off-axis electron holography on semiconductor device specimens using the FEI Titan transmission electron microscope.

David Cooper^{a,*}, Robert Truche^a, Amal Chabli^b

^a CEA LETI - Minatec, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble, France

Résumé – Off-axis electron holography can in principle, quantitatively map dopants in semiconductor devices with nm-scale resolution. We will show our latest results performed on both Si calibration and MOSFET device specimens, demonstrating the low signal-to-noise and excellent phase resolution that is now possible due to the exceptional stability of our FEI Titan transmission electron microscope.

1. Introduction

Off-axis electron holography is a transmission electron (TEM) microscope based technique that promises to fulfil the requirements of the semiconductor industry for a quantitative 2D and 3D dopant profiling technique with nm-scale resolution. An electron biprism is used to interfere an electron wave that has passed through a specimen with one that has passed through only vacuum to form an interference pattern (or hologram) from which phase and amplitude images of the specimen can be reconstructed. In the absence of magnetic fields or diffraction contrast the phase change, $\Delta \varphi$ of an electron is related to the electrostatic potential of a specimen, V_0 by the relationship,

$$\Delta \phi = C_E \int V_0(x, y, z) dz$$

where C_E is a constant dependent on the energy of the electrons and dz is the direction of the electron beam [1]. Therefore in principle, quantitative information about the dopants in semiconductor specimens can be directly measured from the phase image.

Figure 1 shows a schematic of the experimental arrangement for off-axis electron holography. By increasing the voltage that is applied to the biprism, the virtual sources S_1 and S_2 are pushed further apart which has the effect of reducing the fringe spacing which increases the spatial resolution in the reconstructed images. The contrast of the holograms determines the resolution of the phase image [2]. From Figure 1, we can see that if the virtual sources are pushed further apart, then greater constraints are placed on the coherence of the electrons and the contrast of the hologram will deteriorate. There is a trade-off between spatial and phase resolution in the dopant maps acquired using electron holography.



Figure 1. Shows schematic of arrangement for off-axis electron holography and procedure for reconstructing the phase and amplitude

It has been shown that semiconductor specimens can charge during examination in the TEM which influences the step in phase measured across electrical junctions [3]. To optimise the phase images for the examination of semiconductor devices with nm-scale resolution we need to form electron holograms with excellent contrast using a low electron beam intensity whilst ensuring that there are enough electrons collected for an adequate signal-to-noise ratio.

^{*} Auteur à contacter : david.cooper@cea.fr – Tel :04 38 78 19 27

2. Results

Si calibration specimens doped with differently doped layers of boron have been grown for examination using reduced pressure chemical vapour deposition (RPCVD) and specimens have been prepared using focused ion bem milling. The excellent stability of the Titan TEM allow holograms to be aquired for long time periods whilst preserving the contrast of the fringes. In addition the intensity of the electron beam can be reduced which will further improve the coherence of the beam whilst reducing the effects of specimen charging in the specimens.

Figure 2(a) shows phase images of a Si calibration specimen reconstructed from holograms acquired for 4, 16 and 64 seconds respectively. Figure 2(b) shows profiles extracted perpendicular to the doped layers and averaged over 100 nm. The improvement in the phase images and the profiles is clear. Typical hologram acquisition periods used for electron holography are 4 seconds with contrast levels of 20 %. Using the Titan we can acquire holograms for over one minute whilst maintaining contrast levels of more than 20 %. Now the dynamic range of our 16 bit CCD camera begins to limit the acquisition times that can be used.



Figure 2(a) shows phase images reconstructed from holograms acquired for 4, 16 and 64 seconds respectively. (b) Profiles extracted from the phase images. (c) SIMS profile of the Si calbration specimen.

In this presentation we will show our latest results acquired from Si calibration specimens as well as from 65nm-gate pMOS and nMOS devices. We will demonstrate the improvements in the phase resolution, the spatial resolution and the current limitations of the technique. We will also discuss the prospects of off-axis electron holography for quantitative dopant profiling.

[1]	Rau W D, Schwander P, Baumann, F H, Hoppner W and Ourmazd A 1999 App. Phys. Lett.
82 , 2614	
[2]	Harscher A and Lichte H 1996 Ultramicroscopy 64, 57
[3]	Cooper D, Twitchitt A, Midgley P A and Dunin-Borkowski 2007 J. Appl. Phys. In press

T.E.M study of the decomposition of some rf-sputtered Aluminium-Iron thin films.

M. Y. Debili

LM2S, physics department, Faculty of science, Université Badji-Mokhtar University, BP12 Annaba 23000, Algeria

Abstract The complexity of the equilibrium phase diagram of aluminium-iron, in particular on the aluminium rich side, makes difficult any prevision of the decomposition behavior of the sputtered thin films deposits. For some of them, the decomposition is marked by the appearance of new intermetallic compounds resulting from the crystallization of an amorphous or nanocrystalline metastable phase.

1.Introduction

Thin films of alloys and intermetallic compounds have a wide range of applications. The role of these compounds can have a particular interest in the improvement of the intrinsic properties of material by conferring to it a better thermal stability, a good corrosion resistance and to hot oxidation. These include conducting barrier layers and passivation layers in microelectronic devices. The intermetallic compounds NiAl [1] and FeAl are under active investigation as structural materials for high-temperature applications Moreover, the equilibrium phase diagram of aluminium-iron reveals that aluminium rich phases such as Al_2Fe , Al_5Fe_2 and Al_3Fe could be competitive with nickel or titanium aluminides phases considered for their good oxidation resistance [2]. We study the decomposition behavior and phase transformation of two sputter deposited aluminium-iron thin films containing respectively 18,5 and 47,5at%Fe, after annealing at 500°C.

2.Experimental procedure

The thin films were elaborated within an installation whose cathode is polarized in radio frequency .The vacuum chamber has a volume of approximately 40 liters. The pumping installation consists of a vane pump and a secondary turbo molecular pump making it possible to reach a limiting vacuum of 10^{-4} Pa. horizontal cathode magnetron, 51 mms in diameter, consists of two concentric magnets of opposite polarity, the target ensuring the sealing of the device is cooled by water circulation

The thin films which we elaborated were characterized by x-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (T.E.M) and microanalysis with X-EDS.

3.Results and discussion

Let us recall that at the as-deposited state Al-18,5at% Fe thin film is single-phase amorphous and present a pre-peak of diffusion (Figure 1a) characteristic of a strong interaction between iron and aluminium atoms. The crystallization of this thin film followed by diffraction of x-rays and transmission electronic microscopy leads to equilibrium Al₃Fe phase (Figure 1b) and compared with those calculated from the crystallographic data of Al₃Fe phase[3].

The electron micro diffraction, by the analysis of the only pattern of zone axis [104] (Figure 1c), allowed us to determine without ambiguity the crystalline system (monoclinic), the class of Laue (2/m) and the Bravais mode (C) of Al₃Fe phase.



Fig.1. Al-18,5at%Fe deposit (a):(as-sputtered)x-ray diffraction patter n(b):(Annealed 1h -500°C) x-ray diffraction pattern (c):(Annealed 1h -500°C) electron diffraction pattern, zone axis [104].

The decomposition of Al-47,5at% Fe deposit initially ordered in the form of a B₂ CsCl type structure, leads to a structural evolution which is characterized by a recrystallization with polyhedric arrangement of the grains (Figure 2a).The x-ray diffraction (Figure 2c) permit to measure with precision the interplanar spacing of various peaks which appear. We note that except the fundamental and superstructure lines belonging to the ordered B₂ (FeAl), several others are observable (16°32, 19°65, 21°74, 32°99). The electron diffraction (Figure 2b) lets appear an additional ring, among others, to which one can allot an interplanar spacing of 0,257 nm. Already observed in the as-deposited state of pulverisation[4], this ring was associated to the (0001) plan of the athermal omega phase, here it corresponds to the(0003) plan of a rhomboedral phase because several other distances characteristic of this phase were observed. $a_R \approx 0,89$ nm et $\alpha \approx 111^\circ 8$ ' for rhomboedral cell. or $a_H \approx 1,47$ nm et $c_H \approx 0,79$ nm hexagonal cell. [5].



Fig.2. Al-47,5at%*Fe* deposit annealed 1h at 500°C.(*a*):Bright field electron micrograph (*b*):Associated SAED pattern(*c*): X-ray diffraction pattern (B_2 phase and R phase).

Indeed six interreticular spacing carried in table(4) would belong to rhomboedral phase (R) Consequently, Al-47,5at%Fe deposit would consist of a mixture of B_2 and rhomboedral (R)phase. The question of a possible link between the presence of omega phase detected in the as-deposited state[4] and the formation of the rhomboedral phase after an annealing at 500°C arises.

4.Conclusion

The decomposition after annealing at $500^{\circ}C(1h)$, of metastable aluminium-iron thin films containing 18,5 and 47,5at%Fe was studied by means of transmission electron microscopy and x-ray diffraction. The principal results are as follows:

Amorphous Al-18,5% atFe thin films initially single-phase decomposes after crystallization to give rise to stable intermetallic compound Al₃Fe.

Al-47,5% Fe thin film, initially ordered in the form of B_2 CsCl type with traces of omega phase, leads to the formation of the rhomboedral phase undoubtedly initiated by transformation of the omega phase with which it presents a structural similarity.

5.References

[1]R.Banerjee, G.B,Thompson, G.B.Viswanathan, L.Fraser, Phil.Mag Lett.82(2002)623

[2] Y.L.Jeng, R.W.Hayes, J.Wolfenstein, E.J.Lavernia Scripta, Metall. Mater.32 (1995)433
[3] P.J. Black Acta Cryst.8 (1955) 43.

[4]M.Y. Debili, T.H. Loi, C. Frantz, La revue de Métallurgie CIT-Science et Génie des Matériaux, 1998.1501-1509.

[5]M.Y.Debili, Ph.D Thesis Annaba University Algeria 1998.

Dichroïsme circulaire magnétique EMCD (Electron Energy Loss Magnetic Chiral Dichroïsm) dans un microscope électronique en transmission équipé d'un correcteur d'aberration sphérique

<u>F.Houdellier</u>^{1*}, B.Warot-Fonrose¹, M.J.Hÿtch¹, E.Snoeck¹, L.Calmels¹, V.Serin¹ and

P.Schattschneider^{1,2}

¹ CEMES-CNRS, 29 rue J. Marvig, 31055 Toulouse, France. ² en visite de: Technische Universität Wien A-1040 Wien Österreich

Résumé – Le dichroïsme circulaire magnétique peut être observé avec des électrons non polarisés en spin. Dans ce cas, le signal provient de la différence d'intensité aux seuils $L_{2,3}$, dans le cas des matériaux 3d, prise pour deux positions particulières du plan de diffraction. En combinant différentes techniques de diffraction et de détection ainsi que les avantages du correcteur d'aberration sphérique, nous avons pu obtenir un signal EMCD significatif, reproductible et en accord avec la théorie.

1. Introduction

Le XMCD (X-ray magnetic circular dichroism) est un outil performant pour analyser les propriétés magnétiques de matériaux. Le signal provient de la différence d'absorption, par le matériau magnétique, du rayonnement polarisé circulairement droit ou gauche. Le phénomène est chimiquement sélectif et permet la détermination du moment magnétique orbital et de spin à partir de règles de somme appliquées aux spectres expérimentaux [1,2]. La technique nécessite l'utilisation d'un rayonnement synchrotron et reste limitée en résolution spatiale à une dizaine de μ m². Avec des lentilles adaptées aux rayons X ou en utilisant le PEEM (PhotoEmission Electron Microscopy), des résolutions spatiales inférieures à 50nm peuvent être obtenues.

Une méthode a été proposée récemment afin d'observer le dichroïsme circulaire magnétique dans un TEM sans l'intervention d'un faisceau d'électrons polarisés en spin [3,4]. Comme en XMCD, un signal dichroïque peut être détecté, appelé EMCD, grâce aux spectres de pertes d'énergie (EELS) obtenus pour des seuils proches des transitions de cœur des matériaux magnétiques ($L_{2,3}$ dans le cas des matériaux 3d), et avec une meilleure résolution spatiale. Le signal dichroïque est mesuré entre deux positions particulières du diagramme de diffraction où la partie imaginaire de la MDFF (Mixed Dynamical Form Factor) possède des signes opposés. Dans la configuration expérimentale initiale, le signal EMCD reste faible et difficile à exploiter en pratique [3].

2. Résultats

Grâce au SACTEM-Toulouse, un Tecnai F20 (FEI) équipé d'un correcteur d'aberration sphérique (CEOS), d'un biprisme rotatif (FEI) et d'un filtre en énergie (Gatan Tridiem), nous avons amélioré à la fois les conditions de diffraction et la méthode de détection du signal inélastique. Nous avons augmenté l'intensité du signal dichroïque (Figure 1.b) en utilisant la configuration LACDIF (Figure 1.a) qui combine les avantages du LACBED et de la correction d'aberration sphérique [5] et en détectant le signal EELS par des techniques résolues spatialement. L'asymétrie dans la partie imaginaire de la MDFF peut-être étudiée spatialement dans le cliché de diffraction grâce à l'ESI (Energy Spectroscopic Imaging), permettant la visualisation directe des positions dichroïques les plus significatives (Figure 1.c) [6].



Figure 1 - a) configuration LACDIF b) signal EMCD observé sur un échantillon de fer monocristallin en configuration LACDIF c) Asymétrie du cliché ESI pour le seuil L_3 du fer en orientation systématique ($\vec{g} = 110$).

Une comparaison systématique entre différentes configurations de diffraction et de détection du signal inélastique a été réalisée pour déterminer les conditions optimales. Nous avons également analysé l'évolution du signal EMCD en fonction du matériau étudié (Fe, Co, Cu, Fe₃0₄, Cr, V, etc), de l'épaisseur traversée, etc ...

3. Discussion

Jusqu'à présent, le meilleur signal EMCD, obtenu à partir d'un échantillon de fer (Figure 1b), reste comparable mais plus faible que celui observé en XMCD (8% en EMCD au lieu de 20% en XMCD). Cette différence est expliquée par la présence importante d'effets dynamiques associés aux conditions de diffraction utilisées (orientation, épaisseur, etc ...). Une amélioration du signal passe donc forcément par une minimisation de ces effets. Nous présenterons les résultats prenant en compte cette minimisation

4. Références

[1] B.T.Thole, G.van der Laan, et G.A.Sawatzky, Phys.Rev.Lett. 55, (1985) 2086.

[2] B.T.Thole, P.Carra, F.Sette, et G.van der Laan, Phys.Rev.Lett. 68, (1992) 1943.

[3] C. Hébert, P. Schattschneider, Ultramicroscopy 96 (2003) 463.

[4] P. Schattschneider, S. Rubino, C. Hébert, J. Rusz, J. Kunes, P. Novak, E. Carlino, M. Fabrizioli, G. Panaccione, G. Rossi, Nature 441 (2006) 486

[5] J.P. Morniroli, F. Houdellier, C. Roucau, J. Puigalli, S. Gesti and A. Redjaïmia **accepted** in Ultramicroscopy

[6] B.Warot-Fonrose, F.Houdellier, M.J.Hÿtch and E.Snoeck accepted in Ultramicroscopy

Apport de la diffraction électronique en précession pour la caractérisation microstructurale des défauts : cas du maclage dans la coesite

D. Jacob^{a*}, P. Cordier^a, J. P. Morniroli^b, H. P. Schertl^c

^a Laboratoire de Structure et Propriétés de l'Etat Solide, USTL, CNRS, Bât. C6, Cité Scientifique, 59655 Villeneuve d'Ascq. ^bLaboratoire de Métallurgie Physique et Génie des Matériaux, USTL, ENSCL, CNRS, Bât. C6, Cité Scientifique, 59655

Villeneuve d'Ascq, France.

^cInstitut für Mineralogie, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstrasse 150, D-44801 Bochum, Germany.

Résumé – Dans cette étude, nous montrons l'apport de la précession électronique pour la caractérisation d'une macle de type (021) dans la coesite, phase haute pression du quartz. La macle est d'abord caractérisée par LACBED, puis observée en précession. Les variations d'intensité recueillies sur les clichés de diffraction en précession permettent de distinguer sans ambiguïté les différents variants de la macle.

1. Introduction

La diffraction électronique en précession offre de nombreux avantages par rapport à la diffraction conventionnelle : d'une part les clichés sont toujours parfaitement orientés suivant l'axe de zone et d'autre part, les interactions dynamiques entre les faisceaux transmis et diffractés sont largement réduites. Ces avantages ont été avant tout utilisés pour les déterminations de structure des cristaux parfaits (voir le récent numéro special d'Ultramicroscopy dédié à la précession [1]), mais il existe encore peu d'études concernant la caractérisation des défauts structuraux. Le but de ce travail est d'illustrer l'apport de cette technique dans le cas de l'analyse du maclage dans un échantillon naturel de coesite. Ce minéral est une phase haute pression du quartz (stable au delà de 3 GPa), monoclinique par ses symétries (groupe spatial P12/c1) mais quasiment hexagonale par ses paramètres réticulaires : a ~ c ~ 0,715 nm, b ~ 2a et $\beta = 120,3^{\circ}$. Cette pseudo-symétrie rend inefficace l'analyse conventionnelle de la macle par diffraction en faisceau parallèle, les réflexions des individus maclés se superposant les unes aux autres (voir la figure 1). Nous avons dans un premier temps caractérisé la macle par diffraction en faisceau convergent à grand angle (LACBED), avant de l'analyser en précession.



Figure 1 – Micrographie en champ clair (a) et diagramme de diffraction en aire sélectionnée (b) de la macle orientée suivant $[\overline{2}1\overline{2}]_A$ et $[\overline{2}\overline{1}\overline{2}]_B$. Aucun dédoublement de tache n'est observé sur le cliché de diffraction.

2. Etude en LACBED

Observée en LACBED le long des directions $[\overline{2}1\overline{2}]_A // [\overline{2}\overline{1}\overline{2}]_B$, la macle apparaît comme un miroir suivant le plan (021) (voir la figure 2). Grâce à une étude complète mettant en relation 3 directions non coplanaires dans chaque variant $([010]_A // [\overline{1}0\overline{2}]_B, [\overline{1}10]_A // [\overline{1}0\overline{1}]_B, [\overline{1}1\overline{1}]_A // [\overline{3}\overline{1}\overline{4}]_B)$, nous avons pu associer le maclage à une rotation d'un angle proche de 90° le long de l'axe commun [100]. Il s'agit donc d'une macle par pseudo-mériédrie de la structure hexagonale. Ce type de macle avait déjà été identifié dans le cas d'échantillons synthétisés [2], mais jamais décrite de façon détaillée dans des échantillons naturels.

^{*} Auteur à contacter : damien.jacob@univ-lille1.fr – Tel : 03 20 43 65 94

3. Etude en précession

La figure 3 représente les diagrammes de diffraction obtenus sans et avec précession (angle de précession 3°) pour les axes de zone $[\overline{1} 10]_A // [\overline{1} 0\overline{1}]_B$. Alors que ces deux axes de zone sont difficilement distingables sans précession, les variations d'intensité associées aux réflexions présentes sur ces deux axes de zone permettent de les distinguer sans ambiguïté avec précession : le cliché $[\overline{1} 10]_A$ présente une symétrie 2 alors que le cliché $[\overline{1} 0\overline{1}]_B$ possède une symétrie 2mm. De plus, la réflexion cinématiquement interdite 001 visible sur le cliché en axe de zone $[\overline{1} 10]_A$ obtenu sans précession n'apparaît plus sur le diagramme obtenu avec précession. Par contre, sur l'axe de zone $[\overline{1} 0\overline{1}]_B$, la réflexion permise 020 – située au même endroit du cliché que la reflexion interdite 001 sur l'axe de zone $[\overline{1} 10]_A$ – apparaît toujours, quel que soit l'angle de précession. Enfin, notons que les diagrammes simulés le long de ces directions sont en très bon accord avec les diagrammes expérimentaux, ce qui ouvre la voie à une détermination « ab-initio » du maclage par précession dans ce type de matériaux.



Figure 2– Cliché LACBED de la macle orientée suivant $[\overline{2}1\overline{2}]_A$ et $[\overline{2}\overline{1}\overline{2}]_B$. Les zones agrandies révèlent la symétrie miroir induite par la macle le long du plan $(021)_A/(02-1)_B$.



Figure 3 – Diagrammes de diffraction en faisceau parallèle sans (a,d) et avec précession (b,e) le long des axes de zone $[\overline{1} \ 10]_A$ et $[\overline{1} \ 0\overline{1}]_B$. (c, f) : simulations dynamiques (logiciel jems [3])

- [1] Ultramicroscopy, **107** (2007), 431-558.
- [2] L.S.Ramsdell, The crystallography of "coesite", Amer. Miner., 40 (1955), 975–982.
- [3] P. Stadelmann, jems, Electron Microscopy Software, java version. CIME, EPFL, CH-1015 Lausanne.

Effets d'anisotropie sur les structures ELNES en spectroscopie de perte d'énergie des électrons : cas du trichroïsme

Vincent Mauchamp^{a,}, Thierry Epicier^{a,*}, Jean Claude Le Bossé^a

^a MATEIS, umr CNRS 5510, INSA de Lyon, Bât. B. Pascal, F-69621 Villeurbanne Cedex

Résumé – Une théorie décrivant l'anisotropie de la section efficace de perte d'énergie en ELNES, dans les cas de très basses symétries autour du site de l'atome émetteur, est appliquée dans le cas du seuil K de l'oxygène dans la zircone monoclinique. Le signal de perte d'énergie des électrons est acquis pour différentes conditions d'ouvertures du collecteur. Les variations de ce signal avec ces conditions sont en bon accord avec les prédictions de notre théorie.

1. Introduction

L'interprétation des structures fines proches des seuils (structures ELNES), en spectroscopie de perte d'énergie des électrons (EELS) requiert, pour les systèmes anisotropes, la prise en compte exacte de l'orientation relative du faisceau d'électrons incident par rapport à l'échantillon, ainsi que des angles de convergence (α) et de collection (β) expérimentaux. Le cas du dichroïsme, où le groupe axial caractérisant la symétrie ponctuelle autour de l'atome émetteur contient un axe de rotation principal d'ordre supérieur ou égal à trois, est déjà bien connu^{1,2}. En revanche, le cas des groupes ponctuels de plus basse symétrie (cas de trichroïsme), requiert un traitement différent. Dans ces cas, on peut ainsi montrer qu'il est possible d'exprimer le courant collecté dans une direction quelconque, par une combinaison linéaire d'un certain nombre de sections efficaces calculées pour différentes orientations du vecteur d'onde transféré \mathbf{q} : 3, 4 ou 6 (composantes intrinsèques) suivant le degré de symétrie du groupe ponctuel de l'atome sondé³. Les poids de chacune des composantes de cette combinaison, qui dépendent de α et β , et de l'orientation du faisceau incident, rendent compte de façon exacte de la dépendance par rapport \mathbf{q} de la section efficace. En outre, nous tenons compte ici des effets liés à la vitesse relativiste de l'électron incident, qui se traduit par le remplacement du vecteur \mathbf{q} par un vecteur effectif $\mathbf{q}^{*1.2}$. Le but de cet exposé est de confronter cette théorie à l'expérience : comme premier exemple, nous avons choisi le seuil K de l'oxygène dans la zircone monoclinique.

2. Seuil K de l'oxygène dans m-ZrO₂.

Dans la zircone monoclinique, les deux atomes d'oxygène en positions inéquivalentes occupent des sites dont les groupes ponctuels associés sont C_1 (aucun élément de symétrie). Il s'agit là d'un cas de trichroïsme de type 'c' (d'après une classification antérieurement proposée dans la littérature⁴), dans lequel la section efficace de perte s'exprime à l'aide de six composantes intrinsèques. Notre théorie est testée en comparant la section efficace de perte (c. a. d. le courant qui serait collecté pour $\alpha=\beta=0$) calculée *ex abrupto* (**q** parallèle au faisceau incident) à la section de perte calculée à partir des six composantes intrinsèques. Cette comparaison a été réalisée en utilisant les codes Feff8.2⁵ et WIEN2k⁶. La figure 1 est une illustration de cette comparaison dans le cas de l'azimut [120] de la zircone. Si les sections efficaces "Feff" et "WIEN" sont différentes (ces deux codes n'utilisent pas le même type d'approximation), le développement de la section de perte pour une direction de **q**, en fonction des composantes intrinsèques, s'avère tout à fait exact.



Figure 1: Comparaison des sections efficaces calculées suivant l'azimut [120], soit (a) directement, soit (b) en utilisant les composantes intrinsèques. Les spectres WIEN2k ont été convolués par une guassienne de 0.75 eV.

Dans un deuxième temps, des spectres expérimentaux enregistrés suivant différentes orientations du cristal et pour différents angles de collection ont été comparés aux spectres calculés obtenus par notre théorie, les composantes intrinsèques étant évaluées en utilisant soit le code WIEN2k, soit le code Feff82. Nous présentons en figure 2, une comparaison simulation (WIEN2k)/expérience obtenue lorsque le faisceau incident est orienté

^{*} Auteur à contacter : vincent.mauchamp@insa-lyon.fr – Tel : 04 72 43 61 31

selon la direction [120] du cristal et avec différentes conditions d'acquisition du signal (β =1.7 mrad et β =4.5 mrad). Conformément à l'expérience, nous reproduisons par la théorie l'augmentation du premier pic due à la fermeture de l'angle de collection. Il est évident qu'une interprétation quantitative d'un tel spectre requiert la prise en compte de cet effet. Notons par ailleurs qu'un calcul WIEN "classique" rend compte de ces phénomènes par une prise en compte 'numérique' des angles de collection et de convergence (intégration sectorielle).



Figure 2 : Comparaison expérience (trait gras) / simulation (traits fins) au seuil K de l'oxygène suivant l'azimut [120] de la zircone. Les calculs (obtenus avec WIEN2k) ont été convolués par une gaussienne de 2eV de larguer à mi-hauteur.

Le programme Feff destiné aux calculs de la section d'absorption en XANES ne tient évidemment pas compte d'un angle d'acceptance du collecteur. Cependant, comme l'illustre la figure 3, même si l'accord simulation/expérience est globalement moins bon qu'avec les composantes intrinsèques calculées avec WIEN2k, la tendance caractérisée par une augmentation de l'intensité du premier pic lorsqu'on réduit l'angle de collection est également rendue avec les composantes intrinsèques issues d'un calcul Feff (traits pleins fins). Curieusement, l'accord expérience/théorie semble meilleur lorsqu'on ne considère que la section efficace ($\alpha=\beta=0$) calculée pour un vecteur **q** parallèle à la direction [120] (traits pointillés).



Figure 3 : Identique à la figure 2 en utilisant les composantes intrinsèques obtenues avec Feff8.2. Le calcul Feff "classique" est donné en pointillés. Tous les spectres théoriques ont été convolués par une gaussienne dont la largeur à mi-hauteur est 2 eV.

3 - Conclusion

L'interprétation des structures fines des seuils d'ionisation d'atomes dans des matériaux de basse symétrie requiert un traitement particulier, tenant notamment compte des angles de convergence et de collection expérimentaux. Le traitement du seuil K de l'oxygène dans la zircone monoclinique est une illustration de la nécessité de ce traitement.

- [1] J.C. Le Bossé et al., Polarization dependence in ELNES: Influence of probe convergence, collector aperture and electron beam incidence angle, Ultramicroscopy **106** (2006) 449-460
- [2] P. Schattschneider *et al.*, Anisotropic relativistice cross section for inelastic electron scattering, and the magic angle, Phys. Rev. B **72** (2005) 045412
- [3] J.C. Le Bossé et al., Trichroism in ELNES spectroscopy: polarization dependence of Near Edge Fine Structures, accepté à Phys. Rev. B
- [4] C. Brouder, Angular dependence of x-ray absorption spectra, J. Phys.: Condens. Matter 2 (1990) 701-738
- [5] A.L. Andukinov et al., Real-space multiple-scattering calculation and interpretation of x-ray-absorption near-edge structure, Phys. Rev. B, 58, (1998), 7565.
- [6] P. Blaha *et al.*, *Full-potential, linearized augmented plane wave programs for crystalline systems*, Comput. Phys. Commun., **59**, (1990), 399

Comment interpréter les clichés de précession électronique à l'aide de la diffraction électronique en faisceau convergent à grand angle (LACBED)

Jean-Paul Morniroli^{a,*}

^a Laboratoire de Métallurgie Physique et Génie des Matériaux, USTL, ENSCL, CNRS, Bâtiment C6, Cité Scientifique, 59500 Villeneuve d'Ascq

Résumé - Nous présentons une nouvelle méthode originale d'interprétation des clichés de précession électronique à l'aide de clichés LACBED en fond noir. Le caractère « deux ondes » des clichés de précession ainsi que le comportement des réflexions cinématiquement interdites s'explique très facilement grâce à cette méthode.

1. Introduction

La précession électronique proposée par Vincent et Midgley en 1994 [1] est une nouvelle technique de diffraction électronique qui augmente de façon très importante les possibilités de la diffraction électronique car elle permet de prendre en compte les intensités diffractées. En plus, les clichés de diffraction sont moins dynamiques et ils contiennent un plus grand nombre de réflexions que les clichés de diffraction conventionnels en microdiffraction ou en aire sélectionnée. L'interprétation de ces clichés est généralement réalisée à l'aide de la construction d'Ewald et des cercles de Laue ou encore à l'aide de logiciels de simulations dédiés (Jems de P. Stadelmann, par exemple). Nous proposons, ici, une nouvelle façon d'interpréter les clichés de précession électronique à l'aide de clichés LACBED (Large-Angle Convergent Beam Electron Diffraction) en fond noir. En effet, ces deux techniques comportent de fortes similarités.

2. Description comparative des techniques de précession électronique et LACBED

Les conditions d'illumination de l'échantillon pour les techniques de précession électronique et LACBED sont données sur la figure 1. Pour des raisons de simplification, le faisceau transmis et un seul faisceau diffracté hkl seront représentés et les trajets des électrons vers le plan focal et le plan image ne seront pas dessinés.

Dans la technique de précession électronique, l'échantillon est illuminé par un faisceau incident parallèle (diffraction en aire sélectionnée) ou par un faisceau incident focalisé et presque parallèle (microdiffraction) qui tourne très rapidement sur la surface d'un cône dont l'axe est l'axe optique du microscope selon lequel est placé un axe de zone [uvw] du cristal étudié (figure 1a). Les conditions exactes de Bragg pour (hkl) sont observées quand le faisceau incident est dirigé selon les deux directions particulières AE et BE. Dans le plan focal (Figure 1c), on observe deux cercles plus ou moins superposés dont l'intensité est l'intensité transmise et diffractée en fonction de l'orientation du faisceau incident par rapport à la famille de plans réticulaires (hkl). Ainsi, les points a', b', c' et d' correspondent aux conditions exactes de Bragg. Ces deux cercles sont ensuite séparés et transformés en deux points grâce aux bobines déflectrices post-échantillon puis projetés sur l'écran (Figure 1e). Cela signifie que l'intensité du spot hkl observé sur cet écran est l'intensité diffractée intégrée le long du cercle hkl situé dans le plan focal.

Pour la configuration LACBED, le faisceau incident est fixe et il remplit entièrement le même cône que celui de la précession lorsque les angles de précession et de convergence sont identiques. Cependant, l'échantillon n'est plus situé dans le plan objet, mais il est surélevé d'une distance de défocalisation Δh (Figure 1b). Les rayons incidents qui se propagent selon la surface ABE sont en position exacte de Bragg pour (hkl) et ils diffractent selon la ligne A'B' de l'échantillon pour donner un spot hkl situé dans le plan objet à une certaine distance du spot transmis E. Dans le plan focal (Figure 1d) on observe deux disques pleins ayant le même rayon et la même distance de séparation que les deux cercles de précession. Les conditions exactes de Bragg se produisent selon la ligne diffractée a'b' (appelée ligne d'excès) et la ligne transmise c'd' (appelée ligne de défaut). Ces deux disques sont ensuite séparés grâce au diaphragme d'aire sélectionnée [2] si bien que sur l'écran (Figure 1f) on n'observe plus qu'un seul disque diffracté hkl comportant une ligne d'excès hkl.

3. Utilité de cette description

Cette description comparative indique que l'intensité intégrée d'un spot hkl d'un cliché de précession électronique (figure 1e) correspond à l'intensité diffractée selon la circonférence du disque LACBED en fond noir de la réflexion correspondante (cercle pointillé sur la figure 1f). L'effet de l'angle de précession sur les intensités diffractés devient facilement interprétable car il correspond tout simplement sur les clichés LACBED en fond noir, à des cercles concentriques qui représentent les angles de précession comme le montre la figure 1g. Cette description montre aussi que les conditions deux-ondes deviennent de plus en plus vérifiées lorsque l'angle de précession devient grand. Enfin, elle aide aussi à comprendre pourquoi les réflexions cinématiquement

^{*} Auteur à contacter : Jean-Paul. Morniroli@univ-lille1.fr – Tel : 03 20 43 69 37

interdites sont généralement visibles pour de faibles angles de précession (figure 2a) et deviennent très faibles et éventuellement disparaissent lorsque l'ange de précession devient grand (figure 2b). Il suffit de considérer, sur le cliché LACBED en fond noir de la réflexion interdite, les cercles qui correspondent aux angles de précession (figure 2c) pour comprendre cette propriété utile car elle permet d'identifier les réflexions interdites [3].

4. Conclusion

Cette nouvelle façon originale d'interpréter les clichés de précession électronique au moyen de clichés LACBED en fond noir est très utile car elle donne une vue directe de l'intensité intégrée et permet d'expliquer simplement les principales propriétés des clichés de précession électronique.

- [1] R. Vincent et P. A. Midgley, *Double conical beam-rocking system for measurement of integrated electron diffraction intensities*, Ultramicroscopy. **53** (1994) 271-282
- [2] J.P. Morniroli, LACBED; Application to crystal defects, Monograph of the Sfµ, SFµ, Paris (2002)
- [3] J.P. Morniroli, A. Redjaïmia et S. Nicolopoulos, *Contribution of electron precession to the identification of the space group from microdiffraction patterns*. **107** (2007) 514-522



Figure 1 - Description comparative de la précession électronique et de la diffraction électronique en faisceau convergent à grand angle en fond noir.



Figure 2 - Presence (a) et absence (b) des réflexions cinématiquement interdites sur les clichés de précession électronique. Cliché LACBED en fond noir correspondant à la réflexion interdite a (c).

Etude par précession électronique des abaissements de symétrie dans les perovskites LaGa03 et LSGM

Jean-Paul Morniroli^{a,*}, Graeme Auchterlonie^b, John Drennan^b

^a Laboratoire de Métallurgie Physique et Génie des Matériaux, USTL, ENSCL, CNRS, Bâtiment C6, Cité Scientifique,

59500 Villeneuve d'Ascq

^b Centre for Microscopy and Microanalysis, The University of Queensland, Brisbane, QLD 4072, Australia

 \mathbf{R} ésumé – Les clichés de diffraction électronique des perovskites LaGaO₃ et LSGM qui présentent un très léger abaissement de symétrie par rapport aux perovskites cubiques sont interprétés grâce à l'observation de faibles réflections de surstructure qui sont typiques de l'abaissement de symétrie. La précession électronique est particulièrement bien adaptée à l'observation des ces réflexions de surstructure.

Les perovskites LaGaO₃ dopées en Sr et Mg (appelées LSGM) possèdent de très bonnes propriétés de conducteur ionique à haute température qui permettent d'envisager leur utilisation dans les piles à combustible. Nous avons entrepris une étude par microscopie et diffraction électroniques des perovskites LaGaO₃ pures et dopées de façon à établir les relations entre ces bonnes propriétés de conduction et leurs caractéristiques structurales et microstructurales.

Ces perovskites présentent un très léger abaissement de symétrie par rapport à une perovskite cubique idéale. Il en résulte une difficulté importante pour indexer correctement leurs clichés de diffraction électronique. Par exemple, un axe de zone <123> d'une perovskite cubique donne 48 directions équivalentes et deux types de clichés de diffraction non superposables qui sont l'image l'un dans l'autre dans un miroir (si l'on tient compte des intensités et si le cliché contient au moins une zone de Laue d'ordre supérieur). Avec une perovskite pseudocubique ces 48 directions deviennent toutes très légèrement différentes les unes des autres et donnent 2x24 types de clichés eux aussi très légèrement différents. Comment les identifier correctement ? L'abaissement de symétrie se traduit par de très légères modifications des paramètres réticulaires donc par un très faible déplacement des points ou des lignes sur les clichés de diffraction. Cependant, ces déplacements sont très difficiles à identifier. L'abaissement de symétrie se traduit aussi par la création de nouvelles périodicités donc par la présence de réflexions supplémentaires sur les clichés. Ces réflexions sont faciles à observer et à interpréter. Nous décrirons les perovskites pseudo-cubique par rapport à une perovskites cubique idéale et, en analogie avec les structures ordonnées, on considèrera leurs clichés comme constitués de réflexions fondamentales communes aux perovskites cubique et pseudo cubique et de réflexions de surstructure typiques des périodicités nouvelles donc de la perovskite pseudo-cubique. Ces réflexions de surstructure ont une très faible intensité par rapport aux réflexions fondamentales.

1. Résultats expérimentaux

Une étude à déjà été réalisée par CBED et LACBED en considérant les lignes de surstructure. Elle a permis de caractériser la microstructure et d'identifier différents types de défauts (macles, dislocations).

Les réflexions de surstructure peuvent aussi être aisément observées sur les cliché de précession électronique et être utilisées pour caractériser l'aspect structural. Ainsi, pour LaGaO₃, les clichés de précession ont permis de confirmer la structure de groupe spatial Pnma grâce à l'identification du symbole d'extinction et l'observation des réflexions cinématiquement interdites qui disparaissent lorsque l'angle de précession devient important. Les clichés de précession ont également permis de caractériser des macles très fréquentes dans ces perovskites. Dans le cas de la perovskite LSGM, pour laquelle trois structures différentes ont été proposées [1-3], l'observation précise de l'intensité de certaines réflexions de surstructure (Figure 1) a permis d'identifier sans ambiguïté la structure de groupe spatial I2/a.

2. Conclusion

Les clichés de diffraction des perovskites LaGa0₃ et LSGM s'interprètent très facilement si l'on prend en compte les réflexions de surstructure liées au faible abaissement de symétrie par rapport à une perovskite idéale cubique. La précession électronique qui permet de prendre en compte les intensités diffractées même lorsqu'elles sont très faibles est particulièrement bien adaptée à l'observation de ces faibles réflexions de surstructure. Ce type d'interprétation peut être étendu aux nombreuses perovskites qui présentent un abaissement de symétrie.

3. Références

[1] J. Drennan, V. Zelizko, D. Hay, F. Ciacci, S. Rajendran and Sukhvinder P.S. Badwal, J. Mater. Chem., 7(1) (1997) 79-83

[2] M. Lerch, H. Boysen and T. Hansen, Journal of Physics and Chemistry of Solids 62 (2001) 445-455

[3] P.R. Slater, J.T.S. Irvine, T. Ishihara and Y. Takita, Journal of Solid Chemistry 139 (1998) 135-143

^{*} Auteur à contacter : Jean-Paul. Morniroli@univ-lille1.fr – Tel : 03 20 43 69 37



Figure 1 - Clichés de précession expérimentaux et théoriques de la perovskite LSGM en accord avec le groupe spatial 12/a. Les réflexions de surstructure sont entourées d'un cercle. Les réflexions de surstructure les plus fortes sont représentées par de petits haltères.

Apport de la précession électronique à l'identification d'un nouvel hydrure de zirconium

Jean-Paul Morniroli^{a,*}, Zhao Zhao^{a,b}, A. Legris^a, Y. Kihn^c, L. Legras^b, A. Ambard^b,

M. Blat-Yriex^b

^a Laboratoire de Métallurgie Physique et Génie des Matériaux, USTL, ENSCL, CNRS, Bâtiment C6, Cité Scientifique, 59500 Villeneuve d'Ascq
 ^b EDF R&D, Centre des Renardières, Ecuelles, 77818 Moret-sur-Loing Cedex

CEMES, CNRS, 29 Rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse Cedex

Résumé – Une étude par précession électronique a permis d'identifier les réseaux réciproque et direct d'un nouvel hydrure de zirconium. Un modèle de structure trigonale est proposé ; il résulte de calculs électroniques ab initio prenant en compte le réseau direct, la composition stœchiométrique et la localisation des atomes d'hydrogène dans les sites tétraédriques du zirconium.

1. Introduction

Dans le cadre d'une étude générale des hydrures de zirconium présents dans une matrice de zirconium, nous avons observé en microscopie et microdiffraction électroniques de petits hydrures de zirconium sous forme d'aiguilles dont les clichés de diffraction ne correspondent à aucun hydrure connu. Pour tenter d'identifier et de caractériser la structure de ces hydrures nous avons entrepris une étude détaillée par précession électronique. Cette méthode, préconisée par Vincent et Midgley [1], possède de nombreux avantages par rapport aux techniques conventionnelles : les clichés sont moins dynamiques et ils contiennent plus de réflexions dont les intensités sont intégrées sur un large domaine d'orientations autour de l'orientation exacte de Bragg. Ainsi, les réflexions sur un cliché en axe de zone [uvw] sont toujours parfaitement équilibrées même si le cristal n'est pas parfaitement orienté. En d'autres termes, les intensités diffractées peuvent être prises en compte.

2. Clichés de précession électronique de l'hydrure

Des observations préliminaires ont montré que certains clichés de précession de l'hydrure contenaient des réflexions supplémentaires par rapport aux réflexions de la matrice de zirconium. Nous avons donc effectué une observation systématique des axes de zone situés de façon symétrique autour de l'axe de zone [0001] du zirconium. Pour chacun d'eux, nous avons enregistré deux clichés de précession, le premier avec le faisceau incident localisé dans la matrice très proche de l'hydrure et le second avec le faisceau localisé sur l'hydrure. Nous présentons sur la figure 1a, en respectant leurs orientations mutuelles, les clichés d'axes de zone <11-26> ainsi obtenus. Les clichés de la matrice et de l'hydrure montrent les mêmes réflexions « fondamentales » alors que les clichés de l'hydrure contiennent en plus des réflexions très faibles de « surstructure » (sur la figure 1a, ces réflexions de surstructure localisées de part et d'autre des miroirs m₂, m₄ et m₆ montrent une différence appréciable d'intensité qui prouvent que ces miroirs n'existent plus pour l'hydrure et que la symétrie 6mm typique du zirconium est réduite en une symétrie 3m pour l'hydrure. L'hydrure appartient donc au système cristallin trigonal.

3. Identification de la structure de l'hydrure

A partir de ces clichés, on peut reconstituer le réseau réciproque et montrer que les nœuds de surstructure sont tous localisés dans des strates (0001)* du réseau réciproque du zirconium situées aux cotes $\pm 1/2$, $\pm 3/2...$ Le réseau direct correspondant (figure 1b) a les mêmes paramètres a et b que le zirconium (figure 1c) mais il possède un paramètre c double. Des mesures du déplacement du pic plasmon en pertes d'énergie des électrons (EELS) entre différents hydrures de Zr de composition connue, permettent de conclure à une composition Zr₂H. Le modèle de structure présenté sur la figure 1e a été obtenu par des calculs de structure électronique ab initio en tenant compte à la fois du réseau direct, de la stœchiométrie et de tous les placements possibles des atomes d'hydrogène dans les sites tétraédriques du zirconium (figure 1a) grâce au logiciel Jems de P. Stadelmann. Ils sont en excellent accord avec les clichés expérimentaux et confirment la validité du modèle de structure proposé.

^{*} Auteur à contacter : Jean-Paul.Morniroli@univ-lille1.fr – Tel : 03 20 64 02 90
4. Conclusion

La très grande qualité des clichés de précession électronique obtenus sur lesquels de faibles différences d'intensité sont visibles à permis d'identifier les réseaux réciproque et direct de ce nouvel hydrure de zirconium. Une modélisation basée sur ces réseaux et prenant en compte la composition et l'arrangement des atomes de zirconium a permis de proposer une structure trigonale pour cet hydrure en accord avec les clichés expérimentaux.

5. Références

[1] R. Vincent et P. A. Midgley, *Double conical beam-rocking system for measurement of integrated electron diffraction intensities*, Ultramicroscopy. **53** (1994) 271-282



Figure 1 – *Clichés de précession électronique de l'hydrure de zirconium (a), réseaux directs de l'hydrure (b) et du zirconium (c), structures du zirconium (d) et de l'hydrure de zirconium (e).*

La structure électronique du SrCu₂(BO₃)₂ en EELS : anisotropie et corrélations électroniques

G. Radtke^{a,*}, A. Saul^b

^a Laboratoire TECSEN, UMR 6122 CNRS, Faculté des Sciences, case 262, Université Paul Cézanne-Aix Marseille III, 13397 Marseille cedex20, France

^a Centre de Recherche en Matière Condensée et Nanosciences CNRS, Campus de Luminy, case 913, 13288 Marseille cedex9, France

Résumé – Nous présentons une étude expérimentale et théorique de la structure électronique du $SrCu_2(BO_3)_2$ à travers l'analyse de la structure fine des seuils K du bore et de l'oxygène enregistrés en spectroscopie de pertes d'énergie des électrons. La possibilité de sélectionner l'orientation du vecteur de diffusion **q** par rapport au repère du cristal dans un microscope électronique à transmission conventionnel a permis d'obtenir une information précise sur l'orientation spatiale des états électroniques sondés. En outre, la modélisation des signatures expérimentales a permis de mettre en évidence le rôle important joué par les corrélations sur la structure électronique de ce matériau.

La spectroscopie de pertes d'énergie des électrons figure parmi les techniques expérimentales les plus puissantes permettant d'étudier la structure électronique des solides. Les récents progrès en matière d'instrumentation (dans le domaine des spectromètres à haute résolution et des monochromateurs) permettent désormais d'obtenir une résolution en énergie avoisinant 0.1eV et ainsi de mesurer la structure fine des seuils d'ionisation avec une précision jusqu'alors inaccessible. Par ailleurs, le développement des codes de calcul de structure électronique permet une analyse de plus en plus fine des structures expérimentales. Il est désormais possible d'obtenir une information très précise sur la géométrie locale autour de l'atome excité et sur les liaisons chimiques qu'il établit avec les atomes voisins ou, dans le cas des métaux de transition et des terres rares, de déterminer leur valence formelle et leur état de spin. Les mesures de structure fine résolues en **q** (moment transféré), largement facilitées dans un microscope électronique à transmission conventionnel par la possibilité de travailler avec une illumination parallèle, permet en plus d'obtenir une information sur l'orientation spatiale des états électroniques sondés dans les matériaux anisotropes.



Figure 1 – 1 (a) Maille tétragonale du $SrCu_2(BO_3)_2$ et (b) portion d'une couche de $CuBO_3$ (noir : B, gris : Cu et blanc : O).

Nous présentons une étude expérimentale et théorique de la structure électronique de l'orthoborate $SrCu_2(BO_3)_2$ à travers notamment l'analyse des seuils K du bore et de l'oxygène. Ce composé présente une structure tétragonale constituée par l'empilement de couches de [CuBO₃]⁻ selon la direction [001] et séparés par les ions Sr^{2+} (figure 1). Ces couches sont elles mêmes constituées de deux types d'unités structurales planes, triangulaires de BO₃ et rectangulaires de CuO₄. Deux unités CuO₄ adjacentes partagent une arrête pour former un dimer luimême relié aux autres dimers de la couches par une unité BO₃. Les ions Cu²⁺ portant un spin ¹/₂ localisé sont responsables du magnétisme [1,2] dans ce composé qui est connu comme la première réalisation du modèle de Shastry-Sutherland [3]. La spectroscopie de pertes d'énergie des électrons est un outil parfaitement adapté à l'étude de la structure électronique d'un tel composé ; d'une part, parce que ses propriétés dépendent largement des trous *3d* portés par les atomes de cuivre et qui peuvent donc être sondés par cette spectroscopie et d'autre part, parce qu'une information sur l'orientation spatiale de ces états électroniques peut être déduite à partir

^{*} Auteur à contacter : guillaume.radtke@univ-cezanne.fr – Tel : 04 91 28 90 12

d'experiences résolues en **q**. Nous allons donc montrer comment l'étude expérimentale et théorique de la structure fine des seuils K du bore et de l'oxygène permet de comprendre la structure électronique complexe de ce composé et notamment de mettre en évidence le rôle important joué par les corrélations électroniques.

- [1] H. Kageyama et al., *Phys. Rev. Lett.* **82** (1999) 3168.
- [2] S. Miyahara et al., cond. mat. (1999) 9807075.
- [3] B. S. Shastry et al., *Physica B & C* **108B** (1981) 1069.

New Fullerene like materials: TEM and EELS study of the formation of curved MoS₂ fringes.

Virginie Serin

Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales-CNRS, UPR 8011, 31055 Toulouse cédex 4, France

Nathalie Brun

Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, 91405 Orsay cédex, France

Peter Hatto, Clive Davies

IonBond Limited, Unit 36, No.1 Industrial Estate, Consett, Co Durham DH8 6TS, UK

Fullerene-like materials can be defined as materials made up of two-dimensional lamellar basic units of nanoscale dimensions with closed and curved shapes. They can grow in the solid phase into three-dimensional networks or architectures displaying a wide range of morphologies. The basic origin of these new phases lies in the role of dangling bonds at the periphery of sheets of such small sizes, which destabilise planar structures and induce closing. The atomic-scale structure of these materials involving strong covalent inter-atomic bonding and non-compact space filling, make them strong candidates for breakthrough developments, of potentially high interest in many industrial fields.

R. Tenne et al first discovered this new class of three-dimensional inorganic nanostructures [1]. They found that certain inorganic compounds that normally occur as large flat platelets can be synthesized into much smaller nano-spheres. Due to their size, shape, chemistry, and structure, materials based on these nanoparticles have special properties compared to materials based on conventionally sized constituents of the same composition. This makes them attractive for many commercial applications. Up until the discovery by the Weizmann group it was thought that fullerenes could only be made with carbon atoms. They were the first to discover that certain inorganic (i.e., non-carbon) materials could also be formed into fullerene-like structures, hence the name inorganic fullerene-like materials, or IFLM nanoparticles.

In the present paper we report the study of samples developed with the overall objective to provide industry with radically new composite coating systems. The application of the composite coatings will be for surfaces and lubricants, in order to significantly reduce and control friction and wear in tribological contacts. The ultimate aim is to reduce friction as well as to extend operational life, reduce maintenance requirements and reduce the environmental impact of a wide range of mechanical elements for the aerospace, automotive, power generation (energy) and manufacturing industrial sectors [1, 2,3].

The studied samples have been prepared by arc evaporative PVD by reactive deposition of Mo in SO₂. As displayed in Fig.1, they exhibit a multilayer structure. The chemical composition of the layers varies as a function of the preparation conditions. Chemicals maps (Fig.2) have been established using S L-edge, Mo $M_{2,3}$ edge, O K edge. These samples show a strong modulation of Mo and S content with a period corresponding to the layers thickness. We will discussed in this paper the correlation between the observed microstructure and the local composition which may provide information on the growth mechanism of the layers and on the formation of 002 MoS₂ fringes.

The authors are pleased to acknowledge the financial support of the EC (FOREMOST, Contract no.: FP6-515840)

References

- L. Rapaport, Y. Feldman, M. Homyonfer, H. Cohen, J. Sloan, J.L. Huchison, R. Tenne, Inorganic-like fullerene-like material as additives to lubricants; structure-function relationship, Wear, 225-229 (1999) 975-982
- [2] M. Choowalla and G.A.J Amaratunga, *Thin films of fullerene-like MoS*₂ *nanoparticles with ultra-low friction and wear*, Nature, **407** (2000) 164 167.
- [3] L. Rapaport, V Leshinsky, M. Lovovsky, I. Lapsker, Y. Volovik, Y. Feldman, R. Popovitz-Biro, R. Tenne, *Superior tribological properties of powder materials with solid lubricant nanoparticles*, Wear **255**, (2003) 794-800.



Figure 1 : TEM images of two samples with different S compositions. Note in the case b) the 002 MoS_2 fringes formed perpendicularly to the layers.



Figure 2 : EELS profile corresponding to the sample shown in fig. 1b

Microscopie non linéaire multimodale (2PEF, SHG, THG) pour l'imagerie de tissus intacts

Emmanuel Beaurepaire^{*}, Delphine Débarre, Nicolas Olivier, Ana-Maria Pena, Willy Supatto, Jean-Louis Martin, Mathias Strupler, Marie-Claire Schanne-Klein

Laboratoire d'optique et biosciences, Ecole Polytechnique, CNRS, INSERM, 91128 Palaiseau

Résumé – La microscopie non linéaire permet d'observer des milieux complexes avec une résolution tridimensionnelle micrométrique. Outre la fluorescence excitée à deux photons (2PEF) qui est aujourd'hui largement utilisée pour l'imagerie de tissus biologiques, d'autres formes de contraste sont exploitables. Par exemple, la génération de second (SHG) ou troisième harmonique (THG) fournissent des informations complémentaires à la fluorescence en détectant spécifiquement certaines structures capables de produire ce type d'émission cohérente. Nous présentons les principes de ces approches, et plusieurs applications récentes.

1. Microscopie non linéaire

Depuis son introduction en 1990, la microscopie de fluorescence excitée à deux photons (2PEF) s'est imposée comme une méthode incontournable d'imagerie de tissus intacts à l'échelle sub-cellulaire[1]. En effet, la caractéristique la plus remarquable de la microscopie multiphotonique est de maintenir une résolution tridimensionnelle micrométrique lors de l'observation en profondeur d'un milieu diffusant[2]. Combinée aux technologies de protéines-fusion (GFP etc), cette approche est aujourd'hui utilisée dans de nombreux domaines, notamment en neurophysiologie. Un autre attrait de ce type d'imagerie réside dans la possibilité d'utiliser d'autres phénomènes optiques non linéaires comme source de contraste (figure 1). Ainsi, les microscopies par génération de second harmonique (SHG) et par génération de troisième harmonique (THG) permettent également d'observer des milieux complexes, et fournissent des informations complémentaires par rapport à l'imagerie de fluorescence. L'étude en cours des mécanismes de contraste de ces formes alternatives de microscopie non linéaire a mené récemment au développement de nouvelles applications.



Figure 1. Mécanismes de la fluorescence excitée à deux photons (2PEF), de la génération de second (SHG) et troisième (THG) harmoniques. (A) Exemple 1 : échantillon excité à 800 nm, produisant un signal SHG à 400 nm et un signal 2PEF à 450-580 nm. (B) Exemple 2 : échantillon excité à 1200 nm, produisant un signal THG à 400 nm et un signal SHG à 600 nm.

2. Génération de second (SHG) et troisième harmonique (THG) par des structures biologiques

La génération d'harmonique est un phénomène cohérent: les ondes rayonnées par différentes molécules présentes dans le volume d'excitation peuvent interférer de façon constructive ou destructive selon la répartition spatiale de ces molécules. De ce fait, les microscopies SHG et THG sont sensibles à certaines géométries à l'échelle du volume sondé. En particulier, un signal SHG ne peut être obtenu que dans un milieu non centro-symmétrique ; la microscopie SHG est donc sensible à la symétrie à l'échelle du volume focal. En revanche, la génération de troisième harmonique n'impose pas de contrainte de symétrie ; cependant aucun signal THG ne peut être obtenu dans un milieu homogène normalement dispersif. Cette propriété résulte de l'inversion de phase présente au voisinage du foyer d'un faisceau focalisé. Un signal est par contre obtenu lorsqu'une hétérogénéité est présente au foyer de l'objectif, par exemple une interface entre deux milieux optiquement distincts (eau et lipides, par exemple).

^{*} emmanuel.beaurepaire@polytechnique.edu - Tel : 01 69 33 50 21 - http://www.lob.polytechnique.edu

Certaines structures cellulaires ou tissulaires permettent de réaliser les conditions d'efficacité, de symétrie et d'accord de phase appropriées, et fournissent naturellement ces types de réponse[3,4]. Dans ce cas, l'émission se fait en général dans la direction du faisceau excitateur, et peut être séparée spectralement de la fluorescence et détectée indépendamment (voir figure 1). La microscopie SHG permet de visualiser certaines structures macromoléculaires denses et organisées telles que les fibres de collagène, les myofilaments ou les faisceaux de microtubules[3,5], et permet notamment l'étude des fibroses collagéniques [6,7]. La microscopie THG détecte les interfaces ou les inclusions micrométriques [8] telles que les gouttelettes lipidiques[9,10], et permet de visualiser sans marquage le développement embryonnaire de petits organismes [11,12] (figure 2). Enfin, ces approches se combinent naturellement avec les techniques de photoablation en régime femtoseconde, permettant de réaliser des micro-lésions tridimensionnelles dans les cellules et tissus observés[12].



Figure 2. Imagerie combinée 2PEF/THG d'un embryon de drosophile avant la phase de gastrulation, comportant un marquage GFP dans les noyaux localisés à la périphérie de l'embryon. L'image illustre la forte densité de structures lipidiques (détectées en THG) présentes entre les noyaux et les structures internes (vitellus) [9].

- [1] W. Zipfel et al, *Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences*, Nat. Biotechnol. **21** (2003) 1369.
- [2] F. Helmchen & W. Denk, *Deep tissue two-photon microscopy*, Nature Methods 2 (2005), 932-940.
- [3] W. Zipfel et al, *Live tissue intrinsic emission microscopy using multiphoton excited intrinsic fluorescence and second-harmonic generation*, PNAS **100** (2003), 7075-80.
- [4] D. Débarre et al, *Microscopies multi-harmoniques pour l'imagerie structurale de tissus intacts*, Médecine Sciences **22** (2006) 845-50.
- [5] P. Campagnola & L. Loew, Second-harmonic imaging microscopy for visualizing biomolecular arrays in cells, tissues and organisms, Nature Biotechnol. **21** (2003) 1356-60.
- [6] M. Strupler et al, *Second harmonic imaging and scoring of collagen in fibrotic tissues*, Opt. Express **15** (2007) 4054-4065.
- [7] A.-M. Pena et al, *Three-dimensional investigation and scoring of extracellular matrix remodeling during lung fibrosis using multiphoton microscopy*, Microsc. Res. Techn. **70** (2007), 162.
- [8] D. Oron et al, Depth-resolved structural imaging by THG microscopy, J. Struct. Biol. 147 (2004) 3-11.
- [9] D. Débarre et al, *Imaging lipid bodies in cells and tissues using third-harmonic generation microscopy*, Nature Methods **3** (2006) 47-53.
- [10] D. Débarre & E. Beaurepaire, *Quantitative characterization of biological liquids for third-harmonic generation* microscopy, Biophys. J. **92** (2007) 603-612.
- [11] D. Débarre et al, Velocimetric third-harmonic generation microscopy: micrometer-scale quantification of morphogenetic movements in unstained embryos, Opt. Lett. 29 (2004), 2881-2883.
- [12] W. Supatto et al, In vivo modulation of morphogenetic movements in Drosophila embryos with femtosecond laser pulses, PNAS 102 (2005) 1047-1052.

Microscopie de fluorescence de membranes de cellules biologiques individuelles stimulées par pinces optiques holographiques

Serge Monneret^{a,*}, Federico Belloni^{a,b}, Fabien Conchonaud^b, Didier Marguet^b

 ^a Institut Fresnel, Mosaic group, CNRS UMR 6133, Univ. Paul Cézanne, Domaine Univ. St Jérôme, 13397 Marseille Cedex, France.
^b Centre d'Immunologie de Marseille Luminy, CNRS UMR 6102 - INSERM UMR 631, Parc scientifique de Luminy, Case 906, 13009 Marseille

Résumé - Nous présentons un appareillage basé sur des pinces optiques holographiques destiné au pilotage de séquences spatio-temporelles de stimulation de la membrane plasmique de cellules individuelles vivantes. Pour cela, nous déplaçons soit des microbilles de silice ou de polystyrène de diamètre de 2 à 5 μ m recouvertes de ligands, soit directement des cellules de type adapté, pour les mettre en contact sur la membrane de la cellule cible suivant un motif géométrique et/ou une séquence temporelle donnés. L'appareillage, comprenant un microscope de fluorescence, permet alors d'imager, lorsqu'il y a lieu, les signaux de fluorescence induits par ces stimulations, ainsi que d'obtenir leur dynamique.

1. Introduction

Durant les dix dernières années, les expérimentations sur cellules individuelles vivantes ont connu un large développement, et il est apparu que nombre d'événements biologiques de première importance dépendent d'une reconnaissance moléculaire spécifique au niveau de la membrane plasmique. Des études récentes mettent même en avant la notion nouvelle d'approche régionale lorsqu'il s'agit d'analyser le comportement cellulaire. En conséquence, nous proposons une méthodologie ainsi que l'appareillage associé permettant de stimuler les membranes cellulaires de façon spatio-temporelle, en permettant le contrôle de la zone de stimulation, l'instant d'application, ainsi que la durée du stimulus.

Pour déterminer la réponse d'une cellule à un stimulus spatio-temporel, et ainsi obtenir sa carte de sensibilité membranaire, une technique bien adaptée consisterait à piéger une bille de latex recouverte d'anticorps grâce à une pince optique et à venir l'appliquer localement sur la membrane de la cellule cible. L'intérêt des pinces optiques pour piloter des microbilles et ainsi sonder les propriétés locales de membranes est maintenant bien établi. Nous avons donc développé une méthodologie complète de microscopie de fluorescence associant un microscope à un réseau de pinces optiques holographiques multiples et dynamiques, destiné à façonner spatialement et temporellement des séquences d'interactions de type contact entre plusieurs billes recouvertes d'anticorps et une cellule cible, ou entre cellules.

2. Pilotage dynamique de contacts ligands/membranes par pinces optiques holographiques

Une pince optique est très simplement constituée d'un faisceau laser focalisé à la limite de diffraction par un objectif de microscope de forte ouverture numérique (typiquement entre 1,2 et 1,4) [1]. Deux méthodes principales permettent alors d'obtenir des pinces multiples simultanées. La première consiste à distribuer de façon temporelle un faisceau sur un motif géométrique de pièges, mais le motif ne peut être que plan. L'autre méthode repose sur l'optique diffractive, permettant de générer un ensemble de faisceaux simultanés, qui seront tous focalisés avec une ouverture numérique suffisante au niveau de l'échantillon pour générer des pièges optiques dans un volume donné (figure 1a). La réalisation de pinces optiques holographiques, comprenant un modulateur spatial de phase à cristaux liquides, devient alors un moyen très performant pour contrôler simultanément et de façon dynamique un ensemble de particules (microbilles de latex ou silice, ou encore directement des cellules biologiques), y compris sur des motifs tridimensionnels si nécessaires. Nous avons réalisé ce type de montage, et la figure 1b donne un exemple de motif géométrique plan obtenu avec plus de 40 billes de silice (diamètre $2 \mu m$) maintenues dans de l'eau.

Les systèmes biologiques utilisés (lignée cellulaire marquée / ligand) permettent de visualiser la stimulation cellulaire, lors de l'étape de signalisation membranaire, par une émission de fluorescence. Nous avons donc construit notre système optique de façon à être en mesure de stimuler les membranes tout en enregistrant simultanément les signaux émis, par microscopie de fluorescence conventionnelle. Ceci nous apporte à la fois des informations précises sur la distribution spatiale de la réponse cellulaire (imagerie), mais aussi sur sa dynamique (enregistrement de séquences temporelles d'images).

^{*} Auteur à contacter : serge.monneret@fresnel.fr – Tel : 04 91 28 80 52



Figure 1 – a - Principe des pinces optiques multiples holographiques (DOE : modulateur spatial de phase, utilisé comme composant optique diffractif, L_1 et L_2 : lentilles); b- exemple de motif de billes de silice de diamètre 2 µm piégées simultanément dans de l'eau.

L'utilisation de pinces holographiques nous permet en effet de contrôler simultanément plusieurs billes, et de générer des trajectoires dynamiques de ces billes. De plus, nous avons développé une technique simple de mise en contact par déplacement vertical des motifs de pièges par l'ajout, sur les hologrammes de pilotage, de termes de phase équivalents à des lentilles de Fresnel [2]. Enfin, pour empêcher tout contact fortuit entre la cellule cible et le surplus de billes de l'échantillon, nous utilisons des réservoirs millimétriques tridimensionnels de forme adaptée, construits au laboratoire par micro-stéréolithographie [3] (figure 2).



Figure 2 – Description schématique du système retenu pour séparer les billes des cellules lors des expérimentations (HOT : pinces optiques holographiques).

3. Conclusion

Nous avons mis au point une technique complète pour le pilotage de séquences spatio-temporelles de contacts membranaires sur des cellules biologiques individuelles vivantes, construite autour de pinces optiques holographiques. L'exposé développera essentiellement la conception et la description de l'instrumentation optique liée au développement de cet appareillage. Ses applications pour la manipulation simultanée de plusieurs billes ou cellules biologiques seront aussi présentées, ainsi que d'autres applications potentielles.

- [1] A. Ashkin, J.M. Dziedzic, J.E. Bjorkholm and S. Chu, *Observations of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*, Opt Lett **11**, 288 (1986).
- [2] F. Belloni, S. Monneret, D. Marguet, *Interactive space-time controlled application of different stimuli for cells dynamics study*, Proceedings of the SPIE, vol **6326**, 63260R1-10 (2006).
- [3] S. Monneret, F. Belloni, O. Soppera, *Combining fluidic reservoirs and optical tweezers to control beads/living cells contacts*, Microfluidics and Nanofluidics (2007), en ligne sur le site web de Springer.

Du Microscope au Nanoscope ? Développements récents en microscopie optique 3D

Olivier Haeberlé

LaboratoireMIPS-EA2332, Université de Haute-Alsace Mulhouse IUT de Mulhouse, 61 rue Albert Camus, 68093 Mulhouse Cédex

Résumé: Le microscope optique est devenu un instrument de référence en biologie, grâce à ses possibilités uniques d'observation en 3D de spécimens vivants, marques spécifiquement si nécessaire (fluorescence). Comparé à d'autres techniques (microscopie électronique, en champ proche), sa résolution reste cependant limitée, ce qui a motivé de nombreux travaux visant à améliorer cet instrument. Plusieurs techniques permettent maintenant de dépasser la classique limite d'Abbe, et ouvrent la voie à une imagerie optique en champ lointain avec une résolution nanométrique et non plus micronique ou submicronique.

1. Introduction

La microscopie optique s'est imposée comme la technique de référence pour la compréhension des mécanismes cellulaires, de par ses possibilités uniques d'imager en 3 dimensions des spécimens vivants, éventuellement sur de longues périodes. La plus grande limitation du microscope optique (en comparaison à la microscopie électronique à balayage par exemple) est sa résolution limitée.

Parmi les différentes techniques de microscopie optique, la microscopie de fluorescence occupe une place à part. En effet, l'utilisation de fluorophores spécifiques permet le marquage de structures cellulaires, et donc l'étude des fonctions biologiques associées. Diverses méthodes ont été proposées pour améliorer la résolution. Certaines, comme les microscopies 4Pi et STED sont déjà développées industriellement.

Pour les spécimens non-marqués, les techniques de microscopies en transmission s'imposent (grand-champ, contraste de phase...). Le contraste enregistré fait intervenir de manière complexe les caractéristiques optiques du spécimen, et il est difficile de l'interpréter en termes de grandeurs physiques. La technique de microscopie tomographique diffractive, inspirée des techniques de synthèse d'ouverture en astronomie, permet de dépasser la classique limite d'Abbe et mais aussi la mesure de la distribution des indices optiques à travers le spécimen.

2. Microscopie de Fluorescence

Les deux types de microscopes de fluorescence les plus courants sont le microscope grand champ et le microscope confocal. Une explication simple de la meilleure résolution spatiale en microscopie confocale peut être donnée par une interprétation probabilistique du processus de détection. Dans un microscope classique, la probabilité pour un photon d'arriver au détecteur est donnée par le produit de la probabilité spatiale de création du photon de fluorescence (égale à 1 car l'excitation est uniforme) par la probabilité de détection spatiale P_d de ce photon. Cette probabilité spatiale de détection P_d est donnée par la tache de diffraction 3D, ou tache d'Airy.

Dans un microscope confocal, la probabilité d'excitation P_f est aussi en première approximation décrite par la tache d'Airy due à la focalisation du laser d'excitation par l'objectif et donc la Réponse Impulsionnelle Optique (RIO) d'un microscope confocal est en première approximation simplement obtenue en élevant au carré la RIO d'un microscope classique. Avec cette interprétation, on comprend que n'importe quel mécanisme capable de réduire le volume d'émission de fluorescence diminuera le volume de la RIO globale.

Le phénomène de focalisation permet d'obtenir un spot d'excitation de dimensions $\lambda/2$ latéralement et λ longitudinalement. Le phénomène d'interférence conduit lui à des franges dont la largeur à mi-hauteur vaut $\lambda/4$. La microscopie 4Pi [1] utilise ce phénomène pour diminuer la RIO d'excitation, en faisant interférer longitudinalement 2 faisceaux d'illumination coaxiaux (Fig. 1(a)). On peut le combiner avec une détection confocale, mais on peut aussi réaliser la détection de fluorescence de manière cohérente à travers les 2 objectifs dans une configuration de microscope 4Pi de type C. La résolution latérale reste celle d'un microscope confocal, mais la résolution longitudinale descend sous les 100 nm.



Figure 1 : Principe des microscopes 4Pi (a) et STED (b)

Le microscope STED [2] utilise le phénomène d'émission stimulée pour diminuer la zone d'émission de fluorescence spontanée. C'est essentiellement un microscope confocal modifié. Dans un premier temps, l'excitation est produite par un faisceau focalisé en régime femtoseconde/picoseconde (Fig. 1(b)). Le faisceau STED, proprement mis en forme, provoque alors l'émission *stimuléee* à la périphérie du spot d'excitation. Ce rayonnement est filtré en longueur d'onde. La zone permettant l'émission *spontanée* en fluorescence est alors grandement réduite. Cette technique à démontrer une résolution spatiale 3D meilleure que 100 nm, et de l'odre de 50 nm en 2D, dans des spécimens biologiques.

3. Microscopie Tomographique Diffractive

La microscopie tomographique diffractive est une technique d'imagerie 3D basée sur la microscopie holographique en lumière cohérente et l'interférométrie, combinée avec un balayage angulaire (tomographie), le spécimen observé étant successivement illuminé par une série d'ondes planes cohérentes dont l'angle d'incidence varie [3].

Pour chaque incidence, l'onde diffractée par l'objet est enregistrée dans l'espace de Fourier au moyen d'un interféromètre à décalage de phase et d'une caméra CCD. Chaque jeu d'hologrammes en décalage de phase permet de mesurer un front d'onde diffractée, en amplitude et en phase. La difficulté principale est de recaler les différents fronts mesurés entre eux [4]. Cette technique se rapproche donc des techniques de synthèse d'ouverture utilisée en astronomie ou en imagerie radar. Les enregistrements successifs permettent alors de reconstruire le spectre de l'onde diffractée par le spécimen.

Dans le cadre de la première approximation de Born [3] (objets faiblement absorbant/diffusant et peu épais pour lequel il n'y a pas de diffraction multiple), on considère que cette onde diffractée est l'image dans l'espace de Fourier 3D de la distribution des indices dans le spécimen. On obtient donc directement une image tridimensionnelle dans l'espace objet par une FFT 3D, image qui correspond donc à la distribution spatiale de l'indice optique dans le spécimen, une donnée physique qui n'était jusqu'alors pas ou difficilement accessible. L'utilisation d'un éclairage cohérent permet de plus une meilleure résolution.

Dans les configurations les plus courantes, la détection de l'onde diffractée ne se fait qu'en transmission. De ce fait, cette technique souffre aussi de la présence d'un "missing cone" nuisible à la résolution en z. Une variante consiste à faire tourner le spécimen sur lui-même, en gardant l'incidence d'illumination fixe. On peut aussi détecter l'onde diffractée en transmission *et* en rétropropagation [4], dans un montage similaire au microscope 4Pi, ce qui peut être avantageux pour la préparation et la manipulation du spécimen.

La Figure 2 montre une diatomée observée à l'aide cette technique. La nature lenticulaire du spécimen est clairement visible.



Figure 2 : Diatomée (Coscinodiscus sp) observée en microscopie tomographique diffractive

- [1] S.W. Hell and E. H. K. Stelzer, *Fundamental improvement of resolution with a 4Pi-confocal fluorescence microscope using two-photon excitation*, Opt. Comm. **93**, (1992) 277-282
- [2] S.W. Hell and J. Wichmann, *Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission*, Opt. Lett. **19**, (1994) 780-782
- [3] E. Wolf, *Three-dimensional structure determination of semitransparent objects from holographic data*, Opt. Comm. **1**, (1969) 153–156
- [4] V. Lauer, New approach to optical diffraction tomography yielding a vector equation of diffraction tomography and a novel tomographic microscope, J. Microscopy **205** (2002) 165-176.

Spectroscopie à corrélation spatiale de fluorescence : mesures locales du transport moléculaire

Antoine DELON^{a,*}, Jacques Derouard^a, Jie GAO^a

^a Laboratoire de Spectrométrie Physique, UJF/CNRS, BP87, 38402 Saint Martin d'Hères Cedex

Résumé – Nous présentons des expériences de spectroscopie à corrélations spatiales de fluorescence (spatial Fluorescence Correlation Spectroscopy ou sFCS), permettant des mesurer, localement, des paramètres du transport moléculaire (vitesse de flux, perméabilité à travers une membrane), au niveau de la molécule unique. Nous montrons qu'il est possible d'utiliser des modulateurs spatiaux de lumière (SLM en anglais, pour Spatial Light Modulator) pour structurer en plusieurs spots lasers contrôlés l'illumination de l'échantillon et réaliser la détection correspondante des signaux de fluorescence, en géométrie confocale.

1. Introduction

La Spectroscopie à Corrélations spatiales de Fluorescence (sFCS en anglais), consiste à observer et à analyser les fluctuations de fluorescence émises par des molécules ou des particules se déplaçant à travers différents volumes optiques, décalés les uns par rapport aux autres (voir Fig. 1). Les premiers articles [1-3], publiés in 1999, ont montré que la sFCS en géométrie confocale (par excitation à 1 ou 2 photons) pouvait être mise en œuvre pour mesurer un flux de molécules. Cependant, ces expériences novatrices utilisaient des séparateurs de faisceaux par polarisation ou des prismes de Wollaston, pour scinder en deux, orienter et réunir les deux faisceaux lasers, quasi-parallèles, focalisés au foyer de l'objectif. Ceci rendait le réglage de l'écart, entre les deux volumes d'observation, pénible à réaliser. Des composants passifs, appelés Passive Diffractive Optical Elements (DOE) ont également été utilisés pour produire des faisceaux gaussiens d'un diamètre submicronique et réaliser ainsi des expériences de FCS et de sFCS [4, 5]. Cependant ces expériences manquaient également de souplesse, car chaque DOE est fabriqué une fois pour toute par lithographie à faisceau d'électrons. Néanmoins, récemment, les modulateurs spatiaux de lumière (Spatial Light Modulators ou SLM) sont devenus commercialement disponibles pour des applications en microscopie (essentiellement pour les pinces optiques), ouvrant ainsi de nouvelles possibilités, puisque ces dispositifs permettent de contrôler et d'optimiser la géométrie de l'illumination laser, en fonction du processus moléculaire que l'on veut étudier (transport passif ou actif, perméabilité à travers une membrane, etc.). Afin de tester les potentialités offertes par le fait de combiner un SLM avec la technique sFCS, nous avons réalisé des mesures locales de deux types de transport moléculaire : le transport actif caractérisé par une vitesse de flux et le transport passif avec la perméabilité à travers une membrane. Dans les deux cas, le SLM était utilisé sous la forme d'un réseau de phase 1D, produisant ainsi deux spots lasers, décalés l'un par rapport à l'autre d'une distance contrôlée.

2. Mesures de la vitesse d'un flux



Fig. 2 : mesure d'un flux par sFCS, (distance entre spots = $1,4 \mu m$)

Dans le cas du transport actif, la sFCS a été utilisée pour mesurer un flux de vitesse V entre deux spots lasers (Fig. 1), produits par un SLM. On espère ainsi mettre en évidence le temps, τ , mis par les molécules pour passer d'un volume à l'autre. Ceci se vérifie facilement en calculant la fonction de corrélation croisée des signaux provenant des deux volumes (Fig. 2). En effet, cette fonction possède un maximum bien prononcé au temps $\tau = R/V$.

^{*} Auteur à contacter : adelon@ujf-grenoble.fr - Tel : 04 76 63 58 01

3. Evaluation de la perméabilité

Une autre application intéressante de la sFCS concerne la mesure de la perméabilité, par exemple à travers une membrane, comme montré sur la Fig. 3. Nous avons ainsi pu mettre en évidence que les membranes phospholipidiques des vésicules géantes, étaient perméables aux molécules hydrophobes, générant ainsi une fonction de corrélation croisée présentant une bosse correspondant aux flux moléculaire à travers la membrane (graphe de droite). Inversement, pour des molécules hydrophiles, on n'observe aucune corrélation croisée, parce que ces molécules ne franchissent pas la membrane (graphe de gauche).



Fig. 3 : évaluation de la perméabilité par sFCS, de la membrane d'une vésicule géante ; les deux spots sont placés, soient complètement en solution (courbes rouges), soit de part et d'autre de la membrane (courbes vertes)

4. Conclusion

Ces expériences constituent donc la démonstration de principe selon laquelle il est possible de mesurer localement, par microscopie optique et au niveau de la molécule unique, des paramètres de transport, par exemple une vitesse pour un transport actif et une perméabilité pour un transport passif (ces mesures pouvant être étendues à d'autres types de transport). Plus généralement nous pensons que ce type de technique, combinant un SLM et des détecteurs ponctuels est efficace tant que le nombre détecteurs (c'est-à-dire de points d'observation) est limités à deux. Au delà, il faut utiliser des matrices de détecteurs, comme les CCD, comme cela a déjà été démontré [6].

5. Références

[1] Brinkmeier, M., K. Dörre, J. Stephan, and M. Eigen. *Two beam cross-correlation: a method to characterize transport phenomena in Micrometer-sized structures.* Anal. Chem. **71** (1999)609–616.

[2] Dittrich P., and P. Schwille. Spatial two-photon fluorescence cross-correlation spectroscopy for controlling molecular transport in microfluidic structures. Anal. Chem. **74** (2002) 4472–4479.

[3] Lumma, D., A. Best, A. Gansen, F. Feuillebois, J. O. Rädler, and O. I. Vinogradova. *Flow profile near a wall measured by double-focus fluorescence cross-correlation*. Phys. Rev E **67** (2003) 056313-1–056313-10

[4] Blom, H., M. Johansson, A.-S. Hedman, L. Lundberg, A. Hanning, Sverker Hård, and Rudolf Rigler. *Parallel fluorescence detection of single biomolecules in microarrays by a diffractive-optical-designed 2×2 fanout element*, App. Opt. **41** (2002) 3336-3342.

[5] Blom, H., M. Johansson, M. Gösch, T. Sigmundsson, J. Holm, S. Hård, and R. Rigler. *Parallel flow measurements in microstructures by use of a multifocal* 4×1 *diffractive optical fan-out element.* App. Opt. **41** (2002) 6614-6620.

[6] Burkhardt, M., and P. Schwille. *Electron multiplying CCD based detection for spatially resolved fluorescence correlation spectroscopy*. Opt. Exp. **14** (2006) 5013-5020.

Applications of micro-diffraction to the study of fibres

Christian Riekel

European Synchrotron radiation facility, B.P. 220, F-38043 Grenoble Cedex

Résumé – The talk will discuss recent developments of micro- and nanodiffraction at the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF). X-ray beam sizes available for user experiments range currently from 5 microns to about 300 nm. Beam sizes down to about 30 nm can be expected in the future. Examples for instrumentation, sample environments and applications will be given. The scientific examples will be taken mostly from the area of fibrous polysaccharides such as starch and cotton.

1. Introduction

The talk will review progress in instrumentation and scientific applications leading to routine use of synchrotron radiation micro- and nanobeams for SAXS/WAXS experiments.[1] The ESRF-ID13 beamline has been developing these techniques since the onset of operation of the ESRF in 1994 with an emphasis on polymeric and biological samples. At the current stage, beam sizes between 5 microns and 300 nm are routinely available for user experiments. A dedicated end station for nanobeam experiments has been commissioned beginning of 2007 and a beam size of less than 90 nm has been demonstrated for user experiments. It is expected that focal spot sizes of about 30 nm will be attainable. I will provide some examples for the main X-ray optical systems used, which are mirrors, refractive lenses and Fresnel lenses. I will also show progress in the development of sample environments and in particular approaches taken for developing a goniometer for nanobeam scanning diffractometry.

Scientific applications of micro- and nanobeams range from scanning diffraction on heterogeneous materials to single crystal diffraction.[1,2] I will show a number of examples for fibrous biopolymers such as polysaccharides. Thus the local structure of starch granules has been studied by groups from CERMAV and INRA-Nantes.[3] These studies have been recently extended to the high-pressure gelatinisation of single starch granules. In a complimentary study the unit cell of A-type amylose has been refined.[4] The atomic structure of A-amylose is thus accessible to single crystal diffraction techniques.

X-ray micro- and nanobeams allow the development of special sample environments and sample manipulation techniques for in-situ studies such as microfluidics. An example for the use of inkjet systems is the reaction of a single cotton fibre with aequous NaOH microdrops. Microdrop diameters in the range of a few 10th of microns allow inducing a highly local reaction.

- [1] Riekel, C., New Avenues in X-ray microbeam experiments. Rep. Prog. Phys., 2000. 63: p. 233-262.
- [2] Riekel, C., M. Burghammer, and G. Schertler, *Protein crystallography microdiffraction*. Current Opinion in Structural Biology, 2005. **15**(5): p. 556-562.
- [3] Buléon, A., et al., Crystalline Ultrastructure of Starch Granules Revealed by Synchrotron Radiation Microdiffraction Mapping. Macromolecules, 1997. **30**(13): p. 3952-3954.
- [4] Popov, D., et al., A-Amylose Single Crystals: Unit Cell Refinement from Synchrotron Radiation Microdiffraction Data. Macromolecules, 2006. **39**(10): p. 3704-3706.

X-ray microscopy and biological applications

E. Pereiro-López^{a*}, M. Howells^a, S. Ferrer^a

^a Alba Synchrotron Light Source, Ed. Cièncias nord mòdul C3 central, UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain

Abstract – Improvements in X-ray microscopy instrumentation, automation and new generation of cryo sample stages are opening the door to biological applications. The complementary character of X-ray microscopy with regards to confocal and electron microscopy can make of this technique a useful tool to address a certain number of biological problems. However, it is mandatory a combined effort between the X-ray physics and biological communities.

1. Introduction

After a half century of development, X-ray microscopy (XRM) has cleared a technological path to complement light and electron microscopies (EM) in the biological area. Its combination of resolution, penetrating power, analytical sensitivity, compatibility with wet specimens and the ease of image interpretation has turn it into a useful tool also for imaging frozen hydrated biological specimens similarly to transmission electron microscopy.

Transmission X-ray microscopes (TXM) specialize in the rapid acquisition of 2D images and in the collection of tilt sequences of projections for tomography reconstruction using high flux. Scanning transmission X-ray microscopes (STXM) focus on the acquisition of reduced dose images and point spectra with high energy resolution for elemental and chemical mapping thanks to the high brightness of synchrotron radiation sources.

Modern XRM is based on two key points: 1) the water window energy range, between the inner-shell absorption edges of carbon and oxygen where water layers up to 10 μ m can be penetrated whereas organic cell structures are visualized with good absorption contrast, and 2) microfabricated zone plate lenses, which are used as condensing and objective lenses. In addition to the water window, it is worth mentioning that the 1.5-3.0 keV region, giving less absorption and more phase contrast, is interesting as well to overcome limiting factors intrinsic to the use of zone plates in TXM (*i.e.* the depth of focus and the focal length).

Early TXM and STXM were capable of 2D imaging of wet samples at room temperature, which fit the needs of polymer and environmental sciences, for example. But a mandatory requirement for biological applications is that imaging has to be performed below the critical level for radiation damage. Estimations of the radiation dose required to image 20-nm-thick protein features in various ice thicknesses as a function of the X-ray energy are shown in Figure 1 [1]. The critical dose for imaging frozen hydrated biological material at typical XRM resolution is about 10⁹ Gray.



Figure 1- Radiation dose calculated for minimal exposure (S:N=5:1) of 20 nm protein structures in different ice thicknesses for amplitude and phase contrast in function of the X-ray energy; 100% efficient optics and detectors are assumed.

Until the use of cryogenic temperatures to avoid mass loss, tomography of biological samples was therefore not possible. Nowadays, utilizing the improvements in cryo sample stages achieved by the EM community, XRM can fill the gap between light and electron microscopies in spatial resolution and sample thicknesses.

^{*} Corresponding author: epereiro@cells.es – Tel: + 34 93 592 43 76

2. First examples of biological applications

The scientific breakthrough in biology using X-ray microscopy has not yet occurred, but the instrumentation to make it possible is now coming into existence. It has been proven that TXM can give insight into the internal structure of whole cells as specimens can be imaged in their natural hydrated state without using stains and sectioning methods, and with reasonable spatial resolution. 2D images at 35 nm of spatial resolution were obtained in 1998 by G. Schneider [2], among others, and cryo 3D reconstructions of yeasts and bacteria at 60 nm were achieved by C. A Larabell *et al.* [3] supporting in 2004 the "proof of concept" of this novel technique.

New TXMs with cryo sample stages are right now under construction or commissioning, with performance and automation that would allow collecting a complete data set for tomography in several minutes at significant improved resolution (around 30 nm) and biological significant statistical numbers.

In addition, efforts in the manufacture of zone plates with smaller outer-most zone width, determining the spatial resolution, have been promising. Indeed, 15 nm was reached in 2005 by Chao *et al.* [4]. However, as a new technique in the biology area, the development of new labels that can be visualized by absorption contrast to target specific cell sites will be mandatory as it was for confocal and electron microscopies.

3. Conclusions

X-ray microscopy for biological applications has now overcome the step of "proof of concept". Combined efforts of the X-ray physics and biological communities have to continue so that this novel technique can become a useful tool, complementary to confocal imaging and transmission electron microscopy. The number and type of biological problems that can be addressed with X-ray tomography is expanding, among them structural studies, and localization of subcellular components in cellular events. Overall, X-ray microscopy is coming of age.

4. References

- [1] M. Howells, C. Jacobsen & T. Warwick, *Principles and applications of zone plate X-ray microscopes*, *Science of Miscrocopy*, Eds. Peter W. Hawkes & John C.H. Spence, XXXVI, Berlin, Springer (2007)
- [2] G. Schneider, Cryo X-ray microscopy of high spatial resolution in absorption & phase contrast, Ultramicroscopy **75** (1998) 85-104
- [3] C.A. Larabell & M.A. Le Gros, X-ray tomography generates 3D reconstruction of the yeast, Saccharomyces cerevisiae, at 60 nm resolution, Mol. Biol. of the Cell 15, (2004) 957-962
- [4] W. Chao, B.D. Harteneck, J.A. Liddle, E.H. Anderson & D. Attwood, Soft X-ray microscopy at spatial resolution better than 15 nm, Nature 435, (2005) 1210-1213

Les nouveaux développements en micro-spectroscopie infrarouge utilisant le rayonnement synchrotron

Marine Cotte^{a, b*}, Jean Susini^b, Paul Dumas^c

^a C2RMF - UMR171, Palais du Louvre, Porte des Lions, 14 quai F. Mitterrand, 75001 Paris ^b ID21, ESRF, BP 220, 38043 Grenoble Cedex ^c SMIS, SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint-Aubin, BP 48, 91192 GIF-sur-YVETTE CEDEX

Résumé – La micro-spectroscopie FTIR (Fourier Transform Infrared) utilisant le rayonnement synchrotron est une technique d'imagerie moléculaire à haute résolution latérale en plein extension. Elle offre la possibilité d'obtenir des cartographies de groupes moléculaires et parfois de leur organisation supramoléculaire sur des composés variés (organiques et/ou minéraux) avec une résolution spatiale qui n'est limité que par la limite de diffraction. Des études dans le domaine de la pharmacie, de la biologie ou des matériaux archéologiques seront présentées.

1. Introduction

La plupart des méthodes d'imagerie utilisant le rayonnement synchrotron emploie comme sonde les rayons X, plus ou moins durs selon les cas. Cependant, l'étendue spectrale du rayonnement synchrotron est suffisamment large pour fournir également une source brillante dans le domaine des infrarouges. C'est cette caractéristique qui a motivé le développement de la micro-spectroscopie FTIR (Fourier Transform Infrared) couplée au rayonnement synchrotron. La micro-spectroscopie FTIR est une technique relativement classique qui combine les avantages de la microscopie (visualisation de l'échantillon et de la zone à analyser, cartographie) aux avantages de la spectroscopie infrarouge (analyse moléculaire et structurale). L'acquisition de spectres infrarouges sur une zone bidimensionnelle permet de générer des images chimiques qui correspondent à la distribution spatiale des groupes moléculaires. L'avantage du rayonnement synchrotron réside dans sa luminance¹. Même si le flux de photons total émis par un corps noir (type Globar) est plus élevé que celui produit par une source synchrotron, la luminance ou brillance (flux par unité de surface et unité d'angle solide) obtenue avec un synchrotron est bien supérieure (d'un facteur 10³) à celui d'une source classique, du fait de la très faible divergence angulaire du faisceau. Le rayonnement synchrotron permet donc de diaphragmer le faisceau et d'obtenir ainsi une résolution spatiale limitée par la diffraction ($\lambda/2$) et non plus par le flux tout en conservant un bon rapport signal sur bruit (Fig.1).



Figure 1 – Intensité de l'interférogramme (V) avec une source synchrotron et une source Globar pour différentes ouvertures.

2. Exemples d'application

Les domaines d'application sont très variés du fait de la diversité des matériaux qui peuvent être étudiés par microscopie infrarouge. Cette variété est elle-même corrélée à la grande gamme de groupements moléculaires excités dans le domaine des infrarouges moyens (4000-500cm⁻¹). En effet, la plupart des groupements à base de C,H,O,N,S ont des fréquences de vibrations dans ce domaine, ce qui fait de la spectroscopie FTIR une technique de choix pour l'analyse d'échantillons organiques (biologie, pharmacie, médecine, polymère ...). Elle permet non seulement la caractérisation de groupes moléculaires mais peut aussi donner des informations sur l'arrangement de ces groupes à plus grande distance (liaison hydrogène, structure secondaire des protéines...) Cette technique s'étend aussi à l'étude de certains minéraux, et peut même permettre de distinguer différentes phases du même

^{*} Auteur à contacter : cotte@esrf.fr – Tel : 01 40 20 57 59

composé. C'est a fortiori une technique idéale pour l'étude de matériaux hybrides (biominéralisation, peintures...). Divers exemples seront présentés, illustrant cette diversité d'application et d'information : diffusion de composés à travers la peau², caractérisation de micro-billes de chitosane –polyéthylène oxyde³, phénomènes de dégradation dans des cheveux et des peaux de momies⁴, analyse de cellules humaines tumorales⁵.

La spécifité du microscope FTIR construit sur la ligne de lumière ID21 à l'ESRF est sa proximité avec les microscopes X: la combinaison des techniques Xinfrarouge y est donc fortement favorisée. Des exemples d'études croisées, alliant les caractérisations atomiques et moléculaires, seront présentés.

- [1] P. Dumas et L. Miller, *The use of synchrotron infrared micro spectroscopy in biological and biomedical investigations*, Vib. Spec., **32**, (2003) 3-21
- [2] M. Cotte, P. Dumas, M. Besnard, P. Tchoreloff et Ph. Walter, Synchrotron FT-IR microscopic study of chemical enhancers in transdermal drug delivery: example of fatty acids, J. Contr. Release, 97, (2004) 269-281
- [3] L. Martinez, F. Agnely, J. Siepmann, B. Ieclerc, M. Cotte, S. Geiger et G. Couarraze, *Cross-linking of chitosan and chitosan/poly(ethylene oxide) beads: A theoretical treatment*, J. Contr. Release, (2007), in press.
- [4] M. Cotte, Ph. Walter, G. Tsoucaris et P. Dumas, Studying skin of an Egyptian mummy by infrared microscopy, Vib. Spec., 38, (2005) 159-167
- [5] P. Dumas, G. D. Sockalingum et J. Sulé-Suso Adding synchrotron radiation to infrared microspectroscopy: what's new in biomedical applications? Trends in Biotechnology, **25** (1), (2007), 40-44

Caractérisation 3D de la microstructure d'absorption et cristalline dans les matériaux polycristallins par tomographie en contraste de diffraction

Wolfgang Ludwig^{a,c1}, Andrew King^b, Greg Johnson^b, Marcelo Gonzalves-Hoennicke^c, Peter Reischig^c, J.Y. Buffière^a, H.F. Poulsen^d

^a Laboratoire MATEIS, UMR5510 CNRS, INSA-Lyon, 25 av. Jean Capelle, 69621 Villeurbanne, France

^b University of Manchester, UK

^c European Synchrotron Radiation Facility, BP 220, 38043 Grenoble, Cedex

^dCentre for fundamental research "Metal structures in 4D", Risoe National Laboratory, Roskilde, Denmark

Résumé - La microtomographie par contraste de diffraction (DCT) [1,2] est une nouvelle technique d'imagerie synchrotron permettant de visualiser *simultanément* la microstructure d'absorption et la microstructure cristalline d'un matériau polycristallin. Réunissant les principes de la microtomographie en contraste d' absorption et de la microscopie tridimensionnelle par diffraction X (3DXRD) [3], cette nouvelle technique permet d'étudier des phénomènes dynamiques au sein des matériaux opaques. Les possibilités et les limites de cette approche seront discutées et, comme exemple d'application, les premiers résultats d'une étude récente, portant sur la corrosion sous contrainte dans un acier inoxydable seront présentés.

Introduction

La caractérisation d'un matériau polycristallin en terme de forme tridimensionnelle et orientation cristallographique de grains est un enjeu majeur en caractérisation non destructive. Actuellement deux approches existent: (i) la microscopie tridimensionnelle par diffraction X (3DXRD) [1], une technique de rotation, basé sur un faisceau monochromatique et (ii) une technique de balayage 3D appelée " 3D crystal microscope" [2], basée sur la diffraction Laue en faisceau blanc. Si la première technique permet d'effectuer des mesures (forme 3D, orientation, contrainte moyenne par grain) in-situ d'un volume millimétrique avec une résolution spatiale de l'ordre de 5-10 μ m, la deuxième permet de caractériser (forme 3D, orientation, contrainte locale) un volume réduit (quelque dizaines de μ m) avec une résolution spatiale de l'ordre de 1 μ m. Cependant, aucune de ces deux techniques permet de visualiser la microstructure visible en contraste d'absorption. Cette dernière information peut être fournie par une mesure complémentaire en microtomographie X [3].

Nous avons récemment développe une nouvelle technique d'imagerie X, base a la fois sur la diffraction et sur l' imagerie en absorption, réunissant ainsi les principes de 3DXRD et de la microtomographie. Cette technique, appelée tomographie par contraste de diffraction (DCT) [3,4], s'applique à des matériaux mono ou multiphases, contenant de grains avec une mosaicité cristalline inférieure a quelques dixièmes de degrés. Moyennant un seul scan tomographique, elle fournit, de manière non destructive, l'image tridimensionnelle de la microstructure complète en terme de absorption (différent phases, défauts etc), de l'orientation et de la forme tridimensionnelle des grains.

Principe

Lors d'un scan tomographique, les grains cristallographiques vont de temps en temps, au cours de la rotation, remplir la condition de Bragg pour différentes réflexions. Pour chacun de ces événements, on peut accéder à deux types de clichés, 1) une tache de diffraction, correspondant à une projection sous un angle oblique, et 2) une tache d'extinction (intensité manquante) dans le faisceau transmis (Fig 1).



Figure 1 – Principe de la tomographie en contraste de diffraction

¹ Auteur à contacter : wolfgang.ludwig@insa-lyon.fr – Tel : 04 76 88 29 73

© Collogue SFµ-2007 – Grenoble – 5-8 juin 2007



Figure 2 –a) Coupe montrant la microstructure cristalline reconstruite par DCT dans un echantillon d'acier inoxydable b) rendu 3D de la microstructure cristalline (DCT) et de la fissure produite par corrosion sous contrainte dans le meme echantillon (gris, microtomographie en contrate de phase)

Une procédure automatique de traitement d'image permet d'isoler les taches de diffraction et d'extraire des paramètres tels que la position, forme et intensité de toutes les taches enregistrées au cour d'un scan tomographique (plusieurs dizaines de milliers de taches). Apres avoir fait l'appariement avec les clichés d'extinction conjuguées, les taches doivent être triées selon leur grain d'origine. Dans le cas des métaux à structure cubique à faces centrées, on arrive typiquement à identifier quelque dizaines de réflexions par grain. La connaissance des angles de diffraction, permet d'identifier l'orientation cristallographique de chaque grain. Ensuite, la forme tridimensionnelle des grains est reconstruite en utilisant des algorithmes de reconstruction algébriques (ART), bien adaptés au cas d'un nombre de projections réduit. Cette procédure est répétée pour chaque grain indépendamment. En associant une couleur à chaque grain en fonction de son orientation, on arrive ainsi a une représentation tridimensionnelle de l'agglomérat polycristallin (Fig 2b). Comme on acquiert en même temps l'information nécessaire pour reconstruire la microstructure d'absorption, on peut aisément combiner les deux représentations: cristallographie et absorption.

Limitations et Applications

La facilité à segmenter et apparier les taches d'extinction décroît fortement si la mosaicité cristalline augmente ou si la taille de grains devient trop petite et/ou le nombre de grains trop important. Il n'est donc actuellement pas possible de caractériser des alliages industriels qui ont subi un traitement thermomécanique conduisant à une déformation plastique ou à une taille de grains trop petite par rapport à la résolution du dispositif (donner un ordre de grandeur ?).

Comme exemple d'application nous présentons les premiers résultats d'une étude portant sur la corrosion sous contrainte dans un acier inoxydable (Fig2). L'expérience se décompose en deux étapes: (i) la caractérisation de la microstructure par DCT dans l'état initial et (ii) le suivi *in-situ* de la corrosion sous contrainte dans un dispositif spécial, par microtomographie en contraste de phase. L'analyse de ces deux jeux de données complémentaires (DCT et microtomographie) permet de classifier les joints de grains suivis par la fissure en fonction de leur caractère (faible désorientation, CSL, Sigma) et de confronter les observations expérimentales aux modèles existants.

Conclusion

La tomographie en contraste de diffraction permet de caractériser simultanément la microstructure visible par tomographie en contraste d'absorption et la microstructure cristalline (forme et orientation des grains) d'un matériau polycristallin. La méthode s'applique à des polycristaux avec une taille de grains supérieure à 20 μ m et avec une faible mosaicité cristalline (< 0.5°), tel qu'on peut en trouver dans les microstructures de recristallisation ou de solidification. La possibilité d'associer des observations in-situ par microtomographie ouvre de nombreuses possibilités en terme de caractérisation non destructive et analyse quantitative de phénomènes tel que la corrosion sous contrainte et la propagation des fissures de fatigue.

- [1] H.F. Poulsen, 3D X-ray diffraction microscopy, Springer tracts in modern Physics (2004)
- [2] G.E. Ice, B.C. Larson, W. Yang, J.D. Budai, J.Z. Tischler, J.W.L. Pang, R.I. Barabash, W. Liu, *Polychromatic X-ray microdiffraction studies of mesoscale structure and dynamics*, J.Synchr, Rad., **12**, (2005), 155-162.
- [3] W. Ludwig, S. Schmidt, E.M. Lauridsen, H.F. Poulsen, *Diffraction contrast tomography: a novel technique for 3D grain mapping in polycrystals. Part I: direct beam case*, J. Appl. Cryst., submitted
- [4] G. Johnson, A. King, M. Gonzalves-Hoennicke, W. Ludwig, *Diffraction contrast tomography: a novel technique for 3D grain mapping in polycrystals. Part II: the combined case*, J. Appl. Cryst., submitted

Les grains d'amidon géants de l'orchidée Phajus grandifolius

Danielle Dupeyre^{a,1}, Henri Chanzy^a, Jean-Luc Putaux^a, Richard Davies^b, Manfred Burghammer^b, Suzelei Montanari^a, Christian Riekel^b

^a Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, ICMG-CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9. ^b European Synchrotron Radiation Facility, BP 220, 38043 Grenoble Cedex.

Résumé – La structure et la morphologie des grains d'amidon géants de l'orchidée *Phajus grandifolius* ont été étudiées à l'aide de plusieurs techniques de microscopie photonique et électronique ainsi que par microdiffraction utilisant le rayonnement synchrotron. La plupart des grains sont de forme ogivale et ont des dimensions allant de 50 à 200 μ m. Cependant, un petit pourcentage de ces grains possèdent en plus une protubérance trapézoïdale qui se développe orthogonalement à leur surface. L'analyse structurale a permis de déterminer l'orientation locale des molécules d'amylopectine, tant dans les grains ogivaux que dans ceux présentant une protubérance.

1. Introduction

Bien que l'on sache depuis longtemps que l'amidon est semi-cristallin, la détermination de son ultrastructure est un sujet qui ne progresse que lentement du fait de la taille très réduite des grains d'amidon. En effet, l'étude de ces grains par des techniques classiques de diffraction des rayons X se résume en général à l'enregistrement de clichés de poudre dont l'interprétation est difficile, voire impossible. Pour aller plus loin, il est nécessaire de disposer d'une source de rayons X de taille bien inférieure au diamètre des grains d'amidon, de façon à pouvoir enregistrer localement des clichés de diffraction orientés. C'est dans ce contexte que nous avons entrepris une étude morphologique et structurale des grains d'amidon géants de l'orchidée *Phajus grandifolius* qui, à notre connaissance, figurent parmi les grains d'amidon les plus grands connus à ce jour. En plus d'informations morphologiques obtenues par des techniques de microscopie, nous avons établi des cartes de diffraction de grains individuels en les balayant par un micro-faisceau de rayonnement synchrotron. Comme nous le montrons dans cette présentation qui fait suite à une publication récente [1], ces données ont permis de progresser dans la compréhension de l'ultrastructure cristalline de ces grains à la forme si particulière.

2. Partie expérimentale

Des pseudo-bulbes de *P. grandifolius* en provenance du Brésil ont été pulvérisés puis tamisés et lavés par centrifugations successives, de façon à obtenir une suspension de grains d'amidon. Certains grains ont été analysés sans traitement supplémentaire tandis que d'autres ont été partiellement digérés par une préparation d'α-amylase de suc pancréatique de porc. Les grains ont été observés (i) par microscopie électronique à balayage (MEB) en mode électrons secondaires, à l'aide d'un microscope JEOL JEM6100, (ii) par microscopie photonique en lumière polarisée à l'aide d'un microscope Zeiss Axiophot II et (iii) par microscopie confocale à balayage, à l'aide d'un appareil Leica TCs SP2 opérant sous faisceau laser He/Ne, les échantillons ayant été au préalable colorés par la rhodamine.

Des grains individuels en suspension dans une solution aqueuse de polyéthylène glycol ont été pêchés à l'aide d'un anneau de nylon, puis congelés rapidement avant d'être placés dans le faisceau de la ligne ID13 de l'ESRF de Grenoble. La carte de diffraction de ces grains a ensuite été enregistrée à 90 K, à l'aide d'un faisceau de rayons X de 5 μ m de diamètre, balayant successivement tout le grain avec un pas de 5 μ m.

3. Résultats

La plupart des grains d'amidon de *P. grandifolius* ont une forme allongée et en ogive, avec, d'un côté, une extrémité pointue et de l'autre une extrémité aplatie (Figure 1a-2). La longueur des grains varie de 50 à 200 µm. Un petit pourcentage d'entre eux présentent une protubérance trapézoïdale inhabituelle, perpendiculaire à la surface du grain principal (Figures 1a-1, 1b et 1c). Les anneaux de croissance, correspondant à l'alternance de couches amorphes et semi-cristallines de l'amidon, sont fortement incurvées voire même fermées près de l'extrémité pointue où se situe le hile, point de départ de la synthèse du grain. Par contre, au niveau de l'extrémité aplatie ou de l'excroissance, leur courbure est extrêmement faible (Figures 1b et 1c). La transition entre un grain et sa protubérance laisse penser que cette dernière apparaît à un certain stade du développement. Vue debout, l'extrémité aplatie présente une fente (Figure 1a-2) indiquant que les grains sont sans doute constitués de deux "lobes" résultant d'un mode particulier de biosynthèse. Parmi les anneaux de croissance, les couches amorphes sont les cibles préférentielles de l'attaque enzymatique, ce qui permet de mettre en évidence la morphologie interne des grains, après cryo-broyage dans l'azote liquide.

¹ Auteur à contacter : dupeyre@cermav.cnrs.fr – Tél. : 04 76 03 76 06



Figure 1 – Grains d'amidon natifs extraits d'un pseudo-bulbe de l'orchidée P. grandifolius : a-1) image au MEB d'un grain pourvu d' une excroissance caractéristique ; a-2) grain ogival montrant son extrémité aplatie pourvue d'une fente ; b) image de microscopie photonique en lumière polarisée d'un grain possédant une protubérance. On distingue des striations correspondant aux anneaux de croissance. c) image de microscopie confocale à balayage laser montrant l'organisation des anneaux de croissance à l'intérieur de grains ogivaux ou avec une excroissance.

A la suite des études réalisées sur des grains d'amidon de pomme de terre et de pois lisse [2] et grâce à leur grande taille, des grains individuels de *P. grandifolius* ont été sélectionnés et analysés par micro-diffraction en balayage. La carte de diffraction reconstituée d'un grain ogival, telle que celle présentée Figure 2a, comporte plus de 300 clichés, enregistrés tous les 5 μ m (Figure 2b). Dans chaque cliché, seule la réflexion 100 à 1.58 nm, correspondant à la distance inter-hélicale des segments linéaires d'amylopectine cristallisés sous forme B, a été prise en compte pour évaluer l'orientation des molécules d'amylopectine dans les différentes zones du grain (Figure 2c). La cartographie obtenue montre que ces molécules sont uniformément orientées dans un axe allant du hile à l'extrémité opposée. Ainsi, en fonction de la courbure des anneaux de croissance, l'orientation devient de plus en plus parfaite en s'éloignant du hile vers l'extrémité aplatie du grain. Par contre, dans la protubérance, les molécules d'amylopectine est également la meilleure. Cette observation avait permis à Kreger d'enregistrer les premiers clichés de diffraction des rayons X orientés de grains d'amidons individuels [3]. Notre étude a confirmé ses observations mais l'utilisation du rayonnement synchrotron a permis d'enregistrer en grand nombre des clichés de diffraction de qualité supérieure.



Figure 2 – a) Grain d'amidon de P. grandifolius observé par microscopie optique en lumière polarisée ; b) Image composite formée de clichés de microdiffraction des rayons X enregistrés sur la ligne ID13 de l'ESRF en balayant un faisceau de 5 μm de diamètre avec un pas de déplacement de 5 μm ; c) agrandissement de la colonne de 5 clichés de microdiffraction encadrée en b. La résolution de ces clichés est limitée à 1.5 nm.

- H. Chanzy, J.L. Putaux, D. Dupeyre, R. Davies, M. Burghammer, S. Montanari et C. Riekel, Morphological and structural aspects of the giant starch granules from Phajus grandifolius, J. Struct. Biol. 154 (2006) 100-110
- [2] A. Buléon, B. Pontoire, C. Riekel, H. Chanzy, W. Helbert et R. Vuong, *Crystalline ultrastructure of starch granules revealed by synchrotron radiation microdiffraction mapping*, Macromolecules **30** (1997) 3952-3954.
- [3] D.R. Kreger, *The configuration and packing of the chain molecules of native starch as derived from X-ray diffraction of part of a single starch grain*. Biochim. Biophys. Acta **6** (1951) 406-425.

Elastic strain measurement from analysis of EBSD patterns

D. J. Dingley^a **A. J. Wilkinson**^b and **G. Meaden**^c

^a TSL Utah USA and Bristol University ^b Material Department University of Oxford ^c BLG Productions, Bristol UK

It has been shown that by comparing an EBSD pattern from a strained crystal with one from an unstrained crystal it is possible to measure the differential shifts of each zone in the pattern from the strained crystal with a precision of + 1 part in 10000. This is of sufficient precision to make meaningful measurement of residual elastic strain in the sample. By measuring the displacements of four or more zone axes then the displacement tensor can be extracted and subsequently the strain tensor and rigid body rotation matrix.

Examination of the strain distribution around a crack in Ge has confirmed both the precision and accuracy of the method. The technique has been used in the investigation of strain about cracks in fatigued Ni based alloys and in thin films of SiGe on Si.

Cartographie des orientations cristallographiques sur Microscopes Electroniques en Transmission

Edgar RAUCH

Science et Ingénierie des Matériaux et Procédés - Equipe GPM2 ENSPG, BP 46 38402 Saint Martin d'Hères, France

Les performances, l'efficacité mais également la facilité d'utilisation d'un microscope électronique en transmission peuvent être démultipliées en couplant ce dernier à un ordinateur indépendant. C'est cette idée simple qui est à la base du développement de l'outil de mesure des textures locales ACOM/TEM¹, que l'on se propose de décrire.

Dans son principe, la méthode s'apparente aux mesures des textures locales par EBSP (Electron Back-Scattered Pattern) en microscopie électronique à balayage (MEB). Il s'agit de déterminer point par point l'orientation cristalline du matériau afin de reconstruire les joints de grains, de mesurer les désorientations locales et de caractériser la texture cristallographique. L'utilisation d'un microscope électronique en transmission (MET) permet, d'une part, d'étendre ces travaux à des objets nanométriques et, d'autre part, d'associer les cartographies d'orientations cristallographiques résultantes aux observations par microscopie en transmission conventionnelle des structures internes (phases, sous-structures de dislocations, précipités, etc). L'outil fait appel à un logiciel d'indexation automatique des diagrammes de diffraction. Cette identification possibles pour un matériau et des conditions d'observation donnés et à mesurer leur degré de conformité avec le diagramme enregistré par une simple procédure d'identification d'images. D'un point de vue pratique, chaque diagramme de diffraction est numérisé à l'aide d'une caméra CCD via une carte de capture d'images et comparé pixel par pixel avec la série de modèles théoriques pré-calculés.

Pour une caractérisation complète de la zone observée, il est nécessaire de balayer l'aire considérée avec le faisceau électronique nanométrique, d'acquérir en chaque point le diagramme de diffraction et de l'analyser avec le logiciel dédié. Le balayage de la zone est assuré en connectant les bobines déflectrices à une carte D/A contrôlée par le logiciel de commande suivant un schéma sensiblement identique aux accessoires EBSP pour MEB.

Cet outil a été initialement développé pour répondre au problème de caractérisation fine des matériaux hyper-déformés. Ces derniers présentant de fortes contraintes internes, il est apparu préférable d'analyser le réseau de points plutôt que les lignes de Kikuchi pour reconnaître les orientations cristallographiques. L'outil résultant s'avère avoir un fort potentiel pour quasiment toutes les études qui nécessitent l'utilisation du microscope électronique en transmission. La technique particulière de reconnaissance des orientations par corrélation d'images permet d'extraire l'orientation du volume considéré même lorsqu'il y a superposition de plusieurs diagrammes de diffraction. En conséquence, cette démarche est particulièrement adaptée à l'étude des matériaux nanocristallisés qui donnent fréquemment lieu à des diagrammes combinés.

On s'attachera dans cette présentation à discuter les performances de cet accessoire, à savoir les vitesses d'acquisition et de traitement des données (> 20 img/s), la résolution spatiale (conditionnée par la taille du faisceau) et la résolution angulaire (<1°). Les diagrammes de diffractions et plus spécifiquement les réseaux de taches de Bragg sont sensibles à l'ambiguïté dite de 180°. Les stratégies utilisées ou en cours de développement pour réduire cette ambiguïté seront détaillées.

¹ Automated crystal orientation mapping on TEM

Determination of local elastic strains by EBSD techniques

S. Villert^{a,b}, C. Maurice^a, C. Wyon^{b,c}, R. Fortunier^{a*}

^a Centre SMS, Ecole des Mines, 158 cours Fauriel, 42023 Saint-Etienne cedex 02, France
^b CEA-DRT-LETI, 17 Avenue des Martyrs, 38054 Grenoble cedex 9, France
^c ST Microelectronics, 860 rue Jean Monnet, 38920 - CROLLES

Résumé – Local elastic strains can be derived from EBSD diagrams by using two approaches based on image processing and minimisation procedures. The "pattern shift" method is based on the cross-correlation of two diagrams, whereas the "3D Hough" method gives an accurate analysis of a unique diagram. Both methods are briefly described.

1. Introduction

Electron Back Scattering Diffraction (EBSD) is now commonly used to analyse local crystallographic orientations in metals and alloys. The spatial resolution is the main advantage of this method. Crystallographic texture maps can be drawn with a spatial resolution better than 50 nanometres. Since this technique is basically derived from the Bragg law, it became natural to apply it to the determination of local elastic strains. This has been done first by Troost [1], who has developed the "pattern shift" method. According to this method, relative elastic strains and spin can be derived by correlating two EBSD diagrams [2, 3]. More recently, a new method has been developed to determine the absolute values of the elastic strains from a unique EBSD diagram. This method is now known as the "3D Hough" method [4]. This paper gives recent results obtained by both methods.

2. « Pattern shift » method

The pattern shift method has been first investigated by Troost [1]. It has then been developed and applied to experimental EBSD diagrams by Wilkinson [2, 3]. The main principles of this method are the following:

- Two EBSD diagrams are compared by cross-correlation techniques. The homogeneous displacements Δx_i and Δx_i of M regions of interest or zone axes are determined (i=1... M).
- The homogeneous displacement δx_i and δy_i of the same regions of interest or zone axes are calculated as a function of the displacement gradient tensor **d**.
- The following cost function F is minimised in order to obtain the displacement gradient tensor d:

$$F(\mathbf{d}) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{M} \left[\left(\delta x_i(\mathbf{d}) - \Delta x_i \right)^2 + \left(\delta y_i(\mathbf{d}) - \Delta x_i \right)^2 \right]$$
(1)

It should be noted that, by using this method, only eight of the nine components of the **d** tensor can be determined. In fact, the displacements obtained by cross-correlation do not depend on the trace of this tensor, i.e. on the volume change due to elastic strain. It should be also noted that at least four zone axis or region of interest have to be analysed, since we need at least eight experimental results to obtain a well posed problem.



Figure 1 – Geometrical description of the strain induced displacements in the screen.

In figure 1, P is a point on the screen associated with the non-deformed state. In the deformed state, this point becomes Q, with a projection on the screen denoted by S. It turns out that $\delta x_i(\mathbf{d})$ and $\delta y_i(\mathbf{d})$ in equation (1) are respectively the x and y components of the **OS-OP=**(D/OQ₂)**OQ-OP**. Now, if **R** denotes the rotation matrix associated with the tilt angle θ , and **I** the identity, then we have **OQ=R**.(**I**+**d**).**R**^t.**OP**. It turns out that $\delta x_i(\mathbf{d})$ and

^{*} Auteur à contacter : fortunier@emse.fr – Tel : 04 77 42 00 34

 $\delta y_i(\mathbf{d})$ are non-linear functions of \mathbf{d} . However, by multiplying the cost function in equation (1) by OQ_z , a new cost function F' can be defined as follows:

$$F'(\mathbf{d}) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{M} \begin{bmatrix} \left(D\left(\mathbf{R}.(\mathbf{I}+\mathbf{d}).\mathbf{R}^{i}.\mathbf{OP}\right)_{x} - \Delta x_{i}\left(\mathbf{R}.(\mathbf{I}+\mathbf{d}).\mathbf{R}^{i}.\mathbf{OP}\right)_{z}\right)^{2} \\ + \left(D\left(\mathbf{R}.(\mathbf{I}+\mathbf{d}).\mathbf{R}^{i}.\mathbf{OP}\right)_{y} - \Delta y_{i}\left(\mathbf{R}.(\mathbf{I}+\mathbf{d}).\mathbf{R}^{i}.\mathbf{OP}\right)_{z}\right)^{2} \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \|\mathbf{A}.\mathbf{u}-\mathbf{b}\|^{2}$$
(3)

In this equation, **u** is an 8 components vector containing the d_{ij} values; **A** is a 2M×8 matrix and **b** a vector with 2M components. In this linear case, the minimum of the cost function has a unique solution when rank (**A**) = 8. It is given by the "pseudo-inverse" of the **A** matrix: $\mathbf{u} = (\mathbf{A}^t \cdot \mathbf{A})^{-1} \cdot \mathbf{b}$. It turns out that the pattern shift method reduces to a linear system. Moreover, in this case, the eigen values of the system can be used to analyse the sensitivity of the solution to the experimental parameters.

3. « 3D Hough » method

The 3D Hough method [4] is based on the fact that EBSD diagrams result from electron diffraction, so that the lines observed are in fact hyperboles due to the intersection between a diffracting cone and a plane. Figure 2 gives a simulated EBSD diagram, together with its 3D Hough transform obtained by the following formula:



Figure 2 – Local 3D Hough transform applied to a simulated EBSD diagram

In equation (2), $H_{\rho,\theta,\alpha}$ is the hyperbole characterised by the diffracting plane, which produces the straight line (ρ,θ) on the diagram, and by a diffraction angle α , which produces for example the two dashed hyperboles on the diagram. For α =0, the upper right α section in figure 2 is identical to a classical Hough transform applied to the part in the diagram inside the depicted trapeze. This produces two diffuse points associated with the two hyperboles. When α reaches the diffracting angle θ_B , then the (x,y) points associated with the hyperboles are located on the straight line of the diffracting plane. As a consequence, when this point is localised, then the diffracting plane associated with the hyperboles is clearly identified.

The main advantages of the 2D Hough transform are the following:

- The EBSD diagram can be analysed with a very large accuracy in term of orientation
- The distortions of the EBSD diagram due to an elastic strain (the deviatoric part) can be directly detected on the diagram, i.e. without any reference. Using this method, a polycrystalline material can thus be analysed.
- Other types of diagrams can be analysed, as for example Kossel diffraction diagrams for which the curvature of the hyperboles are much more pronounced.

4. Références

[1] K.Z. Troost, P. van der Sluis, D.J. Gravesteijn, Appl. Phys. Letter 62, 10 (1993) 1110-1112

- [2] A.J. Wilkinson, Ultramicroscopy 62 (1996) 237-247
- [3] A. J. Wilkinson, G. Meaden, D. J. Dingley, Ultramicroscopy 106 (2006) 307-313
- [4] C. Maurice, R. Fortunier, Proc. EBSD conference, Scotland (2007)

TEMStrain – a software package for elastic strain determination from CBED patterns

A.Morawiec¹

Polish Academy of Sciences, Institute of Metallurgy and Materials Science, Kraków, Poland.

Abstract – A package of computer programs facilitating lattice parameter refinement or strain determination from convergent beam electron diffraction (CBED) patterns will be presented. The software works in conventional way, i.e., by matching experimental and simulated central disks of CBED patterns. It is capable of simultaneous matching of multiple patterns originating from the same sample location. The main fitting procedures rely on kinematical simulation but the program has also an option with dynamical simulation, and the correlation between experimental and dynamically simulated patterns can be calculated. The package contains a number of different computational strategies. This feature allows for verification of results.

Introduction

The convergent beam electron diffraction (CBED) is known to be applicable to refinement of lattice parameters or determination of elastic strains [1]. The parameters or strains are obtained by matching experimental and simulated central disks of CBED patterns. The most common approach is to match distances between intersections of high order Laue zone (HOLZ) lines present in the central disks. The technique has the important advantage of very good nanoscale spatial resolution, beyond the reach of other methods. Current developments in the field of high resolution strain measurements are driven by interests in strains in microelectronic devices.

However, the CBED technique is not free of difficulties. Because of the usage of thin foil, stress relaxation is expected, and a quantitative assessment of the relaxation is complicated. Moreover, the CBED patterns contain dynamical effects affecting the accuracy of results. Last not least, the results may be ambiguous; Maier *et al.* [2] made it clear that a solution obtained from a single pattern cannot be unique because a CBED pattern can be simulated by a number of different lattice parameters (or more formally, the problem of lattice parameter determination is ill–conditioned [3]).

The issue of "ambiguity" is usually addressed by reduction of the number of free parameters. Another approach is to use multiple experimental CBED patterns originating from the same location, and to match them simultaneously to patterns simulated with one set of lattice parameters.

TEMStrain

Dealing with multiple patterns corresponding to various foil orientations is complicated. Therefore a new package of computer programs called TEM*Strain* has been developed. It is intended to facilitate the analysis of CBED patterns and the calculation of strains. The package allows for simultaneous matching of up to ten patterns. It is not limited to any particular material or structure, and it works for arbitrary sample orientations. (In practice, orientations are determined automatically using another program and patterns with smaller camera lengths.) TEM*Strain* is capable of fitting user specified strain components, camera lengths and voltage. The package contains routines for dynamic simulation of diffraction patterns by the Bloch wave method [1].

TEMStrain is equipped with a Windows user interface (Fig. 1). HOLZ lines in a CBED pattern can be marked manually with a computer mouse, or they can be detected automatically. The automatic line detection uses the Hough transform and the so-called "backmapping" [4]. However, in the case of automatic line detection, a human verification of the outcome is needed. The indexing of patterns is based on the approximately known orientations.

Strains can be calculated in three different settings. The basic approach is to obtain strain tensor components in a Cartesian coordinate system linked to the crystal lattice. The second one is to get strain under the assumption of plane stress conditions. In both cases, multiple patterns can be used.

¹ E-mail: nmmorawi@cyf-kr.edu.pl.

Moreover, strain components determinable from a given pattern can be calculated from that pattern; they are calculated in the microscope coordinate system.



Fig. 1. The user interface of TEMStrain

A number of different computation methods are used for matching the patterns. The primary fitting procedures are based on kinematically simulated patterns with two main strategies. The first one matches distances between intersections of HOLZ lines or ratios of these distances [5]. The number of intersection points is controlled by a user who can change a "domain" of these points (bounded by the maximal distance of the points from the pattern center, and by minimal and maximal intersection angles). The second strategy is the "K–line equation based scheme" (KLEBS) [6]. It uses directly the algebraic equation of HOLZ lines. For better reliability of results, these strategies should be combined. Moreover, inconsistencies can be resolved by performing dynamical simulated patterns. A further refinement is possible by matching elements of experimental and dynamically simulated patterns. However, the performance of the latter approach is less than spectacular and the computing process is very slow.

TEMStrain has capabilities of a number of other programs for CBED based strain determination. The most important feature is that a user can verify reliability of results by comparing the output from different strategies available in the package. An installation package of the current version of TEMStrain is available on request.

References

- [1] Jones, P.M., Rackham, G.M. & Steeds, J.W., Proc. Roy. Soc. Lond. A 354, 197-222 (1977).
- [2] Maier, H.J., Keller, R.R., Renner, H., Mughrabi, H. & Preston, A. Philos. Mag. A 74, 23-43 (1996).
- [3] Morawiec, A. Phil. Mag. 85, 1611–1623. (2005).
- [4] Gerig, G. & Klein, F. Proc. 8th Int. Conf. on Pattern Recognition. Paris, France, pp. 498–500 (1986).
- [5] Zuo, J.M. Ultramicroscopy 41, 211–223 (1992).
- [6] Morawiec, A. Ultramicroscopy 107, 390–395 (2007).

Détermination des contraintes locales par microdiffraction Kossel

P. Gergaud^{a,**}, R. Pesci^b, S. Berveiller^b

^a CEA-Léti, MINATEC - 17, rue des Martyrs, 38 054 GRENOBLE Cedex 9 -France ^b LPMM, UMR CNRS 7554, ENSAM Metz, 4, rue Augustin Fresnel - Metz Technopôle - 57078 METZ Cedex 3 - France

Abstract - A Kossel microdiffraction experimental set up is under development both inside a Scanning Electron Microscope (SEM) and on a microdiffraction beamline at ESRF. It allows the determination of the crystallographic orientation as well as the inter- and intragranular strains and stresses on the micron scale, using a micrometer spot. We will show the first results obtained on both setup and described the experimental difficulties.

1. Introduction

La détermination des contraintes mécaniques à une échelle de plus en plus locale est aujourd'hui un enjeu essentiel dans les micro et nanotechnologies (stress engineering, fiabilité des composants (stress voiding, électromigration, ...), adhérence des films...) et de manière général dans le développement de matériaux composites. Un effort important au niveau international a été mené pour développer des outils de caractérisation qui permettent de mesurer des champs de déformations avec des résolutions spatiales toujours améliorées. Parmi les techniques toujours en développement mais qui ont déjà montré leur capacité à fournir des informations mécaniques pertinentes, on peut citer : la microdiffraction faisceau blanc, le micro raman, la diffraction électronique en faisceau convergent (CBED), la diffraction X cohérente, l'EBSD... Comme la plupart de ces techniques, la diffraction de Kossel est de principe assez ancien, mais qui retrouve un intérêt avec l'amélioration des outils de mesures et des moyens d'analyses. La méthode proposée a par rapport aux autres techniques précédemment décrites de proposer a priori :

- une très bonne sensibilité sur les déformations : les angles de Bragg mesurées ici sont ceux de la diffraction X (au-delà de 15-20°)
- la possibilité de cartographier les déformations/contraintes et l'orientation des grains simultanément.
- une simplicité d'accès (MEB-FEG avec une caméra CCD) et de préparation (dépôt d'un film de carbone pour les matériaux non conducteurs)
- la possibilité d'instrumenter autour de cet appareillage (mesures sous sollicitation mécanique in-situ, mesures en température, sous champ électrique...)

Ses principales limitations potentielles sont à chercher du coté de la résolution spatiale (qu'on peut estimer de l'ordre du micron à quelques microns (effet de la poire d'interaction)) et le temps de mesure (quelques dizaines de min par point – équivalent à la microdiffracion FB). Le premier point peut être améliorée en effectuant les mesures sur microfaisceau X au sychrotron où des tailles de faisceau de 100 à 50 nm sont attendues sans effet d'interaction.

Enfin, malgré l'ancienneté de cette technique, elle reste jusqu'à présent peu développée, essentiellement à cause de la difficulté que pose le traitement numérique des images (positionnement précis de lignes décrites par des coniques de tous types) associée à une faible intensité des lignes de Kossel et un rapport pic sur fond très faible. Très peu d'équipes dans le monde tentent aujourd'hui de l'exploiter dans la mesure des déformations. On peut principalement citer les travaux actuels menés par l'équipe de Ullrich [1] qui ont été les premiers à montrer son utilisation pour la détermination de contraintes et plus récemment les travaux menées par l'équipe de l'ENSAM de Metz [2].

2. Principe de la méthode et résultats expérimentaux

La technique de microdiffraction Kossel utilise un effet physique découvert par W. Kossel en 1934 : lorsqu'un faisceau focalisé d'électrons (produit par exemple dans un MEB) ou de photons X (d'énergie adaptée) irradie un cristal, il provoque un rayonnement de fluorescence qui peut être diffracté par le cristal cible lui-même. Cette source divergente diffracte alors sur les plans cristallographiques du matériau, formant des cônes de Kossel (figure 1). L'indexation du cliché permet d'obtenir l'orientation de la zone étudiée, les déformations du réseau et, par conséquent, d'en déduire l'état de contraintes. Historiquement, la microdiffraction Kossel a été abandonnée

^{*} GERGAUD Patrice : patrice.gergaud@cea.fr

au profit de l'EBSD, technique qui s'est largement développée et dont l'objectif principal est l'identification des orientations locales. En comparaison, les signaux Kossel sont des rayons X, ce qui en fait la technique privilégiée pour l'analyse de contraintes. Le développement dans le MEB permet un couplage fort entre les observations microstructurales et le comportement mécanique, grâce notamment à des sollicitations in-situ.



Figure 1 – a) Schéma de principe de la diffraction de Kossel; b) Exemple d'image obtenu sur un polycristal de CuAlBe dans un MEB

Les difficultés liées à l'utilisation de cette technique sont doubles : faible rapport signal/bruit et détermination précise de la position des lignes de Kossel... Cependant, les premiers résultats obtenus en Europe sont prometteurs et l'exposé décrira les moyens mis en œuvre, les premiers résultats, les limitations de la technique et les développements encore nécessaires. Nous montrerons aussi les tous premiers résultats [3] obtenus en microfaisceau (1 μ m²) sur la ligne ID13 de l'ESRF sur un film de cuivre de 750 nm d'épaisseur. Ces premiers résultats très encourageants, ouvrent la possibilité d'une application avec une résolution de 100 nm sur des films d'épaisseur équivalente.



Figure. 2 - Exemples d'images obtenues sur un film de cuivre de 750 nm d'épaisseur et montrant des lignes de Kossel du cuivre mais aussi des lignes de pseudo-Kossel provenant du substrat de silicium (ces lignes sont sur les deux images). Expériences sur ID13 ESRF.

- [1] Brechbuhl J., Bauch J. and Ullrich H. -J., Crystal Research and Technology (1999) 34 59.
- [2] Pesci R.; Inal K., Berveiller S., Patoor E., Lecomte J.S. and Eberhardt A., Mater. sci. Forum, **524-25**, (2006), 109-114.
- [3] ESRF Report for the Experiment MA-168 (2007).

DEGRADATION INDUCED BY RECYCLING PROCESS OF POLYPROPYLENE

M. Serier, N. Boudissa and A. Serier

Laboratoire des Revêtements, Matériaux et Environnement - Université M'hamed Bougara Boumerdes, 35000 Algérie

Abstract

During the recycling process the material undergoes various operations that bring out several modifications in the molecular structure. As a matter of fact, the mechanical properties of the recycled products and their structural organization are quite different compared to those composed of virgin material [1].

Also, particular attention is attached to the relationship and several consequent changes in the mechanical properties.

The aim of this work is to study some properties and structural aspects of recycled polypropylene in particular through the analysis of degradation by infra red spectroscopy.

Moreover, the mechanical properties in terms of traction and impact were carried out on films obtained from virgin and recycled material and binary blends of them.

These mixtures were analyzed as a function both of blend composition and of the number of reprocessing of the recycled fraction.

The results of infra red spectroscopy of virgin and the reprocessing polypropylene were correlated with the mechanical properties.

Introduction

Plastic materials are considered as extremely important candidate to recycling for their increasing demand in daily life and thus a necessary need to reduce their space in disposal capacity and lower emissions from landfills and incinerators.

The possibility to reuse the recycled material by injecting it in the manufacturing chain of relatively good quality product depend of the resulting mechanical and rheological properties

The objective of the present paper is to study the possibility to reuse the recycled polypropylene by injecting it in the manufacturing chain. To achieve this objective, the effect of reprocessing of polypropylene and blending of the recycled and virgin polypropylene on mechanical properties was carried out. In addition, melt flow index and FTIR spectroscopic study were investigated.

Material and methods

1. Material

Commercial polypropylene homopolymer (PP) PPH 4060 from ATOFINA TOTAL PETROCHEMICALS with a density of 0.905 and a MFI of 3 was used.

2. Equipments

Extrusion: Controlab 08 FE extruder with a screw of L/D ratio=20 and D= 25mm.

Operating conditions are: Temperature (Metering zone: 200°C, Mixing zone: 240°C and Die zone: 240°C); Screw speed: 50 rpm. Moulding: An hydraulic press with electric heating and hydraulic opening.

Operating conditions are: temperature: 210°C, closing pressure: 200psi

3. Testing

- Infra red spectroscopy on spectrometer NEXUS and ATR (Attenuated Total Reflection more adapted to the opacity of the specimens)
- MFI ASTM 1238 with 2.16Kg
- Tensile test on ADAMEL-LHOMARGY DY 22 with a cell 500 daN and a tensile speed of 50 mm/mn (ISO1798-1983 (F)
- Impact test (charpy) on specimen of 1x100x15 mm³

4. Preparation of specimen

First PP is extruded, ground, moulded and then tested (fig 1).

Table 1: composition	on of the different formulations
Ri; R: recycled	i: number of extrusion undergone



Figure 1: Schema of recycling

Compo.	25% recycled +75% virgin PP	50% recycled + 50% virgin PP	75% recycled + 25% virgin PP	100% recyclats
Design.	BR1 25	BR1 50	BR1 75	R1
	BR2 25	BR2 50	BR2 75	R2
	BR3 25	BR3 50	BR3 75	R3
	BR4 25	BR4 50	BR4 75	R4
	BR5 25	BR5 50	BR5 75	R5

The recyclats are obtained by several looping of (extrusion +granulation) and the blends (recyclat+virgin PP) table.1 are passed trough the loop

The re extrusion is stopped at the fifth one because the aspect of the extrudate is yellow and makes drops due to advanced degradation.

Result and discussion

1. ATR-FTIR

ATR-FTIR spectra of the virgin PP and its recyclats: V, R1, R2, R3, R4 and R5 show an increasing development of peaks in the two regions of 2700-3000 cm-1(figure2) attributed to the methyl [1] group C (sp3)-H due to chain scission and 1600-1800cm-1 attributed to the C=C bound which may be due to the combination termination of the degradation reaction. In the regions of the three major groups of carbonyl (C=O) 1705, 1735 and 1770cm-1 in absorbance, an increase of the peaks indicate a thermo-oxidative degradation [2].

When incorporating virgin PP in the recyclats at different ratios, it is noted an improvement indicating a decrease of the quantities of the methyl and carbonyl groups and the C=C bound.

2. MFI

Comparing the MFI of the virgin PP and its successive recyclats (figure3), it is noticed that flow index increases as number of cycles increases. This is due to the increase of quantity of small chains due to thermo-oxidative degradation by chain scission decreasing the overall molecular weight. The blends of virgin PP and its recyclats show an important change only in the case of the recyclat R5, where a decrease of MFI indicates an increase in molecular weight due to the incorporation of the virgin PP with its long chains [3].

3. Tensile test

The Young strength and the strength at break show a decrease as the number of cycles increases. While the elongation at break show an increase as the number of cycles increases (figures 4). This is due to the degradation by chain scission undergone during successive extrusions, decreasing the molecular weight and the quantity of entanglements which give strength and elasticity to the bulk **[4]**. The incorporation of virgin PP in the recyclats improves all the tensile properties due to the longer chains of virgin PP.

4. Charpy impact test

As the number of cycles increases, the PP shows a decrease in the charpy impact strength (figure 5). This is due to the increase in short chains (chain scission) which are the concentrates of impact energy causing fracture. It is noticed that the incorporation of virgin PP increases the impact strength as its ratio increases

Conclusion

The flow and mechanical properties of polypropylene show a drastic decrease due to several degradations undergone in the extrusion processes. The incorporation of virgin polypropylene in the recyclats ameliorates these properties, without a complete recovery of them. Consequently, following the tolerances, these blends may find use in a second life.

References

[1]-L. G. Benning, V.R. Phoenix, N. Ye and M.J. Tobin,"Molecular characterization of cyanobactrial silification using synchrotron infrared micro-spectroscopy", Geochemical and Cosmochimica Acts, Vol. 68, N°. 4, p. 729-741, 2004

- [2]-S. Moss, H. Zweifel, "Polymer Degradation and Stability", 1989, 25, p217.
- [3]- H.Ries and G.Menges, "Degradation of polypropylene in injection moulding", Kunstoffe German Plastics, vol. 78, N°7, p.32-34 (1988)
- [4]-C.Combeaud, Etude des Instabilités Volumiques en Extrusion de polystyrene et polypropylene, Thèse de doctorat, Ecole des Mines de Paris (Sciences Fondamentales et Appliquées), 2004, p.27.



Fig. 2: ATR-FTIR spectra of virgin PP and its recyclats in the region 2700-3000cm⁻¹



- Your and y

Fig.4: Strength at break of

virgin PP, its recyclats and

blends of virgin PP with

recyclats.



Fig.5: Charpy impact strength of virgin PP, its recyclats and blends of virgin PP with recyclats

Fig. 3: MFI of virgin PP, its recyclats and blends of virgin PP with recyclats

Cartographie d'orientations par MET

Emmanuel BOUZY^{a,*}, Jean-Jacques FUNDENBERGER^a, Daniel GORAN^a, Thierry GROSDIDIER^a, Adam MORAWIEC^b

^a LETAM – UMR CNRS 7078, Université de Metz, Ile du Saulcy, 57000 METZ ^b IMIM, PAN, Reymonta street, KRAKOW (Poland)

Résumé – Les principaux éléments du système de cartographie d'orientations par MET sont présentés. Ses performances en termes de résolution angulaire et de résolution spatiale sont discutées. Suivent plusieurs exemples d'application et notamment celui d'un matériau fortement déformé qui présente une structure multiéchelle. Il est montré à travers cet exemple que la cartographie d'orientations par EBSD et la cartographie d'orientations par MET sont complémentaires. En particulier cette dernière technique permet de mettre en évidence, à très fine échelle, la microstructure constituée de sous-grains faiblement désorientés.

1. Introduction

La cartographie d'orientations par EBSD mise en œuvre dans le MEB est bien connue et elle est largement utilisée dans les laboratoires de science des matériaux. [1, 2] La cartographie d'orientations par MET est moins connue et encore bien moins utilisée. Pourtant elle présente certaines spécificités qui en font un outil intéressant et bien souvent complémentaire de la méthode EBSD dans nombre d'applications.

Des méthodes de cartographie d'orientations reposent sur l'indexation de diagrammes de points.[3] La méthode présentée ci-dessous repose sur l'indexation de diagrammes de Kikuchi ou de diagrammes CBED, [4] et elle est complètement automatique.[5]

2. Présentation du système

Les différents éléments du système sont présentés sur la figure 1. Le faisceau d'électrons est défléchi automatiquement de manière à décrire pas à pas les différents points d'une grille définie au préalable sur l'échantillon. En chaque point, il y a acquisition du diagramme de diffraction, correction et enregistrement. La détection des couples de lignes (ou bandes) qui composent les diagrammes de diffraction, leur indexation et la détermination de l'orientation se font ultérieurement, après acquisition à l'aide d'un ensemble de programmes développé au laboratoire et appelé Euclid's Phantasies (E.P.). Le programme d'identification des bandes est basé sur la transformée de Hough. Le programme d'indexation des bandes et de détermination des orientations prend en compte à la fois la largeur et les angles que forment les bandes entre elles. Il repose sur des procédures de minimisation des différences entre angles et largeurs mesurées et angles et largeurs théoriques.



Figure 1 – Système automatique de cartographie d'orientations par MET

3. Résolution angulaire et résolution spatiale

Il a été établi, par des mesures faites sur un monocristal de silicium, que la résolution angulaire, dans les conditions standart d'acquisition de cartographie d'orientations, est inférieure à 0.15°. La résolution spatiale est plus difficile à estimer dans la mesure où elle dépend de nombreux facteurs tels que la taille du faisceau d'électrons, le type de canon, le numéro atomique du matériau, l'épaisseur de l'échantillon...Elle est dans le meilleur des cas de l'ordre de quelques nanomètres.

^{*} Auteur à contacter : bouzy@univ-metz.fr – Tel : 03 87 31 53 96

4. Applications

Grâce à son excellente résolution angulaire et à sa bonne résolution spatiale, la cartographie d'orientations par MET est particulièrement bien adaptée à l'étude des microstructures ultrafines. C'est ainsi qu'elle a été utilisée pour l'étude des premiers stades de la recristallisation.[6] Un autre exemple particulièrement intéressant est celui des microstructures obtenues par de très fortes déformations plastiques. En effet, ces microstructures présentent des caractéristiques structurales et souvent des hétérogénéités à plusieurs échelles. A l'échelle de l' échantillon – à l'échelle des hétérogénéités de déformation telles que les bandes de déformation ou les bandes de cisaillement – à l'échelle des sous-grains. Nous montrons que pour bien appréhender ces microstructures complexes, il est nécessaire d'utiliser de manière croisée et complémentaire différentes techniques. Chacune à l'échelle qui lui est propre. La microscopie optique, l'EBSD mise en œuvre dans le Microscope Electronique à Balayage, la cartographie d'orientations mise en œuvre dans le Microscope Electronique à Transmission. En particulier, cette dernière technique permet de mettre en évidence, grâce à son excellente résolution angulaire, la structure en sous-grains du matériau comme on peut le voir sur la cartographie d'orientations ci-dessous où les sous-grains représentés en blanc ont une désorientation comprise entre 0.3° et 3° .[7]



Figure 2 – Image en champ clair et cartographie d'orientations correspondante de nickel fortement déformé

5. Conclusion

La cartographie d'orientations par MET, est une technique qui, par rapport aux techniques traditionnelles d'imagerie en champ clair, apporte des informations supplémentaires concernant l'orientation, la taille des grains ou sous-grains et la désorientation associée aux joints de grain. Par ailleurs, grâce à son excellente résolution angulaire et à sa bonne résolution spatiale, elle est particulièrement adaptée à une étude de haute précision des microstructures ultrafines. De plus, elle est souvent complémentaire, à l'échelle qui est la sienne, de la cartographie d'orientations par EBSD.

- R.A. Schwarzer, Automated crystal lattice orientation mapping using a computer-controlled SEM, Micron 28 (1997) 249-265
- [2] F.J. Humphreys, Characterisation of fine-scale microstructures by EBSD, Scripta Mat. 51 (2004) 771-776
- [3] E.R. Rauch, L.Dupuy, Automated TEM spot diffraction patterns indexing tool, Arch. Metall. Mater. 50 (2005) 87-92
- [4] S. Zaefferer, New developments of computer-aided crystallographic analysis in TEM, J. Appl. Cryst. 33 (2000) 10-25
- [5] J-J Fundenberger, A. Morawiec, E. Bouzy, J-S Lecomte, *Polycrystal orientation maps from TEM* Ultramicroscopy **96** (2003) 127-137
- [6] H. Paul, A. Morawiec, E.Bouzy, J-J Fundenberger, A. Piatkowski, *Brass-type shear bands and their influence on texture formation*, Met. and Mat. Trans. A **35** (2004) 3775-3786
- [7] D. Goran, JJ. Fundenberger, S. Suwas, E. Bouzy, LS. Toth, W. Skrotzki, T. Grosdidier, *Heterogeneity of deformation in pure Ni single crystal of cube orientation deformed by ECAE*, ICOTOM 14 : Mat. Sc. Forum (2005) 495-497

CBED quantitatif pour la mesure de la déformation de couches épitaxiées

¹<u>F.Houdellier</u>^{1*}, C.Roucau¹et M.J.Casanove¹ ¹CEMES-CNRS, 29 rue J. Marvig, 31055 Toulouse, France.

Résumé – La diffraction électronique en faisceau convergent (CBED) est une technique permettant de remonter à l'état de contrainte d'un échantillon cristallin avec une très grande sensibilité. Elle reste malgré tout extrêmement sensible aux phénomènes de relaxation élastique de la contrainte pouvant entraîner des modifications importantes des contrastes observés. Ceci est particulièrement vrai dans le cas des couches épitaxiées préparées en section transverse ou en vue plane.

1. Introduction

Les couches minces épitaxiées sur substrat subissent une déformation élastique, liée à la différence de paramètres cristallins, accompagnée ou pas de ségrégation chimique. Ces différents effets influent directement sur les propriétés des couches minces épitaxiées (caractéristiques d'émission dans les puits quantiques, transport et anisotropie magnétique ...). Ils sont au coeur d'une recherche tant fondamentale qu'appliquée visant à ajuster les propriétés par la maîtrise des états de déformation des systèmes épitaxiées fournissent pour la plupart des informations partielles car moyennées sur l'ensemble de la couche ou sur sa surface. La microscopie électronique en transmission (MET) permet de sélectionner précisément les zones étudiées, ce qui est un avantage considérable en présence d'hétérogénéités. En particulier des mesures d'une très grande précision peuvent ainsi être obtenues par la diffraction électronique en faisceau convergent (CBED) [1,2].

2. Résultats

Nous avons choisi de présenter des mesures de déformation des systèmes épitaxiés SiGe/Si et GaInAs/GaAs. Les diagrammes CBED observés sur des sections transverses révèlent une très forte déformation dans la couche et nous observons dans le substrat des modifications du profil des lignes de HOLZ en fonction de la distance de la zone diffractante à l'interface couche/substrat (Figure 1). Nous interprétons cette évolution comme caractéristique d'un phénomène de relaxation de la contrainte épitaxiale de la couche du à la faible épaisseur de l'échantillon [3,4]. Cet effet dépend de nombreux paramètres, tels que l'épaisseur de l'échantillon, le misfit et la distance de la zone diffractante à l'interface couche/substrat. Afin de remonter à la déformation, nous avons développé une nouvelle méthode de mesure basée sur la combinaison de calculs par éléments finis et de simulations dynamiques (Figure 1) obtenues grâce à un formalisme original développé au cours de ce travail appelé formalisme TDDT (Théorie dynamique dépendante du temps) [5].



Figure 1 : Etude d'une couche de Si_{0.8}Ge_{0.2}(27nm)/Si \Rightarrow a,b,c,d = clichés CBED expérimentaux obtenus dans le substrat de silicium (axe [230] et épaisseur constante t=300nm) pour des profondeurs sous l'interface x=450, 250, 200, 150 nm respectivement. e,f,g,h = simulations TDDT associées

Les effets de relaxation élastique ont pu aussi être mis en évidence dans les échantillons préparés en vue plane (Figure 2). Leur état de déformation a pu être déterminé à partir du CBED, et les simulations TDDT rendent bien compte de tous les contrastes observés [6].



Figure 2 : Cliché LACBED observé dans l'axe [102] d'un échantillon de $Ga_{0.8}In_{0.2}As(10nm)/GaAs$ observé en vue plane préparé par attaque chimique \Rightarrow a= cliché expérimental, b=simulation TDDT associée, c= comparaison entre le profil expérimental et simulé de la ligne -804

Ce travail a grandement bénéficié de l'utilisation d'un microscope TEM-FEG doté d'un correcteur d'aberration sphérique et d'un filtre en énergie GIF-tridiem → le SACTEM-Toulouse.

3. Références

[1] J.C.H.Spence and J.M.Zuo Electron Microdiffraction. Plenum Press (1992)

[2] J.M.Zuo Ultramicroscopy Volume 41 (1992) pages 211-223

[3] F.Houdellier, C.Roucau, L.Clément, J.L.Rouvière and M.J.Casanove Ultramicroscopy, Volume 106, Issue 10, August-September 2006, Pages 951-959

[4] F.Houdellier, C. Roucau and M.-J. Casanove Microelectronic Engineering, Volume 84, Issue 3, March 2007, Pages 464-467

[5] F.Houdellier, A.Altibelli, C.Roucau and M.J.Casanove submitted to Ultramicroscopy

[6] F.Houdellier, D.Jacob, C.Roucau et M.J.Casanove *accepted in Ultramicroscopy*
Quantitative strain measurement in 45-65nm CMOS transistors by energyfiltered convergent beam electron diffraction at low temperature

L. Clément^{a,*}, R. Pantel^b, P. Morin^b, L. Kwakman^a, C. Wyon^c

^a NXP SEMICONDUCTORS, 860 rue Jean Monnet, F-38920 CROLLES, FRANCE
 ^b STMICROELECTRONICS, 850 rue Jean Monnet, F-38926 CROLLES, FRANCE
 ^c CEA-LETI MINATEC, 17 rue des Martyrs, F-38054 GRENOBLE, FRANCE

Abstract – The Convergent Beam Electron Diffraction (CBED) technique is used here to determine the strain and stress state in the silicon channel gate of latest generation transistors. To improve the accuracy of the quantitative CBED strain analysis, cooling of the TEM sample by using liquid nitrogen is proposed. The results obtained on transistors stressed by two different processes are presented.

1. Introduction

Strain in CMOS transistor channels can be induced by an uniaxial stressed Si_3N_4 Contact Etch Stop Layer (CESL) deposited on the top of the transistor gates or by selective epitaxial growth of SiGe source/drain (S/D) regions. These types of stressors are used to increase the electron and hole mobility and thus to enhance the transistor switching speed.

A great challenge in the process development of such devices is to control the applied stress. Characterization techniques are needed to quantitatively measure stress or strain with a spatial resolution coherent with devices dimensions, that is to say, with a nanometre spatial resolution.

Convergent Beam Electron Diffraction (CBED) in a Transmission Electron Microscope (TEM) appears to be one of the most powerful techniques for local strain measurement with a resolution of about 1 nm. From the experimental HOLZ lines positions the local lattice parameters can be obtained and the strain in the crystal can be determined with a sensitivity of $2 \ 10^{-4} \ [1]$.

Nevertheless, the main drawback of all TEM derived techniques relates to the thin TEM lamella preparation which induces stress relaxation at the created free surfaces. CBED patterns can be disturbed due to a non uniform strain across the specimen. Varying Bragg conditions along the electron beam path induce HOLZ lines broadening and the processing of such patterns becomes more complex [2]. We have already shown that when combining finite element modeling of this stress relaxation in the TEM lamella with dynamical electron diffraction, HOLZ lines broadening can be reliably reproduced. Based on these findings, we propose an original procedure for strain measurement in complex devices through the quantification of stress relaxation in a TEM sample [3].

In this work, only CBED patterns with fine (non-broadened) HOLZ lines are analyzed. As a matter of fact, in some cases, due to specific device geometry, such patterns can be obtained and a classical approach for strain measurement can then be used.

In order to enhance the sensitivity and especially for improving the numerical extraction of experimental HOLZ lines by the Hough transform algorithm, we propose to cool down the sample with liquid nitrogen. By doing so, the diffracted intensity is increased while the background intensity is decreased. Hence, the signal to noise ratio is improved and HOLZ lines extraction is easier.

2. Instrumentation and specimen preparation

The present studies were performed on a FEI TECNAI F20 TEM equipped with a Gatan Imaging Filter (GIF 2000). The microscope was operated at a nominal high-voltage setting of 200kV. The STEM CBED mode was used which allows to obtain a small probe size (1nm) with sufficient intensity.

Inelastically scattered electrons were eliminated using an energy selecting slit with a width of 20eV centered on the zero-loss peak. CBED patterns were acquired along a direction close to the [340] zone axis which is about 8.4° off the [110] cross section. In order to get sharper and better resolved HOLZ lines, a liquid-nitrogen cold stage was used to cool down the sample to ~ 100 K. TEM samples were prepared in-situ in a FEI DB400 Dual Beam machine combining Focused Ion Beam (FIB) and Scanning Electron Microscope (SEM) columns.

3. Results

Figure 1 shows CBED results obtained in periodic transistors on top of which a tensile nitride liner has been deposited which induces tensile strain in the silicon channel. The experimental CBED patterns acquired at different depths under the gate clearly indicate a transition from a strain-free to a tensile strain state in the silicon channel. After extraction of the lattice parameters we apply a dynamical simulation of the full CBED pattern, this to further enhance the accuracy of the determination of the HOLZ line shifts and, thus, of the quantification of the strain in the device.

^{*} Author to contact : laurent.clement@nxp.com - Tel : 04 38 92 35 01



Figure 1 – Experimental CBED patterns acquired at different depths d under the gate. The change in HOLZ lines intersection (indicated by red arrows) reproduced by N-beams dynimical simulation reveals tensile strain in silicon channel due to nitride liner deposition on the top of the gate.

The second example given relates to the stress investigation in a complete transistor with a gate length \sim 50 nm and with epitaxially grown SiGe source and drain regions (Fig. 2). Once again, a change in the HOLZ lines positions is observed. In this case, the simulation results indicate a compressive stress state in the silicon channel gate.



Figure 2 – Application of the CBED technique on complete transistor integrating epitaxially grown SiGe source and drain regions. Compressive stress state of silicon cristal between source and drain is visible in experimental CBED patterns and confirmed by dynamical simulation.

4. References

- [1] J.C.H. Spence and J.M. Zuo, *Electron Microdiffraction*, Plenum Press (1992)
- [2] L. Clément, R. Pantel, L.F.Tz Kwakman, and J.L. Rouvière, *Strain measurements by convergent-beam electron diffraction : The importance of stress relaxation in lamella preparations*', Applied Physics Letters, **85** (2004) 651-653
- [3] L. Clément, F. Cacho, R. Pantel, D. Delille, C. Tavernier, H. Jaouen, L.F.Tz Kwakman, C. Wyon and J.L. Rouvière, to be published

Mesure de contraintes et déformations sur lignes de silicium contraintes

A Béché^{a,*}, J L Rouvière^a, J C Barbé^b, F Andrieu^b, J Eymery^c, M Mermoux^d, D Rouchon^d

^a SP2M/LEMMA, CEA Grenoble, GEM Minatech, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France
 ^b LETI, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France
 ^c SP2M/NPSC, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France
 ^d LEPMI, 1130 rue de la Piscine, BP 75, 38402 S^t Martin d'Hères Cedex

Résumé – De part leurs propriétés intéressantes en termes de mobilités de porteurs, les lignes de silicium contraintes peuvent servir de canal dans les transistors. Des méthodes de caractérisations sont nécessaires dans ce type d'applications pour mesurer les contraintes et déformations résiduelles dans les dispositifs. La méthode des Moirés en microscopie électronique en transmission (TEM), la spectroscopie Raman et la diffraction par rayons X sont étudiées ici pour quantifier ces contraintes. Le phénomène de relaxation des contraintes dans les lames minces TEM a été pris en compte à l'aide de simulations par éléments finis. Les résultats très proches entre simulations et expériences ont permis de valider notre approche de mesure de déformations.

1. Introduction

La réduction des composants en micro électronique [1] rend très attractifs les matériaux dont les capacités de transports sont améliorés. Il a été récemment démontré [2, 3] que la mobilité des porteurs était nettement améliorée dans le cas de couches de silicium contraintes.

Nous montrons ici que la mesure de contraintes résiduelles dans les dispositifs silicium contraints sur isolant (sSOI) peut être réalisée à l'aide du TEM. En utilisant la méthode des Moirés, il a été possible de mesurer directement les déformations dans des lignes contraintes de 1µm de largeur. Les relaxations supplémentaires induites par la réalisation d'échantillon TEM ont été prises en compte par des simulations éléments finis. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus par spectroscopie Raman et diffraction X.

2. Données expérimentales

La réalisation de lignes de silicium de largeur 1 μ m se déroule en plusieurs étapes de collage-gravure. Le processus peut induire des désorientations entre lignes et substrat et amène à décrire deux référentiels (figure 1.a) liés aux axes cristallographiques, dans le substrat d'une part (\Re_s) et dans les lignes d'autres part (\Re_s).



Figure 1 – 1.a : Position des référentiels sur la lame mince avant relaxation. 1.b : Lame mince TEM déformée (facteur d'amplification de 30).

3. Relaxation de lame TEM et éléments finis

La réduction de l'épaisseur de l'échantillon afin de le rendre transparent aux électrons induit un phénomène de relaxation de contraintes qui se traduit par la courbure de l'échantillon. Afin de pouvoir remonter à la contrainte avant relaxation, des simulations par éléments finis (code Castem) ont été nécessaires.

Le champ de distorsion \mathcal{D} fournis par le programme en fin de calcul permet de calculer les vecteurs d'ondes g_L dans la ligne et g_S dans le substrat à l'aide des vecteurs du réseau cristallin a,b,c. g_L et g_S permettront de calculer le vecteur d'onde des moirés g_M .

$$\boldsymbol{g} = \left[\left((Id + \boldsymbol{\mathcal{D}}) [\boldsymbol{a}, \boldsymbol{b}, \boldsymbol{c}] \right)^{t} \right]^{-1} \begin{pmatrix} h \\ k \\ l \end{pmatrix}$$
(1)

Comme on peutle voir dans la figure 1.b, la relaxation de la lame TEM est un cas 3D. Cependant, il est possible de se placer dans une hypothèse 2D pour des épaisseurs de substrat suffisantes, typiquement supérieur à 200 nm.

^{*} Auteur à contacter : <u>armand.beche@cea.fr</u> – Tel : 04.38.78.19.26

4. Mesure de la période des franges de Moiré

Les franges de moirés apparaissent par double diffraction entre les ondes provenant du substrat et des lignes contraintes et sont simplement décrites par la relation (2) [4]. En prenant en compte la désorientation α introduite par le procédé de réalisation, la norme du vecteur d'onde des moirés g_M dans la direction [220] s'écrit:

$$\boldsymbol{g}_{\mathrm{M}} = \boldsymbol{g}_{\mathrm{L}} - \boldsymbol{g}_{\mathrm{S}}$$
, soit, en prenant la norme: $\boldsymbol{g}_{\mathrm{M}} = \left[\boldsymbol{g}_{\mathrm{L}}^{2} + \boldsymbol{g}_{\mathrm{S}}^{2} - 2\boldsymbol{g}_{\mathrm{L}}\boldsymbol{g}_{\mathrm{S}}\cos\alpha\right]^{\frac{1}{2}}$ (2)

Des zones particulières ont été examinées sur les échantillons TEM de façon à pouvoir les simuler par éléments finis (figure 2.a). Les franges de moirés dans la direction $[2\overline{2}0]$ ont été mesurées à l'aide de la méthode des phases géométriques [5, 6] qui permet d'afficher des images dont chaque pixel représente une valeur de la période des franges de moiré (figure 2.b).

La comparaison entre simulations et expériences permet de remonter à une contrainte dans les lignes comprise entre 1,1 et 1,46 GPa, donnant une moyenne de 1,3 GPa avec une précision de $\pm 10\%$ (figure 2.c).



Figure 2 – 2.a : Images des moirés sur une ligne. 2.b : Représentation de la période des moirés d'après l'image 2.a par la méthode GPA. 2.c : Graphe des contraintes dans la ligne.

5. Mesure par spectroscopie Raman

La taille de la sonde Raman mesurant environ 800 nm de diamètre, les résultats obtenus par cette méthode donnent une valeur moyenne de la contrainte et ne permettent pas de mettre en évidence les relaxations en bord de ligne. La profondeur de pénétration du laser dans le silicium est d'environ 15 nm, ce qui correspond exactement à l'épaisseur de la ligne contrainte. La différence de fréquence $\Delta \omega$ entre le substrat et la ligne permet de remonter à la contrainte dans le matériau. En réalisant une série de point perpendiculairement à la ligne, il a été possible de mesurer une contrainte moyenne de 1,3 GPa.

6. Mesure par diffraction X

Les mesures par diffraction X ont été menées sur des échantillons non gravé, ce qui ne fournit des informations comparables qu'avec les zones centrales non relaxées des lignes pour les échantillons Raman et TEM. Ces mesures ont aussi permis de quantifier la désorientation entre lignes et substrat. Les mesures sont assez dispersées en termes de mesure de contrainte, allant de 1.6 GPa à 1.3 GPa selon les zones.

7. Conclusion

Les trois méthodes présentées sont en accord sur la mesure de contraintes mais ne tombent pas juste sur la valeur théorique de la contrainte dans les lignes (1,46 GPa). Deux hypothèses à évaluer dans de futurs travaux peuvent expliquer ce phénomène : (*i*) La couche d'oxyde de silicium n'est pas totalement relaxée. (*ii*) Il y a relaxation des contraintes dans la couche de silicium contraint lors des opérations de collage.

Les comparaisons avec les mesures Raman et diffraction X ont montré que la méthode des moiré est relativement puissante et fiable pour la mesure des contraintes et déformations. Pour l'industrie microélectronique, ces trois méthodes ne sont pourtant pas assez précises pour caractériser des composants uniques. Mais, combinées, elles fournissent des résultats très complets pour la compréhension du fonctionnement de ces structures.

8. Références

[1] <u>http://public.itrs.net</u>

- [2] F. Andrieu, Microelectronics engineering, 2007.
- [3] F. Andrieu, VLSI, 134-135, 2006.
- [4] D. B. Williams, C. B. Carter. Transmission electron microscopy. Plenum Press, 1996.
- [5] E. Sarigiannidou, J. L. Rouvière. Ultramicroscopy, 106:1-17, 2005.
- [6] M. J. Hÿtch, E. Snoeck and R. Kilaas, Ultramicroscopy, Volume 74: 131-146, 1998.

Détermination de l'asymétrie de déformation dans le plan de GaAs (001) par diffraction électronique en faisceau convergent

Ludovic Largeau^{a,*}, Frank Glas^a, Gilles Patriarche^a, Eric Le Bourhis^b

^a LPN, CNRS (UPR 20), Route de Nozay, 91460 Marcoussis ^b LMP, CNRS (UMR 6630) Université de Poitiers, SP2MI Téleport 2, 2 Bd Marie et Pierre Curie, BP 30179, 86962 Futuroscope-Chasseneuil cedex

Résumé – Nous avons déterminé le caractère α et β des dislocations contenues dans les bras de rosette autour de nanoindentations faites sur des surfaces (001) de GaAs en développant une méthode d'analyse en diffraction électronique en faisceau convergent. Les paramètres expérimentaux, notamment l'épaisseur, ont été validés par des simulations.

1. Introduction

La connaissance et la compréhension du comportement plastique des semi-conducteurs sont nécessaires au développement des dispositifs optoélectroniques dont les performances peuvent être largement affectées par la relaxation plastique des différentes couches composant ces hétérostructures.

Les tests de nanoindentation sont pertinents pour sonder la plasticité de telles couches minces car la taille de la sonde peut être contrôlée en ajustant la charge appliquée. Il a été montré que lors de tests d'indentation sur des surfaces de GaAs (001), autour de la zone plastique dense, des bras de rosette asymétriques s'étendaient parallèlement aux directions <110>.

D'autre part, lors de la relaxation plastique d'hétérostructures de semi-conducteurs III-V parallèles au plan (001), la densité de dislocations est plus élevée le long de la direction [110] que le long de la direction $[\bar{1}10]$.

Il est connu que, pour le GaAs non dopé, la vitesse des dislocations α (dont le cœur est constitué d'atomes de type V dans la configuration « glide » de mobilité des dislocations) est plus élevée que la vitesse des dislocations β (dont le cœur est constitué d'atomes de type III dans la configuration « glide »).

Dans ce travail, nous avons déterminé le caractère α et β des dislocations contenues dans les bras de rosette autour de nanoindentations faites sur des surfaces (001) de GaAs en développant une méthode d'analyse en diffraction électronique en faisceau convergent (CBED).

2. Observations

La méthode développée est basée sur la diffraction en faisceau convergent à 4 ondes. Cette méthode est dérivée de celles proposées par Tafto et Spence [1] pour des lames minces (011) de GaAs et par Lavagne *et al.* [2] pour du ZnSe (001). Les expériences ont été réalisées dans un microscope Philips CM20.



Figure 1 – Image MET champ clair montrant les demi-boucles de dislocations dans le bras de rosette le plus long, après recuit à 500°C. g = 220. Indentation réalisée avec une force appliquée de 10 mN sur une surface non désorientée de GaAs (001).

Nous avons tout d'abord réalisé une série de nanoindentations à température ambiante que nous avons recuite. Après avoir identifié les dislocations formant les bras de rosette asymétriques autour des indentations (figure 1), nous avons réalisé les expériences de CBED au voisinage de ces indentations. Ceci nous a permis de déterminer les directions précises de propagation des dislocations et donc le caractère polaire de celles-ci.

La méthode est basée sur la nature (constructive ou destrutive) des interférences produites dans le disque de diffraction 200 ou $\overline{200}$ entre ces réflexions et des réflexions faibles de plus hauts indices (figure 2).

^{*} Auteur à contacter : ludovic.largeau@lpn.cnrs.fr – Tel : 01 69 63 61 74



Figure 2 – Clichés CBED expérimentaux (a) interférence constructive (croix blanche) dans le disque 200 avec les réflexions 200, 771 et 971 en condition de Bragg et (b) interférence destructive (croix noire) dans le disque 200 avec les réflexions 200, 771 et 971 en condition de Bragg.

Nous avons comparé nos clichés expérimentaux à des simulations. Nous discuterons des paramètres pris en compte pour ces simulations. En particulier, nous avons observé que le contraste de la croix dans le disque $\overline{2}00$ peut changer complètement en fonction de l'épaisseur de la lame mince. Nous avons donc déterminé précisemment l'épaisseur de notre échantillon au voisinage des indentations à l'aide d'expériences de CBED en deux ondes (onde transmise et onde diffractée 220). Cette mesure a été elle-même validée en calculant, depuis les valeurs extraites, la distance d'extinction de la réflexion 220.

Nous avons ainsi pu déterminer sans ambiguité le caractère α des dislocations formant les bras de rosette les plus longs.

3. Conclusion

Nous avons développé une méthode de détermination de la polarité sur des vues planes de GaAs (001) basée sur la diffraction électronique en faisceau convergent à quatre ondes. Nous avons validé cette méthode par des simulations et la détermination expérimentale de l'épaisseur de l'échantillon par diffraction électronique en faisceau convergent en deux ondes. Nous avons ainsi pu déterminer la nature des dislocations formant les bras de rosette autour de nanoindentations ainsi que celles qui sont responsables de l'anisotropie de relaxation plastique pour des structures épitaxiées selon la direction (001).

4. Références

- [1] J. Tafto et J.C.H. Spence, A simple method for the determination of structure factor phase relationships and crystal polarity using electron diffraction, J. Appl. Cryst. **15** (1982) 60
- [2] S. Lavagne, C. Roucau, C. Levade et G. Vanderschaeve, Crystal polarity of sphalerite semiconductor compounds, as determined by convergent-beam electron diffraction experiments on plan-view (001) samples: application to ZnSe crystals, Phil. Mag. A 82 (2002) 1451
- [3] L. Largeau, G. Patriarche, F. Glas et E. Le Bourhis, *Absolute determination of the asymmetry of the in*plane deformation of GaAs (001), J. Appl. Phys. **95** (2004) 3984

Les alliages à mémoire de forme : des matériaux aux propriétés mécaniques singulières

K. Chastaing¹, A. Denquin¹, D. Caillard², P. Ochin³, P. Vermaut⁴, R. Portier⁴

¹ ONERA (DMMP) 29, avenue de la division Leclerc F-92322 Châtillon cedex ² CEMES (groupe MC2) 29, rue Jeanne Marvig, BP 94347 F-31055 Toulouse Cedex 4 ³ ICMPE-UMR CNRS 7182, 15 rue G. Urbain, 94400 Vitry, France ⁴ Groupe de Métallurgie Structurale UMR-CNRS 7045 - ENSCP 11, rue P. et M. Curie F-75231 Paris

Les alliages à mémoire (AMF) possèdent des propriétés fonctionnelles remarquables, la superélasticité, la mémoire de forme simple ou double et les propriétés d'amortissement. Ceci présente un très grand intérêt pour de nombreuses applications médicales et industrielles.

Ainsi, ils peuvent exercer un travail lors du changement de forme induit par une variation de température. Ceci permet de les utiliser comme éléments d'activateur. Dans les systèmes habituels, un dispositif de mesure de température est associé à l'alimentation d'un moteur. Quand la température de consigne est atteinte, le moteur est alimenté électriquement et il peut réaliser l'action souhaitée. Ici, lorsque la température est atteinte, l'élément en AMF change de forme et effectue l'action en développant une force suffisante. Le dispositif est simplifié, beaucoup plus léger, moins encombrant et sans risque d'étincelle.

Ces propriétés remarquables sont contrôlées par une transformation structurale displacive réversible du premier ordre, une transformation martensitique à caractère thermoélastique entre l'austénite (phase haute température) et la martensite (phase basse température). Le caractère displacif est dominé par le cisaillement du réseau de l'austénite et il en résulte que la transformation est contrôlée par l'énergie de déformation. Ainsi, pour une composition chimique de l'alliage, les caractéristiques de cette transformation dépendent dramatiquement de la microstructure donc par conséquent, des conditions d'élaboration et de toute l'histoire thermomécanique du matériau.

Nous allons passer en revue quelques exemples classés selon trois catégories d'alliages dont les températures de transformation se situent dans des gammes différentes, ce qui leur ouvre des champs d'applications différents. Nous insisterons sur la corrélation entre la microstructure induite par les étapes de l'histoire thermomécanique et les caractéristiques de la transformation et les propriétés fonctionnelles de l'alliage.

- Les alliages basses températures (inférieures à 80 °C)

De nombreuses applications de ces alliages existent en particulier dans les domaines médicaux et dentaire. Les alliages TiNi et TiNiCo sont représentatifs de cette catégorie. Nous examinerons le cas des transformations martensitiques multiples, se produisant en plusieurs étapes dans le cas d'un spécimen déformé puis recuit (influence des parois de dislocations) et dans celui d'un spécimen élaboré par « melt spinning » (influence de précipités cohérents).

- Les alliages moyennes températures (de 100 à 200 °C)

Les alliages avec de hautes températures de transformation ont un très vaste champ d'applications potentielles (industrie automobile, électrotechnique) cependant, un manque de ductilité rend leur mise en forme délicate, voire impossible. Nous avons, de ce fait, exploré des techniques d'élaboration basées sur la solidification rapide afin d'obtenir l'alliage sous une forme utilisable directement : la technique de « twin roll casting » pour la production de tôles et la méthode « In rotating Water Melt spinning » pour la production de fil. Les alliages étudiés sont Ni-Ti-Hf et les bases Cu-Al-Ni. D'une part, nous décrirons le mode de déformation à l'état martensitique du Ni-Ti-Hf, différent de celui de Ni-Ti et les capacités d'éducation de cet alliage. D'autre part, nous commenterons le comportement mécanique des tôles et des fils d'alliages base Cu-Al-Ni, bruts d'élaboration mais qui présentent les propriétés superélastiques.

Enfin, une autre voie d'élaboration de ces alliages peu ductiles sera décrite. Il s'agit de la formation de verres métalliques d'alliages multiélémentaires base Ni-Ti, afin de profiter des propriétés superplastiques dans le domaine du liquide surfondu pour réaliser la mise en forme et la cristallisation afin de retrouver la transformation martensitique.

- Les alliages hautes températures (supérieures à 500 °C)

Ce domaine de hautes températures intéresse l'industrie aéronautique. Un certain nombre d'alliages répondent aux critères souhaités mais ils doivent être caractérisés des points de vue structurale et microstructurale et pour leur comportement mécanique. Cette investigation a porté sur le système Ru-Nb avec quatre alliages Ru₅₀. _xNb_{50+x} (x =0, 2, 4, 5). Selon la composition, ces alliages présentent une ou deux transformations de phase : à partir de la phase cubique β stable à haute température se forme la phase d'équilibre β ' tétragonale (entre 890 et 490 °C) puis la phase d'équilibre β ' monoclinique (entre 750 300 °C).

L'utilisation d'un porte-objet chauffant au MET à permis, par l'observation in situ de la transformation $\beta \rightarrow \beta'$ dans l'alliage tétragonal Ru₄₅Nb₅₅, de confirmer le caractère displacif de la transformation (chaque variant présente un maclage interne fin de type (011) compound qui réalise la déformation à réseau invariant de la transformation). Pour la transformation $\beta' \rightarrow \beta''$ (Ru₅₀Nb₅₀), l'observation in situ montre un maclage fin ainsi que la formation de domaines ordonnés.

Du point de vue du comportement mécanique, l'effet mémoire simple associé à la transformation $\beta \rightarrow \beta'$ a conduit à une déformation récupérable de l'ordre de 2.2% (Ru₅₀Nb₅₀) et de 1.4% pour Ru₄₅Nb₅₅. Pour la transformation $\beta'' \rightarrow \beta'$ (Ru₅₀Nb₅₀), le recouvrement de forme est seulement de l'ordre de 0.4%. L'observation in situ avec un porte échantillon de traction montre, en phase β' , un réarrangement de la martensite et, en phase β'' , un réarrangement modéré des parois de macle héritées de la transformation $\beta \rightarrow \beta'$.

Apport de la microscopie in-situ à l'étude quantitative locale de la déformation du Ti-6Al-4V

Philippe Castany, Florence Pettinari-Sturmel, Joël Douin, Armand Coujou

CEMES, 29 rue Jeanne Marvig, BP 94347, 31055 Toulouse cedex

Résumé - L'objectif de ce travail est d'analyser la microstructure et les micromécanismes de déformation de l'alliage Ti-6Al-4V, très utilisé dans le domaine aéronautique, essentiellement par *déformation MET in-situ*

L'alliage Ti-6Al-4V, très utilisé en aéronautique, présente une microstructure complexe, bimodale, constituée de nodules de phase α primaire α_P (phase hc), et de colonies lamellaires composées de lamelles de phase α secondaire α_S (phase hc) séparées par de la phase β (phase cc). Différents mécanismes fondamentaux de la déformation ont été mis en évidence au cours d'observations post-mortem au MET mais surtout, au cours d'essais de déformation in situ dans le MET :

- la naissance de dislocations aux interfaces $\alpha/\tilde{\beta}$ (cf. figure), qui a systématiquement lieu lors des premiers stades de la déformation aussi bien dans les nodules α_P que les lamelles α_S ,

- le contrôle de la déformation dans la phase α par les brins vis des dislocations qui de par leur structure de cœur étalée dans plusieurs plans, présentent une mobilité réduite et génèrent de nombreux mécanismes (glissement dévié, ancrages intrinsèques, multiplication par boucle ouverte, ...),

- le mouvement de dislocations appariées dans les nodules α_P , dont le mouvement corrélé atteste de la présence d'ordre à courte distance dans les nodules et qui n'a pas été observé dans les colonies lamellaires.

Les paramètres physiques qui contrôlent la déformation dans ce type d'alliage (ordre à courte distance, structure de cœur des dislocations, interfaces) ont été identifiés. En outre, l'analyse des dislocations sous contrainte nous a permis d'obtenir des données quantitatives sur les contraintes locales, la résistance due à l'ordre. Cette étude participe ainsi à une meilleure compréhension de la déformation des alliages de titane en général.

Enfin, il est à noter qu'il s'agit ici des premiers résultats de microscopie in-situ sur un alliage de titane polycristallin déformé à température ambiante.



Figure- Naissance d'une dislocation à partir d'une interface α/β dans une lamelle α_s observée au cours d'un essai de traction in situ

Caractérisation par MET de défauts cristallins nanométriques dans les aciers : qu'en disent les simulations d'image ?

Robin Schaueblin^{a,*}

^a Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), Centre de Recherches en Physique des Plasmas, Association Euratom – Confédération Suisse, 5232 Villigen PSI, Suisse

L'inéluctable irradiation des aciers de cuve de réacteurs nucléaires classiques ou des aciers prévus pour le futur réacteur à fusion conduit à des défauts cristallins nanométriques qui sont nuisibles à leurs propriétés mécaniques. Il est donc crucial de pouvoir caractériser ces défauts afin de comprendre leur impact sur la mobilité des dislocations, vecteur de la plasticité. La microscopie électronique à transmission reste la méthode de choix dans ce domaine. Notre but est d'étudier par simulation d'images les limites de la microscopie dans l'identification de défauts qui sont à la limite de visibilité en MET. Les échantillons virtuels sont construits par la méthode de dynamique moléculaire avec l'emploi de potentiels interatomique empiriques et la méthode de l'atome encastré ('embedded atom method' ou EAM en anglais).

Les simulations d'image de MET sont basées sur la méthode 'multislice', ce qui permet d'éviter les limitations de la méthode de type multifaisceaux ou par ondes de Bloch, telles que l'approximation de la colonne et celle du ion déformable. Il apparaît qu'il y a effectivement des limitations inhérentes à la méthode d'imagerie, telle la méthode du faisceau faible, qui sont incontournables mais les simulations nous permettent d'envisager et de déveloper des nouvelles méthodes permettant de les surmonter. Elles vont être présentées ici.

Auteur à contacter : robin.schaeublin@psi.ch - Tel : +41 56 310 40 82

Etude par MEB et MET de carbone pyrolytique pour combustible nucléaire C. Garcia, O. Dugne*

Laboratoire des Composites Thermostructuraux (LCTS), UMR CNRS 5801, 3 allée de La Boétie, 33600 Pessac, France *Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA) – DEN/VRH/DTEC/STCF/LMAC, BP 111, 26702 Pierrelatte, France

Depuis 2000, une coopération internationale a été relancée pour la définition et la mise au point de futurs réacteurs nucléaires dits de 4^{ème} génération. Le concept le plus avancé est le HTR, réacteur à haute température mettant en œuvre des neutrons thermiques. Ce regain d'intérêt a entraîné la relance des fabrications combustibles particulaires et plus spécialement des dépôts d'enrobage de noyaux fissiles au CEA par CVD en lit fluidisé. Ces dépôts multicouches (Figure 1) sont composés successivement de :

- une couche de pyrocarbone poreux (buffer),
- une couche de pyrocarbone dense ou inner pyc (IPyC),
- une couche de SiC,
- une couche de pyrocarbone dense ou outer pyc (OPyC).



Figure 1 : combustible utilisé au sein des RHT

Cette séquence de multicouches a pour objet de permettre le confinement les produits de fission. Ce rôle est tenu principalement par le dépôt SiC tandis que les couches de carbone pyrolytique (PyC) contribuent à préserver mécaniquement la couche SiC. Le comportement thermomécanique sous irradiation est directement relié aux microstructures des différentes couches. A ce titre, le pyrocarbone doit être le plus isotrope possible dés la fabrication car sous irradiation, il devient anisotrope et provoque un fluage compression du SiC jusqu'à la rupture.

La mise au point d'une technique de caractérisation locale submicronique voire nanométrique de l'anisotropie dont l'échelle dimensionnelle est cohérente avec les phénomènes d'irradiation, est indispensable pour valider les fabrications et tenter de comprendre par la suite, le comportement sous irradiation du PyC. La microscopie électronique à transmission, à l'aide de la diffraction électronique à aire sélectionnée (DEAS), peut permettre de remonter à l'anisotropie du PyC. Grâce au logiciel ANADIF (mis au point au sein du LCTS), il est possible de déterminer l'ouverture angulaire (OA) de l'anneau de diffraction 002 des clichés et ce, à des diaphragmes à dimensions croissantes. Cette mesure peut être reliée à la notion d'isotropie.

Cette approche a été appliquée aux nouvelles fabrications CEA afin de qualifier la qualité du pyrocarbone avant test sous irradiation. En plus de la DEAS, des examens approfondis en imagerie MET et MEB des couches (IPyC, OPyC) ont été réalisés en portant un effort particulier sur la représentativité des mesures par une approche statistique:

• La MET a permis de mettre en évidence la morphologie à l'échelle nanométrique du pyrocarbone (Figure2a). de plus il a été noté une différence notable entre les couches de IPyC et OPyC élaborées dans des conditions similaires. En effet, sur les différents lots testés, la couche de IPyC est systématiquement plus anisotrope que celle de OPyC. ceci peut être dû à un recuit de la couche de IPyC induit par les opérations de dépôts successives de SiC et O-Pyc.

• La MEB quant à elle, a permis d'accéder à la morphologie macroscopique des couches. Celles-ci présentent une certaine porosité et sont composées d'amas de sphéroïdes. La distribution de taille de ces sphéroïdes est très large, car elles présentent un écart-type de 100nm alors que leur taille moyenne est de l'ordre de 400nm. Ces sphéroïdes sont composées de deux parties à faciès différents (Figure2b) : un cœur dense et une couronne plus « feuilletée », ceci permet de penser que leur synthèse s'effectue en deux temps, le cœur serait élaboré en phase homogène (gaz) puis une fois ce cœur déposé sur la bille, la couronne se formerait en phase inhomogène (solide-gaz).





Figure 2 : a) Sphéroïde vue par MET



Afin de comprendre et d'interpréter les phénomènes s'effectuant lors des dépôts, il a été élaborés différents lots à des vitesses de dépôt du PyC croissantes et donc d'anisotropies différentes. De plus deux types de substrat ont été utilisés : des billes et des substrats plans. La caractérisation systématique de ces dépôts permettra ainsi de relier les conditions d'élaborations utilisées à la morphologie et la structure du PyC observé et donc de remonter à l'influence des différents paramètres de dépôt.

Caractérisation d'hétérojonctions a-Si:H/c-Si pour cellules photovoltaiques

L. Deillon^a, C. Monachon^a, G. Pasche^a, Sara Olibet^b, C. Ballif^b, A. Hessler-Wyser^{a,*}

^a Centre Interdisciplinaire de Microscopie Electronique, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Station 12, 1015 Lausanne, Suisse

^b Laboratoire photovoltaïque et couches minces électroniques, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Rue A.-L. Breguet 2, 2000 Neuchâtel, Suisse

Résumé – L'utilisation d'hétérojonctions Si amorphe/Si cristallin permet l'élaboration des cellules solaires avec des taux de conversion records sur silicium allant jusqu'à 22%. La structure typique de tels dispositifs est basée sur la technologie des couches minces et la microstructuration de substrats de silicium cristallin. Afin de mieux maîtriser les propriétés électroniques de ces dispositifs, une caractérisation de la structure des couches sur substrat plan ainsi que sur substrat microstructuré est nécessaire. Ce travail propose les résultats d'observations SEM et TEM, corrélés avec des analyses par rayons X ainsi que par ellipsométrie et spectrophotométrie.

1. Introduction

L'énergie solaire est disponible partout sur terre. Notre planète reçoit 15000 fois l'énergie que l'humanité consomme. Chaque mètre carré reçoit en moyenne 2 à 3 kWh par jour en Europe du Nord, 4 à 6 kWh par jour entre les tropiques. Les variations saisonnières été/hiver sont de 20% entre les tropiques, mais sont d'un facteur 2,5 dans le nord de la France par exemple. L'exploitation de cette énergie peut se faire de trois manières : thermique, thermodynamique et photovoltaïque.

Le module photovoltaïque convertit sur place et très simplement jusqu'à 36% de cette énergie en courant électrique continu. La ressource est abondante (5% des déserts suffiraient pour alimenter la planète), mais la source (le soleil) n'est pas toujours disponible (nuit, nuages), ce qui implique un stockage, maillon faible du système. Cependant, lorsque le module est placé sur le toit d'une maison, il peut être raccordé au réseau électrique, affranchissant ainsi le système des problèmes de stockage.

L'effet photovoltaïque est obtenu par absorption des photons dans un matériau possédant au moins une transition possible entre deux niveaux d'énergie (semi-conducteur).

Pour pouvoir transférer un électron de la bande de valence à la bande de conduction, en créant un trou dans la première, une énergie par exemple de 1,1 eV pour le silicium cristallin, ou 1,7eV pour le silicium amorphe est nécessaire. Les photons absorbés d'énergie supérieure à ce gap peuvent créer une paire d'électron-trou, l'électron dans la bande de conduction et le trou dans la bande de valence. Pour obtenir un courant, on sépare l'électron et le trou en créant un champ électrique dans un semi-conducteur, une diode p-n. La zone n comporte un excès d'électrons, la zone p un excès de trous, donnant naissance à un champ électrique séparant les charges créées par l'effet photovoltaïque. Une différence de potentiel s'établit aux bornes de la cellule photovoltaïque.

De nombreuses technologies permettent l'élaboration de modules photovoltaïques, parmi lesquelles se trouve la technologie des couches minces sur wafer en silicium cristallin. En particulier, l'élaboration d'hétérojonctions par structure en multicouches silicium amorphe intrinsèque - silicium microcristallin dopé donne des résultats prometteurs. La caractérisation des différentes couches en présence ainsi que de leurs interfaces en fonction des paramètres de croissance et des paramètres du substrat est nécessaire afin de permettre l'optimisation de tels dispositifs. Elle est effectuée par microscopie électronique à balayage (SEM), à transmission (TEM), par diffraction de rayons X, ainsi que par ellipsométrie et mesures par spectrophotométrie.

2. Dispositif expérimental et résultats

Les hétérojonctions étudiées ont été élaborées selon le schéma de la figure 1. Un substrat de silicium cristallin de 250 µm d'épaisseur est recouvert de chaque côté d'une couche de 3 à 7 nm de silicium amorphe intrinsèque, puis de 30 nm de silicium microcristallin dopé. Une couche de 80 à90 nm d'oxyde conducteur (ITO) est ensuite déposée comme contact avant, alors que sur la face arrière il s'agit d'une couche de 110 nm d'ITO à laquelle s'ajoute une couche réfléchissante d'aluminium ou d'argent. Les couches de silicium ont été déposées par plasma à très haute fréquence alors que l'ITO et l'aluminium l'ont été par pulvérisation cathodique. Cette configuration a été déposée sur deux types de substrats: un silicium cristallin plan, puis un silicium cristallin microstructuré par attaque chimique préférentielle. La présence d'une fine couche amorphe intrinsèque entre les deux couches respectivement dopées n et p sert à passiver les liaisons pendantes à la surface du silicium monocristallin. Cette passivation permet d'éviter des pertes de porteurs libres par recombinaison à l'interface. L'intérêt de la microstructuration réside dans le fait que la surface réfléchissante est réduite et la capture lumineuse augmentée par la forme de la structuration ce qui conduit à une augmentation du courant produit. Cependant, des altérations de la déposition des couches sont suspectées en raison de la morphologie du substrat.



Figure 1 – Gauche: Schéma d'une cellule plane. Droite: Schéma d'une cellule microstructurée

Les deux types d'échantillons ont été observés sur un SEM Philips xl30s puis sur un TEM Philips CM300 en coupe transverse. Ces dernières ont été préparées par la méthode des coins clivés pour les échantillons plans. En revanche, afin de cibler les régions d'intérêt pour les échantillons microstructurés, les lames TEM ont été préparées par faisceau d'ions focalisés (FIB).

Les observations en TEM haute résolution des cellules planes ont vérifié la structure amorphe de la couche intrinsèque, son épaisseur. Dans un cas, un début de croissance cristalline a été observé, mais n'a pu être reproduit. En effet, selon [1], la température du substrat pourrait induire une croissance épitaxiale du silicium. Néanmoins, les installations de déposition utilisées ne disposant pas de contrôle en température du substrat, un recuit additionnel à plus haute température que celle de dépôt du silicium amorphe a été effectué sans toutefois montrer un début de recristallisation.

Les analyses SEM des faciès de rupture des échantillons plans ainsi que des échantillons microstructurés montrent que la couche d'ITO présente une croissance granulaire d'abord, puis colonnaire (figure 2). De plus, la déposition des couches sur les pyramides semble d'épaisseur homogène. Cependant, les observations en haute résolution par TEM montrent que la couche d'ITO est plus épaisse au fond des vallées séparant les pyramides. Par contre, la nature de la croissance est confirmée.



Figure 2 –Micrographies SEM de cellules microstructurées. Gauche: vue générale. Milieu: x-section découpée par FIB. Droite: Faciès de rupture.

3. Conclusion

La microstructure d'hétérojonctions Si amorphe/Si cristallin sur supports plans et microstructurés a pu être caractérisée par SEM et par HR-TEM. Les résultats montrent que la couche intrinsèque de Si amorphe a les caractéristiques attendues, de même que la couche de Si microcristallin, mais que la couche d'ITO présente d'une part une croissance différenciée en fonction de l'épaisseur, et d'autre part qu'elle n'est pas d'épaisseur homogène dans le cas de substrats microstructurés.

4. Références

[1] Fujiwara et al, Interface structure in a-Si:H/c-Si heterojunction solar cells chraracterized by optical disgnosis technique, Proceedings of 2006 Hawaii, IEICE and SITA Joint Conference on Information Theory (2006)

Le FIB/EFTEM : un outil original pour la compréhension des modifications structurales par frottement de couches carbonées

L. JOLY-POTTUZ^{1,2}, B. VACHER², J.-M. MARTIN², T. EPICIER¹

1: Laboratoire MATEIS, umr CNRS 5510, INSA de Lyon, 7 avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne Cedex 2: LTDS, umr CNRS 5513, Ecole Centrale de Lyon, 36, avenue Guy de Collongue, 69134 Ecully Cedex.

La technique de préparation d'échantillon FIB a été couplée à la technique d'imagerie EFTEM pour caractériser l'évolution des propriétés physiques de couches minces carbonées sollicitées durant des essais de frottement. La technique FIB permet d'obtenir une coupe transversale des couches et ainsi d'analyser celles-ci de l'extrême surface à l'interface couche/substrat. L'EELS et plus particulièrement l'EFTEM ont été utilisées pour caractériser les propriétés physiques des couches. Ce travail est basé sur les récents travaux de Howe et Oleshko qui ont mis en évidence des relations empiriques entre le maximum d'énergie du pic de faibles pertes d'énergie des électrons et les propriétés physiques des couches. Des analyses des couches minces ont montré des modifications de celles-ci durant le frottement dues à des relaxations de leurs contraintes résiduelles.

Les couches carbonées de type carbone adamantin, également appelées DLC (*diamond like carbon*), prennent leur essor actuellement notamment dans les applications en tribologie. L'utilisation de ces couches permet l'obtention de coefficients de frottement très faibles. La compréhension de leur mécanisme d'action dans la zone de contact est primordiale pour optimiser les systèmes et ainsi atteindre des niveaux de frottement toujours plus faibles.

La technique de préparation FIB (*Focused Ion Beam*) présente un intérêt croissant dans l'étude de systèmes tribologiques car elle permet de réaliser des coupes transversales des couches lubrifiantes et de leurs substrats directement dans la zone usée. Ainsi des analyses de l'extrême surface, de la couche ou de l'interface couche substrat sont possibles. Cette technique de préparation a été couplée à la technique d'imagerie EFTEM (Image-Spectre) pour caractériser des couches DLC avant et après frottement.

Ce travail est basé sur les récents travaux de Howe et Oleshko qui ont déterminé, pour le carbone, des relations empiriques entre l'énergie maximum du pic de faible perte d'énergie des électrons (dite perte par plasmons $-E_p$) et la dureté (*H*) [1] :

$$\log(H) = -7.44 + 6.1\log(E_p)$$
(1)

Toujours pour les espèces carbonées, d'autres relations permettent de relier le maximum de perte d'énergie du pic plasmon à la densité (*D*) ou la fraction sp^3/sp^2 dans les couches (*R*) [2] :

$$\log(D) = -202.71\log(E_p)^2 + 605.84\log(E_p) - 450.72$$
(2)
$$\log(R) = 1.0519\log(E_p) + 1.9563$$
(3)

Ainsi à partir de spectres EELS ou de reconstructions du spectre EELS à partir d'une série d'images EFTEM, il est possible d'obtenir de précieuses informations sur les propriétés physiques des couches de carbone.

Une couche DLC contenant environ 90% de carbone sp^3 pour une dureté d'environ 60 GPa a été analysée avant (figure 1) et après frottement (figure 2). Les analyses EFTEM dans le mode image-spectre montrent une homogénéité des propriétés de la couche puisque le maximum du pic de faibles pertes d'énergie est le même pour les cinq positions choisies (31.7 eV). A partir de cette valeur et des relations indiquées ci-dessus, certaines propriétés de la couche ont été calculées : dureté égale à 52 GPa, densité égale à 3.430 kg/m³ et un rapport sp^3/sp^2 de 87%. Ces résultats sont en accord avec les données physiques indiquées par le fournisseur de la couche et mesurées par d'autres techniques (XANES). Après frottement, on

observe une inhomogénéité de la valeur du maximum du pic de faible perte d'énergie des électrons dans le sens transverse de la couche. On peut donc conclure à une modification de la couche par le frottement. Ainsi, la dureté de la couche a diminué en surface. Ceci s'est accompagné d'une perte de densité et d'une modification du rapport sp³/sp². Cette modification s'explique par un changement du carbone hybridé à 90% sp³ en carbone graphitique pour relaxer les contraintes résiduelles. Sur la figure 2, des structures particulières semblables à des « dendrites » sont observées. Des images en fond noir sans perte sur l'anneau du graphite ont montré qu'il s'agissait de structures graphitiques confirmant les résultats obtenus par EFTEM.



Figure 1: Image filtrée en énergie (30 eV) de la couche DLC ainsi que six spectres reconstruits à partir d'une série d'images (11 à 66 eV). Les mêmes spectres de perte d'énergie sont obtenus dans la couche montrant ainsi l'homogénéité de ces propriétés



Figure 2 : Image filtrée en énergie (30 eV) de la couche DLC après frottement ainsi que neuf spectres reconstruits à partir d'une série d'images (13 à 40 eV). Les analyses montrent une diminution de l'énergie du pic de faible perte d'énergie du substrat vers la surface de la couche

L'utilisation du couplage FIB/EFTEM a permis d'expliquer le comportement d'une couche mince DLC sollicitée sous frottement et d'expliquer les très bas frottements obtenus avec ce système. Elle apparaît donc comme un outil d'avenir pour l'étude de systèmes tribologiques.

[1] J.M. Howe and V.P. Oleshko. Application of valence electron energy-loss spectroscopy and plasmon energy mapping for determining material properties at the nanoscale. Journal of Electron Microscopy 2004; 53 (4): 339-351

[2] Xu S, Tay BK, Tan HS, Zhong L and Tu YQ. Properties of carbon ion deposited tetrahedral amorphous carbon films as a function of ion energy. Journal of Applied Physics 1996; 79(9): 7234-7240

Observation par Microscopie Electronique des effets de chocs dans trois météorites martiennes

B. Van de Moortèle^a, B. Reynard^a, P. Rochette^b, M. Jackson^c, M. Wilson^d, P. McMillan^{d,e}and P. Gillet^a

 ^a Laboratoire de Sciences de la terre, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon, France
 ^b Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement, Europôle Méditerranéen de l'Arbois - BP 80 - 13545 Aix-en-Provence cedex 04, France
 ^c Institute for Rock Magnetism, University of Minneapolis, 291 Shepherd Labs, 100 Union Street S.E., Minneapolis, MN 55455-0128, USA
 ^d Department of Chemistry and Materials Chemistry Centre, Christopher Ingold Laboratories, University College London, 20 Gordon Street, London WC1H 0AJ, UK
 ^e Davy-Faraday Laboratory, Royal Institution of Great Britain, 21 Albemarle Street, London W1S 4BS, UK

Résumé –Les deux météorites martiennes NWA 1950 et NWA 2737 ont la particularité de posséder des olivines de couleur sombre contrairement à la météorite de Chassigny dont les olivines sont vertes. Dans ce travail, nous montrons que ces propriétés optiques sont liées à la présence de nano-précipités métalliques de FeNi au sein même de ces olivines. Ces observations couplées à des mesures de propriétés magnétiques nous permettent de proposer que les olivines de la surface martienne sont un support possible pour les anomalies magnétiques enregistrées à la surface de Mars. Dans ce même travail nous rapportons l'observation et la modélisation d'un nouveau polymorphe de l'olivine se formant à basse température et haute pression.

1. Introduction

Les processus engendrés lors des impacts de météorites sont de bons analogues au processus de transformation de phases à l'intérieur de la Terre. Ces échantillons ont subi des pressions et températures relativement élevées induisant des transformations de phases qu'il est parfois difficile de reproduire en laboratoire. Nous rapportons ici l'étude des 3 météorites martiennes NWA 1950, NWA 2737 et Chassigny. Les deux premières météorites ont la particularité de présenter des olivines (silicate de Fe et Mg le plus abondant dans les planètes telluriques) de couleur noire alors que ce minéral est en général de couleur verte comme c'est le cas pour Chassigny.

2. Observations microstructurales

Origine de la couleur

Les deux météorites dont les olivines sont de couleur sombre (NWA 1950 et NWA 2737) présentent toutes deux des précipités d'une taille moyenne de 7 et 12 nm respectivement alors que Chassigny en est totalement dépourvue (champ sombre annulaire de la figure 1). La déconvolution des spectres EDX obtenus sur la matrice d'olivine et à l'aplomb des précipités aboutit à l'identification de précipités purement métalliques de Fer-Nickel. La réduction d'une partie du métal s'est accompagnée d'une oxydation d'une autre partie en Fe³⁺ comme le montre le spectre Mössbauer (~ 4%). Dans le cas de NWA 2737, la composition des précipités est fonction de la taille : plus les précipités sont gros plus ils sont pauvres en Ni. Les précipités de NWA 1950 sont des précipités de Fe, aucune trace de Ni n'ayant pu être mise en évidence par EDX. Ces observations ont toutes été confirmées par la mesure des propriétés magnétiques : aucun ferromagnétisme pour Chassigny alors que nous avons mesuré une Température de Curie de 770 °C (celle du Fe) pour NWA 1950, et étalée entre celle du Ni (358 °C) et celle du Fe pour NWA 2737 (confirmant la composition variable en Ni des précipités). Ces observations pourraient expliquer les anomalies magnétiques enregistrées sur la surface de Mars par la mission Mars Global Surveyor [1].



Figure 1 –*Images en champ sombre annulaire d'olivines de 3 météorites martiennes : les spots clairs sur NWA 1950 et 2737sont des précipités de FeNi responsables de la couleur sombre de ces olivines.*

Nouvelle phase de l'olivine

Dans la météorite NWA 2737, nous avons observé un deuxième type de microstructure illustré par l'image HRTEM de la figure 2a. Il s'agit d'une zone de composition chimique identique à celle de l'olivine mais dont la Transformée de Fourier (TF) ne peut être indexée que dans le sous-réseau hexagonal anionique de l'oxygène. La spectroscopie Raman montre également deux spectres très proches dans une zone identifiée a priori comme de l'olivine mais la l'olivine. Le 1^{er} est un spectre typique de l'olivine et le 2^{ème} montre d'une part les mêmes pics que l'olivine mais plus large (signature d'un désordre important) et d'autre part des pics supplémentaires : un pic à 760 cm⁻¹ qui peut être interprété comme un défaut de la structure, mais surtout deux pics à 650 et 686 cm⁻¹ qui ne peuvent en aucun cas être attribués à des modes de vibrations de l'olivine mais à un nouveau polymorphe de l'olivine, la phase ζ .



Figure 2–a) image HRTEM de la nouvelle phase ζ de l'olivine. La TF de cette image a pu être indexée selon le réseau hcp des ion O^{2^-} ($a \sim 0.3$ nm et $c \sim 2a$) et un réseau cationique désordonné. b) simulation de V=f(P) montrant l'existence d'une phase ζ , polymorphe de l'olivine, obtenue à température ambiante, à partir de la phase α de l'olivine, par une brusque augmentation de la pression.

Nos observations ont été confortées par des simulations de dynamique moléculaire basées sur un modèle ionique anisotrope (détails dans [2]). La figure 2b est un diagramme V=f(P) obtenu par simulation dans lequel on peut voir outre les phases α,β et γ de l'olivine, la phase ζ . Cette phase a été obtenue par une brusque augmentation de la pression à partir de la phase α -Mg₂SiO₄ (maintenue de manière métastable à une pression de 50 GPa) reproduisant ainsi les effets d'un choc. Les simulations montrent que non seulement cette phase ζ peut être ramenée à la pression ambiante mais surtout qu'elle est moins métastable que les phases β et γ de l'olivine à cette pression. Nous pensons que de nombreuses études précédentes ont observé cette phase ζ mais l'ont confondue avec la phase α en raison des fortes similitudes existant entre ces deux phases (en particulier dans les spectres Raman) [3-5].

3. Conclusion

Le processus de dismutation du Fe dans les olivines de NWA 1950 et NWA 2737 menant à la formation des nano-précipités métalliques a probablement eu lieu lors d'un choc : soit au moment de l'extraction de la météorite, soit lors de l'impact d'un astéroïde sur la planète Mars. Ces olivines constellées de particules ferromagnétiques sont de très bons candidats pour être les porteurs du magnétisme rémanent jusqu'alors inexpliqué de la planète Mars. D'après les calculs, la nouvelle phase ζ de l'olivine se forme à une pression supérieure à 30 GPa et à basse température. Ces conditions de température et pression sont très fréquentes lors des chocs. Nous pensons que cette phase est restée longtemps inaperçue en raison de ces fortes ressemblances avec la phase α de l'olivine.

4. Références

- [1] M.H. Acuna et al., Global distribution of crustal magnetization discovered by the Mars Global Surveyor MAG/ER experiment, Science **284** (1999) 790-793
- [2] A. Aguado et al., Multipoles and interaction potentials in ionic materials from planewave-DFT calculations, Faraday Discussions **124** (2003) 171-184
- [3] R. Jeanloz, Shock effects in olivine and implications for hugoniot data, Journal of Geophysical Research 85 (1980) 3163-3176
- [4] B. Reynard et al., High-temperature Raman spectroscopic and X-ray diffraction study of beta-Mg₂SiO₄: Insights into its high-temperature thermodynamic properties and the beta- to alpha-phase-transformation mechanism and kinetics, American Mineralogist **81** (1996) 585-594
- [5] P.F. McMillan et al., Hydroxyl Groups in beta-Mg₂SiO₄, American Mineralogist 76 (1991) 354-360

Boucles de dislocation dans des alliages ferritiques et martensitiques irradiés par des ions krypton à 500 et 550°C

L. Boulanger^{*}, Y. Serruys

Commissariat à l'Energie Atomique, DEN/DANS/DMN Service de Recherches de Métallurgie Physiques Centre d'Etudes de Saclay, F91191 Gif- sur Yvette, France

Résumé - Dans le cadre de l'étude des microstructures d'irradiation des alliages de fer, des irradiations ont été effectuées à 500 et 550°C dans un alliage ferritique modèle et un alliage martensitique industriel de même teneur en chrome. On montre que des boucles de dislocation prismatiques de diamètre 50-200 nm se forment avec un vecteur de Burgers de type <100>, ceci de manière similaire, dans la structure ferritique et dans la structure martensitique. Une variation du couple flux-temps, à fluence (dose) constante ne modifie pas la population de boucles.

1. Introduction

Les défauts ponctuels (lacunes et interstitiels) produits par irradiation se condensent dans les plans denses en boucles prismatiques contenant une faute d'empilement : respectivement les plans {111} et {110} dans les métaux cfc et cc. Dans ces derniers, compte tenu de l'énergie de faute d'empilement, un cisaillement selon les directions <100> or <110> forme une boucle parfaite a/2 <111> ou a<100> selon les réactions proposées by Eyre and Bullough [1] :

a/2[110] + a/2[00,-1] = a/2 [11, -1] a/2 [110] + a/2 [-1,10] = a [010]

Ce comportement est connu dans le fer et l'objet de ce travail est d'observer l'effet de l'ajout de chrome. Ensuite on présente l'influence de la présence de la taille de grains et la présence d'interfaces en irradiant un alliage martensitique à structure en lamelles. Enfin, on regarde si la structure évolue avec le flux d'irradiation : à savoir, que l'on compare des irradiations pendant 0,3 et 6 heures à fluence constante (dommage).

2. Matériaux et conditions d'irradiation

L'alliage modèle (Fe-9% masse Cr) élaboré par lévitation magnétique à partir d'éléments de haute pureté est constituée de gros grains équiaxes (~50 μ m). Un traitement thermique de recuit à 980°C et revenu à 760°C conduit à l'absence de défauts microstructuraux (dislocations).

L'alliage industriel est l'Eurofer97 (Fe-9%Cr-1%W-0.5%Mn-0.2%V-0.1%Ta-0.1%C) de structure martensitique constitué de lamelles d'épaisseur 1 à 3 µm contenant un réseau de dislocations.

Les irradiations par les ions Kr^{++} de 700 keV sont effectuées dans l'accélérateur Van de Graaff du SRMP, sur des lames minces à une fluence correspondant à un dommage de 3 déplacements par atome (dpa). Pour l'étude de l'effet de flux-temps, à dommage constant, un facteur 20 est appliqué (Table 1).

temps long : 6 h, faible flux		temps court : 0.3 h, fort flux	
taux de dommage (dpa/s)	flux (ions/cm ² .s)	taux de dommage (dpa/s)	flux (ions/cm ² .s)
1.4.10 ⁻⁴	$4.46.10^{10}$	2.8.10 ⁻³	8.9.10 ¹¹

Table 1 – Caractéristiques des irradiations

3. Alliage ferritique Fe-9%Cr

Après l'irradiation, la microstructure est homogène et composée majoritairement de boucles de dislocation contenues dans les plans $\{100\}$ et de vecteur de Burgers <100> (fig. 1). Quelques boucles sont contenues dans les plans proches de $\{112\}$.

Après inclinaison, les boucles présentent une forme originale: la ligne de dislocation qui les limite montre une forme dendritique en « pétales de fleurs » (fig. 2). Cette microstructure dendritique est visible en contraste résiduel quand la boucle est perpendiculaire au faisceau (fig. 3). Elle a été étudiée par Kiritani et al. [2] après irradiation de fer pur par les électrons.

^{*} Auteur à contacter : loic.boulanger@cea.fr – Tel : 01 64 46 29 08

Quelques boucles (<10 %), plus petites et de forme carrée sont présentes entre les grandes boucles (fig. 2,3). Elles possèdent un vecteur de Burgers différent non déterminé et vraisemblablement de type <111>.



Fig. 1 : FeCr : plan 001, boucles sur chant



Fig. 2 : FeCr : structure dendritique

4. Alliage martensitique industriel

Dans l'alliage martensitique, le réseau de dislocations initial n'est pas modifié par l'irradiation. Les même boucles dans les plans {100} sont présentes et cohabitent avec le réseau (fig. 4).



Fig. 3 : FeCr : boucles horizontales en contraste résiduel



Fig. 4 : Eurofer97 : boucles en présence de dislocations

5. Conclusion

Les amas de défauts sont de grandes boucles (50-200 nm) prismatiques situées majoritairement dans les plans $\{100\}$ (parfois # $\{112\}$), avec un vecteur de Burgers b= <100>. Leur forme dendritique (en fleurs) traduit une croissance par montée en compétition avec la présence d'amas lacunaires.

On remarque l'absence de basculement par glissement en accord avec le caractère sessile. Ce comportement diffère de celui des alliages austénitiques dans lesquels les boucles, se défautent, interagissent, perdent leur individualité et glissent pour former un réseau.

Quelques boucles rectangulaires sont présentes. Elles sont vraisemblablement d'espèce $b = \langle 111 \rangle$ et peu fréquentes compte tenu de la mobilité de ce type de dislocations coin.

Ces observations s'appliquent à l'alliage modèle et l'alliage industriel montrant d'une part que la composition n'est pas déterminante et que les interfaces présentes dans l'alliage martensitique ne sont pas des puits de défauts ponctuels.

Le facteur 20 appliqué sur les flux d'irradiation n'a pas d'effet sur les distributions de boucles.

6. Références

B. L. Eyre and R. Bullough, On the formation of interstitial loops in B.C.C. metals, Phil. Mag. 12(1965)31
 M. Kiritani, H. Takata, K. Moriyana and F. Eiichi Fujita, Mobility of Lattice Vacancies in Iron, Phil. Mag. A 40 (1979) 779

Grain Boundary Engineering and $\Sigma 3^n$ Multiple Twinning

Cyril CAYRON^a

^a CEA-Grenoble, DRT/LITEN, GEM@Minatec

1. Abstract

Grain boundary engineering (GBE) suggests that microstructures with a high fraction of "special" grain boundaries have better mechanical properties, like improved corrosion resistance, creep resistance etc. The special Σ 3 grain boundaries, generally resulting from twinning mechanisms by deformation or recrystallisation, are considered to be the "strongest" ones, and many engineers are trying to elaborate microstructures with a high density of Σ 3 grain boundaries and large Twinning-Related Domains (TRDs) [1]. TRDs are constituted by grains linked by twins or by twins of twins and so on, i.e. linked by Σ 3^{*n*} grain boundaries [7]. In that aim, multiple twinned materials are characterised by Electron Back-Scattered Diffraction (EBSD) in a Scanning Electron Microscope (SEM) (see for examples [1],[2]). Although the Σ 3^{*n*} grain boundaries are easy to identify for $n \le 4$, there is no method to automatically identify them for higher twinning orders. Indeed, the distribution of the orientations of multiple twinned crystals is very dense and nearly isotropic for $n \ge 5$ [3], and consequently, it is very difficult to distinguish a random misorientation from a special Σ 3^{*n*} one.

The present study reports the main results of a geometric/algebraic study on the $\Sigma 3^n$ grain boundaries; it explains the method to identify them and to reconstruct the TRDs from EBSD data [4]. Multiple twinning is represented geometrically by a 3D fractal (Fig.1)and algebraically by a groupoid (more details about groupoids are given in [5]). In this groupoid, the variants are the objects, the misorientations between the variants are the arrows between the objects, and the $\Sigma 3^n$ operators are the different types of arrows (expressed by sets of equivalent arrows). Different substructures of this groupoid can be equivalently introduced to encode the operations with strings, such as free groups [6][7] or semigroups [4]. In all the cases, the operators are expressed by sets of equivalent strings and their composition can be determined without any matrix calculation by string concatenations. The composition is multivalued. The composition table of the operators is very useful to identify the $\Sigma 3^n$ grain boundaries and the TRDs in the EBSD maps (Fig. 2). This approach is very similar to the one used to reconstruct the parent grain from EBSD data obtained on the daughter grains (for example the reconstruction of austenitic grains from the martensitic ones) [8]. We illustrate this theoretical approach with some experimental studies on the crystallographic environments of defects in copper interconnections lines.



Figure 1 - 3D fractal representation of Σ^{3^n} multiple twinning and corresponding pole figure



Figure 2 - EBSD map around a void (the white disk) situated in the junction of four grains. In the figure, the $\Sigma 3$ boundaries are in red, the $\Sigma 9$ in yellow, the $\Sigma 27$ in blue and the $\Sigma 81$ in green. The higher order $\Sigma 3^n$ with $n \ge 5$ or the "random" boundaries are in black. The grains around the void are linked by the following rotationsidentifed to some $\Sigma 3^n$ operators by using the groupoid composition table.

2. Références

- [1] M. Kumar, W.E. King, and A.J. Schwartz, Acta Mater. 48, 2081-2091, (2000).
- [2] V.Y. Gertsman and C.H. Henager Jr. Interface Science 11, 403-415, (2003).
- [3] G. Gottstein, Acta Metall. 32, 1117-1138, (1984).
- [4] C. Cayron, Acta Cryst. A63, 11-29, (2007).
- [5] C. Cayron, Acta Cryst. A62, 21-40, (2006).
- [6] B. W. Reed, R. W. Minich, R. E. Rudd and M. Kumar, Acta Cryst. A60, 263-277, (2004).
- [7] B. W. Reed and M. Kumar, Scripta Mater. 54, 1029-1033, (2006).
- [8] C. Cayron, B. Artaud and L. Briottet, Mater. Charac. 57, 386-401, (2006).

Crystallographic considerations on phase transition materials and their applications to the reconstruction of parent grains from EBSD data.

Cyril CAYRON^{a,*}

^a CEA-Grenoble, DRT/LITEN, GEM@Minatec

1. Abstract

When phase-transition materials are fully constituted of daughter grains and when there is neither residual parent phase nor precipitation around the prior parent grains, the information about the parent grains seems to be lost. However, this information is of primary importance in many metallurgical problems. For example, the size of the prior-austenitic grains constitutes a key parameter in the mechanical models of the martensitic steels. In this study, we present a method to reconstruct the parent grains from the EBSD maps.

The daughter crystals inherited from a parent crystal (the variants) and the specific misorientations between them (the operators) form an algebraic structure called groupoid [1]. A program, called GenOVa (Generation of Orientational Variants) has been written to generate the variants (an example is given in Fig. 1) and the groupoid structure [2]. The composition table determined by GenOVa is then used in other program to automatically reconstruct the parent grains from EBSD [3, 4]. The reconstruction programe is called ARPaGE (Automatic Reconstruction of Parent Grains from EBSD data). The algorithms do not imply any equation resolution; it is fast, robust and well adapted to highly deformed materials. It has been implemented in a home-made program written in Python language. The parent grains (morphology and orientation) are reconstructed and the possible variant selection mechanisms are quantified.



Figure 1 – Burgers transition: Hexagonal α variants in orientation relationship with their cubic β parent crystal.

Auteur à contacter : auteur@institution.fr - Tel : 01 02 03 04 05



Figure 2 – EBSD Maps on a titanium alloy (Ti-6Al-V alloy) before and after the reconstruction. One can check that the reconstruction works by looking at the pole figures of the reconstructed grains. These ones are in perfect agreement with simulations (here one can also check that the Burgers orientation is fulfilled, ie <100> α (experimental in blue) // <111> β (reconstructed, in red).

2. Références

- [1] C. Cayron, Acta Cryst. A62, 21-40, (2006).
- [2] C. Cayron, submitted to J. Appl. Cryst.
- [3] C. Cayron, B. Artaud and L. Briottet, Mater. Charac. 57, 386-401, (2006).
- [4] C. Cayron, in preparation for J. Appl. Cryst.

Étude de Réduction et d'Oxydation de l'Anode d'une Pile à Combustible à Oxyde Solide à Support Anode (SOFC)

Antonin Faes^{a,b*}, Aïcha Hessler-Wyser^b, Cécile Lalanne^c, Christian Monachon^b, Mohsine Zahid^d, Enrico Tagliaferri^e, Jan Van herle^a

^aLaboratoire d'Energétique Industrielle (LENI), EPFL, CH-1015 Lausanne.
 ^bCentre Interdisciplinaire de Microscopie Electronique (CIME), EPFL, CH-1015 Lausanne.
 ^cICMCB, CNRS, Université Bordeaux 1, Av. Dr. Schweitzer 87, F-33608 Pessac.
 ^dEDF – EifER, Emmy-Noether Strasse 11, DE-76131 Karlsruhe.
 ^eHTceramix SA, Av. des Sports 18, CH-1400 Yverdon-les-Bains.

Résumé – Le but de cette étude est de comparer la microstructure de l'anode en fonction des conditions de réduction et lors de cycles redox. Pour réaliser ce projet, un code *Mathematica*® est développé. Celui-ci permet de traiter et d'analyser des images SEM pour en extraire la proportion des différentes phases, leur taille de grain et leur contiguïté.

1. Introduction

Les piles à combustible à oxyde solide (SOFC) constituent une des technologies les plus efficaces pour la conversion d'énergie chimique en énergie électrique et thermique.

L'oxygène est réduit à la cathode et l'oxydation du combustible à l'anode libère des électrons (figure 1). L'électrolyte couramment utilisé est la Zircone Stabilisée avec 8 mole% d'oxyde d'Yttrium (YSZ), conducteur ionique permettant le transport des ions oxygène (O²⁻). La cathode peut être constituée de différents matériaux, le plus classique étant une manganite de lanthane dopée au strontium (LSM)[1]. Enfin, l'anode est un cermet composé de nickel et d'YSZ (figure 2). Les cellules planaires SOFC peuvent être à support électrolyte, à support anode ou à support inerte.



Figure 1 – Schéma du principe de fonctionnement d'une cellule SOFC à anode support.

Un paramètre limitant le fonctionnement des SOFC est la stabilité du matériau d'anode aux cycles redox. Les phases d'arrêt et de démarrage, une forte polarisation ou un appauvrissement en combustible peuvent entraîner une ré-oxydation partielle du nickel. La variation de volume entre le nickel et son oxyde entraîne des contraintes dans le cermet pouvant générer des fissures dans la cellule (figure 3)[2].



Figure 2 – Cliché SEM de la tranche d'une cellule SOFC avant réduction.

Lors de travaux effectués (qui ne sont pas présentés dans ce résumé), il a été observé que les performances électrochimiques des cellules SOFC augmentaient avec l'élévation de la température de réduction de l'anode.

^{*} Auteur à contacter : antonin.faes@epfl.ch – Tel : +41 21 693 44 37

Cette différence de performance pourrait être liée à un changement de microstructure de l'anode. Les réactions électrochimiques se produisent aux points triples (Triple Phase Boundary, TPB)[3], c'est-à-dire le lieu où sont présents simultanément les particules nickel pour le transport d'électrons, la phase YSZ fournissant les anions d' oxygène et l'hydrogène gazeux diffusant via les pores (équation 1).

$$H_2 (\text{porosités}) + O^2 (\text{YSZ}) \iff H_2 O (\text{porosités}) + 2e^- (\text{nickel})$$
 (1)

En diminuant la taille des grains, le nombre de sites de réaction augmente, ce qui améliore les performances électrochimiques.



Figure 3 – Fissuration de la demi-cellule (sans cathode) après sa ré-oxydation.

2. Expérimental

Les échantillons d'anode ont été réduits à différentes températures puis préparés par FIB (Focused Ion Beam) pour avoir une surface propre et des porosités bien visibles.

Les images ont été prises avec un microscope FEI XL30 SFEG à une tension d'accélération de 1 kV avec un détecteur TLD (Through Lense Detector).

Le traitement d'image précédant l'analyse se compose de plusieurs étapes :

- 1. Correction de la dérive lumineuse.
- 2. Redressement de l'angle de tilt (dû à la section transverse produite avec le FIB).
- 3. Seuillage de l'image.
- 4. Séparation des particules par traitement d'image binaire.
- 5. Labellisation des particules.

3. Résultats

À partir des images traitées, plusieurs informations ont été obtenues :

- 1. La proportion des phases , à savoir le nickel, l'YSZ et la porosité.
- 2. La taille moyenne des particules (selon plusieurs méthodes).
- 3. La contiguïté des phases, c'est-à-dire le degré de contact à l'intérieur d'une phase ou entre deux phases.
- 4. L'orientation de la microstructure.

4. Conclusion

Le code développé a permi d'analyser quantitativement et de façon statistique la microstructure du composite étudié.

L'analyse quantitative de la microstructure à l'échelle microscopique n'a pas permis de trouver une loi de dépendance de la microstructure en fonction de la température de réduction. Par contre à l'échelle nanoscopique des changements sont observables. D'autre part, lors de la ré-oxydation, le changement de microstructure est important, même à l'échelle du micron.

5. Références

- [1] S.C. Singhal et K. Kendall, *High Temperature Solid Oxide Fuel Cells Fundamentals, Design and Applications*, Elservier Press (2003).
- [2] D. Fouquet, A.C. Müller, A. Weber, E. Ivers-Tiffée, *Kinetics of oxidation and reduction of Ni/YSZ cermets*, Ionics **9** (2003) 103-108.
- [3] A.V. Virkar, J. Chen, C.W. Tanner, J.-W. Kim, *The role of electrode microsctructure on activation and concentraction polarizations in solid oxide fuel cells*, Sol. States Ion. **131** (2000) 189-198.

Etude des différents composants d'électrodes de piles à combustible PEMFC

Laure Guétaz*, Denis Venet*, Arnaud Morin, Sylvie Escribano

**GEM-Minatec, LITEN/DTH/LCPEM, CEA-Grenoble, 38054 Grenoble Cedex 9, France* LITEN/DTH/LCPEM, CEA-Grenoble, 38054 Grenoble Cedex 9, France

Les piles à combustible suscitent actuellement un grand intérêt car elles sont un moyen de production électrique n'émettant pas de gaz à effet de serre. Les piles à membrane échangeuse de protons (ou PEMFC pour *Proton Exchange Membrane fuel Cell*) sont le type de pile le plus étudié. Leurs applications sont multiples, autant dans le domaine de l'automobile que le domaine des générateurs stationnaires ou portables. Le cœur de ces piles est constitué de deux électrodes, l'anode alimentée en hydrogène et la cathode alimentée en oxygène, séparées par une membrane de polymère conducteur protonique de 20 à 100 µm d'épaisseur. Les électrodes sont quant à elles constituées d'un matériau carboné à très grande surface spécifique (en général du noir de carbone dont les grains ont un diamètre d'environ 50 nm) supportant des catalyseurs (le plus souvent des nanoparticules de Pt de 2 à 5 nm de diamètre) et imprégné du polymère conducteur protonique (Figure 1). Les réactions électrochimiques souhaitées n'ont lieu que sur les catalyseurs qui sont à la fois en contact avec le gaz réactif, le carbone conduisant les électrons jusqu'au collecteur électrique et le polymère permettant la conduction du proton jusqu'à la membrane. Ainsi, la connaissance de la répartition des trois constituants des électrodes est importante si l'on veut interpréter leurs performances.



Figure 1 : Observation par MEB-FEG d'une électrode de PEMFC

Des observations par microscopie électronique à balayage et en transmission ont alors été effectuées sur des coupes obtenues par ultramicrotomie. Un des objectifs est la détermination de la porosité des électrodes, paramètre important pour assurer une bonne distribution des gaz. Pour cela, il est nécessaire de visualiser non seulement les grains de carbone mais aussi le polymère conducteurs protonique qui les enrobe. Le polymère est cependant difficile à imager au sein d'une lame obtenue par ultramicrotomie.

Les nanoparticules de catalyseurs ont aussi été étudiées afin de déterminer d'une part leur distribution en taille et leur répartition spatiale, et d'autre part, dans le cas de catalyseurs bimétalliques Pt-Ru, leur composition chimique et leur structure cristallographique, cfc ou hcp (Figure 2).



Figure 2 : Etude de la structure cristallographique (cfc ou hcp) de catalyseurs Pt-Ru utilisés dans les PEMFC.

Apport et complémentarité de différentes techniques de microscopie électronique pour la caractérisation de nano-précipités dans un acier martensitique

V. Vidal^{a,1}, F. Pettinari-Sturmel^a, J. Douin^a, A. Coujou^a, F. Houdellier^a

^a CEMES-CNRS, 29 rue Jeanne Marvig, BP 94347, 31055 Toulouse Cedex 4

Résumé - L'objectif de ce travail est d'analyser la microstructure d'un acier présentant une double précipitation de nano-précipités de carbures et d'intermétalliques NiAl par l'utilisation conjointe de différentes techniques de MET.

Le présent travail concerne l'étude de la microstructure du nouvel acier ML1014 destiné en particulier à des applications aéronautiques dont les très hautes caractéristiques mécaniques sont conférées par la présence d'une double précipitation de carbures et de phase intermétallique β Ni-Al qui interagit avec les dislocations de la matrice martensitique.

Les nanoprécipités présents dans l'acier ont été caractérisés par l'utilisation conjointe de différents modes de microscopie électronique en transmission. En effet, le SACTEM-Toulouse, un TECNAI F20 avec correcteur d'aberration sphérique permet, sur une même zone, la réalisation d'études structurales en Haute Résolution (METHR) et chimiques en spectroscopie de pertes d'énergie des électrons par l'utilisation de spectre-ligne et spectre-image (STEM EELS). Le CEMES offre en outre la possibilité de réaliser des essais de traction in situ avec un JEOL 2010 haut contraste.

Les observations en MET conventionnelle ont montré la présence de lattes martensitiques et d'une forte densité de dislocations caractéristiques de la microstructure complexe des aciers (figure 1).

Après un traitement thermique de précipitation de 100 heures à 500°C, les carbures observés sous forme de bâtonnets (« couchés » ou « debout ») de longueur proche de 50 nm et de largeur de l'ordre de 7 nm présentent une structure hexagonale identifiée par diffraction électronique en précession. Ces carbures correspondraient donc à des carbures de type M_2C ou M_7C_3 .

Les observations en haute résolution (METHR) ont permis une identification précise des carbures (figure 2) et des précipités intermétalliques NiAl. Ces derniers, plutôt sphériques, ont des dimensions de l'ordre de 5 nm, voire inférieures selon les durées de revenu et donc selon la nuance observée. Il est aussi possible, à partir des images METHR, de remonter à l'état de déformation au voisinage des différents précipités en utilisant la méthode des phases géométriques [1, 2].

Quant aux analyses EELS, elles ont permis d'obtenir des informations chimiques locales très précieuses nous permettant de différencier les différents nano-précipités.

Finalement, il est important de rappeler qu'une des étapes dans l'étude de ces aciers est aussi d'obtenir des informations sur les micro-mécanismes de déformation. Ainsi, afin de suivre en temps réels l'évolution des paysages de dislocations sous contrainte, nous commençons à mener des essais de traction MET in-situ.

L'ensemble de ces techniques très complémentaires est donc particulièrement approprié à l'étude et à la caractérisation fine de cette nouvelle génération d'acier.

Remerciements

Cette recherche a été soutenue financièrement par l'ANR dans le cadre du projet AMARAGE du programme RNMP 2005.

Références

- [1] M.J. Hÿtch, E. Snoeck et R. Kilaas, *Quantitative measurement of displacement and strain fields from HREM microcraphs*, Ultramicroscopy **74** (1998) 131-146
- [2] *GPA Phase* plug-in for DigitalMicorgraph (Gatan) available from HREM research Inc. : www.hremresearch.com

¹ Vanessa Vidal : vidal@cemes.fr – Tel : 05 62 25 78 70



Figure 1 Vue d'ensemble de la nuance ML1014 : observation de lattes martensitiques



Figure 2 Image en haute résolution d'un carbure « debout » dans la nuance ML1014

Orientation relationships between ferrite and Fe₄N nitride in hypoeutectoid iron-nitrogen binary alloy

X.-C. Xiong^a, A. Redjaïmia^a, M. Gouné^{a,b}

^aLaboratoire de Science et Génie des Surfaces, URA-CNRS 1402, Ecole des Mines, Parc de Saurupt, 54042 Nancy Cedex, France ^bAutomotive Products Research Center, ARCELOR RESEARCH, 57283 Maizières-lès-Metz Cedex, France

Summary – In this study, a hypoeutectoid Fe-N binary alloy was prepared by nitriding in autenitic domain at 840 °C. The slow cooling of this alloy led to the Ferrite + Fe_4N microstructure which is similar to the pearlite in Fe-C system. This pearlitic microstructure has been characterized by electron microscopy. The crystal structure of Fe_4N has been identified by electron microdiffraction. In this pearlitic microstructure, the Nishiyama-Wassermann orientation relationship is developed between the ferrite and the Fe_4N nitride.

1. Introduction

Investigations on iron-carbon pearlite have already extended for many years, and wealth of crystallographic data has been obtained. But with iron-nitrogen binary alloys, which also undergo a eutectoid reaction, similar observations have seldom been made. In this case, the austenite decomposes at eutectoid point (592 °C and 2.4 wt.%) to the ferrite and FCC nitride Fe₄N. This eutectoid product, labelled nitrogen pearlite, is similar to the carbon pearlite.

In this study, Scanning and Transmission Electron Microscopy (SEM and TEM) were used to investigate the nitrogen pearlite in an hypoeutectoid iron-nitrogen binary alloy. Electron Microdiffraction method was used to characterize the crystal structure of the Fe_4N nitride and to determine the orientation relationship between the ferrite and the Fe_4N nitride.

2. Experimental

Sheets of pure iron were nitrided in ammonia-hydrogen gas mixture in austenitic domain at 840 °C. After nitriding, specimens were maintained at 840 °C at different holding time up to 2 hours and then were slowly cooled in the furnace. These heat treatments allow a uniform nitrogen distribution. Nitrogen contents (around 0.2 wt.%) were measured by a thermobalance.

3. Characterisation of nitrogen pearlite

The SEM image (Fig. 1) shows clearly the structure of hypoeutectoid Fe-N alloy. Lamellar aggregates of nitrogen pearlite are distributed throughout the proeutectoid ferrite. A dark field TEM image (Fig. 2) shows the lamellar pearlitic structure which is composed of ferrite and a nitride. This microstructure is similar to that of hypoeutectoid carbon steels.

The crystallographic features of the nitride were determined from the recorded microdiffraction patterns by a systematic method given in detail elsewhere [1, 2]. This investigation led to the conclusion that the nitride belongs to $Pm\bar{3}m$ space group with a lattice parameter a=3.79 Å, . The latter has been determined by X-ray diffraction. Based on these results, this nitride corresponds to γ' -Fe₄N.

The microdiffraction patterns (Fig. 3-4) have revealed the well-known Nishiyama-Wassermann (N-W) orientation relationship [3, 4] between the ferrite and the Fe_4N nitride in the nitrogen pearlite, i.e.:

$$(011)\alpha // (111)\gamma'; [100]\alpha // [110]\gamma'; [011]\alpha // [112]\gamma'$$

The figure 4 points out a departure from the exact N-W orientation relationship. This departure could be related to the fact that the specimen has been slowly cooled in the furnace, leading to a local nitrogen depletion of the ferrite.

4. Conclusion

This investigation shows that the slow cooling of a hypoeutectoid Fe-N alloy leads to an eutectoid product which is composed of ferrite and Fe_4N nitride. As far as we are aware, the crystallographic Nishiyama-Wassermann orientation relationship between the ferrite and the Fe_4N nitride is the first data published on this topic.

5. References

- [1] J. P. MORNIROLI and J. W. STEEDS, *Ultramicroscopy* **45** (1992) 219.
- [2] A. REDJAIMIA and J. P. MORNIROLI, *ibid.* **53** (1994) 305.
- [3] Z. NISHIYAMA, Sci. Rep. Tohoku Univ. 23 (1934) 638.

[4] G. WASSERMAN, Arch. Eisenhuttenwesen **16** (1933) 647.



Fig. 1 SEM image of nitrogen pearlite.
Fig. 2 TEM Dark Field image showing lamellar structure of nitrogen pearlite.
Fig. 3 Diffraction pattern [0-11]α (solid line) // [-1-12]γ' (dotted line) zone axis pointing out the N-W orientation relationship between ferrite and γ'-Fe₄N: [011]α// [111]γ', [100]α// [1-10]γ'
Fig. 4 Diffraction pattern along [-1-11]α (solid line) // [-101]γ' (dotted line) zone axis pointing out a departure from the exact N-W orientation relationship: [011]α 1.5° from [111]γ', [112]α 1.5° from [101]γ'

Caractérisation structurale multi-échelle par microscopies de la transformation allotropique $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS

O.Yousfi^{a,*}, F.Charlot^b, P.Donnadieu^a, Y.Brechet^a, A.Kasper^c, Y.Demars^d, F.Serruys^d

^a SIMAP INPGrenoble-CNRS-UJF, Domaine Universitaire, BP 75, 1130 rue de la piscine 38402, Saint Martin d'Hères
 ^b CMTC INPG, Domaine Universitaire, BP 75, 1130 rue de la piscine 38402, Saint Martin d'Hères
 ^c FEB (Forschung & Entwicklung Bauglas), Saint-Gobain Glass Deutschland Gmbh, Glasstrasse 1, D-52134 Herzogenrath
 ^d CDI (Centre de Développement Industriel), SAINT-GOBAIN GLASS France, CDI BP 31-60150 Thourotte.

Résumé - La compréhension de la transformation allotropique $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS nécessite une caractérisation microstructurale à différentes échelles pour pouvoir déterminer les mécanismes élémentaires. La caractérisation multi-échelle a été obtenue en combinant microscopie optique et les microscopies électroniques à balayage (MEB) et en transmission (MET). En optique les observations des grains et des microstructures des deux phases sont possibles en lumière polarisée. En MEB, en l'absence d'un contraste chimique, les observations sont possibles grâce à l'existence d'un contraste cristallin résultant d'une modification des microstructures liées à la transformation. En MET, les échantillons préparés par ultramicrotomie mettent en évidence une structure lamellaire d'échelle nanométrique dans les zones transformées.

1. Introduction

La transformation de phase $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS a été étudiée dans le passé essentiellement d'un point de vue macroscopique en suivant la cinétique par calorimétrie différentielle. Les résultats microstructuraux sur ce système se limitent une étude en microscopique optique en contraste Nomarski. La transformation allotropique $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS est difficile à étudier en MEB car elle se produit à composition quasi-constante. En combinant la microscopie optique en lumière polarisée et en tirant parti du contraste cristallin des électrons rétrodiffusées en imagerie MEB-FEG (Field Emission Gun), nous avons pu obtenir un suivi microstructural de la transformation. Les Sulfures de Nickel étant très fragiles, les méthodes de préparation classiques des lames minces pour le MET, ne sont pas adaptées. Cependant en utilisant l'ultramicrotomie, une technique de préparation classique en biologie, des observations de la microstructure à fine échelle due à la tranformation ont été rendues possibles.

2. Caractérisation à différentes échelles de la transformation $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS.

• Microscopie optique

La révélation des phases α et β -NiS, sur des échantillons partiellement transformés, est obtenue en microscope optique entre polariseur et analyseur croisés. Les phases α et β -NiS qui ont des structures cristallines respectivement hexagonales et rhomboédriques, sont optiquement anisotropes. Cette anisotropie permet d'avoir en lumière polarisée un contraste selon l'orientation des grains (*Figure 1a*). Sur des échantillons partiellement transformés, la phase β qui correspond aux zones de couleurs jaune et bleu ciel sur la *Figure 1*b se développe sous forme de lamelles dans différents grains de α . Une deuxième illustration de la microstructure de la phase β est présentée en *Figure 1*c. Ces micrographies optiques mettent clairement en évidence le caractère hétérogène de la transformation : la fraction de β est différente d'un grain à l'autre. L'observation de petites zones transformées isolées dans des grains indique que la cinétique de transformation est contrôlée par la diffusion et non par un mécanisme displacif comme pourrait le suggérer la comparaison des structures.



Figure 1 : Observation en microscopie optique entre polariseur et analyseur croisés : (a) échantillon non transformé (b et c) : échantillon partiellement transformé f~10% et 15% respectivement

Ainsi le microscope optique, muni de polariseur et analyseur, permet d'obtenir des informations macroscopiques sur la transformation. Néanmoins, il est limité en résolution. Il ne permet pas d'avoir une information 'plus fine'. Il est donc nécessaire d'utiliser d'autres méthodes de caractérisation comme le MEB et le MET.

• Microscopie électronique MEB FEG et MET :

^{*} Auteur à contacter : Oussama. Yousfi@Ltpcm.inpg.fr – Tel : 04 76 82 65 09

En MEB, la phase β ne peut pas être classiquement mise en évidence en contraste chimique à l'aide des électrons retrodiffusés car il n'y a pas de différence de composition chimique. Par contre les structures cristallines des phases α et β -NiS sont différentes. Sous certaines conditions, il est alors possible d'observer un contraste cristallin entre les deux phases. Ce dernier met en évidence les lamelles de phase β *Figure 2b*. L'identification de la phase β est faite en comparant aux morphologies déjà observées en microscopie optique. Des premiers stades de la transformation ont été observés aux joints de grains (*Figure 2a*) : ils se présentent sous forme de grains nanométriques de phase β régulièrement répartis le long d'un joint entre 2 grains de phase α . La régularité de ces germes incite à examiner par la suite la microstructure de la phase α .



Figure 2 : Observation à différentes échelles de la microstructure de **β**

Le contraste cristallin faiblement strié à l'intérieur des lamelles β est un signe d'une microstructure fine qui a été ensuite mise en évidence par MET, *Figure 2c*. Les lamelles observées dans la phase β sont parallèles aux plans prismatiques, elles présentent des maclages ou de faibles désorientations entre elles.



(a) sur un éclat d'échantillon sans polissage
 (b) sur un échantillon poli
 (c) sur une zone mince en MET
 Figure 3 : Observation à différentes échelles de la microstructure de α : ((a et b) MEB FEG, (c) MET)

Concernant la phase α -NiS, les observations en MEB-FEG montrent qu'elle aussi a un aspect lamellaire (*Figure 3 a et b*) qui est dû d'après les observations MET (*Figure 3c*) à des fautes dans les plans (001).



(a) : Précipitation de Ni_3S_4

(b) Interfaces α/β (vue d'ensemble)

(c) Marches au niveau de l'interface α/β

Figure 4 : Ech NiS~10% transformé:

L'interface entre les phases α/β -NiS présente un enrichissement en S qui se traduit par la précipitation de Ni₃S₄ *Figure 4a.* La *Figure 4* (b et c) montre des marches (~200nm) à l'interface α/β -NiS avec précipitation de la phase Ni₃S₄. En utilisant toutes les informations acquises par MEB et MET sur les états partiellement transformés, on parvient à une interprétation de la microstructure (*Figure 4c*).

3. Conclusion

Le contraste cristallin en électrons rétrodiffusés permet d'assurer le lien entre les observations en microscopie optique, en lumière polarisée, qui sont trop limitées en résolution et les images MET qui ne donnent aucune information à l'échelle des grains. Le couplage entre les différentes techniques permet d'extraire des aspects clés de la transformation qui seront utilisés pour une modélisation des cinétiques à partir des mécanismes élémentaires de la transformation $\alpha \rightarrow \beta$ -NiS.

Etude de la croissance de nanofils de semiconducteurs III-V

G. Patriarche, J.-C. Harmand, M. Tchernycheva, C. Sartel, I. Sagnes, L. Travers et F. Glas

Laboratoire de Photonique et de Nanostructures CNRS Route de Nozay 91460 Marcoussis

La croissance de nanofils de semiconducteurs III-V catalysée par des billes d'or est mis en oeuvre au laboratoire dans un bâti d'Epitaxie par Jet Moléculaire. Cette méthode de croissance est appelée « VLS » (Vapour-Liquid-Solid). Les billes métalliques, liquides à la température de croissance, incorporent les espèces adsorbées en surface. La zone de croissance est l'interface métal « liquide » / cristal « solide ». En début de croissance, la surface solide est le substrat. Afin que tous les nanofils poussent orientées perpendiculairement à la surface du substrat, on utilise des substrats orientés {111}. Les nanobilles d'or utilisées comme catalyseur sont formées par démouillage, obtenu par recuit, d'une fine couche d'or (d'épaisseur nominale 3 nm environ) déposée sur le substrat. L'étude structurale des nanofils de GaAs (comme d'ailleurs d'InAs) a montré que leur croissance se faisait dans le système hexagonal « Wurzite » (empilement des plans denses de type « ABAB» dans l'axe de croissance qui est la direction [0001]) avec cependant l'insertion de quelques séquences cubiques, en densité et largeur variable, au cours de la croissance du fils. Les séquences cubiques sont souvent associées à de légers changements du diamètre des tiges.

Par ailleurs, nous avons montré que la composition des billes métalliques au sommet des nanotiges peut être très riche en gallium. Si l'on arrête simultanément le chauffage du substrat ainsi que les flux de gallium et de d'arsenic (afin de bloquer la croissance), l'analyse chimique ex-situ des billes (par EDX dans le TEM) montre qu'elles sont constituées par un monocristal d'alliage stoechiométrique AuGa de structure quadratique. Pour retrouver une bille d'or pur il faut couper le flux de gallium en maintenant la température et le flux d'arsenic. En fonction des conditions dans lesquels on réalise l'arrêt de croissance, mais aussi en fonction de la longueur des nanotiges, on a aussi observé d'autres alliage comme Au7Ga2 (composé de structure hexagonale). Il faut souligner que tous ces alliages sont fusibles à la température d'épitaxie (590°C). Cela ne serait pas le cas pour l'or pur, même en prenant en compte les effets de taille des nanobilles. A noter qu'on ne trouve jamais présence d'arsenic dans les billes métalliques. On peut penser que sa limite de solubilité, très faible dans le liquide Au/Ga, pilote la croissance des nanotiges de GaAs.

References:

[1] Analysis of vapor-liquid-solid mechanism in Au-assisted GaAs nanowires growth, J.-C. Harmand, G. Patriarche, N. Péré-Laperne, M.-N. Mérat-Combes, L. Travers and F. Glas Applied Physics Letters **87** (2005) 203101

[2] Temperature conditions for GaAs nanowire formation by Au-assisted molecular beam epitaxy, M. Tchernycheva, J.-C. Harmand, G. Patriarche, L. travers and G. E. Cirlin Nanotechnology **17** (2006) 4025-4030

[3] Vapor-liquid-solid mechanisms: Challenges for nanosized quantum cluster/dot/wire materials, P. Cheyssac, M. Sacilotti and G. Patriarche J. Appl. Phys. **100** (2006) 044315

Formation de Nanocristaux de Ge sur SiO₂ par démouillage : application à des mémoires non volatiles.

P. D. Szkutnik ^{a,*}, A. Karmous ^a, A. Ronda ^a, I. Berbezier ^a, A. Sgarlata ^b, A. Balzarotti ^b, N. Nunzio ^c, K. Gacem ^d, A. El Hdiy ^d et M. Troyon ^d

^a L2MP – CNRS UMR 6137, Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme, Avenue Escadrille Normandie Niemen -Case 142, 13397 Marseille Cedex 20, France

^b Università degli studi di Roma 'Tor Vergata', Dipartimento di Fisica, Via delle ricerca scientifica 1, 00133 Roma – Italia ^c Queensland University of Technology – GPO BOX 2434 Brisbane 4001 - Australia

^d Laboratoire de Microscopies et d'Etude de Nanostructures (EA 3799), Bât. 6, case n°30, UFR Sciences, Université de Reims, 51687 Reims cedex 2, France

Résumé – Le phénomène de démouillage entre une couche de Ge déposée par épitaxie par jet moléculaire et un substrat de SiO₂ est utilisé pour obtenir des boîtes quantiques et permettre la réalisation de mémoires à nanocristaux. Nos études, par microscopie électronique, montrent que le diamètre (et la densité) des gouttes dépendent directement de l'épaisseur de la couche de Ge déposée, de façon linéaire, par Ø=7×e. De plus, une structuration préalable de la surface, par un réseau de trous, conduit à une auto-organisation de ces dernières. Enfin, des mesures électriques révèlent un effet tunnel résonnant attribué à l'effet de confinement pour les boîtes les plus petites (4 nm de diamètre).

1. Introduction

La réalisation de nouveaux composants à base de semi-conducteurs tels que les mémoires à un seul électron nécessite un fort confinement quantique à température ambiante. Différentes études montrent que l'hétéroépitaxie de Ge/Si [1] aboutit à la formation de boites quantiques qui peuvent être ordonnées par la structuration préalable de la surface [2]. Toutefois, dans la conception de transistors, l'étape précédente d'oxydation génère un oxyde tunnel de plus ou bonne qualité et d'une épaisseur plus ou moins contrôlée. C'est pourquoi, nos études portent sur ce nouvel axe d'investigation, l'étude de la formation de nanocristaux de Ge directement sur une couche de SiO₂ d'épaisseur définie. Dans le cas du système Si/SiO₂ [3, 4] le phénomène de démouillage explique la formation de nanocristaux de Si.

2. Résultats

Sur une couche de 5 nm d'épaisseur de SiO₂ réalisée sur un substrat Si(100), le Ge est déposé par épitaxie par jet moléculaire sous un vide de 10^{-11} mbar à température ambiante formant une couche amorphe d'épaisseur e. Des couches de différentes épaisseurs *e* ont été réalisées : 0.5 nm < *e* < 10 nm. Suite au recuit de 30 min à 700°C, le phénomène de démouillage opère complètement donnant lieu à la formation de nanocristaux de Ge.

La microscopie électronique en transmission renseigne sur la morphologie des plus gros nanocristaux obtenus pour e > 1.5 nm. A l'aide de vues en coupe transverse, les nanocristaux présentent un angle de mouillage constant : $\theta = 54^{\circ}$, ainsi qu'un aspect ratio (hauteur /diamètre) constant, 0.8, pour les différentes épaisseurs. Nous concluons que le système a donc adopté une phase stable. Grace aux vues planes, des distributions de tailles ont été établies et montrent que le diamètre des nanocristaux suit une loi linéaire en fonction de l'épaisseur : $\emptyset = 7 \times e$. Cette même relation est démontrée en se basant sur une théorie de conservation de la masse de Ge déposée. Considérant alors les nanocristaux comme des sphères tronquées, une densité théorique est calculée qui s'avère être en bon accord avec celle déterminée expérimentalement. A partir de ces lois, le diamètre et la densité des nanocristaux résultant du démouillage de couches d'épaisseur plus fine (e = 0.5 nm) ont été déduits et annoncent une densité de 1.7×10^{12} cm⁻² et un diamètre moyen de ~ 4 nm confirmé par des clichés en haute résolution.

Afin d'ordonner les nanocristaux de Ge et par conséquent réduire leur dispersion de tailles, des expériences de démouillage ont été réalisées avec des couches de SiO_2 arborant un réseau de trous réguliers. Pour des épaisseurs identiques de Ge déposée, les images de microscopie à force atomique montrent un arrangement régulier des ilôts, en accord avec le réseau de trous pré-établis, sur une surface structurée par rapport à une surface non structurée.

Enfin, pour tester les performances des nanocristaux de Ge dans le cadre de mémoires non volatiles, des nanocristaux de diamètre variant de 4 à 40 nm ont été élaborés puis recouvert d'une couche de Si amorphe de 18 nm d'épaisseur. Des mesures I(V) et C(V) de ces échantillons présentent un effet de tunnel résonnant seulement pour les nanocristaux possédant un diamètre moyen de 4 nm et une densité de 1.7×10^{12} cm⁻². Le nombre effectif d'électrons inclus dans ce procédé a été estimé entre 3 et 15.

^{*} Auteur à contacter : pierre.szkutnik@l2mp.fr – Tel : 04 91 28 91 64
3. Conclusion

La taille et la densité de nanocristaux de Ge formés sur une couche de $SiO_{2,}$ résultant d'un phénomène de démouillage, est contôlée par le biais de l'épaisseur de la couche amorphe de Ge déposée. Des nanocristaux de 4 nm de diamètre moyen avec une densité de 1.7×10^{12} cm⁻² ont ainsi été élaborés et présentent un effet de tunnel résonnant lors de mesures éléctriques.

- [1] F. Patella, A. Sgarlata, F. Arciprete, S. Nufris, P. D. Szkutnik, E. Placidi, M. Fanfoni, N. Motta et A. Balzarotti, *Self-assembling of InAs and Si/Ge quantum-dots on structured surfaces*, J. of Phys. : Cond. Mat. 16 (2004) S1503R
- [2] P. D. Szkutnik, A. Sgarlata, S. Nufris, N. Motta et A. Balzarotti, *Real-time scanning tunneling microscopy observation of the evolution of Ge quantum dots on nanopatterned Si(001) surfaces*, Phys. Rev. B 69 (2004) R201309
- [3] B. Legrand, V. Agache, T. Mélin, J. P. Nys, V. Senez et D. Stiévenard, Thermally assisted formation of silicon islands on a silicon-on-insulator substrate, J. of App. Phys. **91** (2002) 106
- [4] David T. Danielson, Daniel K. Sparacin, Jurgen Michel et Lionel C. Kimerling, *Surface-energy-driven dewetting theory of silicon-on-insulator agglomeration*, J. of App. Phys. **100** (2006) 83507

Caractérisation par microscopie électronique haute résolution de nanofeuillets de Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂

Véronique Madigou, Virginie Chevallier, Geneviève Nihoul

Laboratoire L2MP - UMR CNRS 6137, Université du Sud Toulon-Var, Bat R , BP 20132, 83957 La Garde Cedex

Résumé – Des nanoparticules d'une phase d'Aurivillius, BTO substituée par le lanthane ($Bi_{4,x}La_xTi_3O_{12}$, avec x=0.75), ont été obtenues par un procédé de lithiation-exfoliation. Ces particules ont une forme de plaquette avec leur grand axe **c** perpendiculaire au plan. Grâce aux images haute résolution, nous pouvons dire que le phénomène de délamination a lieu au niveau de la couche Bi_2O_2 et que cela conduit à sa destruction. La particule la plus fine que nous ayons obtenue à une épaisseur de 3,3 nm ce qui correspond à un paramètre de maille.

1. Introduction

La phase d'Aurivillius $Bi_4Ti_3O_{12}$ (BTO) présente une structure en feuillets constituée d'un groupement de trois pseudo-pérovskite entouré de deux couches de Bi_2O_2 . Ce matériau qui est ferroélectrique est envisagé dans les applications mémoires ; cependant lorsqu'il est sous forme de films minces, il est sensible aux problèmes de fatigue [1]. De nombreuses études ont montré que pour améliorer la résistance à la fatigue une des possibilités est de substituer le bismuth par le lanthane [2-4]. Afin d'étudier les effets de taille sur les propriétés ferroélectriques, il est important d'obtenir des nanoparticules anisotropes. La structure en feuillets du BTO permet grâce à un procédé de lithiation-exfoliation, l'obtention de nanoparticules. Dans cette étude, nous présentons des nanofeuillets de BTO substitué par le lanthane avec la composition suivante : $Bi_{3,25}La_{0,75}Ti_3O_{12}$.

2. Obtention des nanofeuillets de Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂

La méthode d'obtention des nanofeuillets de BLT est expliquée sur la figure 1, elle comprend trois étapes. La première consiste à préparer BLT sous forme de poudre micronique par voie solide conventionnelle, à partir des oxydes simples Bi_2O_3 , La_2O_3 et TiO_2 . La seconde étape consiste à intercaler par voie chimique, à partir d'un précurseur organolithié le n-butyllithium (n-BuLi), des cations Li^+ dans les feuillets Bi_2O_2 de la phase d'Aurivillius. Ces couches peuvent en effet être considérées comme des couches pérovskites fortement distordues ayant des lacunes ordonnées en site B : elles sont donc capables d'accueillir des cations, moyennant une réduction du bismuth et peut-être du titane. Cette intercalation réductive conduit à un composé lithié stable, de couleur noire, noté LiBLT. La troisième et dernière étape consiste à désintercaler le lithium dans l'eau. Le mécanisme est probablement similaire à celui observé dans le cas de l'exfoliation de MoS_2 : la réduction de l'eau libère du dihydrogène et des ions hydroxydes, et a pour effet de séparer les feuillets du composé. Elle s'accompagne d'une réoxydation des cations bismuth et titane. Après centrifugation, les particules les plus grosses sont éliminées et l'on ne conserve que le surnageant, limpide et incolore, contenant les feuillets les plus minces.



intercalation du Lithium: (x+y) $Li^{0} + Bi^{3+} + Ti^{4+} \Longrightarrow (x+y)Li^{+} + (1-x)Ti^{4+} + xTi^{3+} + (1-y)Bi^{3+} + yBi^{2+}$ désintercalation du Lithium: (x+y) $Li^{+} + yBi^{2+} + xTi^{3+} + H_2O \Longrightarrow (x+y)LiOH_{aq} + xTi^{4+} + yBi^{3+} + H_2O$

Figure 1 – principe et détails de la préparation des nanofeuillets de BLT par lithiation-exfoliation

3. Caractérisation des nanofeuillets

Toutes les particules de la poudre de BLT exfoliée sont sous forme de plaquette ; lors du dépôt du surnageant sur la grille de carbone, certaines se retrouvent à plat et d'autres sur la tranche. Dans tous les cas, le plan de la plaquette est perpendiculaire au grand axe \mathbf{c} de la structure. Les particules qui sont sur la tranche sont les plus intéressantes à étudier car elles mettent en évidence l'empilement des plans suivant l'axe \mathbf{c} et permettent de mesurer l'épaisseur de la plaquette. La plus fine particule observée a une épaisseur de 3,3 nm ce qui coprrespond à une maille de BLT.

La figure 2 est une image haute résolution d'une plaquette vue sur la tranche dont l'épaisseur est de 8 nm ce qui correspond à 5 demi-mailles. La particule est orientée suivant la direction [110]. A partir d'images simulées grâce au logiciel JEMS, nous pouvons dire que l'épaisseur de la particule est de 5,4 nm et que la défocalisation de l'image est de -70 nm. En comparant l'image expérimentale à la structure projetée de la maille de BLT, on identifie les doubles franges blanches de l'image expérimentale aux couches de Bi_2O_2 . Sur l'image expérimentale, on peut aussi remarquer que le bord gauche de la particule correspond à l'extémité d'un groupement de 3 pseudo-pérovskite, cependant il subsiste un fragment de couche de Bi_2O_2 (flèche) ce qui prouve bien que la délamination se produit dans ces couches et qu'elle est responsable de leur destruction.



Figure 2 – (a) Image HREM d'une particule de BLT exfolié (en encart Transformée de Fourier) ; (b) Image simulée [110], défocalisation = -70 nm et épaisseur = 5.4 nm; (c) maille projetée suivant [110] de Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂; (d) Image moyenne.

- [1] P.C. Joshi, S.B. Krupanidhi, Appl. Phys. Lett. 62 (1993) 1928.
- [2] A Kingon, Nature 401 (1999) 658.
- [3] M.W. Chu, M. Ganne, M.T. Caldes, L. Brohan, J. Appl. Phys. 91 (2002) 3178.
- [4] M.W. Chu, M. Ganne, P.Y. Tessier, D. Eon, M.T. Caldes, L. Brohan, Mat. Sc. Semiconductor Proc. 5 (2003)179.

Transmission Electron Microscopy for nanometer CMOS process characterization and failure analysis

L. F. Tz. Kwakman

NXP Semiconductors 860, Rue Jean Monnet, 38920 Crolles, France

Abstract. To remain competitive IC manufacturers have to accelerate the development of most advanced (CMOS) technology and to deliver high yielding products with best cycle times and at a competitive pricing. With the increase of technology complexity, also the need for physical characterization support increases, however many of the existing techniques are no longer adequate to effectively support the 65-45 nm technology node developments. New and improved techniques are definitely needed to better characterize the often marginal processes, but these should not significantly impact fabrication costs or cycle time. Hence, characterization and metrology challenges in state-of-the-art IC manufacturing are both of technical and economical nature. In this communication the application of TEM microscopy as a high quality, high volume analytical support is presented with practical illustrations of use in our Crolles facilities.

ELECTRON MICROSCOPY APPLICATIONS

Developers are greatly helped when they can "visualize" the as fabricated devices/creations in silicon. SEM systems have been the predominant workhorses in the Physical Characterization laboratory, but given the ever decreasing dimensions in the latest nano-CMOS technologies, are no longer capable to ensure a conclusive analysis. Especially the transition from the 180 nm to the 120 and 90 nm technology nodes has marked a spectacular and most important increase in demand for TEM analysis. Clearly, the need for information with atomic resolution has increased significantly. To reveal the chemical nature of materials, interfaces or defects, also the (S)TEM-EELS and EDX spectroscopy capabilities of the TEM microscopes are more frequently solicited. The relative ease of use and often conclusive results make the EF-TEM a 'popular application': currently almost 50 % of all TEM analyses are complemented with EFTEM or EELS.

With the shrinkage of integrated circuit dimensions into the nanometer range, the local thermo-mechanical properties of materials can more easily degrade device performance. To measure local strain at a nanometer scale, convergent beam electron diffraction (CBED) is used. Newly developed methods based on the analysis of the broadening of the high order Laue zone lines allow to estimate the stress relaxation that occurs when a sample is thinned to electron transparency and to arrive at semi-quantitative results. Finally, when device features of 30-50 nm are to be inspected with TEM, 3-D effects start to complicate the analysis. TEM tomography is under evaluation as it may be an effective way to overcome such problems and also be helpful in the detection of smallest, but yield killing defects in relatively thick TEM samples.

TEM SAMPLE PREPARATION STRATEGIES

Although its imaging and chemical analysis capabilities are excellent, a serious practical drawback of TEM microscopy is that it takes much more time than e.g. a SEM analysis, primarily because of the delicate lamella preparation process. A major challenge is, thus, to achieve high quality (S)TEM-EELS or STEM-EDX in a volume mode and with shortest cycle times. High priority is given to the development of such 'industrial' TEM line, a development that focuses on new and automated sample preparation methods. TEM lamellae are prepared in a non-destructive way via the in-situ extraction of silicon chunks from full wafers in a 300 mm FIB-SEM system followed by a final lamella preparation in a small chamber dual beam FIB-SEM system. With the latter method the device & test wafers can be reinjected in the processing flow which represents a major advantage since by doing so R&D lots can be characterized by TEM at each relevant process step and still be fully processed and electrically tested. The direct coupling between the physical information and the electrical device results of one and the same wafer ensures a much quicker and more effective learning cycle and with this method less wafers have to be processed and a step-by-step analysis can be realised in shortest time.

A combined FEG-SEM and TEM study of silicon nanodot deposit

P. Donnadieu^{a,*}, F. Roussel^b, V. Cocheteau^c, B. Caussat^c, P. Mur^d, E. Scheid^e

^a SIMAP, INPGrenoble-CNRS-UJF, BP 75, 38402 Saint Martin d'Hères

^b CMTC INPG, Domaine Universitaire, BP 75, 38402 Saint Martin d'Hères

^cLGC/ENSIACET/INPT, 5 rue Paulin Talabot, BP1301, 31106 Toulouse Cedex 1

^d CEA/LETI–MINATEC, 17 Avenue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 09

^e LAAS, Avenue du Colonel Roche, 31077 Toulouse Cedex

Résumé – Silicon nanodots deposited on a SiO₂ substrate have been studied by several electron microscopy techniques to estimate size and density, both quantities being of high interest for functional device application. The present results point out the efficiency of image treatment to improve the FEG-SEM image quality and electron diffraction to get quantitative information on the dot assembly.

Silicon nanodots are are increasingly attracting attention because of their unique physical properties that allow to develop new silicon based functional devices. Various elaboration methods have been proposed such as chemical vapor deposition, ion implantation, aerosol ...techniques. Since, for floating gate memory applications, densities should be in the range 10¹¹ to 10¹² dots/cm² and the nanodot mean diameter between 2 and 5 nm [1], Low Pressure Chemical Vapor Deposition (LPCVD) seems to be the most appropriate methods [2]. However, industrial applications require to produce silicon controlled size, size distribution and density nanodots. This leads to a large effort in modelling the LPCVD process and developping characterization tools and procedures to validate the results of the performed calculation. Nevertheless, high density deposited nano-objects are difficult to characterize due to the nanometer range of the separating distances between dots. Therefore we are left mainly with electron microscopy techniques. The present communication is focussed on the electron microscopy characterization of a dense assembly of silicon nanodots using the combination of Field Emission Gun - Scanning Electron Microscopy (FEG-SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM).

1. FEG-SEM imaging

A Zeiss ultra FEG-SEM was used to carry out plane view images of the nanodot deposits. To reach better resolution, the in lens dectector is used. Besides, to improve the dot contrast, a low voltage is chosen. Because the nanodots are deposited on an insulating silica layer, imaging with a too low voltage involves a charge effect of the sample. A good compromise in terms of dot contrast is obtained with 8 keV voltage. Because of the weakness of the dot signal with respect to the background, the obtained SEM images still have a quite poor contrast as illustrated by Figure 1 a. An obvious way to improve the image quality is to use a pass band filter to cut the non significant information : i.e. the signal from objects larger than 20 nm and below 2 nm is removed.



Figure 1 – (a) FEG-SEM image of the nanodot assembly obtained with the in lens detector at 8 keV (b) FFT of image (a); (c) mask applied to (b); (d) filtered image derived from image in Fig. 1a

Figure 1 shows the original image and the filtered one, obtained using FFT transforms. The filtered SEM images gives a dot density of 1.6 10^{12} /cm² for a dot diameter of about 7 ± 2 nm However the resolution does not seem high enough to separate dot aggregates and the density is underestimated. To check the dot size using a higher resolution technique, is then imperative..

^{*} Auteur à contacter : patricia.donnadieu@ltpcm.inpg.fr – Tel : 04 76 82 67 46

2. HRTEM and electron diffraction information

The most appropriate way to study on substrate deposited nano-objets is to prepare a plane view sample.. First, the sample is mechanically side up polished from 750 μ m to about 50 μ m. and further thinned to reach the electron transparency by chemical etching or by ion milling.

As shown in figure 2a, nanodots are imaged by HRTEM essentially as a stacking of fringes. The distance between fringes is about 0.310 nm which is consistent with the (111) plane spacing in Silicon (0.313 nm). According to the HRTEM images the dot size is about 3 nm which appears quite smaller in comparison with the dot size determined by FEG-SEM images. As illustrated by figure 2a, a simple approach consists in using electron diffraction..., The nanodot assembly gives a quite intense ring centred on a position close to 0.32 nm which roughly correspond to the (111) silicon plane spacing (0.313 nm). The homogeneous intensity of the diffuse rings indicates that the nanodots deposit is isotropic. The graph (Figure 2c) displays the intensity profile of that diffuse ring. After background subtraction, the ring at mid height is equal to $\Delta q = 1.1 \text{ nm}^{-1}$ which corresponds to a length $\ell = 2.3 \text{ nm}$.



Figure 2 – (a) HRTEM image of a nanodot, its size is about 3 nm (b) electron diffraction pattern of the plane view sample. The nanodots correspond to the intense diffuse ring (c) Intensity profile across the rings allowing to measure (after background subtraction) the ring width at mid height

To intrepret the ring width the shape factor has been calculated for several shape function like a crenel, a traingle or a flake shape. The latter one gives the best agreement between the HRTEM image since the experimental ring width $1/\ell$ ($\ell = 2.3$ nm) would correspond to a size L = 3.6 nm for dot with a flake shape. This results points out the efficiency of electron diffraction for characterizing an assembly of nanoobjets. However our intrepretation of the ring width consider only the shape effect while deformation and defects can also contribute to the width.

3. Conclusion

According to the FEG-SEM, the nanodots size is about 7 nm while electron diffraction and HRTEM indicates rather smaller size. THis means that still more TEM analysis are necessary to precise the actual silicon dot size and density. The phase retrieval method, used earlier, appears to be the most appropriate to fill this gap in terms of resolution and dot assembly images [3]. It is worth insisting that nano-objects of 5 nm size, separated by distance below 10 nm, still represent a challenge for electron microscopy technique since at that scale objects may present strain or ill defined crystalline states. In that respect electron diffraction has a major interest since it is able to test a large amount of particles and is sensitive to size as well as strain. Of course, as most of the nanocharacterization techniques, combining all information is essential.

4. Références

- [1] S. Tiwari, F. Rana, K. Chan, H. Hanafi, A. Hartstein, E. F. Crabbé, K. Chan, A silicon nanocrystals based memory, Applied Physics letter 68 (1996) 10, 1377-1379
- [2]V. Cocheteau, B. Caussat, P. Mur, E. Scheid, P. Donnadieu and T. Billon, LPCVD Synthesis of silicon nanodots from silane and for flash memory devices Electrochemical Society Proceedings 9 (2005) 523-530
- [3] P. Donnadieu, M. Verdier, G. Berthome, P. Mur, *Imaging a dense nanodot assembly by phase retrieval from TEM images* Ultramicroscopy **100** (2004) 79-90

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre de la collaboration entre le CEA-Léti, le SIMAP, INPGrenoble, l'ENSIACET/INPToulouse et le LGC(Toulouse) dans le cadre du contrat de thèse BDI de Vanessa COCHETEAU.

Investigation of copper-7,7',8,8'-tetracyanoquinodimethane as memory material for resistive switching memories

Christian Turquat ^{a,*}, Antoine Demolliens ^a, Robert Müller ^b, Ludovic Goux ^b, Dirk J. Wouters ^b, Christophe Muller ^a

^a L2MP, UMR CNRS 6137, Université du Sud Toulon Var, BP 20132, F-83957 La Garde Cedex – France ^b IMEC v.z.w., Kapeldreef 75, B-3001 Leuven, Belgium

Abstract - Copper-7,7',8,8'-tetracyanoquinodimethane (CuTCNQ), is a promising material for memory applications because it can reversibly switch from a high resistance state to a low resistance state by applying external voltage. In this study, CuTCNQ was prepared from the reaction between metallic copper and hot TCNQ gas at low pressure to form nanowires-based memory arrays. Since local variations of structure, microstructure and composition of CuTCNQ may affect the reliability of the future memory device, it is of primary interest to investigate them by transmission electron microscopy. In this work, reference powders of TCNQ and CuTCNQ are first studied, and then followed by TEM experiments on CuTCNQ material integrated in via structures.

1. Introduction

In 1979, Potember *et al.* reported first the electrical field-induced resistive switching in CuTCNQ material [1]. Since then, a significant number of papers dealing with the elaboration methods and general switching characteristics of this metal-organic complex have been published. In contrast, the integration of CuTCNQ material within a microelectronic architecture is recent and opens new possibilities to form low-voltage high-density non-volatile memories [2-3].

The microstructure, structure and thickness of the CuTCNQ films strongly depend on the elaboration method. For instance, Kever *et al.* have produced amorphous films of CuTCNQ by co-deposition of copper and TCNQ while Potember *et al.* formed crystallized CuTCNQ. It has also been demonstrated that crystallized CuTCNQ can exhibit two different crystallographic phases, so-called phase I and phase II (*cf.* Table 1). Besides, although both phases crystallize in a monoclinic symmetry, grains of phase I crystallize with a needle-like morphology while grains of phase II exhibit a platelet-shaped morphology [4].

	Phase I	Phase II			
Symmetry	monoclinic	monoclinic			
Space group	Pn	P2/n			
a, b, c (in Å)	3.888, 11.266, 11.266	5.334, 5.331, 18.875			
β (in deg.)	90.00(3)	94.04			

Table 1 – Summary of the crystallographic data of CuTCNQ

The switching phenomenon in the case of organic semiconductors such as CuTCNQ is thought to originate in the reversible charge transfer ability of the CuTCNQ complex according to the following reaction [5]:

valtaga

$$[M^{+}\text{TCNQ}^{-}]_{n} \rightleftharpoons M_{x}^{0} + \text{TCNQ}_{x}^{0} + [M^{+}\text{TCNQ}^{-}]_{n-x}.$$
(1)

where M is a metallic donor (*e.g.* Cu) and the TCNQ molecule the acceptor. This charge transfer as origin of the memory effect is largely supported by the fact that the electric field-induced resistive switching of CuTCNQ is not related to the crystalline nature of the material since both crystallized and amorphous CuTCNQ materials exhibit switching phenomena.

First, we will focus our attention on transmission electron microscopy (TEM) study of reference samples, *i.e.* TCNQ powders and CuTCNQ nanowires prepared from the reaction of metallic copper with hot TCNQ gas. Beside, since the solid-gas reaction enables the growth of CuTCNQ nanowires into via structures, TEM experiments were performed on memory arrays in parallel with electrical testing.

2. Second section

TEM experiments on TCNQ powders showed that the samples are electron beam-sensitive, in agreement with previous experiments conducted by Koshino *et al.* on pure TCNQ [6]. In this paper, they addressed the radiation damage issue in the case of TCNQ and F_4 TCNQ; indeed, they demonstrated that TCNQ undergoes electron beam-induced crystal degradation and in the case of high doses a mass loss (nitrogen sublimation) with a possible "polymerization" of the structure by cross-linking bonds. In our case, low dose TEM observations on TCNQ were possible as seen in Figure 1. The electron diffraction (ED) patterns are unambiguously indexed in the TCNQ crystallographic structure described by Long *et al.* [7].

^{*} Auteur à contacter : turquat@univ-tln.fr – Tel : 04.94.14.24.77



Figure 1 – On the left hand side, low magnification TEM image of TCNQ. On the right, corresponding electron diffraction pattern with a [010] zone axis.

Figure 2-a1 shows the nanowire morphology of the CuTCNQ powders prepared by solid-gas reaction. The diameter of wires is fairly constant, ~100 nm, while the length of the wires varies from one to several microns. TEM observations in normal conditions led to the amorphization of CuTCNQ after one or two minutes of study. However, short time/low dose experiments led to diffraction patterns with distances compatible with the CuTCNQ structures [4] (Figs. 2-a2 and 2-a3).

TEM/HREM experiments were performed on CuTCNQ nanowires grown in via structures. Figure 2b presents a TEM cross section of the whole stack with CuTCNQ nanowires with typical diameter of 150 nm on the top of the structure. The TEM sample preparation by Focused Ion Beam FIB was first optimized to improve the quality of images of via structures especially due to the low contrast between CuTCNQ and surrounding SiO₂. The first ED results showed that the CuTCNQ material is amorphous in disagreement with previous x-ray diffraction experiments. It is thought that the sample preparation and/or electron observation may cause such an amorphization. Beside, it has been observed huge reaction between the CuTCNQ nanowires and Pt protective layer during FIB preparation. Pt nanoregions of 2-3 nm were formed on the top of CuTCNQ nanowires, Fig. 2-c.



Figure 2 – (a1) TEM image of CuTCNQ nanowires with typical electron diffraction patterns (a2, a3).
(b) TEM image of CuTCNQ in via structures. (c) High resolution TEM image in via with in inset the corresponding ED pattern showing the presence of nanosized Pt particles.

3. Conclusion

In the frame of the future generations of memory (*i.e.* resistive switching), CuTCNQ nanowires prepared by solid-gas reaction have to be investigated to anticipate the possible failure mechanisms due to the integration of this material. To do so, TEM is used to gain local information on CuTCNQ microstructure, structure and local composition. Preliminary experiments showed that FIB sample preparation causes the amorphization of CuTCNQ with diffusion of the Pt top protective layer into CuTCNQ nanowires. Besides, as for TCNQ, CuTCNQ undergoes irreversible irradiation damages during the TEM observations. Thus, new sample preparations will be explored in order to obtain artifact free samples. Low dose TEM observations with the use of a cryo-sample holder will be undertaken in order to minimize the irradiation damages.

This work has received financial support from the EC, through IST project no. 33751 EMMA ("Emerging Materials for Mass-storage Architectures").

4. References

- [1] R.S. Potember *et al., Electrical switching and memory phenomena in Cu–TCNQ thin-films*, Appl. Phys. Lett., **34**, 405–407 (1979)
- [2] R. Müller et al., Organic CuTCNQ integrated in complementary metal oxide semiconductor copper back end-of-line for non volatile memories, Appl. Phys. Lett., 89, 223501(1-3) (2006)
- [3] T. Kever et al., Preparation and characterisation of amorphous Cu:7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane thin films with low surface roughness via thermal co-deposition, Thin Solid Films, **515**, 1893-1896 (2006)
- [4] R. Heintz et al., New insight in the nature of Cu(TCNQ): Solution routes to two distinct polymorphs and their relationship to crystalline films that display bistable switching behavior, Inorg. Chem., **98**, 144-156 (1999)
- [5] Z. Gu et al., Mechanism generating switching effects in CuTCNQ and Ag-TCNQ Films, J. Phys. Chem., 97, 2543-2545 (1993)
- [6] M. Koshino *et al.*, *Radiation damage analysis of TCNQ and F*₄*TCNQ by electron diffraction and electron energy loss spectroscopy*, Micron 36(3), 271-279 (2005)
- [7] R. E. Long et al., The crystal and molecular structure of 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane, Acta. Cryst., 18,932-939 (1965)

Investigation of "low-k" material using EFTEM, Z-Contrast imaging and low-loss spectroscopy

Marie Cheynet^{a,*}, Simone Pokrant^b, Mohamed Ammadedinne^c, Vincent Arnal^c

^a Laboratoire des Sciences et Ingéniérie des Matériaux et Procédés (SIMAP), ENSEEG BP 75 - 38402 Saint Martin d'Hères
 ^b 1NXP, 860 rue Jean Monnet F-38926 Crolles, France
 ^c ST-Microelectronic 860 rue Jean Monnet F-38926 Crolles, France.

Résumé : La sensibilité des matériaux dits « low-k » aux effets de contamination et aux effets d'irradiation fait que leur investigation chimique physique et structurale est délicate en utilisant des méthodes de microscopie analytique conventionnelles. Ce travail illustre la pertinence de la spectroscopie de pertes d'énergie des électrons couplée à la l'imagerie EFTEM et à l'imagerie de Z-contraste pour suivre simultanément des variations de composition chimique et des variations de gap à travers des couches nanométriques de BD₂X élaborées par différentes techniques de dépôts et destinées à remplacer les matériaux à constante diélectrique trop élevée dans les structures « Back-end ».

1. Introduction

The dimensions of features in advanced integrated devices in semiconductor industry at the backend level are such that the dielectric constant of traditional insulators like SiO2 is not low enough to prevent cross talk between metal lines. Hence a novel kind of "low k" material is about to be implemented in the process flow. The "low k" material is deposited by CVD and consists mainly of Si, O, C and H. The most important feature of this type of material is its porosity, which allows to further reduce the dielectric constant. But these pores give also rise to the main disadvantage of this material class, the mechanical fragility. To implement these materials successfully into the process flow, measuring the impact of process steps like via etch and CMP on the low k and diffusion of Cu or Ta atoms into the low k is crucial, since chemical changes or density changes leads to a change in the dielectric constant. Analytical TEM is the only technique, which provides the necessary spatial resolution combined with chemical analysis capacities. However, the material is extremely sensitive to the electron beam and is damaged easily (shrinking). In this presentation several TEM based methods are explored (Core loss EELS, EFTEM and low loss EELS) Low loss EELS seems to be the most promissing method at the moment, because the low intensity electron beam in STEM mode introduces minimum damage.

2. TEM and STEM images of the structures



Figure1 : *STEM* images showing the diffusion of *Ta* inside the low-k material



Figure 2 : Bright field TEM images showing the shrinrage induced by electron irradiation according to the thickness of the TEM sample. 1: very thick 2: thick 3: thin

^{*} Auteur à contacter : marie.cheynet@ltpcm.inpg.fr – Tel : 04 76 82 66 08



Figure 3: EFTEM image (green: oxygen, blue: carbon). Only macroscopic chemical changes can be observed. No thin oxygen enriched layers are observed along the via edges.

3. Low-Loss analysis of low-k



Figure 4: Low-loss spectrum recorded in the "low-k" Figure 5: Low-loss spectrum recorded in the capped with TEOS. Band gap is equal to 2.4 eVin all the Chemical Mechnical Polishing (CMP) "low-k". low-k thickness.

Band gap varies from 1.6 eV to 2.5 eV from the top to the bottom

4. Conclusion

The irradiation damages occuring in the low-k materials prohibit core-loss analysis. No reproducible profiles can be obtained for C and O.

On the contrary from low loss analysis reproducible spectra acquisition is possible. The small changes in the spectrum at low energy might indicate changes in porosity in the case of "CMP low-k". Regarding the band gap, constant values are obtained for "TEOS low-k" whereas variations from 16 to 2.5 eV are measured for "CMP low-k" indicated a severe damage in the dielectric material through this process. In the future, band gap profiles recorded in the low k material will be used as input parameters for electrical capacitance calculations.

5. Acknowledge

To Jaysen Nelayah for spectra treatment using the Richardson Lucy's method.

Caractérisation par TEM de bicouches oxyde ferroélectrique / électrode oxyde Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂ / Sr₄Ru₂O₉

R. Chmielowski^{a,b*}, V. Madigou^a, M. Blicharski^b, Ch. Leorux^a

^{*a*} L2MP, Université du Sud Toulon-Var, B.P.20132, 83957 La Garde ^{*b*} *IMiIP, Academy of Mining and Metallurgy, 30-059 Cracow, Poland*

Résumé – Des bicouches de $Bi_{3,25}La_{0.75}Ti_3O_{12}/Sr_4Ru_2O_9$ ont été élaborées par ablation laser. C'est la première fois que $Sr_4Ru_2O_9$ est élaboré sous forme de film. Pour certaines conditions d'élaboration, le BLT croît sur ce substrat en présentant des orientations de la polarisation intéressante pour des applications mémoires.

1. Introduction

Le matériau ferroélectrique actuellement utilisé dans les mémoires industrielles est le Pb(Zr_x, Ti_{1-x})O₃ (PZT). Des recherches sont menées afin de trouver des matériaux plus performants que le PZT, et moins polluants. Le Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂ est un des matériaux ferroélectriques pressentis. Les propriétés ferroélectriques de ce matériau en couche mince pourraient être améliorés par l'utilisation d'une électrode oxyde comme substrat. Le substrat électrode servirait alors de « réservoir » à oxygène et sa microstructure devrait permettre une orientation préférentielle de la polarisation du matériau ferroélectrique. Noua avons élaboré par ablation laser (Pulsed Laser Deposition, PLD) des bicouches Bi_{3.25}La_{0.75}Ti₃O₁₂ / Sr₄Ru₂O₉

2. Electrode oxyde

Nous avons synthétisé comme couche électrode le $Sr_4Ru_2O_9$. Cet oxyde a été très peu étudié dans la littérature et n'a été élaboré que sous forme de poudre. L'obtention de cet oxyde sous forme de film constitue donc une première. Différentes conditions expérimentales de température, de fréquence du laser, de pression d'oxygène dans la chambre de dépôt, ont été testées. Les grains sont colonnaires, et fautés suivant des plans (0k0) et (h00) (Figure 1).



Figure 1 – grains de Sr₄Ru₂O₉, diffraction caractéristique [100]

3. film ferroélectrique

A une température de 700°C, et une pression d'oxygène de 300 mTorr, nous avons élaboré du $Bi_{3.25}La_{0.75}Ti_3O_{12}$ La texture des couches épaisses (1 µm) est de type (001), donc impropre à une application mémoires. Les couches minces (nm)présentent des grains dont l'axe de polarisation est à 40° du plan de la couche, ce qui est une situation favorable du point de vue des applications ferroélectriques (figure 2).



Figure 2 – grains de BLT présentant des axes de polarisation à 40° du substrat

^{*} Auteur à contacter : chmielow@univ-tln.fr – Tel : 04 94 14 25 07

Analyses microstructurales de mémoires non volatiles et métrologie des couches ultraminces par microscopie électronique en transmission (MET)

A. Demolliens^{1,2}, Ch. Turquat¹, L. Fares², G. Haller², C. Ducruet³, L. Prejbeanu³, C. Maunoury³, J-P. Nozières³, Ch. Muller¹

 ¹ Laboratoire Matériaux et Microélectronique de Provence (L2MP), UMR CNRS 6137, BP 20132, 83957 La Garde Cedex – France
 ² STMicroelectronics, ZI Peynier Rousset, BP 2, 13106 Rousset Cedex – France
 ³ Crocus Technology, 5 Place Robert Schumann, BP 1510, 38025 Grenoble Cedex 1 – France

Résumé – La tendance actuelle à la miniaturisation des dispositifs à base de semi-conducteurs nécessite l'utilisation de techniques de caractérisation physique avancées telles que la microscopie électronique en transmission (MET) permettant des analyses microstructurales très localisées.

Un des principaux challenges en microélectronique concerne l'observation des couches minces et en particulier les oxydes "tunnel" intégrés dans les cellules mémoires EEPROM (Electrical Erasable Programmable Read Only Memory) ou dans les jonctions magnétiques des mémoires MRAM (Magnetoresistive RAM). Pour ces analyses par MET, la qualité des observations est fortement dépendante de la préparation des échantillons et des performances du microscope. L'objectif du travail en cours consiste donc à adapter et optimiser les techniques de préparation d'échantillons et d'observation par MET en vue d'une métrologie des couches minces.

1. Imagerie d'oxyde de grille de cellules EEPROM fabriquées à STMicroelectronics

Tout d'abord, il est important de bien noter que le travail présenté se déroule dans un contexte industriel, avec toutes les contraintes qui en résultent. En effet, les analyses par MET menées à STMicroelectronics doivent impérativement respecter les délais de production et ce malgré une montée en volume du nombre d'analyses.

Les analyses MET sont généralement réalisées après une localisation électrique de zones de défaillance. Afin d'en trouver l'origine, il est nécessaire de préparer une lame MET précisément dans le ou les transistors défectueux et ainsi pouvoir identifier les défauts impliqués. Une importance particulière est donc accordée à la préparation FIB (Focused Ion Beam) permettant une localisation précise et rapide des zones d'intérêt, et pouvant, de surcrôît, être automatisée. Cependant, l'implantation ionique engendrée pendant la découpe FIB crée sur chacune des faces de la lame une couche amorphe qui dégrade la qualité des images en mode haute résolution. Nous avons mesuré une épaisseur de couche amorphe de 24 nm en venant extraire une lame dans une boîte FIB usinée avec un faisceau d'ions de 30 keV d'énergie.



Figure 1 – (a) schéma de principe de la préparation de l'échantillon (b) image MET de la couche de silicium rendue amorphe suite à la préparation FIB (faisceau d'ions de 30 keV)

D'après la littérature, il est possible de diminuer l'épaisseur de la couche amorphe en abaissant la tension d'accélération des ions. Pour un faisceau de 5 keV d'énergie, on mesure une couche amorphe dont l'épaisseur est de l'ordre de 2 à 3 nm. Les amincisseurs ioniques tels que le PIPS (Precision Ion Polishing System) permettent de travailler à basse tension et de préparer des échantillons de bonne qualité, mais la localisation précise de la zone d'intérêt reste très difficile et le temps de préparation relativement long (environ 8 heures).

Nous avons préparé deux échantillons dans des structures identiques (oxydes tunnel de cellules mémoires EEPROM) en utilisant les deux méthodes de préparation (FIB 30 keV et PIPS 5 keV) afin de les comparer directement. Un troisième préparé par amincissement mécanique (préparation dite "Tripod") a servi de référence. En effet, les échantillons "Tripod" sont exempts de couche amorphe et d'implantation ionique et sont donc de meilleure qualité. Néanmoins, cette technique de préparation n'est utilisée qu'occasionnellement en milieu industriel car elle est longue et délicate dans sa mise en œuvre et la localisation des zones d'intérêt reste ardue.

© Colloque SFµ-2007 – Grenoble – 5-8 juin 2007



Figure 2 – Images MET d'oxydes de grille obtenues après différentes méthodes de préparation.

Les images présentées sur la figure 2 permettent une comparaison directe des trois techniques de préparation. Par rapport au polissage mécanique, la préparation d'échantillon par faisceau d'ions conduit à une observation légèrement moins nette des colonnes atomiques du silicium. On note toutefois une qualité sensiblement supérieure des lames préparées par PIPS par rapport à celles obtenues par FIB. La meilleure observation de l'orientation cristallographique du silicium reste toutefois celle obtenue après une préparation Tripod même si on constate une forte rugosité des interfaces probablement liée à l'application prolongée du dernier feutre de polissage, celle-ci empêchant une mesure précise de l'épaisseur de la couche d'oxyde. En effet, de par ces interfaces irrégulières, il est difficile de savoir si l'on travaille à la bonne focalisation. De ce fait, non seulement on perd en résolution, mais on s'écarte aussi des conditions permettant de limiter les phénomènes de délocalisation d'images et de franges de Fresnel, ce qui accroît davantage l'incertitude sur la mesure d'épaisseur de l'oxyde. Il peut donc être intéressant de chercher les moyens de corriger ou contourner ces problèmes notamment grâce à la correction de l'aberration de sphéricité – soit à partir d'une série focale soit par l'utilisation d'un microscope équipé d'un correcteur de Cs – ou l'utilisation d'autres techniques de microscopie électronique telles que l'imagerie en champ sombre annulaire à grand angle HAADF (High Angle Annular Dark Field).

2. Imagerie d'un empilement de type "jonction magnétique tunnel" pour les mémoires MRAM

Les cellules mémoires MRAM conventionnelles sont basées sur la propriété de magnétorésistance géante d'une jonction magnétique tunnel. Ce mécanisme est lié au passage d'électrons, par effet tunnel, à travers un oxyde ultramince pris en sandwich entre deux alliages ferromagnétiques. Afin de limiter les courants de programmation, la start-up Crocus Technology et le laboratoire CEA/CNRS Spintec ont développé une cellule TAS-MRAM dans laquelle le basculement d'aimantation est assisté thermiquement par l'injection d'un courant.

Des premières analyses MET ont été menées par le L2MP sur des dépôts "pleine plaque" constituant l'empilement de base des jonctions magnétiques tunnel (JMT). L'objectif était de faire la métrologie des épaisseurs, d'observer les interfaces oxyde tunnel/couches magnétiques et de caractériser l'oxyde tunnel (uniformité, épaisseur, orientation). Les premières sections transverses ont été obtenues sur des lames préparées par FIB à 30 keV (Fig. 3a). L'épaisseur importante associée aux numéros atomiques élevés des couches de l'empilement n'ont pas permis une observation correcte. Afin d'améliorer la qualité des lames, un nettoyage FIB à 5 keV a suivi une préparation classique à 30 keV. Avec ce nettoyage, il a alors été possible d'observer la microstructure des différentes couches (Fig. 3b) et de déterminer une épaisseur d'oxyde tunnel de 1,2 nm.



Figure 3 – Images MET d'un empilement pleine plaque de couches permettant de réaliser une JMT (a) préparation FIB 30 keV (b) préparation FIB 30 keV + nettoyage final à 5 keV

Effet de la température d'entrée dans le domaine bainitique sur le taux d'austénite résiduelle dans des aciers TRIP

A. Kammouni^{a,*}, W. Saikaly^b, M. Dumont^a, C. Marteau^c, X. Bano^c, A. Charaï^a

^a TECSEN, Université Paul Cézanne, Avenue Escadrille Normandie Niemen - Case 261. 13397 Marseille Cedex 20 ^b CP2M, Université Paul Cézanne, Avenue Escadrille Normandie Niemen - Case 221. 13397 Marseille Cedex 20 ^c Arcelor méditerranée, DB 26, 13776 Fos sur mer cedex

Résumé - Dans le domaine bainitique, la cinétique de diffusion du carbone joue un rôle important sur la détermination du taux d'austénite résiduelle. Dans ce travail, les observations MET ont permis l'identification de l'austénite en utilisant comme méthode de préparation des échantillons une technique très efficace appelée FIB (Focused Ion Beam). En outre, le MEB a permis de donner des interprétations métallurgiques concernant la relation entre taux d'austénite résiduelle et température du domaine bainitique.

1. Introduction

Les aciers TRIP (TRansformation Induced Plasticity) offrent des propriétés mécaniques très intéressantes qui les rendent idéaux pour l'emboutissage des tôles minces destinées à l'industrie automobile. La transformation de l'austénite résiduelle en martensite par voie mécanique augmente la ductilité pendant la mise en forme [1]. Par suite l'acier obtenu présente des propriétés mécaniques élevées (grâce à la martensite formée). Pour un meilleur effet TRIP, un taux d'austénite résiduelle avec une stabilité optimale est exigé [2]. Différentes études montrent que ces propriétés sont liées en partie au traitement thermomécanique suivi. Parmi les paramètres du traitement thermomécanique des aciers TRIP, la température d'entrée dans le domaine bainitique joue un rôle primordial. C'est pourquoi, notre étude porte sur l'investigation de l'effet de cette température sur le taux d'austénite résiduelle dans trois nuances TRIP ayant une composition chimique identique et un traitement thermomécanique équivalent jusqu'au domaine bainitique (températures d'entrée dans le domaine bainitique T1, T2 et T3 avec T1 < T2 <T3).

2. Résultats

L'étude métallographique par microscopie électronique à balayage permet l'observation fine des phases en présence (ferrite, bainite et austénite résiduelle) du point de vue de leur nature, distribution et morphologie. Avant toute observation, les échantillons ont été attaqués électrolytiquement (mélange de 95% d'acide acétique et de 5% d'acide perchlorique) afin de révéler les phases présentes. La technique donne un excellent contraste entre la matrice ferritique et les autres phases présentes (Figure 1).



Figure 1 : Micrographie électronique à balayage mettant en évidence la microstructure de la nuance A2 après une attaque électrolytique.

La reconnaissance de l'austénite par MEB se base uniquement sur la différence du contraste observé. C'est pourquoi une identification de cette phase en MET est nécessaire. Cependant, l'étude de l'austénite en microscopie électronique en transmission nécessite tout d'abord une très bonne localisation. La méthodologie utilisée au cours de ce travail est la technique des lames FIB. En utilisant le MET, la technique (FIB) a confirmé d'une manière certaine que les zones (lisses gris clair) observées en MEB sont de l'austénite (Figure 2).



Figure 2 : a) Micrographie électronique en transmission sur une lame fabriquée par nano-usinage ionique contenant un grain d'austénite résiduelle dans l'échantillon A1, b) diagramme de diffraction correspondant.

Les analyses MEB montrent que la température du domaine bainitique influence non seulement la morphologie bainitique mais aussi le taux et la distribution de l'austénite résiduelle et la formation ou pas de la perlite et ou de la martensite. En effet, le nombre de sites de germination des lattes de ferrite bainitique et la cinétique de leur croissance déterminent la taille et la distribution des grains austénitiques restants. Aussi, à une température relativement basse (T1), la présence de zones austénitiques faiblement enrichies en carbone facilite leur transformation en martensite après refroidissement à la température ambiante ce qui réduit le taux d'austénite résiduelle à 3 %. En outre, à une température relativement élevée (T3) la formation de la perlite a lieu, cette dernière consomme une grande partie du carbone censé stabiliser l'austénite. La cinétique de transformation bainitique s'en trouve accélérée, réduisant ainsi le taux d'austénite présent à la température ambiante à 1 %. Par contre, à une température intermédiaire (T2) on obtient un taux raisonnable d'austénite résiduelle de l'ordre de 7 %. En effet, les deux phénomènes observés à T1 et T3 sont limités à la température intermédiaire T2.

3. Conclusion

Dans le traitement thermomécanique des aciers TRIP la température d'entrée dans le domaine bainitique est critique pour la rétention d'une certaine quantité d'austénite résiduelle à température ambiante. C'est pourquoi, pour un meilleur effet TRIP et pour une composition chimique donnée, la température d'entrée dans le domaine bainitique doit être optimale, permettant d'avoir un bon compromis entre taux et stabilité de l'austénite résiduelle.

4. Références

[1]: P. Jacques, Q. Furnémont, A. Mertens et F. Delannay. "On the sources of work hardening in multiphase steels assisted by transformation-induced plasticity". Philosophical Magazine A, 2001, Vol. 81, N° 7, 1789-1812.

[2]: W. Bleck et al. Control of microstructure in TRIP steels by niobium, Materials Sciences Forum Vols. 426-432 (2003) pp. 43-48.

Apport de l'amincissement ionique basse tension pour la préparation d'hétérostructures épitaxiées de semi-conducteurs

M. Korytov, O. Tottereau, J. M. Chauveau et P. Vennéguès

CNRS-CRHEA rue Bernard Gregory, 06560 VALBONNE

Résumé – L'objectif de cette présentation est de montrer l'apport de l'amincissement ionique basse tension (<2kV) pour la préparation de différents types d'hétérostructures de semi-conducteurs. Dans le cas des hétérostructures à base de ZnO, l'amincissement basse tension (jusqu'à 100V) permet d'éviter la formation d'artefacts de préparation. Pour les hétérostructures à base de GaAs et GaN, l'amincissement ionique basse tension limite la formation de la couche amorphe recouvrant les échantillons.

Les techniques de microscopie électroniques quantitatives nécessitent l'obtention d'échantillons d'excellente qualité. La préparation classique des hétérostructures de semi-conducteurs comporte des étapes de polissage mécanique suivie d'un amincissement ionique jusqu'à la transparence des objets. Cette étape d'amincissement ionique est critique. Un amincissement ionique mal conduit peut conduire à la formation de nombreux défauts. Différents types de défauts de préparation peuvent être observés : l'amincissement ionique peut créer des défauts cristallins qui se superposeront aux défauts intrinsèques des matériaux étudiés. L'élévation de température liée à l'amincissement ionique peut également entrainer des transformations de phase ou l'amorphisation de phases métastables. La conséquence la plus souvent observée de l'amincissement ionique est la formation d'une couche amorphe sur la surface de l'objet qui peut perturber les analyses quantitatives. Nous montrerons dans la suite que l'amincissement ionique basse tension peut permettre de s'affranchir de certains de ces défauts.

Le ZnO et les alliages à base de ZnO font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches car ces matériaux ont de nombreuses applications potentielles que ce soit dans le domaine de l'optoélectronique que dans celui de la spintronique. Les études de microscopie électroniques en transmission sont par contre très limitées et ceci est du aux difficultés de préparation. Le ZnO se révèle être très sensible à l'amincissement ionique.



Figure 1 – ZnO vue plane, amincissement ionique clasissique ($\geq 2kV$)



Figure 2 - ZnO vue plane, amincissement ionique clasissique ($\geq 2kV$)+ attaque chimique HnO₃



Figure 3 - ZnO vue plane, amincissement ionique clasissique jusqu'à 100V

Un amincissement ionique même à 2 kV conduit à la formation de défauts. De tels défauts sont visibles sur la figure 1 qui correspond à une vue plane d'un film de ZnO épitaxié sur saphir. On peut éliminer ces défauts en faisant une attaque chimique de l'échantillon aminci (figure 2). Par contre, pour un échantillon en section transverse, la faible épaisseur des couches étudiées et l'éventuelle présence de couches de différentes natures chimiques ne permet pas d'utiliser d'attaques chimiques. En utilisant en terminant l'amincissement ionique à très basse tension (100V), on peut également éliminer la plupart des défauts (figure 3). Pour le ZnO, l'amincissement ionique basse tension permet aussi d'éviter la formation de la couche amorphe sur la surface des objets.

L'avantage principal de l'amincissement ionique basse tension pour la préparation d'hétérostructures à base de GaAs et GaN est d'éviter la formation de la couche amorphe sur la surface des objets. Nous montrerons également qu'un amincissement ionique à trop haute tension a une forte influence sur la séparation de phase observée dans des puits quantiques InGaN dans GaN.

Les auteurs remercient la société GATAN pour sa collaboration à cette étude.

Etude des interfaces prismatiques WC/Co dans les alliages WC-Co

Sabine Lay^{*}, Patricia Donnadieu, Marc Loubradou

SIMAP, INPGrenoble-CNRS-UJF, BP75, 38402, St-Martin d'Hères, France

Résumé – Dans les alliages WC-Co, les grains WC sont facettés, délimités par trois facettes prismatiques et deux facettes basales. Comme WC n'est pas un cristal centrosymétrique, deux familles de plans prismatiques peuvent exister à l'interface avec Co. L'étude du contraste en microscopie électronique en transmission à haute résolution permet de déterminer le type de plans prismatiques qui constituent l'interface entre WC et Co.

1. Introduction

Les alliages WC-Co sont préparés par frittage en phase liquide à partir d'un mélange de poudres de WC et Co. Après élaboration, ils sont constitués d'un squelette de grains WC entourés d'une matrice riche en Co. Les grains WC adoptent une forme de prisme à base triangulaire tronquée délimitée par des facettes prismatiques {10-10} et basales {0001} [1]. Le fait que WC ne soit pas un cristal centrosymétrique entraîne l'existence de deux familles de plans prismatiques non équivalentes. Des expériences de mouillage et des mesures de dureté montrent une différence marquée de propriétés entre les facettes {10-10} et {-1010} [2]. Une des deux familles présente des facettes nettement plus développées à l'interface avec Co. Dans le cristal WC, chaque atome W est lié à six atomes C et vice versa. Les interfaces prismatiques de type I comprennent des atomes pour lesquels deux liaisons W-C sont rompues alors que les interface peuvent être terminés par des atomes W ou C.



Figure 1 – (*a*) Forme des cristaux dans les alliages WC-Co.(*b*) Maille de WC. (*c*) Projection de WC selon <0001> montrant les deux types d'interface prismatique I et II.

Des calculs ab-initio ont été réalisés pour déterminer les énergies de ces différentes interfaces [3]. Ces calculs prévoient que les facettes les plus stables sont de type I terminées par des atomes W notées IW. Les facettes les plus développées seraient ainsi de type IW. Dans ce travail, la microscopie électronique en transmission à haute résolution (METHR) est utilisée pour obtenir des données expérimentales sur les interfaces prismatiques WC/Co. Dans un premier temps, il est montré à partir de simulations du réseau de WC que la nature des plans peut être déduite du contraste des images de METHR. Ensuite un exemple d'interface WC/Co est étudié.

2. Résultats

Les cristaux WC ont été observés selon <0001> afin d'orienter les plans prismatiques parallèles au faisceau d'électrons. L'examen des images simulées de WC montre que dans certaines conditions de défocalisation, les taches noires ou blanches adoptent une forme triangulaire (Fig. 2). La comparaison de l'image et de la boîte d'atomes simulée permet de déduire la position des atomes C et W dans l'image. Cette forme triangulaire est plus marquée pour des épaisseurs faibles de WC mais n'est pas modifiée lorsque l'épaisseur augmente (Fig. 3).



Figure 2 – Images simulées de WC selon <0001> d'après [4] pour des défocalisations variant de -10nm à -110nm et une épaisseur d'échantillon de 4.5nm (Microscope JEOL 4000EX, Cs=1.05mm, divergence du faisceau=0.8mrd, défocalisation chromatique=9nm).

^{*} Auteur à contacter : sabine.lay@ltpcm.inpg.fr – Tel : 04 76 82 66 28



Figure 3 – Images simulées de WC selon <0001> pour des épaisseurs variant de 1.1nm à 10.2nm et une défocalisation de -30nm.

Une série d'images a été réalisée en METHR avec des défocalisations croissantes dans un alliage WC-Co fritté 2h à 1450°C et contenant un excès de W. La première étape a consisté à déterminer le plus précisemment possible les valeurs de défocalisation. Pour cela, la transformée de Fourier de l'amorphe au bord du trou de la lame a été comparée au profil de la fonction de tranfert de contraste du microscope. Le pas de défocalisation a ainsi pu être déterminé assez précisemment. Il est de l'ordre de -20nm. La comparaison avec les images simulées notamment pour les images proches du minimum de contraste permet d'affiner les valeurs de défocalisation utilisées. Un bon accord est alors obtenu entre la série d'images expérimentales et simulées. L'image réalisée pour -30nm montrant bien le contraste en forme de triangle a été utilisée pour étudier la nature du plan à l'interface (Fig. 4). La position des interfaces prismatiques est en accord avec un plan de type IW ou IIC. Comme la nature des atomes à l'interface ne peut être déduite de ces observations, il n'est pas possible de trancher entre ces deux types de plans.



Figure 4 – Exemple de grain WC observé selon <0001>. (a)Vue d'ensemble. L'interface prismatique étudiée est désignée par une flèche.(b) La zone observée en METHR est indiquée par une étoile. (c,d) Image du cristal WC avec une défocalisation égale à -30nm et image filtrée correspondante. La forme triangulaire des taches noires et blanches de l'image est mise en évidence. (e,f)Projection de WC selon <0001> et image simulée pour une défocalisation de -30nm et une épaisseur de 3.4nm. Un bon accord est observé avec l'image expérimentale.

3. Conclusion

L'observation de grains WC selon <0001> dans les alliages WC-Co en METHR permet de préciser la nature des plans prismatiques présents aux interfaces avec Co. Il s'agit de plans de type IW contenant des atomes de W pour lesquels deux liaisons W-C ont été rompues ou de plans de type IIC contenant des atomes C pour lesquels quatre liaisons W-C ont été rompues. Ces résultats sont en accord avec les calculs de stabilité des interfaces qui prévoient les interfaces IW comme étant de plus basse énergie.

- [1] H.E. Exner, *Physical and Chemical nature of cemented carbides*, Int. Metals Rev 24 (1979) 149-173.
- [2] D.N. French and D.A. Thomas, *Crystallographic polarity of WC*, Anisotropy, Single-Cryst. Refract. Compounds, Proc. Int. Symp., Ohio 1967, Vahldiek Fred W. Ed., **1** (1968) 55-66.
- [3] M. Christensen, G. Wahnstrom, S. Lay and C.H. Allibert, *Morphology of WC grains in WC-Co alloys: Theoretical determination of grain shape*, Acta Mater 55 (2007 1515-1521.
- [4] P. Stadelmann, *EMS, a Software package for for electron diffraction analysis and HREM simulation in materials science*, Ultramicroscopy 21 (1987) 131-146.

Ta₂O₅ thin films for integrated circuits applications elaborated by electrostatic spray deposition: SEM and TEM characterizations.

Amélie LINTANF^{a,*}, Patricia DONNADIEU^a, Elisabeth DJURADO^b

^a Laboratoire Science Ingénierie Matériaux et Procédés (SIMAP), ENSEEG/INPG, 1130 rue de la piscine, 38402 Saint Martin d'Hères ^b Laboratoire d' Electrochimie et de Physico-chimie des Matériaux et des Interfaces (LEPMI), ENSEEG/INPG, 1130 rue de la piscine, 38402 Saint Martin d'Hères

Abstract – A new spray technique (Electrostatic Spray Deposition (ESD) has been used to elaborate Ta_2O_5 thin films. The density and continuity of such films are a key point for applications. Because of the nanoscale film thickness, high resolution characterizations have been carried out to check the deposit quality. We report here the results of SEM and TEM on cross sections of the as deposited and annealed thin obtained by ESD.

1. Introduction

Advances in microelectronics generate a growing demand for new insulator films for MOS capacitors. Because of its high dielectric constant, Ta_2O_5 appears as a promising gate dielectric material to replace SiO₂. The challenge in the synthesis of Ta_2O_5 thin films is to obtain dense and thin homogeneous layers at low deposition temperature. Besides Ta_2O_5 thin films are also expected to act as a diffusion barrier to copper diffusion in Si or SiC devices. Because of this large application potential, it is relevant to investigate the film elaborated by the new ESD technique. Actually, the ESD technique briefly described below is of high interest for several reasons. It is a low cost process, with good reproducibility, which allows a control of the film morphology and conformity. The ESD technique is a spray technique in which the thin film is formed by the spreading of droplets on the substrate. In the present work, thin films were deposited using a vertical ESD set-up (Figure 1) described in previous papers [1][2]. The precursor solutions were prepared by dissolving tantalum ethoxide in diethylene glycol monobutyl and ethanol. The experimental conditions (Table 1) were determined to obtain films with thickness below 30 nm [2].



Figure 1 – Experimental ESD set-up.

 Table 1 – Experimental ESD conditions

However, because deposition occurs in liquid state, conformity for the as deposited states is expected but, the density, further stability of the thin film and reactivity with the substrate are questionable. Therefore to complement the SEM investigation, a TEM study of cross section has been carried out on samples as deposited and annealed at various temperatures in air and in helium atmospheres.

2. SEM and TEM characterizations

2.1. As deposited films

According to plane view (Figure 2a) and cross section (Figure 2b) examined by FE-SEM, the as deposited film by ESD was found dense and with a 25 nm thickness.



Figure 2 – FE-SEM images of film deposited on Si substrate (a) plane view (b) cross section

Amélie LINTANF : amelie.lintanf@enseeg.inpg.fr - Tel : 04 76 82 65 74

TEM observation carried out on a cross section has confirmed that the as deposited film was continuous (Fig. 3a) but formed of very small crystals (Fig. 3c). An 2 nm amorphous silica layer was observed at the interface between the film and the substrate (Fig. 3b). This silica layer may be due to the fact that the deposition occured in air atmosphere.



Figure 3 –TEM images of the as deposited Ta_2O_5 film in cross section: (a) continuous deposit with a variable thickness (b) at the interface with the substrate, note a 2 nm silica layer (c) black dots contrast revealing nanocrystallite within the as deposited film.

2.2 Influence of thermal treatment and atmosphere

2.2.1. In air atmosphere

The as deposited film has been annealed in air at different temperatures (750, 800 and 850° C) for 1 hour. After annealing at 750°C (Fig. 4a) the film was still amorphous and started to crystallize about the temperature above 800°C (Fig. 4b and 4c). The film thickness decreased by increasing the temperature from 750 to 850°C. Owing to the Ta strong absorption contrast, we observed an increase in density compared to the as deposited film. However simultaneously the silica layer at the interface with the Si substrate has grown during the annealing and reached a 15 nm thickness after annealing at 850°C.



Figure 4 – TEM images in cross section of a Ta₂O₅ film annealed in air at: (a) 750°C (b) 800°C (c) 850°C.

2.2.2. in helium atmosphere

This annealing aimed at testing the influence of atmosphere on the SiO₂ layer growth. As illustrated in Figure 5, after thermal post treatment in helium at 850°C, the silica SiO₂ layer was approximately 5 nm thick (Fig. 5b). Though still forming a continuous layer (Fig. 5a), the Ta₂O₅ film developed well defined crystals (Fig. 5c).



Figure 5 – TEM images in cross section of a Ta_2O_5 film annealed in helium at 850°C.

3. Conclusion

The present nanostructural characterizations aim at testing the quality of Ta_2O_5 films elaborated by a new spray technique. Though the thickness and continuity of the deposit are quite satisfactory, it remains to better control the elaboration atmosphere and reactivity at the interface with the substrate. Annealing in He atmosphere already gives encouraging results.

4. References

- [1] A. Lintanf, R. Neagu, E. Djurado, *Nanocrystalline Pt thin films prepared by electrostatic spray Deposition for automotive exhaust gas treatment*, Solid State Ionics **177** (2006) 3491-3499.
- [2] A. Lintanf, A. Mantoux, E. Blanquet, E. Djurado, *Elaboration of Ta*₂O₅ *Thin films using Electrostatic Spray Deposition For Microelectronic Applications*, J. Phys. Chem. (2007) in press.

Observation *in-situ* de l'évolution de nanotubes dans GaN, sous irradiation électronique

Frédéric Pailloux^{a,*}, Jérôme Colin^a, Jean Grilhé^a, Jean-François Barbot^a

^a Laboratoire de Métallurgie Physique, UMR6630 CNRS/Université de Poitiers, Bd M. & P. Curie, 86962 Futuroscope-Chasseneuil, France

Résumé – Ce travail porte sur l'étude de l'évolution morphologique *in-situ* de nanotubes dans le nitrure de gallium, soumis à une irradiation aux électrons. La transition morphologique observée y est interprétée en termes d'abaissement d'énergie de surface. Le rôle de l'oxygène dans cette transition est également discuté.

1. Introduction

Le nitrure de gallium (GaN) est un des semi conducteurs à large bande interdite (E_g =3.39 eV) les plus prometteurs pour des applications en opto-électronique et dans les dispositifs de grande puissance ou de haute fréquence. Cependant, sa synthèse par croissance épitaxiale, sur des substrats de saphir, donne en général naissance à un assez grand nombre de défauts structuraux tels que des dislocations traversantes (10^9 cm^{-2}) et des nanotubes (10^6 cm^{-2}). De nombreux travaux ont été consacrés à la compréhension de la génèse et de la structure de ces défauts, ainsi qu'à leur influence sur les propriétés opto-électroniques. Différents scénarios ont été proposés pour expliquer l'apparition de dislocations à cœurs creux ; il semble aujourd'hui admis que la ségrégation d'impuretés (oxygène par exemple) au cours de la croissance en soit le moteur principal. Dans une étude récente, Hawkridge & Cherns [1] ont montré que l'oxygène peut se substituer à l'azote au cœur des dislocations. En abaissant l'énergie de surface des plans {10-10}, cette impureté favoriserait l'ouverture du coeur de la dislocation (de type vis), conduisant ainsi à la naissance et au développement d'un nanotube. Il a déjà été observé par ailleurs des dislocations à cœurs alternativement ouvert et fermé (chaîne de cavités pyramidales, structure en bambou), ce qui suggèrerait que la morphologie du cœur des dislocations vis serait gouvernée par la concentration en oxygène. Notre étude tend à tempérer cette vision de la génèse de telles structures.

2. Résultats

L'échantillon analysé dans cette étude est un monocristal de GaN (7µm) epitaxié par MOCVD sur un substrat de saphir (0001). Des coupes transverses de cet échantillon ont ensuite été préparées pour les observations par microscopie électronique en transmission. Cette préparation a été menée en deux étapes : un amincissement mécanique (tripode) jusqu'à une épaisseur inférieure à 10µm suivi d'un amincissement ionique (PIPS, Ar 2.5keV). Il est à noté qu'aucun nettoyage par plasma d'oxygène n'a été effectué avant observation de l'échantillon. Les irradiations et les observations ont été réalisées dans un microscope JEOL 3010 (LaB₆, 300kV, 0.19 nm). Le flux d'électrons reçu par l'échantillon a été estimé à 10¹⁹ e⁻.cm⁻².s⁻¹; la durée de l'irradiation a été limitée à 6 heures. Les micrographies obtenues à différents stades de l'évolution montrent clairement que sous l'effet d'une irradiation prolongée, un nanotube possédant à l'origine des parois parfaitement lisses se transforme successivement en un tube à parois rugueuses (structure en bambou) puis en une chaîne de cavités pyramidales reliées par une dislocation à cœur fermé (fig. 1). Nous décrivons cette transition en termes d'abaissement de l'énergie de surface et suggérons que l'origine de ce phénomène est la création, par le faisceau d'électrons, de défauts ponctuels (paires de Frenkel) qui provoquent l'apparition d'une rugosité sur les surfaces latérales des nanopipes [2]. Ces défauts ponctuels proches des nanopipes favorisent la formation de facettes de type {10-11} énergétiquement plus favorable que les faces d'origines de type {10-10}. Il est a noté qu'en conséquence de la nature polaire de la structure wutzite, les cavités pyramidales ainsi formées sont toutes orientées dans la même direction (i.e. la pointe est orientée en direction du substrat). L'irradiation prolongée de cette structure conduit d'une part à un mécanisme de murissement d'Oswald et d'autre part à un mouvement latéral des cavités pyramidales qui s'éloignent de leur site de formation. Nos observations les plus récentes nous permettent en outre de conclure que quelque soit la longueur d'onde de la rugosité se développant initialement sur la paroi du nanotube, le rapport d'aspect des cavités pyramidales abouti à une valeur fixée par la structure crystallographique du GaN.

^{*} Auteur à contacter : frederic.pailloux@univ-poitiers.fr – Tel : 05 49 49 67 83



Figure 1. Transformation d'un nanopipe en chapelet de cavités. (a) Structure initiale : débiut d'irradiation (b) Premier stade de l'évolution, création de défauts ponctuels dans GaN et apparition d'une rugosité sur les surfaces du nanopipe. (c) Après quelques heures d'irradiation, le nanopipe est entièrement décomposé en une chaîne de cavités pyramidales.

3. Discussion

Bien que le rôle de l'oxygène dans cette évolution reste mal compris, nous montrons que la configuration finale (chapelet de cavités) est plus stable que celle de départ (nanopipe régulier) et que de fait, la présence ou non d'oxygène ne semble pas être le seul critère à prendre en compte. En effet il nous semble improbable, dans la géométrie que nous avons adoptée pour menée cette étude (coupe transverse), que de l'oxygène soit introduit ou extrait du cœur des nanotubes et participe à l'évolution morphologique de ces structures.

- [1] Hawlridge M.E. and Cherns, D., Appl. Phys. Lett. 87 (2005) 221903
- [2] Pailloux F., Colin J., Barbot, J.F. and Grilhé J., Appl. Phys. Lett. 86 (2005) 131908

Analyse de défauts lacunaires linéaires créés par implantation d'hélium dans GaN

Frédéric Pailloux^{a,1}, Laurent Pizzagalli^a, Erwan Oliviero^{a,b}, Guillaume Lucas^a, Jean-François Barbot^a

^a Laboratoire de Métallurgie Physique, UMR6630 CNRS/Université de Poitiers, Bd M. & P. Curie, 86962 Futuroscope-Chasseneuil, France

^b Centre de Spectrométrie Nucléaire et de Spectrométrie de Masse, Bât 108, 91405 Orsay Campus, France

Résumé – Cette étude porte sur l'analyse des défauts générés par implantation ionique d'He dans du nitrure de gallium. Les défauts produits sont analysés par microscopie électronique en transmission à haute résolution ; les micrographies obtenues sont comparées à des simulations d'images obtenues à partir de structures modèles.

1. Introduction

Peu de travaux ont pour l'heure été consacrés à l'étude des défauts induits par irradiation/implantation dans le nitrure de gallium (GaN). Or l'implantation ionique est un procédé couramment utilisé pour modifier localement les propriétés des matériaux dans les dispositifs à base de semi-conducteurs : création d'une couche isolante, modification locale du dopage, découpe de couche mince par « smart-cut » (procédé fortement envisagé pour le GaN et directement lié à notre étude). Par ailleurs le GaN est exclusivement produit par épitaxie de films minces sur différents types de substrat (Si, AlN, SiC, Al₂O₃) ; la microstructure du film mince étant fortement influencée par le désaccord paramétrique film/substrat. Une des solutions permettant de réduire ce désaccord paramétrique consiste à faire croître au préalable une ou plusieurs couches tampons. Récemment, il a été proposé d'utiliser les cavités crées par implantation d'hélium (plus particulièrement, le champ de déformation qu'elles induisent) comme vecteurs permettant de diminuer le désaccord paramétrique dans des couches de SiGe [1]. En outre, Alquier *et al.* [2] ont étudié les interactions entre des nano-cavités créées par implantation d'hélium et les dislocations d'épitaxie dans des hétérostructures à base de GaN. Notre étude s'inscrit dans ce contexte et vise à déterminer la nature des défauts créés par implantation d'hélium à forte dose dans GaN.

2. Résultats

Un film mince de GaN épitaxié par MOCVD sur un substrat de saphir a été soumis à une implantation d'ions He⁺ d'une énergie de 50 keV et à une température de 750°C afin d'éviter les phénomènes d'amorphisation. La forte quantité d'ions implantée, 10¹⁷ He.cm⁻², correspond à une valeur d'endommagement maximale de 5,5 dpa (déplacement par atome) et à une concentration maximale de 6,5.10²¹ He.cm⁻³. Les coupes transverses, préparées par amincissement mécanique (tripode) jusqu'à une épaisseur d'environ 7µm suivi d'un amincissement ionique dans un PIPS (Ar, 2.5keV), ont été caractérisés par microscopie électronique en transmission conventionnelle et haute résolution (HRTEM). Ces observations confirment le fait qu'aucune transition amorphe ne s'est produite. Seule une couche endommagée, d'environ 200nm d'épaisseur, centrée sur le profil d'implantation des ions He (fig. 1) est observée. Cette bande est constituée dans sa partie supérieure (proche de la surface) de bulles sphériques dont le diamètre n'excède pas 2 nm. Plus en profondeur (à niveau du pic d'He, R_p), des bulles de même taille sont organisées en chapelets de plusieurs dizaines de nanomètres de long (éventuellement en plaquettes). Ces chaînes de bulles sont localisées dans les plans de base de la structure wurtzite (0001) et sont corrélées à la présence de dislocations. Par ailleurs les observations montrent des défauts linéaires (1D) situés en arrière de cette bande fortement endommagée (fig. 2) : ces défauts, repartis dans un domaine relativement étroit (<50 nm) sont de taille et de forme relativement homogènes (15 nm de long et 1 nm de diamètre). Le contraste (frange de Fresnel) de ces défauts présente le même comportement en défocalisation que celui des bulles ; ceci indique qu'ils sont de même nature : lacunaire. Dans cette même zone de l'échantillon, on observe également une assez grande quantité de boucles de nature interstitielle. Afin de préciser la nature et la structure atomique des défauts lacunaires décrits ci-dessus, les micrographies HRTEM ont été comparées à des images simulées à partir de structures modèles. Ces dernières ont été obtenues selon une procédure en deux étapes : une cavité cylindrique est initialement créée dans un cristal massif de GaN, puis le système est relaxé par simulations atomistiques, les interactions atomiques étant décrites par un potentiel de type Stillinger-Weber. Les simulations d'image ont été effectuées selon une approche "multislice" avec le logiciel EMS. Ces simulations, obtenues pour différentes défocalisations, ont alors été comparées aux séries focales expérimentales. La faible ressemblance entre les images simulées et les clichés expérimentaux ne permet malheureusement pas de conclure quant à la nature précise de ces défauts linéaires.

¹ Auteur à contacter : frederic.pailloux@univ-poitiers.fr – Tel : 01 02 03 04 05



Figure 1. Vue transverse de la zone endommagée par l'implantation d'He à laquelle sont superposés les profils d'He et d'endommagement. Cette image montre l'organisation des bulles dans les plans de base de la structure wurtzite.



Figure 2. Micrographie HR d'un défaut lacunaire linéaire. L'image montre un champ de déformation entourant le défaut. Cette image présente également plusieurs boucles de dislocations de nature interstitielle.

3. Discussion

Bien que les simulations menées jusqu'à maintenant ne permettent pas de conclure sur la structure précise de ces défauts linéaires lacunaires, les micrographies montrent clairement que ces défauts génèrent autour d'eux un fort champ de déformation. Or les structures lacunaires relaxées par simulation atomistique montrent de très faibles déplacements atomiques (en accord avec les constantes élastiques de GaN). Ces résultats suggèrent que ces défauts sont plus complexes que de simples arrangements de lacunes et qu'ils contiennent certainement un gaz sous pression. Nos travaux actuels visent à déterminer la nature du gaz (He ou N) qui pourrait se trouver dans ces défauts.

- Hollander B., Lenk S.T., Mantl S., Trinkhaus H., Kirch D., Luysberg M., Hackbarth T., Herzog H.J., Fichtner P.F.P., *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 175-177 (2001), 357; M.J. Morschbacher, D.L. da Silva, P.F.P. Fichtner, E. Oliviero, M. Behar, F.C. Zawislak, B. Hollander, M. Luysberg, S. Mantl, R. Loo, M. Caymax, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* 219 (2004), 458
- [2] Alquier D., Bongiorno C., Roccaforte F., Raineri V., Appl. Phys. Lett. 86 (2005), 211911

Structure of Ce doped Na_{0.5}La_{0.5}MoO₄ single crystals Elena I. Suvorova ^{a,b}, Galina M. Kuz'micheva ^c, Kirill A. Subbotin ^d, Evgeniy V. Zharikov ^d, Marco Cantoni ^a and Philippe A. Buffat ^a

^a Centre Interdisciplinaire de Microscopie Electronique, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015, Switzerland
 ^b Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, pr. Leninsky 59, Moscow, 119333, Russia
 ^c Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571, Russia
 ^d Prokhorov Institute of General Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 38, Moscow, 119991, Russia

Résumé – Doping NaLa(MoO₄)₂ single crystals by Ce and Er impurities together with the proper growth conditions can provide new efficient materials that may be used as flashlamp-pumped laser hosts and scintillators. The main problem of the Ce doped material is the dual status of Ce ions as useful substitutors of La (Na) positions in the crystal and source for harmful CeO₂ precipitates. TEM/HRTEM/EDS/EELS study succeeded to get information on the nature and density of precipitates responsible of spurious Mie light scattering and as well as structure of the doped matrix.

1. Materials and Methods

 $Na_{0.500}La_{0.495-x}$ Ce_xEr_{0.005}MoO₄ (NLM:Er,Ce) crystals (x = 0.125, 0.15, and 0.25) were grown from extra-pure grade Na_2CO_3 , La_2O_3 , Er_2O_3 , CeO₂, and MoO₃ by Czochralski method from iridium crucibles in a weakly oxidizing (99% N2 + 1% O2) atmosphere. Bar-shaped single crystal seeds oriented perpendicular to the fourfold axis of a tetragonal crystal were chosen to minimize the thermal stress. The pulling rate was 2 mm/h and the crystal rotation was varied from 15 to 20 rpm. The obtained single-crystal boules were transparent, optically homogeneous and did not contain macroscopic inclusions. They were subsequently subjected to short-term high-temperature (24 h, 1000°C) and/or long-term low-temperature (100 h, 700°C) air annealing which resulted in more or less severe sample opacity.

The aim of this study was to understand the origin of this opacification and to compare the microstructure of samples formed under different growth and annealing conditions.

Phase and structural analysis were done first by powder XRD (CuK α radiation, diffracted-beam monochromator, $2\theta = 17^{\circ}-100^{\circ}$ with a step scan 0.02°/step and a counting time of 10 s per data point) and single-crystal diffraction (MoK α radiation, graphite monochromator, ω scan mode and with the refinement of the lattice parameters among 25 reflections in the angular range $23^{\circ} < \theta < 26^{\circ}$).

Then carbon coated polished samples were characterized by SEM (backscattered electron mode) and EDS in a FEI XL30 Sirion/FEG. Finally the micro/nanostructure of ion milled thin foils were investigated by TEM, HRTEM, EDS, and EELS in a FEI CM300UT/FEG. The images were recorded on a Gatan 797 slow scan CCD camera and processed with the Gatan Digital Micrograph 3.11.0 software. The interpretation of the SAED patterns, HRTEM images and FT diffractograms were performed with the JEMS software package[2].

2. Results and Conclusions

The powder X-ray diffraction did not reveal the presence of second phase within the detection limit of 2 mass %. Rietveld profile fits of the XRD patterns showed that the lattice parameters changed with the Ce concentration and a reduction of the cell volume takes place at increasing concentrations [3].

However numerous CeO_2 precipitates were found in the SEM and TEM images of all annealed crystals and in most of the non-annealed crystals. Obviously two different mechanism of precipitation occurs. Part of the precipitates are found from SEM pictures to form long ribons of elongated platelets along distant lines close to [001] and [01-3] directions on [100] cuts although their habit can differ from these directions (Fig. 1a). BF and DF TEM shows that they are linked to matrix dislocations (Fig 1b). The remaining precipitates are more or less uniformely distributed in the matrix (Fig. 2a).

Two types of orientation relationships between the NLM crystal (tetragonal) and CeO₂ precipitates (cubic) were obtained from SAED and HRTEM observations: [100]NLM // [100]CeO₂ with (012)NLM // (011)CeO₂ or (001)NLM // (001)CeO₂ (Fig. 2b). The interface between (100)NLM//(100)CeO₂ as well as (010)NLM//(010)CeO₂ which have only 0.85% misfit are coherent while the 8.57 % lattice misfit between the (001)NLM//(001)CeO₂ lead to interfacial dislocations and incoherent interfaces.

EELS spectra exhibit an ELNES fine structure of the Ce edge [4]: the Ce⁴⁺ M₅ and M₄ edges consist in two main maxima at 884.0 and 901.6 eV and lower broader maxima at 889.2 and 906.7 eV. It was observed as expected in CeO₂ precipitates. The M_{4,5} spectrum of Ce³⁺ differs in energy and shape from the Ce⁴⁺ one with the maxima at 882.0 and 899.7 eV, and with an inverse peak intensity ratio of the M₅ to M₄ edge. It was observed in the annealed matrix (Fig. 3) and corresponds to reduced Ce in substitutionnal position at the La/Na sites. The increase of number and size of CeO₂ precipitates after annealing is understood as precipitation of Ce in excess in the non-annealed matrix which status is still under investigation (interstitial Ce, oxide or reduced form?).

At contrary from XRD, electron microscopy has shown unambigously that CeO_2 precipitation occurred during the crystal growth and subsequent annealing. Faceting and coarsening of CeO_2 precipitates is observed after annealing, up to 200-300 nm in some samples. These precipitates are responsible of the degradation of optical properties (Mie light scattering). Optimization of growth and annealing conditions has allowed to significantly reduce the concentration and size of precipitates.



Figure 1: non-annealed sample. (a) SEM, 15kV, backscattered electron mode, thin CeO_2 precipitates aligned along the [001] and $[01\overline{3}]$ direction; (b) TEM BF, decorated dislocations with thin precipitates



Figure 2: annealed sample. (a) SEM, 15kV, backscattered electron mode, CeO2 precipitates randomly dispersed in the matrix; (b) semi-coherent precipitate



Figure 3: annealed sample, *EELS* spectra from Ce^{3+} (matrix) and Ce^{4+} (precipitate).

- E. I. Suvorova, G. M. Kuz'micheva, A. V. Morozkin, E. V. Zharikov, D. A. Lis and K. A. Subbotin, *Microstructure of (Na_{0.5}La_{0.5})MoO₄ Crystals Coactivated with Cerium and Erbium Ions*, Inorganic Materials, 43 (2007) 287-291.
- [2] P.A. Stadelmann, JEMS, http://cimewww.epfl.ch/people/Stadelmann/jemsWebSite/jems.html
- [3] G. M. Kuz'micheva, V. B. Rybakov, E. V. Zharikov, D. A. Lis and K. A. Subbotin, Unusual Structural Properties of (Na_{0.5}La_{0.5})MoO₄:Er, Ce Crystals., Inorganic Materials, 42 (2006) 303–309
- [4] L.A. Garvie and P.R. Busek, *Determination of Ce*⁴⁺/Ce³⁺ in electron-beam-damaged CeO₂ by electron energy-loss spectroscopy, J. Phys. Chem. Sol. **60** (1999) 1943-1947

Etude par microscopie électronique en transmission de films non-polaires de ZnO déposés sur saphir plan R par épitaxie par jets moléculaires

P. Vennéguès¹, J.M. Chauveau^{1,2}, C. Morhain¹, C. Deparis¹, J. Zuniga-Perez¹

¹CNRS-CRHEA rue Bernard Gregory, 06560 VALBONNE ²Université de Nice-Sophia-Antipolis, Parc Valrose 06103 NICE

Résumé – Différentes techniques de microscopie en transmission (haute-résolution, champ sombres, diffraction en faisceau convergent) sont utilisées pour étudier la microstructure de films de ZnO non-polaires épitaxiés sur saphir plan R. Les films sont déformés de façon asymétrique dans le plan de la couche. Leur microstructure est dominée par les fautes d'empilement et par les dislocations partielles. Un procédé de formation de ces fautes par dissociation de dislocation de vecteur de Burger [0001] par montée est mis en évidence.

Les films épitaxiés de matériaux de structure wurtzite ont, la plupart du temps, un axe de croissance le long de la direction <0001> qui est une direction polaire. Avec une telle orientation, les champs électriques internes dus aux polarisations spontanées et piézoélectriques ont une forte importance sur les propriétés physiques des hétérostructures quantiques. Dans les dernières années, des orientations alternatives ont été utilisées pour supprimer ou au moins diminuer l'influence de ces champs électriques internes. Cette présentation concerne l'étude par microscopie électronique en transmission de films de ZnO déposés par épitaxie par jets moléculaires sur des substrats de saphir orientés (1-102) (plan R).

Les relations d'épitaxies sont déterminées par diffraction électronique comme étant $[10-10]_{ZnO}$ || $[11-20]_{saphir}$ et $[0001]_{ZnO}$ || $[-1101]_{saphir}$. Grâce à la diffraction en faisceau convergent, le sens de l'axe polaire [0001] dans le plan de la couche est déterminé. Nous montrons que les liaisons O-Al dans le substrat et les liaisons O-ZnO sont parallèles.

Les images haute-résolution en section transverses le long des directions perpendiculaires $[10-10]_{ZnO}$ et $[0001]_{ZnO}$ montrent des interfaces très abruptes. A partir de la mesure des distances entre dislocations, nous montrons que les films ont une déformation asymétrique : les films sont pratiquement relaxés le long de [10-10] alors qu'ils sont déformés le long de [0001].

La microstructure de ces films est dominée par la présence de fautes d'empilement et de dislocations partielles qui terminent ces fautes avec des densités respectives de 2.10^5 cm⁻¹ et 6.10^{10} cm⁻². En utilisant la microscopie hauterésolution et le contraste de diffraction, la nature de ces fautes est déterminée. Il s'agit de fautes de type I₁ avec un vecteur déplacement 1/6<20-23>. Certaines de ces fautes d'empilement résultent de la dissociation de dislocations parfaites de vecteur de Burger [0001] par un procédé de montée de dislocations partielles de vecteur de Burger



1/6<20-23>. Un tel procédé devrait être énergétiquement peu favorable et doit être aider par la présence de défauts points.

Tous les défauts observés proviennent de l'interface ZnO/saphir et leurs densités n'évolue pas avec l'épaisseur des couches épitaxiées. Nos prochains efforts porteront sur la détermination des mécanismes de formation de ces défauts.

Alliages granulaires de Cu₈₀Fe₁₀Ni₁₀ préparés par hypertrempe, étude micro-structurale par EFTEM et EDX

G. Y. Wang^a, S. Cazottes^b, P. Ochin^a, A. Fnidiki^b, D. Lemarchand^b, et F. Danoix^b

^a ICMPE (ex. C.E.C.M.), UMR CNRS 7182, 94407 Vitry sur Seine, France ^b Groupe de Physique des Matériaux, GPM, UMR CNRS 6634, 76801 Saint-Etienne du Rouvray, France

Résumé - Le système ternaire Cu-(Fe,Ni) est connu pour développer une magnétorésistance géante significative [1-3]. Cette magnétorésistance géante est due à la présence de précipités magnétiques nanométriques (Fe,Ni), isolés les uns des autres par une matrice non magnétique de Cu. Le ruban Cu₈₀Fe₁₀Ni₁₀ (at%) élaboré par fusion et hypertempe est constitué, dans l'état brut de trempe, de particules nanométriques de γ -(Fe,Ni) de structure cfc isolées dans une matrice de cuivre cfc. Le diamètre moyen des particules est de l'ordre de 5 nm. Les études de EFTEM (energy filtered transmission electron microscopy) et la microanalyse EDX ont porté sur l'évolution de la microstructure du ruban en fonction de la température de recuit, elles ont permis de mettre en évidence cette phase riche en FeNi qui est à l'origine de magnétorésistance géante.

1. Introduction et étude thermodynamique

Le système ternaire Cu-(Fe,Ni) est connu pour développer une magnétorésistance géante significative [1-3]. Cette magnétorésistance géante est due à la présence de précipités magnétiques nanométriques (Fe,Ni), isolés les uns des autres par une matrice non magnétique de Cu. Alors que le nickel est miscible dans le Cuivre, le fer présente une lacune d'immiscibilité importante dans le cuivre que l'on retrouve dans le systeme ternaire Cu-Fe-Ni. La phase γ cfc, présente à haute température, se décompose en 2 phases cfc γ l et γ 2, γ l est la phase riche en Cu, γ 2 est la phase riche en (Fe, Ni).

 $Cu_{80}Fe_{10}Ni_{10}$ est préparé en deux étapes : un pré-alliage a été formé par fusion sous arc qui contient les concentrations voulues en Cu, Fe et Ni, puis ce pré-alliage a été solidifié sous forme de ruban par trempe rapide (~ 10^6 °/s) sur une roue en rotation (Fig. 1). Le but est d'obtenir des échantillons dont la microstructure se rapproche le plus possible d'une solution solide, puis de faire apparaître les phases γ 1 et γ 2 par des recuits. Trois échantillons sont étudiés, l'un à l'état brute de trempe, l'un recuit à 400°C pendant 2 heures, et le dernier recuit à 600°C pendant 24 heures.



(a)

Figure 1 Schéma de la trempe rapide sur une roue.

Figure 2 (a) Image des grains de $Cu_{80}Fe_{10}Ni_{10}$ et (b) diffraction d'un grain orienté dans l'axe [110]

500 nm

2. Etudes micro-structurales

Les études micro structurales sont effectuées à l'aide d'un MET (microscope électronique en transmission) Tecnai F20, opérant à 200 KV, équipé d'un FEG (Field emission gun), d'un GIF (Gatan imaging filter), et d'un spectromètre EDX EDAX (détecteur Si-Li). Les lames minces pour les observation en MET sont préparées par amincissement ionique (Gatan PIPS).

La figure 2(a) montre une image en champs clairs des grains de $Cu_{80}Fe_{10}Ni_{10}$, la taille des grains varie de 0,5 µm à quelques µm, le diagramme de diffraction électronique d'un grain 2(b) montre une structure cfc qui ne permet pas de distinguer les phases $\gamma 1$ (riche en Cu) et $\gamma 2$ (riche en FeNi), en effet elles ont la même structure cristallographique cfc avec des paramètres de maille assez proches, et sont orientées dans la même direction cristallographique. Ainsi, les images classiques en champs clairs ou sombres, ainsi que la diffraction d'électrons ne permettent pas de mettre en évidence l'existence de ces deux phases. Les images EFTEM réalisées par GIF (Fig. 3) de ce même échantillon montrent la présence de petites particules (environ 4 nm de diamètre) riche en Fe et Ni (phase $\gamma 2$) dans la matrice de Cu ; le faible contraste de la carte du nickel provient du fait que Ni est

partiellement miscible avec Cu. La figure 4 montre les images EFTEM du même composé mais après un recuit à 600°C pendant 24 heures, on constate que les particules riche en Fe et Ni ont considérablement grossi (~20 nm de diamètre), et ont une forme sphérique bien définie. La carte du nickel est bien plus contrasté car d'avantage d'atomes de Ni ont migré depuis la matrice vers la phase $\gamma 2$.



Figure 3. Images EFTEM d'un grain de Cu₈₀Fe₁₀Ni₁₀



Figure 4. Images EFTEM d'un grain de Cu₈₀Fe₁₀Ni₁₀ après recuit à 600°C pendant 24 heures

Nous avons analysé la composition des phases $\gamma 1$ et $\gamma 2$ de l'échantillon après un recuit à 600°C par le spectrométrie EDX (tableau 1), les résultats sont assez proches de ceux calculés par la simulation Thermocalc®.

	γ1				γ2			
	Fv	Cu	Ni	Fe	Fv	Cu	Ni	Fe
Thermocalc® prediction	82.08	95.48	4.26	0.26	17.92	9.10	36.31	54.59
Experimental	81	91	7	2	19	11	36	53

Tableau 1 : Fraction volumique et composition des phases γ 1 et γ 2 simulées par Thermocalc et analysées par EDX

3. Conclusion

Les alliages granulaires de composition $Cu_{80}Fe_{10}Ni_{10}$ sont préparés par fusion puis trempe rapide sur une roue en rotation, les études EFTEM et EDX ont permis de mettre évidence la présence d'une phase $\gamma 2$ formée de particules de taille nanometrique (4-6 nm), de structure cfc, riches en FeNi incorporée dans une matrice de phase $\gamma 1$ cfc, riche en Cu, jusqu'à présent non observée directement. Le traitement thermique à 600°C abouti à la coalescence des particules de phase $\gamma 2$ de 20 nm dont la composition analysée est assez proche de celle calculée par la simulation Thermocalc[®]. Cette phase $\gamma 2$ est à l'origine de la magnétorésistance géante.

- [1] L.H. Chen, S. Jin, T.H. Tiefel, S.H. Chang, M. Eibschtuz, Physical Review B, vol 49, number 13, (1994) 91-94.
- [2] M. Barrico, E. Bosco, G. Acconciaioco, P. Rizzi, M. Coisson, Materials Science Engineering, A 375.377 (2004), 1019-1023
- [3] L.H. Chen, S. Jin, T.H. Tiefel, S.H. Chang, M. Eibschtuz, J. Appl. Phys. 79, (8), April (1996).

Microscopie d'électrons lents polarisés en spin pour l'imagerie de systèmes magnétiques de faible dimensionnalité

Nicolas Rougemaille^{a,*}, Andreas Schmid^b

^a Institut Néel, CNRS-UJF, BP166, F-38042 Grenoble cedex 9, France

^b NCEM, Lawrence Berkeley National Laboratory, 1 Cyclotron Road MS/72, Berkeley, CA 94720, USA

Résumé - L'objet de cette présentation est de décrire les principes généraux de la microscopie d'électrons de basse énergie et polarisés en spin (SPLEEM). La microscopie SPLEEM est une technique d'imagerie dédiée à l'étude de surfaces magnétiques. Les potentialités et les performances de cette technique seront illustrées au travers de résultats récents obtenus au Lawrence Berkeley National Laboratory. La complémentarité du SPLEEM avec d'autres techniques d'imagerie magnétique, et en particulier avec la microscopie à photoémission d'électrons X (X-PEEM), sera discutée.

1. Imager le magnétisme à l'échelle nanométrique

Ces dix à vingt dernières années, de nombreuses techniques de microscopie ont été développées pour imager le magnétisme de surfaces, d'interfaces et de couches minces avec une résolution nanométrique. La microscopie à force magnétique, la microscopie électronique à balayage résolue en spin ou à effet tunnel polarisé en spin sont quelques-unes des techniques les plus connues. Ces techniques ont permis non seulement de réaliser des avancées significatives en matière d'imagerie magnétique, mais également d'étudier et de comprendre en détail un grand nombre des problèmes qui se posent en micro et nanomagnétisme (nucléation, formation, propagation des domaines et des parois magnétiques, apparition de l'ordre magnétique, dynamique d'aimantation...) [1]. Bien que ces problèmes aient été pour l'essentiel abordés d'un point de vue fondamental, les implications potentielles des nanostructures magnétiques dans les domaines liés au stockage de l'information motivent aujourd'hui de nouvelles études, nécessitant des mesures toujours plus complètes et plus précises (résolution spatiale nanométrique, résolution temporelle sub-nanoseconde, cartographie tridimensionnelle de l'aimantation, sélectivité chimique, corrélation structure - magnétisme...) [2].

Dans les années 1990, une autre technique dédiée à l'imagerie de surfaces magnétiques a été mise au point : la microscopie d'électrons de basse énergie et polarisés en spin (SPLEEM). Le SPLEEM est une extension de la microscopie conventionnelle d'électrons de basse énergie (LEEM) dans laquelle la source d'électrons fournit des électrons polarisés en spin (figure 1). Tout comme le LEEM, le SPLEEM est une méthode d'imagerie directe qui permet d'acquérir des images à la cadence vidéo, avec une résolution spatiale inférieure à 10 nm [3-4]. On peut ainsi corréler, en temps réel, des informations topographiques, morphologiques et spectroscopiques à des données magnétiques. De plus, la direction de la polarisation de spin du faisceau d'électrons incidents peut être ajustée dans n'importe quelle direction de l'espace, permettant de cartographier en 3 dimensions la distribution locale de l'aimantation du matériau étudié.



 Figure 1 – Schéma de principe du SPLEEM. Des électrons de très basse énergie (quelques eV) sont injectés en incidence normale sur la surface étudiée, et l'on détecte les électrons rétrodiffusés balistiquement par cette surface pour en faire l'image. Pour une surface ferromagnétique, le nombre d'électrons rétrodiffusés dépend de l'orientation relative de son aimantation locale et du spin des électrons incidents, ce qui confère à la technique une sensibilité au magnétisme.

^{*} Auteur à contacter : nicolas.rougemaille@grenoble.cnrs.fr – Tel : 04 76 88 74 27

2. Sonder une composante quelconque de l'aimantation

Dans un microscope SPLEEM, la source d'électrons conventionnelle (filament) est remplacée par un canon à électrons polarisés en spin. Ce canon est composé d'une source et d'une optique électronique spécifique.

Les faisceaux d'électrons polarisés en spin sont produits au moyen de photocathodes d'arséniure de gallium fortement dopées p, en condition de pompage optique. Sous illumination par une lumière polarisée circulairement, d'énergie proche de la bande interdite de GaAs, les électrons photogénérés dans la bande de conduction portent une polarisation de spin (longitudinale) de 50%. Ces électrons peuvent être extraits dans le vide en abaissant le travail de sortie de la surface du cristal de GaAs en dessous du minimum de la bande de conduction en volume. Cet état d'affinité électronique négative est en pratique obtenu par co-dépôt de césium et d'oxygène dans des conditions d'ultra-vide. On réalise ainsi des sources d'électrons polarisés en spin intenses (le rendement quantique usuel est de plusieurs pour cent), quasi monocinétiques (la largeur de la distribution à mihauteur est typiquement de 200 meV), dont le signe de la polarisation peut être inversé facilement en inversant la polarisation de la lumière excitatrice [5].

Si l'on veut manipuler et contrôler l'orientation de la polarisation de spin du faisceau d'électrons dans les trois directions de l'espace, afin de pouvoir sonder une composante quelconque de l'aimantation de l'échantillon (figure 2), il est indispensable d'insérer une optique électronique spécifique entre la source d'électrons et la colonne d'illumination du microscope. Le principe d'une telle optique électronique repose sur l'association de lentilles électrostatiques et d'éléments magnétiques qui permettent d'agir indépendamment sur la trajectoire et la polarisation de spin des électrons. Son fonctionnement sera décrit dans cette présentation.



Figure 2 – Contraste magnétique SPLEEM d'un film de fer d'épaisseur nanométrique épitaxié sur une surface (110) de tungstène. Ces images, correspondant à la même région de la surface, ont été obtenues pour 3 directions différentes de la polarisation de spin des électrons injectés (indiquée par une flèche cerclée noire). L'aimantation de la couche de fer est purement planaire (aucun contraste magnétique n'est détecté sur l'image de droite où la polarisation de spin est perpendiculaire à la surface). L'image du milieu "révèle" la configuration micromagnétique de la paroi qui sépare les 2 domaines magnétiques observés sur l'image de gauche. Sur chacune de ces images, le champ de vue est de 7 microns.

3. Discussion

Les potentialités et les performances de la microscopie SPLEEM seront illustrées au travers d'études menées actuellement au Lawrence Berkeley National Laboratory. Nous discuterons également la complémentarité du SPLEEM avec d'autres techniques d'imagerie magnétique, et en particulier avec la microscopie à photoémission d'électrons X (X-PEEM) qui sera bientôt implantée au synchrotron national SOLEIL.

- [1] A. Hubert et R. Schäfer, *Magnetic Domains: The analysis of magnetic microstructures*, Springer, Berlin, 1998
- [2] J. Stöhr et H.C. Siegmann, Magnetism: from fundamentals to nanoscale dynamics, Springer, Berlin, 2006
- [3] E. Bauer, T. Duden, et R. Zdyb, Spin-polarized low energy electron microscopy of ferromagnetic thin films, J. Phys. D.: Appl. Phys. 35 (2002) 2327-2331
- [4] T. Duden et E. Bauer, Spin-polarized low energy electron microscopy of ferromagnetic layers, J. Electron Microsc. 47 (1998) 379-385
- [5] D. T. Pierce, F. Meier, et P. Zürcher, Negative electron affinity GaAs: a new source of spin-polarized electrons, Appl. Phys. Lett. **26** (1975) 670-672

Etude de couches minces FePd par Microscopie de Lorentz

Aurélien Masseboeuf^a, Christophe Gatel^{a,*}, Alain Marty^a, Pascale BayleGuillemaud^a

^a DRFMC/SP2M, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 09

Résumé : Une étude par microscopie de Lorentz (donnant accès à une cartographie magnétique) sera présenté sur des alliages à priori originaux pour cette microscopie, puisque présentant une aimantation perpendiculaire. Cette étude montrera comment il est désormais possible d'obtenir à la fois une information qualitative très résolue spatialement (étude de structure de parois) et à la fois une information quantitative lors de l'analyse de mouvements de parois en aimantation in-situ.

1. Introduction

Des couches minces d'alliages FePd, présentant une anisotropie magnétique perpendiculaire ont été étudiées par Microscopie de Lorentz. L'originalité de cette étude porte sur l'analyse de dispositifs dont la configuration de l'aimantation est majoritairement hors-plan avec une technique à priori sensible à l'aimantation orthogonale au faisceau (dans le plan de la couche). Par contre, dans ce cas, l'information obtenue est intégrée sur tout le volume de l'échantillon, contrairement à d'autres techniques d'imagerie sensibles uniquement à l'aimantation proche de la surface de l'échantillon (XPEEM, MFM, MOKE...). Les images sont donc directement liées à la structure même des parois magnétiques. Les études menées ont donc permis d'étudier de manière très précise la forme et la répartition des parois dans l'échantillon.

2. Alliages FePd

Les alliages bimétalliques sont étudiés depuis de nombreuses années pour leurs propriétés d'organisation en domaines périodiques (FePd), ainsi que pour leur haute coercivité (FePt), pour des applications dans les médias d'enregistrement mais aussi dans les futurs éléments de logique magnétique. De nombreuses études sur ces matériaux [Attane2004] ont déjà montré les mécanismes de retournement de l'aimantation, de percolation ou de configuration des domaines à l'équilibre [Gehanno1997]. Pourtant, la description des parois magnétiques et des configurations de celles-ci, notamment lors de leurs déplacements, est limitée à des approches par simulation.

La microscopie de Lorentz [Chapman1984] permet de sonder la distribution de l'aimantation dans la matière avec une résolution à l'échelle des parois magnétiques. Les développements effectués sur cette technique depuis de nombreuses années (DPC[Daykin1995] ou TIE[Paganin1998]) ainsi que l'holographie l'apparition de électronique [Midgeley2001] font de la microscopie électronique un outil de choix pour l'imagerie magnétique. Les contrastes obtenus en Microscopie de Lorentz sont issus des parois magnétiques (contrastes de Fresnel) ou des domaines eux-mêmes (contrastes de Foucault) et donnent, par acquisitions multiples, accès à une cartographie magnétique des zones observées. L'utilisation du microscope dans une configuration particulière pour ce type d'imagerie nous permet aussi de réaliser des études d'aimantation in-situ en choisissant l'application du champ au niveau de l'échantillon (planaire et/ou perpendiculaire) mais aussi en injectant des courants, ou en jouant sur la température

3. Etude en Microscopie de Lorentz



*Figure 1: Cartographie par TIE d'une configuration de FePd/Fepd*₂

L'étude sur des alliages FePd a été réalisée sur un microscope TITAN 300kV. Nous avons observé de manière qualitative la configuration de l'aimantation au niveau des parois magnétiques (Fig. 1) en vue plane ainsi qu'en vue transverse (Fig. 2). Une étude sera ainsi présentée sur la détermination de la chiralité des parois

^{*}Nouvelle adresse : CEMES-CNRS UPR 8011 BP 94347

^{29,} rue Jeanne Marvig 31055 Toulouse Cedex

magnétiques et l'observation des lignes de Bloch avant et après saturation de l'échantillon. L'analyse de ces données permet ainsi une étude quantitative des couches minces ou des nanostructures étudiées.

Nous avons aussi analysé l'évolution des domaines magnétiques d'un état rémanent vers un état saturé le long du cycle d'aimantation. On observe notamment la nucléation des domaines qui peut être à l'origine de l'orientation dans les parois de Bloch et la formation de nouvelles configurations magnétiques lors du retour à la rémanence.



Figure 2: Représentation des composantes de l'aimantation (direction indiquée sur les images) d'une vue en cross-section d'un alliage bicouche de FePd (En haut à droite : simulation micromagnétique de la couche)

4. Références

[1] Attane J. P., Samson Y., Marty A., Toussaint J. C., Dubois G., Mougin A., Jamet J. P. *Physical review letters* **93** 257203 (2004)

[2] Gehanno V., Samson Y., Marty A., Gilles B., Chamberod A. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **172** 26-40 (1997)

- [3] Chapman J.N. Journal of Physics D : Applied Physics 17 623-647 (1984)
- [4] Daykin A.C., Petford-Long A.K. Ultramicroscopy 58 365-380 (1995)
- [5] Paganin D., Nugent K.A. Physical review letters 80 2586-2589 (1998)
- [6] P.A. Midgeley Micron 32 167-184 (2001)

Interfaces de jonctions tunnel magnétiques épitaxiées CoFe/MgO/CoFe (001)

K. March^{*}, D. Imhoff, M. Walls, G. Krill, C. Colliex

Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, 91405 Orsay cédex * ALTIS Semiconductor, MRAM Joint Development Project, 224 bd John Kennedy, 91105 Corbeil-Essonnes

V. Serin, E. Snoeck

Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales-CNRS, UPR 8011, 31055 Toulouse cédex 4

F. Bonell, A. Bataille, C. Tiusan, S. Andrieu

Laboratoire de Physique des Matériaux, Université H. Poincaré-Nancy I, CNRS, UMR 7556, 54506 Vandoeuvre-lès-Nancy

Une jonction tunnel magnétique (JTM) est constituée de deux couches ferromagnétiques, de champs coercitifs différents, séparées par une fine couche électriquement isolante. Les électrons, polarisés en spin au passage de la première couche ferromagnétique, traversent la barrière par effet tunnel. Cette transmission, dépendante du spin, est directement liée à l'orientation relative de l'aimantation des deux couches ferromagnétiques : ceci se traduit par l'observation de la magnétorésistance tunnel (MRT).

La magnétorésistance tunnel des premières jonctions réalisées à partir de couches magnétiques polycristallines et d'une barrière d'Al₂O₃ amorphe atteignait 70%. En 2001, Butler *et al.* [1] ont montré, à partir d'une étude théorique, que le système Fe/MgO/Fe, épitaxié selon la direction (001) du Fe, pouvait présenter des MRT jusqu'à 1000% du fait de la polarisation en spin : totale pour les électrons *s* de symétrie Δ_1 et partielle pour les électrons *d* de symétrie Δ_5 du Fe. Les résultats expérimentaux obtenus sur des jonctions Fe/MgO/Fe, élaborées par Epitaxie par Jets Moléculaires (EJM), ont confirmé partiellement ces calculs : 180% de MRT ont été obtenus [2, 3]. Des MRT supérieures à 200% ont été observées sur des électrodes CoFe polycristallines [4] et, plus récemment, 340% pour des électrodes épitaxiées de Co CC pur [5]. Cette situation, plus favorable avec Co, s'explique par le décalage du niveau de Fermi dans la structure de bande conduisant au remplissage du canal de conduction Δ_5 qui n'est que partiellement polarisé [1].

Ces valeurs expérimentales de MRT sont encore bien inférieures aux prévisions théoriques. Ceci peut s'expliquer en premier lieu par le caractère imparfait des interfaces métal/MgO ou MgO/métal. De plus, le transport tunnel polarisé en spin peut être perturbé par des paramètres tels que la rugosité interfaciale, la présence d'impuretés ou de lacunes, une éventuelle interdiffusion... Si des mesures XPS, réalisées in-situ sur l'interface métal/MgO, sur une surface de quelques μm^2 , ont montré que l'hybridation Fe (ou Co)/O est très faible [6], on ne dispose d'aucun renseignement sur l'interface MgO/métal et encore moins d'informations locales. L'objectif premier de cette étude est d'examiner par des mesures locales l'hybridation éventuelle de Fe et Co avec MgO aux deux interfaces. En nous donnant accès à la fois aux paramètres structuraux (MEHR : Microscopie Electronique à Haute Résolution) et aux densités d'états inocuppées projetées sur un site (ELNES: Energy Loss Near Edge Structure), la microscopie électronique en transmission se révèle être un outil de choix.

Des jonctions tunnel Fe/MgO/Fe et $Co_{0.7}Fe_{0.3}/MgO/Co_{0.7}Fe_{0.3}$ ont été élaborées par EJM sur substrats de MgO au Laboratoire de Physique des Matériaux-Nancy selon la direction de croissance [001]. L'épitaxie a été contrôlée lors du dépôt par RHEED. Cette présentation concerne les premiers résultats de l'analyse de JTM de type CoFe/MgO/CoFe. Dans le cas de Fe/MgO/Fe [7], la rugosité des interfaces a été clairement mise en évidence grâce à l'utilisation de sondes électroniques de dimension atomique. La rugosité conduit à l'interpénétration locale de « marches » de Fe et de MgO. L'environnement du fer est alors constitué principalement d'atomes d'oxygène et cette signature peut être observée sur les seuils d'absorption de ces deux sites [7]. Il a été démontré que les interfaces Fe/MgO sont plus abruptes que celles MgO/Fe.

Des observations en MEHR de CoFe/MgO/CoFe ont été réalisées avec le microscope FEI Tecnai F20 S-Twin du CEMES-Toulouse équipé d'un correcteur d'aberration sphérique. Sur la figure a), sont illustrés les deux types de barrière de MgO : l'une fine (6 plans atomiques) et fonctionnelle, l'autre de 5 nm d'épaisseur destinée à l'analyse individuelle de chaque interface. Les clichés MEHR ne font pas apparaître de différences notables entre les interfaces supérieures et inférieures. La spectroscopie de pertes d'énergie des électrons (EELS) a été réalisée sur le microscope STEM VG HB-501 d'Orsay. Des cartographies chimiques ont été déduites de spectres-images (constitués de 128 x 16 spectres EELS). Un profil de concentration typique de cette série d'analyses est présenté sur la figure b). Aucun élément de transition n'est détecté dans la barrière de MgO. Les interfaces sont très abruptes : l'évolution des intensités des signaux des éléments Fe, Co et O dans la zone interfaciale est concentrée sur 1.5 nm (entre 20 et 80% de l'intensité) et nous analyserons de façon plus détaillée les écarts éventuels à la symétrie et les gradients des différents profils. Comme le montrent les figures c) et d) à la traversée des deux interfaces, les structures ELNES au seuil K de l'oxygène ne diffèrent significativement pas

^{*} Auteur à contacter : march@lps.u-psud.fr – Tél : 01 69 15 53 61

du MgO de volume. En particulier, aucune manifestation de l'hybridation entre les métaux de transition et l'oxygène n'est détectée à l'apex de l'une ou l'autre interface. Cette hybridation se manifesterait essentiellement par l'observation de structures satellites à quelques eV au dessous du seuil K de l'oxygène. Symétrie et évolution des concentrations aux interfaces seront discutées.

Cette étude indique clairement les voies dans lesquelles doit se prolonger cette recherche : amélioration de la résolution spatiale et duplication des mesures sur un STEM doté d'un correcteur d'aberration, extension au cas de la jonction ultra-mince et développement des simulations des structures fines aux seuils (cf. calculs FEFF ou WIEN2k).



Figure – a) Images HRTEM de JTM CoFe/MgO/CoFe dont les épaisseurs de barrière sont respectivement de 1.2 nm et 5 nm. – b) Profil de concentration de O, Co et Fe, déduit d'un spectreimage de 128x16 spectres EELS (300 ms, 1 eV, taille du pixel : 0.5 nm), dont les intensités sont corrigées des sections efficaces puis normalisées à la somme des éléments. – c) Evolution des structures ELNES du seuil K de l'oxygène (après analyse en composantes principales - 3 valeurs propres) à la traversée de la barrière de MgO (10 s, 0.2 eV, distance entre spectres : 0.37 nm). – d) Seuils K de l'oxygène bruts normalisés en intensité : comparaison entre l'apex de la barrière et les deux interfaces.

- [1] W.H. Butler *et al*, *Phys. Rev. B* **63** (2001) 054416.
- [2] M. Bowen et al, App.Phys. Lett. 79 (2001) 1655, J. Faure-Vincent et al, App.Phys. Lett. 82 (2003) 4507.
- [3] S. Yuasa et al, Nature Materials 3 (2004) 868, M. Sicot et al, PhD thesis (2005) Nancy University France.
- [4] S.S. Parkin *et al*, *Nature Materials* **3** (2004) 862.
- [5] S. Yuasa et al, Appl. Phys. Lett. 89 (2006) 042505.
- [6] M. Sicot *et al*, *Phys. Rev. B* **72** (2005) 144414.
- [7] V. Serin *et al*, en préparation (2007).

Croissance et caractérisations de nanofils Si, Si/SiGe pour la thermoélectricité

Laurence LATU-ROMAIN^{a,*}, Céline MOUCHET^a, Cyril CAYRON^b, Emmanuelle ROUVIERE^a, Jean-Pierre SIMONATO^a

 ^a Laboratoire des Composants Hybrides/DTNM/CEA Grenoble 17, rue des martyrs 38054 Grenoble Cedex 9
 ^b LCPEM/DTH/CEA Grenoble 17, rue des martyrs 38054 Grenoble Cedex 9

Résumé – La croissance par VLS (Vapeur-Liquide-Solide) de nanofils de silicium et d'hétérostructures Si/SiGe est présentée avec les caractérisations structurales des fils. Les influences de la température, de la nature chimique du précurseur gazeux et de la pression sont étudiées et permettent d'en déduire une partie des mécanismes de croissance. Cette étude est conduite parallèlement à l'étude structurale des nanofils par MET et MEB principalement. La caractérisation structurale des fils met en évidence tantôt des fils monocristallins tantôt polycristallins. Les fils peuvent changer de direction de croissance et contenir des défauts structuraux. Des nanofils hétérostructurés Si/SiGe ont également été obtenus. Ces structures monocristallines unidimensionnelles sont très prometteuses pour des applications en nano-électronique et en thermoélectricité.

1. Introduction

Les nanofils de silicium offrent des nouvelles applications en nano- et en opto- électronique [1]; mais également en thermoélectricité. Le facteur de mérite ZT qui caractérise un thermoélément se définit comme (eq (1)):

$$ZT = \frac{S^2 \sigma_{el} T}{K_{th}} \tag{1}$$

Où S désigne le coefficient de Seebeck, σ_{el} , la conductivité électronique ; κ_{th} la conductivité thermique et T, la température.

Ainsi, avec des structures unidimensionnelles comme les nanofils de silicium, on s'attend à diminuer considérablement la conductivité thermique tout en conservant une bonne conductivité électronique. Par ailleurs, des nanofils hétérostructurés tels que Si/SiGe devraient permettre d'augmenter encore ZT grâce aux interfaces Si/SiGe qui bloquent les phonons sans bloquer les électrons. Des nano-générateurs ou nano-refroidisseurs pourraient être synthétisés à partir de ce type de nanofils.

Les nanofils de Si (ou Ge, SiGe) sont généralement obtenus par un mécanisme appelé VLS pour Vapeur Liquide Solide [2]. La phase liquide intercalée entre la phase gazeuse et la phase solide sert de catalyseur à la croissance de Si qui a lieu à l'interface liquide/solide. Le catalyseur utilisé est essentiellement l'or, car le diagramme d'équilibre de phase Au-Si (et Au-Ge) présente un simple eutectique à « basse » température (environ 365°C pour l'Au et le Si comme pour l'Au et le Ge). Dans cette technique, la taille des gouttes d'Au obtenues sur le substrat détermine la taille des nanofils. En optimisant, la phase de démouillage d'Au ou de dépôt de colloïdes d'Au (qui présentent l'avantage d'être calibrés), des nanofils de Si de 1 à 100 nm de diamètre peuvent être obtenus.

La croissance et les caractérisations struturales, conduites principalement par MET et MEB, de ces nanofils sont présentées.

2. Elaboration des nanofils

Les nanofils de silicium sont élaborés par VLS sur des substrats de Si (111). L'or est déposé par pulvérisation, suivi d'un recuit pour obtenir des gouttes calibrées puis d'un dépôt chimique en phase vapeur avec le silane ou le dichlorosilane dilués dans du dihydrogène comme précurseur gazeux. Le diagramme d'Arrhenius tracé avec ces deux précurseurs gazeux est indiqué dans la figure 1. Sur cette figure est mis en évidence la présence de deux régimes : - l'un à haute température limité par la diffusion des espèces gazeuses

- l'autre à plus basse température qui correspond à un régime chimique. L'essentiel des expériences de croissance est conduit dans ce régime.

^{*} Auteur à contacter : laurence.latu-romain@cea.fr - Tel : 04 38 78 43 45


Figure 1- Diagramme d'Arrhenius de la croissance des nanofils de silicium obtenus à partir de SiH₄ ou de SiH₂Cl₂.

Il faut noter l'influence de la morphologie des fils lorsque la température est élevée. Les fils sont élargis à la base avec le silane comme précurseur gazeux à cause d'une épitaxie gaz/solide le long du fil alors que les fils sont plus fins à la base avec le SiH₂Cl₂ comme précurseur à cause d'une attaque au HCl le long des fils. La nature de l'étape limitante dans le régime chimique est difficile à déterminer. Toutefois, comme la longueur des fils est indépendante de leurs diamètres, l'étape limitante correspondante est soit l'absorption du précurseur dans la goutte d'or soit la décomposition du précurseur gazeux. L'énergie d'activation existante entre le silane et le dichlorosilane étant différente, l'étape limitante est certainement la décomposition du précurseur du fait de la différence d'énergie de liaison entre Si-H et Si-Cl.

3. Caractérisations structurales des nanofils de Si et Si/SiGe

La majorité des fils sont droits et monocristallins avec une direction de croissance <111> voir <112> et plus rarement <110> même pour des diamètres supérieurs à 30 nm [3]. Cependant, certains fils changent de direction de croissance (Fig 2a)) soit en demeurant monocristallin soit en créant une micro-macle au niveau de changement de direction de croissance. Les fils présentent également des défauts structuraux comme des fautes d'empilement, des macles, et des micro-macles. On montre également que lorsqu'un fil croît selon une direction <111>, s'il se macle, un bi-cristal est crée avec une direction de croissance commune <112>. La croissance est alors stable tant que la goutte d'or reste au sommet du fil. Si la goutte d'or bascule, la croissance peut soit s'arrêter, soit repartir dans une direction perpendiculaire. En cours de croissance, il est également possible que le catalyseur se divise en plusieurs branches. L'interface entre l'or présent à l'extrémité du fil et le silicium sont des plans de type {111} côté silicium. Cependant, on trouve également de très fines particules d'or d'un diamètre inferieur à 5 nm le long du nanofil. Enfin, des hétérostructures Si/SiGe ont été obtenues et caractérisées par STEM (Fig 2 b)). Les mesures EDX indiquent 14%at. de germanium dans les zones les plus riches en germanium.



Figure 2- a) Image MET d'un nanofil de Si observé en champ clair contenant des fautes d'empilement - b) Image STEM d'un nanofil hétérostructuré Si/SiGe.

4. Conclusions

Des nanofils de Si et Si/SiGe ont été élaborés et une partie des mécanismes de croissance a été déterminée. La caractérisation de ces fils a permis de mettre en évidence les différents types de défauts (morphologiques, structuraux ou chimiques). L'existence de telles structures est fort prometteuse et devrait permettre d'ouvrir de nouvelles voies d'applications.

- [1] Y. Li, F. Qian, J. Xiang and C.M. Lieber, *Nanowire Electronic and Optoelectronic Devices*, Materials Today, **6** (10) (2006), 18-28
- [2] R. S. Wagner and W. C. Ellis, Vapor-Liquid-Solid mechanism of Single Crystal Growth, Applied Physics Letters, 4 (5) (1964), 89-90
- [3] V. Schmidt, S. Senz and U. Gösele, *Diameter-dependent Growth Direction of Epitaxial Silicon Nanowires*, Nanoletters, **5**(5) (2005), 931-935

Etude de la précipitation d'agrégats de Ge₃Mn₅ dans des couches minces de GeMn déposées par Epitaxie Jets Moléculaires.

J.P. Ayoub^{a,*}, L. Favre^a, I Berbezier^a, A. Ronda^a, L. Morresi^b, N. Pinto^b

^a L2MP, Université Paul Cézanne, Avenue Escadrille Normandie Niemen - Case 142. 13397 Marseille Cedex 20 ^b CNISM/INFM-Dipartimento di Fisica, Università di Camerino, I-62032 Camerino, Italy

Résumé – Nous présentons dans cette étude, les analyses en microscopie électronique à transmission, obtenues pour des systèmes germanium-manganèse $Ge_{1-x}Mn_x$ (1% $\leq x \leq 5.1$ %). Il est montré que dans nos conditions expérimentales, il existe une concentration critique x_c , en dessous de laquelle il est possible de réaliser des couches minces de Ge dopé Mn (sur des sites substitutionnel et/ou interstitiels). Au dessus de cette concentration, la formation d'agrégats riches en Mn est observée. L'indexation des clichés de diffraction électronique obtenus sur des zones riches en agrégats, a permis l'identification de la phase hexagonale ferromagnétique Ge₃Mn₅ et des relations d'épitaxie. Les propriétés magnétiques des couches étudiées sont corrélées à la présence de ces agrégats et à leurs relations d'épitaxie.

1. Introduction

Récemment les avancées technologiques dans l'élaboration des couches minces et la compréhension des phénomènes de transport électronique ont permis des progrès considérables dans la miniaturisation et la diversification des dispositifs électroniques. Les propriétés ferromagnétiques des hétérostructures semi-conductrices permettent de manipuler non seulement les porteurs de charges électriques (électrons, trous), ce qui est le cas dans l'électronique classique, mais aussi leur spin. De nombreux efforts ont été concentrés sur l'injection directe de spins polarisés à l'aide d'une couche de métal ferromagnétique déposée sur un semi-conducteur. Malheureusement, la dépolarisation des porteurs lors du franchissement de l'interface limite cette technologie. Une alternative consiste en l'utilisation des semi-conducteurs magnétiques dilués (DMS), qui permettent une ingénierie de spin assez vaste et une injection de spin plus efficace que si l'on utilise les techniques habituelles des hétérostructures semi-conductrices. Différents semi-conducteurs dilués sont actuellement à l'étude : GaMnN, ZnCoO, GaMnAs, CdMnTe, GeMn, ... Les travaux concluent que l'effet ferromagnétique est attribué au rôle des porteurs et à la densité des dopants.

2. Résultats

Nous avons choisi d'étudier le système $Ge_{1-x}Mn_x$, qui est compatible avec la technologie actuelle de la microélectronique. Les premières études effectuées sur ce système ont montré l'obtention d'une réponse ferromagnétique avec une température de Curie (T_C) comprise entre 25 et 116 K [1]. Des études plus récentes montrent la possibilité de réaliser des structures (types nanofils) ayant une T_C d'environ 400 K [2].

Nous avons effectué des analyses structurales en microscopie électronique à transmission (MET) sur des couches minces de $Ge_{1-x}Mn_x$ (avec x = 1, 3.3 et 5.1%), préparées par épitaxie par jets moléculaires sur un substrat de Ge(100) à une température de croissance de $160^{\circ}C$.

Nos observations révèlent l'existence d'une concentration limite en Mn ($x_c \sim 2\%$), en dessous de laquelle il est possible de réaliser des couches minces dans lesquels le Mn est dilué dans la matrice sur des sites substitutionnel et/ou interstitiels. Au dessus de cette concentration, nous observons l'apparition d'agrégats enrichis en Mn. La distribution inhomogène en Mn à travers la couche de Ge₁. _xMn_x est mise en évidence par spectroscopie de rayons X (EDX) et par spectrosopie de perte d'énergie (EELS) couplées à un microscope électronique à transmission. L'indexation des clichés de diffraction électronique obtenus à partir de zones riches en agrégats, a permis l'identification de la phase hexagonale ferromagnétique Ge₃Mn₅ et des relations d'épitaxie. Nous avons mis en évidence les relations d'épitaxie suivantes : (002)_{Ge} // (0002)_{Ge3Mn5}.and (2-20)_{Ge} // (03-30)_{Ge3Mn5}. Ces relations sont confirmées par la mesure des périodes des moirés sur les images MET. Les mesures magnétiques (MOKE) montrent la présence d'une anisotropie magnétique où l'axe facile d'aimantation est parallèle à la direction [001]_{Ge} de croissance. D'après nos résultats, cet axe est donc aussi parallèle à l'axe C [0002]_{Ge3Mn5} des agrégats de Ge₃Mn₅. Ce résultat montre l'influence des précipités de Ge₃Mn₅ sur les propriétés ferromagnétiques.

^{*} Auteur à contacter : jean-pierre.ayoub@l2mp.fr – Tel : 04 91 28 91 64

3. Conclusion

Grâce aux analyses MET effectuées nous avons mis en évidence que l'origine du ferromagnétisme dans les échantillons était pricipalement liée à la présence d'agrégats de Ge_3Mn_5 . En effet d'une part l'augmentation du signal est corrélée à l'augmentation de la densité des agrégats. D'autre part, l'anisotropie magnétique est aussi expliquée par la relation d'épitaxie des agrégats de Ge_3Mn_5 qui sont positionnés de telle façon que l'axe facile d'aimantation coincide avec l'axe de croissance.

- Y. D. Park, A. T.Hanbicki, S. C. Erwin, C.S. Hellberg, J. V. Sullivan, J. E. Mattson, T. F. Ambrose, A. Wilson, G. Spanos, B. T. Jonker, Science 295, 651 (2002).
- [2] M. Jamet, A. Barski, T. Devillers, V. Poydenot, R. Dujardin, P. Bayle-Guillemaud, J. Rothman, E. Bellet-Amalric, A. Marty, J. Cibert, R. Mattana and S. Tararenko, Nat. Mat. 5, [2006]

Modification par implantation ionique du couplage d'échange dans des jonctions tunnel magnétiques épitaxiales Fe/MgO/Fe

E. Snoeck^{1T*}, P. Baules¹, G. Benassayag¹, C. Tuisan², F. Greullet², M. Hehn², A. Schuhl³

¹ CEMES-CNRS, 29 rue J. Marvig, BP4347, 31055 Toulouse, France ² Laboratoire de Physique des Matériaux - CNRS Université H. Poincaré - B.P. 239 - 54506 Vandoeuvre Les Nancy, France ³ Laboratoire SPINTEC, URA 2512, Avenue des Martyrs, 38054, Grenoble, France

Laboratoire 51 IIVIEC, OKA 2512, Avenue des Martyrs, 50054, Grenoble, France

Résumé – Des jonctions tunnel magnétiques épitaxiées Fe/MgO/Fe présentant un couplage AF entre les couches de fer ont été irradiées aux ions N⁺ à 150 kV. Nous avons étudié par MEHR et réflectivité des rayons X les modifications structurales induites par l'irradiation et les modifications du couplage par holographie électronique et par des mesures VSM. Nos résultats indiquent que l'irradiation ionique induit un changement du couplage AF vers un couplage F due à l'augmentation de la rugosité des interfaces.

1. Introduction

Un couplage antiferromagnétique (AF) entre deux couches ferromagnétiques (F) séparées par une barrière isolante a été mis en évidence par Faure-Vincent et al. [1] dans des jonctions tunnel magnétiques (MTJs) épitaxiales de Fe/MgO/Fe/MgO (Figure 1). Les auteurs ont montré que pour des épaisseurs de barrière supérieures à 1 nm, le couplage devient ferromagnétique. Ceci résulte de la compétition entre le couplage d'échange via les électrons tunnels qui favorise un alignement antiparallèle des aimantations pour des faibles épaisseurs de barrière et un couplage magnétostatique dû à la rugosité des interfaces (couplage de Néel ou peau d'orange) favorisant un alignement parallèle des aimantations. Ces mesures expérimentales sont en bon accord avec les prédictions théoriques de Slonczewski concernant la possibilité d'un couplage d'échange via le transport tunnel d'électrons polarisés entre deux couches de fer [2].



Figure 1 – Image MET d'une jonction tunnel magnétique Au/Pd/Fe (7 nm)/MgO (0.6 nm)/Fe (21 nm)/MgO(001) et le cycle d'hystérésis correspondant mesuré par VSM

Afin d'étudier plus en détail l'influence de la microstructure sur ce couplage d'échange nous avons irradié une jonction épitaxiale du type Au/Pd/Fe/MgO/Fe/MgO(001) présentant un couplage AF avec des ions N⁺ à 150 keV avec des doses allant de 10^{13} à 3.10^{16} ions/cm². Les simulations de l'effet de l'irradiation indiquent que la majeure partie de l'énergie déposée est située aux interfaces « Pd/Fe » et « Fe-top/MgO », comme reporté sur les profils figure 2.

Les modifications structurales ont été étudiées par Microscopie Electronique à Haute Résolution (MEHR) et par Réflectivité des Rayons-X (RRX). Les études MEHR indiquent que la barrière tunnel reste continue même pour la dose maximale (figure 3). Les mesures de RRX montrent une augmentation de la rugosité des interfaces Fe/MgO et MgO/Fe, un mixing des couches supérieures Pd/Fe, et un dopage en Fe de la barrière de MgO.

^{*} Auteur à contacter : snoeck@cemes.fr – Tel : 05 62 25 78 91



Figure 2 – Profil simulé des variations de densité induites par II pour trois doses 10^{13} , 10^{14} et 10^{15} ions/cm²



Figure 3 – Image MEHR de la jonction irradiées à 3. 10¹⁶ ions/cm²

Les études par holographie électronique confirment le couplage AF des couches de fer dans la jonction asdeposited et un couplage F dans les jonctions irradiées à fortes doses (3.10¹⁶ ions.cm⁻²) (Figures 4). Les mesures VSM confirment ces résultats. Elles mettent en évidence une augmentation continue du couplage bilinéaire et quadratique avec la dose. Ce couplage bascule vers un couplage F pour les couches irradiées à des doses supérieures à 10¹⁵ ions/cm². Nous associons cette modification du couplage à une augmentation des rugosités des interfaces augmentant la contribution magnétostatique et à un dopage important de la barrière de MgO par Fe.



Figure 4 - Holographie électronique : Image et profil de l'induction magnétique dans la jonction « as deposited » et irradiée à 3.10^{16} ions/cm².

2. Références

[1] J. Faure-vincent, C. Tiusan, C. Bellouard, E. Popova, M. Hehn, F. Montaigne and A. Schuhl, Phys. Rev. Lett., 89, (2002) 107206

[2] J.C. Slonczewski, Phys. Rev. B 39, (1989) 6995

Apport de la microscopie électronique en transmission à l'étude de catalyseurs

F.J. Cadete Santos Aires^{*}, M. Aouine

IRCELYON. Institut de Recherches sur la Catalyse et l'Environnement de Lyon, UMR 5256 CNRS/Université Lyon1. 2, Aveneue Albert Einstein. 69626 – Villeurbanne cedex. France.

Résumé – Les catalyseurs, étant généralement des solides très divisés de dimensions nanométriques, nécessitent l'utilisation de techniques permettant l'identification au niveau nanométrique et sous-nanométrique d'inhomogénéités morphologiques, structurales, interfaciales et de composition chimique ayant un rapport direct avec leurs performances catalytiques. La microscopie électronique en transmission joue un rôle important dans la caractérisation de ces nano-objets. Nous illustrerons ceci par divers exemples d'études de catalyseurs : identification de phases actives, problèmes de désactivation, etc.

1. Introduction

Les réactions catalytiques nécessitent l'adsorption et l'éventuelle dissociation des réactifs à la surface des catalyseurs. Cette prépondérance du rôle de la surface du catalyseur dans l'acte catalytique implique l'utilisation de matériaux très divisés de façon à augmenter le rapport atomes de surface/atomes de volume pour une plus grande efficacité, pour avoir accès à de propriétés spécifiques et dans un souci d'économie d'atomes. Ainsi les catalyseurs sont souvent constitués de particules nanométriques supportées sur des matériaux de faible densité et également plus ou moins divisés suivant les applications.

La plupart des techniques de caractérisation utilisées pour étudier ces matériaux n'ont pas de haute résolution spatiale et apportent ainsi des informations complémentaires spécifiques sur l'ensemble du catalyseur. La microscopie en général et, surtout la microscopie électronique en transmission avec les techniques analytiques qui peuvent lui être associées, a l'avantage de pouvoir sonder les matériaux au niveau sub-nanométrique et d'en extraire des informations très localisées sur la morphologie, les variations de structure et composition chimique, les interfaces dans le matériau. Ces propriétés peuvent ensuite être mises en parallèle avec les informations globales obtenues par d'autres techniques et permettre d'élucider leur comportement en catalyse ainsi que d'orienter la synthèse de matériaux catalytiques à propriétés spécifiques (activité, sélectivité, multi-fonctionnalité, etc.)

Nous donnerons des exemples d'études de catalyseurs concernant, entre autres, la caractérisation de catalyseurs frais, de l'identification de phases actives, de problèmes de désactivation de catalyseurs ainsi que notre toute première approche en tomographie électronique [1].

2. Microscopes électroniques en transmission

Pour les différentes études ici présentées, nous utilisons deux microscopes électroniques en transmission équipés d'une pièce polaire haute résolution (UHR) et d'un spectromètre EDX Pentafet-LinK Isis d'Oxford Insts. :

- un JEOL JEM 2010 équipé d'un canon thermoionique avec une pointe LaB₆;
- un JEOL JEM 2010F (TEM/STEM), équipé d'un canon à émission de champ de type « Schottky », d'un détecteur HAADF et d'un DigiPEELS de Gatan Inc., permettant l'utilisation de sondes nanométriques et sous-nanométriques (< 0.2 nm - 2.4 nm) avec une intensité suffisante pour des applications analytiques et/ou en imagerie HAADF.

3. Exemples d'études de catalyseurs

Dans la page suivante nous présentons quelques exemples d'études de catalyseurs :

- (i) Catalyseurs frais (Figure 1) : détermination de la structure et de la composition chimique locale de catalyseurs métalliques et bi-métalliques [2] supportés.
- (ii) Dopage de silices mésoporeuses (Figure 2) pour la déshydrogénation oxydante du propane [3]. Le but d'un dopage est généralement de modifier les propriétés (activité/sélectivité) d'un catalyseur ou de le rendre bi-fonctionnel.
- (iii) Désactivation d'un catalyseur à base de Pd par enrobage de la phase active par le support pendant la combustion du méthane [4].
- (iv) Identificaton d'une nouvelle phase active $(MoV_{0.33}Te_{0.22}Nb_{0.11}O_x)$ dans l'oxydation du propane en acide acrylique. La détermination de la phase s'est faite par l'association de résultats de DRX, d'EDX et de METHR en utilisant une phase proche $(Cs_x(Nb,W)_5O_{14})$ pour élaborer le modèle [5].
- (v) Tomographie électronique de particules de Pd ayant des morphologies contrôlées [1].

^{*} Auteur à contacter : francisco.aires@ircelyon.univ-lyon1.fr – Tel : 04 72 44 53 03



Figure 1 – Catalyseurs frais : (a) co-existence de nanoparticules de Pd et de PdO sur α-Si₃N₄ (catalyseur de combustion du méthane) ; (b) nanoparticule de NiO synthétisée par ablation laser dans l'eau, ; (c) Nanoparticule de PdAu synthétisée par ablation laser sous vide et le spectre EDX associé (d).



Figure 2 – Identification par HAADF de dopants VO_x dans une silice mésoporeuse (pore : 3 nm).



Figure 3 – Désactivation d'un catalyseur [5] : Nanoparticules de PdO sur β -Si₃N₄ totalement (a) et partiellement (b) enrobées pendant la combustion du méthane.



Figure 4 – Identification d'une nouvelle phase active dans l'oxydation de propane en acide acrylique $(MoV_{0.33}Te_{0.22}Nb_{0.11}O_s)$ [4] : (a) image expérimentale ; (b) modèle ; (c) image simulée.



Figure 5 – Reconstruction 3D (tomographie par imagerie HAADF) d'une bi-pyramide de Pd (~ 30 nm) [1].

4. Conclusion

La microscopie électronique avec les techniques analytiques associées est un outil de choix incontournable pour extraire des informations locales au niveau nanométrique et atomique sur la morphologie, la structure, la composition chimique, l'interface avec le support de catalyseurs. Ces informations sont essentielles pour comprendre les performances catalytiques de ces matériaux et pour pouvoir envisager la synthèse de nouveaux catalyseurs à propriétés spécifiques. L'avenir des études de catalyseurs par microscopie électronique passe indubitablement par l'accès à des appareils environnementaux [6] permettant de « visualiser » au niveau nanométrique et sous-nanométrique les étapes de synthèse menant au catalyseur et ensuite de suivre leur comportement et leur évolution pendant l'acte catalytique.

- [1] développée, dans le cadre du CLYME, en étroite collaboration avec (et sous l'impulsion de) T. Epicier et S. Benlekbir (MATEIS, Insa de Lyon) avec des synthèses de M. Bausach et G. Berhault (IRCELYON).
- [2] F.J. Cadete Santos Aires et al., Proc. EUREM XII (Brno), Vol.II (Physical Sciences), 2000, 395-396.
- [3] M. Aouine, B. Kilos, J.C. Volta (non publié).
- [4] M. Aouine et al., Chem. Commun., 2001, 1180-1181.
- [5] F.J. Cadete Santos Aires et al., Catal. Today 117 (2006) 518-524.
- [6] S. Giorgio et al., Ultramicroscopy **106** (2006) 503-507.

Analyse quantitative par HAADF-STEM de la morphologie de nanoparticules d'or et d'argent encapsulées dans des matrices diélectriques

David Babonneau^{a,*}, David Lantiat^a, Sophie Camelio^a, Lionel Simonot^a, Frédéric Pailloux^a, Marie-Françoise Denanot^a, Thierry Girardeau^a

^a Laboratoire de Métallurgie Physique, UMR 6630 CNRS, Université de Poitiers, Bvd M. et P. Curie 86962 Futuroscope Chasseneuil Cedex, France

Résumé – Notre travail porte sur l'étude de nanoparticules d'or et d'argent recouvertes par des couches diélectriques de BN et d'Al₂O₃. L'évolution de la morphologie des nanoparticules et de leur réponse optique en fonction de la quantité de métal et de la nature du diélectrique est analysée quantitativement par imagerie en champ sombre annulaire à grand angle et par mesures et simulations de spectre de transmission optique.

1. Introduction

L'intérêt porté aux nanoparticules de métaux nobles, tant du point de vue fondamental que des applications technologiques, ne cesse de croître du fait notamment de leurs propriétés optiques originales. Cependant, dans la plupart des cas, il apparait nécessaire de recouvrir ces nanoparticules avec des couches protectrices de façon à les protéger de l'environnement extérieur. Des modifications irréversibles de structure et de composition sont alors susceptibles d'avoir lieu pendant le recouvrement des nanoparticules, de sorte que leurs propriétés électroniques peuvent être fortement affectées. Dans ce contexte, notre travail porte sur l'évolution de la morphologie et de la réponse optique de nanoparticules d'or et d'argent recouvertes par des couches diélectriques de BN et d'Al₂O₃ ayant des indices optiques similaires (n = 1.62 à $\lambda = 600$ nm). L'analyse structurale de ces films minces nanostructurés a été effectuée par imagerie en champ sombre annulaire à grand angle (HAADF-STEM). Nous montrons que cette méthode est un outil approprié pour déterminer la morphologie de nanoparticules enterrées et pour mettre en évidence l'influence du recouvrement sur le rapport hauteur/diamètre des nanoparticules et sur leurs propriétés optiques étudiées par mesures et simulations de spectres de transmission.

2. Méthode

En imagerie conventionnelle en champ clair (BF-TEM), les contrastes sur l'image obtenue sont dus principalement à des effets de diffraction. En conséquence, l'étude de nanoparticules enterrées peut être délicate si les particules ne sont pas toutes orientées de la même façon ou si la matrice est nanocristalline. Néanmoins, il a été montré récemment qu'il est possible de surmonter ces problèmes en utilisant des techniques d'imagerie en mode HAADF-STEM [1-2]. Cette méthode permet de construire une image à partir des électrons diffusés à grand angle de sorte que l'intensité résultante est proportionnelle au carré du numéro atomique des éléments constituants l'échantillon (Z^2 -contrast) et à l'épaisseur traversée [3]. Ceci est illustré sur la Fig. 1(a) qui représente une vue plane d'une tricouche Si₃N₄/Ag/Si₃N₄ obtenue en mode HAADF-STEM. La couche d'argent est en fait composée d'une assemblée polydisperse de nanoparticules (contrastes clairs) incluses dans une matrice de Si₃N₄ (contrastes sombres). De manière classique, une analyse quantitative de cette image permet



Figure 1 – (a) Vue plane en mode HAADF-STEM d'une tricouche Si₃N₄/Ag/Si₃N₄.
(b) Distributions de diamètre et de hauteur des nanoparticules d'argent.
(c) Corrélation entre le diamètre dans le plan et la hauteur des nanoparticules d'argent.

Auteur à contacter : david.babonneau@univ-poitiers.fr - Tel : 05 49 49 67 25

de déterminer la densité de particules, la distance moyenne inter-particules, ainsi que la distribution en taille [Fig. 1(b)] des particules dans le plan de la couche. Toutefois, dans la mesure où les électrons sont diffusés de façon incohérente, l'intensité collectée en chaque pixel peut être reliée à l'épaisseur de métal ce qui constitue l'avantage principal de cette méthode. Ainsi, en supposant que les nanoparticules sont des sphères tronquées et que le rapport hauteur/diamètre vaut 1 au maximum (sphère parfaite), il est possible de déterminer la hauteur des particules individuelles [Fig. 1(b)] et d'obtenir des informations statistiques en parfait accord avec des analyses locales réalisées sur des sections transverses en mode BF-TEM [Fig. 1(c)].

3. Résultats

La méthode décrite ci-dessus a été utilisée pour étudier l'influence du recouvrement par des couches diélectriques de BN et d'Al₂O₃ sur la morphologie de nanoparticules d'or et d'argent déposées par évaporation thermique sous ultra-vide sur des substrats de SiO₂ et sur des grilles carbonées de microscopie. Les Figs. 2(a) et 2(b) montrent les rapports hauteur/diamètre des nanoparticules individuelles d'Au et d'Ag en fonction de leur diamètre dans le plan pour des couches diélectriques de BN et d'Al₂O₃. Quelle que soit la matrice, il existe une corrélation claire entre le rapport d'aspect des agrégats H/D et leur diamètre D qui fait apparaître que H/D est une fonction décroissante de D, cette fonction étant de plus indépendante de la quantité totale de métal déposée. Néanmoins, alors que le rapport moyen hauteur/diamètre des agrégats d'or est de 0,59 pour les 2 matrices, notre étude statistique révèle que le rapport hauteur/diamètre des agrégats d'argent dépend sensiblement de la nature de la matrice avec des valeurs moyennes variant de 0,71 pour le BN à 0,65 pour l'Al₂O₃. Les mesures optiques présentées sur la Fig. 2(c) constituent une preuve supplémentaire des effets de recouvrement sur la morphologie des nanoparticules d'argent : malgré des indices de réfraction très similaires, les positions spectrales des bandes de faible transmission associées aux résonances de plasmon de surface des nanoparticules d'Ag sont différentes pour les deux matrices (alors qu'elles sont identiques pour des nanoparticules d'or). Les calculs de transmission optique, réalisés en utilisant une extension du modèle développé par Yamaguchi et al. [5] et en considérant une assemblée 2D de nanoparticules réparties aléatoirement avec une densité, une distance inter-particules, un diamètre dans le plan et un rapport hauteur/diamètre déterminés par HAADF-STEM, sont en très bon accord avec les données expérimentales [Fig. 2(c)] confirmant ainsi la validité de l'analyse HAADF-STEM.



Figure 2 – Corrélation entre le diamètre dans le plan et le rapport hauteur/diamètre de nanoparticules de Au (a) et Ag (b) recouvertes par des couches diélectriques de BN et d'Al₂O₃.
 (c) Spectres de transmission expérimentaux (symboles) et calculés (lignes) des nanoparticules d'Ag.

4. Conclusion

La méthode décrite dans ce papier permet de déterminer la morphologie moyenne (diamètre dans le plan et hauteur) de nanoparticules individuelles enterrées à partir d'une seule image en vue plane. Il est à noter que, contrairement aux techniques de tomographie permettant d'obtenir une vision tridimensionnelle de tels objets à partir d'une série d'images [1-2], cette approche est donc relativement simple à mettre en œuvre.

- [1] P.D. Nellist et S.J. Pennycook, Science 274 (1996) 413
- [2] I. Arslan, T.J.V. Yates, N.D. Browning, et P.A. Midgley, Science 309 (2005) 2195
- [3] J. Liu, Characterization of Nanophase Materials, Wiley-VCH Verlag GmbH (2000)
- [4] J. Toudert, S. Camelio, D. Babonneau, M.-F. Denanot, T. Girardeau et al., J. Appl. Phys. 98 (2005) 114316
- [5] T. Yamaguchi, S. Yoshida, et A. Kinbara, Thin Solid Films 21 (1974) 173

Structural properties of gold catalyzed silicon nanowires: Defects in the wires and gold on the wires

M I den Hertog^{a,*}, J L Rouviere^a, F Dhalluin^{b, c}, P Gentile^a, P Ferret^c, C Ternon^b, T Baron^b

^a SP2M/DRFMC/CEA, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France ^b LTM, CNRS UMR 5129, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France ^c LETI/DOPT, CEA Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38052 Grenoble Cedex 9, France

Silicon nanowires were grown by the Vapour-Liquid-Solid (VLS) mechanism using gold as the catalyst and silane as the precursor. Although the crystalline quality of the wires is very high, sometimes defects can be observed. Some examples are shown. Gold clusters were observed on the lateral sides of the wires by means of STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy), EDX (Energy Dispersive X-ray) analysis and SEM (Scanning Electron Microscopy) images. An approximate calculation shows that the nanowire sidewalls are covered by one monolayer of gold during growth. De-wetting of the monolayer after growth results in a homogenous distribution of gold clusters on the lateral surfaces of the wires.

1. Introduction

Silicon nanowires have been actively studied the last decade, as they held the promise of becoming key building blocks in future electronic and opto-electronic devices. They are compatible with silicon technology and could be most elegantly grown directly on their final position in a device on a wafer. However successful integration of nanowires in devices will depend ultimately on the degree of control that can be obtained over structure and physical properties. Nanowires were long time regarded as perfect crystals with straight sidewalls. Only recent publications have shown that faceting is actually a rather common phenomenon. This can be caused by regular twinning [1], or by the absence of a vertical low energy plane [2]. Defects in the nanowires or traces of (gold) catalyst on the nanowire sidewall, can change its physical properties. The wires studied in here generally contained few defects. Because the observation of a defect was limited to incidents, we will characterize these defects, but are unable to provide a more general model.

Furthermore we show evidence of gold rich clusters on the lateral surfaces of silicon nanowires and characterize these clusters. Convincing indirect evidence was presented by Hannon et al [3], proving the presence of gold on lateral surfaces of silicon nanowires. Furthermore Werner et al [4] showed gold clusters on silicon wires grown by MBE. However the wires described in these publications were all grown under ultra high vacuum conditions, partially to allow in situ observation. The wires presented in this work are not grown under UHV. Pan et al [5] reported the presence of gold-rich precipitates on boron doped silicon nanowires. These precipitates seem to be preferentially present on the highly doped regions of the wires. The gold precipitates are explained by instabilities at the liquid/solid interface, caused by the addition of the dopant gas flow. Since we regard only undoped samples this explanation is insufficient. Our experiments do not provide evidence that gold also contributes to the faceting, as suggested by Ross et al [2], we just note that gold is unambiguously present on the lateral faces of all observed nanowires, which genereally also showed the same type of facting.

2. Results

Generally the Crystalline quality of the wires is high and few defects can be observed. Large wires (r > 20 nm) grow in the <111> direction [6] and can sometimes contain horizontal twins near the base or at a kink. Figure I shows some examples. One kink was observed without a grain boundary. In this case, the kink was caused by growth along one of the three inclined <111> direction. Smaller wires (r < 20 nm) sometimes contain a vertical defect. A vertical twin in a [112] oriented nanowire and an "incommensurate $\sqrt{2}$ " Si(100)/Si(0-11) domain in a [011] oriented nanowire were incidentally observed (not shown).

In Figure II STEM images of a Silicon nanowire, and EDX measurements at the same wire, are shown. Brighter regions can be observed on the wire and facets can be distinguished. An arrow indicates where the EDX spectra has been taken. The EDX measurements on different parts of the wire show that the brighter particles are gold rich clusters. Analysis of the clusters reveals an average diameter of 3-4 nm and a thickness of 2 nm, being approximately 4 to 5 monolayers of gold. These clusters can be observed in SEM as well (not shown). STEM and SEM images show that approximately 20% of the wire surface is covered by gold clusters. This implies that during growth the lateral faces of the wire will be covered by approximately one monolayer of gold. This figure is in good agreement with the value found by Hannon et al [3]. De-wetting of the monolayer occurs after growth resulting in observed clusters. In Figure III a high resolution TEM image of the wire sidewall faceting is shown, as also observed by [2]. Vector calculation allows identifying the alternating planes as shown.



Figure I – Relatively large (r > 20 nm) nanowires containing one or more twins. (a b) Conventionnal two beam TEM images. (a) Showing a stacking fault on an inclined {111} plane. (b) Kinked nanowire. Reconstruction of the lattice shows the kink is caused by a sigma = 3 twin fault on a <111> plane.
Growth continous in a <111> direction. (c) SEM top view showing that this kind of defect can be rather general The arrows indicate respective <111> directions. The direction of observation is [111], the scalebar is 2µm. (d) TEM weak beam image with a high resolution zoom, clearly showing this kind of faceting is caused by horizontal twin faults on a <111> plane. The direction of observation is [0-11], the scalebar is 200 nm.



Figure II – EDX spectra and STEM images of a silicon nanowire. An arrow indicates where the EDX spectrum has been taken. The brighter particles are unambiguously gold rich clusters, as three typical gold lines appear in the EDX spectrum around 2200 eV. The scale bar is 10 nm.

Figure III – High resolution TEM image showing sawtooth faceting [2]. The zoom of a small area allows identifying the alternating planes using vector calculation as shown. The viewing direction is [0-11], the scale bar is 10 nm. The alternating planes are identified as the [-111] and the [-311].

- Johansson, J.; Karlsson, L.S.; Svensson, P.T.; Martensson, T.; Wacaser, B.A.; Deppert, K.; Samuelson, L.; Seifert, W.; Nature Materials, (2006) 5 574
- [2] Ross, F. M.; Tersoff, J.; Reuter, M. C.; Physical Review Letters, (2005) 95 146104
- [3] Hannon, J. B.; Kodambaka, S.; Ross, F. M.; Tromp, R. M.; Nature, (2006) 440 69
- [4] Werner, P; Zakharov, N.D.; Gerth, G.; Schubert, L.; Gösele, U., Int.J.Mat.Res., (2006) 97 1008
- [5] Pan, L.; Lew, K.; Redwing, J. M.; Dickey, E. C.; Journal of Crystal Growth, (2005) 277, 428
- [6] Schmidt, V.; Senz, S.; Gösele, U.; Nanoletters, (2005) 5, 931

Cartographie des modes plasmons de surface, à l'échelle nanométrique, sur des particules isolées par spectroscopie de pertes d'énergie d'électrons résolue spatialement

J. Nelayah^{a,*}, O. Stéphan^a, M. Kociak^a, F. J. Garcia de Abajo^b, M.Tencé^a, L. Henrard^c, L. Pastoriza-Santos^d, L.M Liz-Marzan^d et C. Colliex^a

^a Laboratoire de Physique des Solides (UMR CNRS 8502), Bâtiment 510, Université Paris-Sud, 91405, Orsay, France ^b Instituto de Optica, CSIC, Serrano 121, 28006, Madrid,Espagne

^c Laboratoire de Physique du Solide, FUNDP, 61 rue de Bruxelles, 5000 Namur, Belgique

^d Departamento de Química Física, Universidade de Vigo, 36310, Vigo, Spain

Résumé – Ce travail illustre des récents développements expérimentaux et méthodologiques introduits dans le domaine de la spectroscopie de perte d'énergie d'électrons dans le contexte d'un microscope électronique en transmission à balayage. Nous démontrons la possibilité de sonder les résonances plasmons de surface dans le domaine spectral du visible et du proche infrarouge, à l'échelle de quelques nanomètres et de cartographier le champ électromagnétique associé

1. Introduction

Les nanoparticules métalliques (NP's) d'or et d'argent, possèdent des propriétés optiques remarquables. En particulier, sous illumination électromagnétique, leur spectre d'absorption est caractérisé par la présence d'excitations collectives des électrons de conduction, les résonances plasmons de surface (SPR's). Les caractéristiques de ces plasmons dépendent, entre autre, de la taille de la particules par rapport à la longueur d'onde de l'onde incidente, de sa morphologie et de son environnement diélectrique. Dans le domaine spectral s'étendant de l'ultraviolet à l'infrarouge (UV - IR), où elles suscitent des nombreux intérêts scientifiques et industriels, les SPR's ont été étudiées principalement par des techniques optiques telles que la microscopie optique de champ proche. Toutefois, aucune technique n'atteint une résolution spatiale supérieure à quelques dizaines de nanomètre. Dans cette contribution, nous présentons la première cartographie, à l'échelle nanométrique, des SPR's dans la gamme spectrale UV - proche IR par EELS, dans le contexte d'un microscope électronique en transmission à balayage, couplé à une deconvolution post-acquisition des spectres pour améliorer la résolution en énergie [1]. En particulier, nous illustrons cette avancée méthodologique à travers l'étude, à l'échelle nanométrique, de la réponse optique de nanoprismes triangulaire d'argent et des nandecaèdres d'or isolés. Au délà de ce tour de force expérimental, ces résultats constituent une avancée conceptuelle. Nous démontrons que la quantité physique mesurée est analogue (dans certaines géométries de diffusion) de la densité locale d'états locale électromagnétiques, quantité mesurée en microscopie de champ proche.

2. Echantillon et procédure expérimentale

Les nanoprismes triangulaire d'argent et les nanodecaèdres ont été synthétisés comme décrit en [2] et [3] respectivement. La taille des prismes varie en 30 et 300 nm sur le côté et ont une épaisseur typique de 10 nm. Le nanodecaèdres d'or font 40 à 60 nm de côté.

Les spectres EELS ont été acquis sur un STEM VG HB501 à une tension d'accélération de 100 kV, équipé d'un canon à émission de champ froid et d'un système de détection maison. La résolution spatiale est fixée par la taille de sonde de 1 nm avec une résolution spectrale comprise avec 0,35 - 0,45 eV. Les spectres ont été acquis dans le mode chronospectre – image (chronoSPIM) où le faisceau électronique est balayé, avec un incrément spatial constant (1 - 4 nm) à la surface de l'échantillon (typiquement 32×32 pixels). En chaque point du balayage, 50 - 70 sont acquis spectres dans la gamme d'énergie d'intérêt (en desous de 50 eV)avec un temps d'acquisition de 2 - 3 ms en parallèle avec le signal de fond noir. Les spectres, en chaque pixel, sont ensuite réalignés avant d'être sommés. Une technique deconvolution, basée sur l'algorithme Richardson – Lucy, a ensuite été utilisée pour augmenter la résolution en énergie et le rapport signal sur fond. Après deconvolution, des pics à des énergies aussi basses que 1 eV sont clairement détectés. Une routine maison implementé avec le logiciel d'analyse de données, IGOR Pro 5, est ensuite utilisé pour analyser chaque chronoSPIM et cartographier les principales caractéristiques (énergie, largeur, amplitude, ...) des modes détectés dans le domain d'énergie d'intérêt.

3. Résultats

Sur les nanoprismes d'argent, la présence de quatres résonance de surface a été mise en évidence. L'intensité relative des différentes résonances montre une variation conséquente d'une position à l'autre sur la particule.

^{*} Auteur à contacter : nelayah@lps.u-psud.fr – Tel : +33 (0)1 69 15 53 42

Comme illusté sur une particule de 78 nm de côté et de 10 nm d'épaisseur, l'amplitude EELS de ces modes montre une distribution de symétrie trois caractéristique de la forme triangulaire de la particule (Figure 1). Par ailleurs, sur le domaine UV – NIR, une décroissance linéaire de l'énergie avec le rapport d'aspect (longueur des côté / épaisseur) a été mise en évidence.



Figure 1. Distribution spatiale des trois premières résonances plasmons de surface, centrées à 1,75, 2,70, et 3,20 eV respectivement, dans le spectre EELS d'un nanoprisme triangulaire d'argent de 78 nm de côté. Le contour de la particule, déduit de son image HAADF, est représenté par une ligne blanc. L'échelle en intensité est linéaire et exprimée en unité arbitraire.

Des expériences similaires on été menées sur des nanodecaèdres d'or (environ 50 nm de côté). Différentes résonances sont excitées en fonction de l'orientation relative de la particule par rapport à la direction incidente du faisceau électronique. Tous les modes détectés montrent une exaltation de leur intensité aux pointes.

4. Conclusion

Ces résultats illustrent l'amélioration significative apportée à l'imagerie des modes plasmons par la technique STEM – EELS, qui se positionne ainsi comme un outil puissant pour le développement de la nanophotonique.

- [1] J. Nelayah et al., Nature Physics, (2007) doi:10.1038/nphys575
- [2] V. Bastys et al., Adv. Funct. Mater. 16, (2006) 766.
- [3] A. Sánchez-Iglesias et al., Adv. Mater. 18 (2006) 2529.
- [4] A. Gloter et al., Ultramicroscopy **96** (2003) 385.
- [5] M. Kociak, O. Stephan, D. Taverna, J. Nelayah and C. Colliex, Proceedings of SPIE 5927 (2005) 592711.

Disclinations in Decahedral Gold Nanoparticles: Strain Distributions by Aberration-corrected HREM

Craig L. Johnson^{a,*}, Etienne Snoeck^a, Manex Ezcurdia^a, B. Rodríguez-González^b, I. Pastoriza-Santos^b, L.M. Liz-Marzán^b, Martin J. Hÿtch^a

^a CEMES-CNRS, 29, rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse, France

^b Departamento de Quimica Fisica and Unidad Asociada CSIC, Universidade de Vigo, 36310 Vigo, Spain

 $\mathbf{R}\acute{e}\mathbf{sum}\acute{e}$ – We will present measurements of strain distributions in Au nanoparticles determined by geometric phase analysis of spherical aberration-corrected high-resolution electron microscopy images. The results will be discussed in relation to predictions based on the elastic theory of disclinations and finite-element simulations.

1. Introduction

Recently, novel synthesis techniques have allowed precise control over the sizes and shapes of Au nanoparticles that exhibit unique optical properties [1]. We examined 5-fold-twinned decahedral (pentagonal bipyramidal) Au nanoparticles using aberration-corrected HREM, strain mapping, and electron holography. Owing to geometric constraints, these particles must be strained and/or contain defects. Several models of the strain states and expected defect structures of such decahedral particles have been proposed [2 and references therein]. We will present the first quantitative measurements of nanoscale strain distributions within these nanoparticles.

An ideal decahedral is composed of five tetrahedrons with the gold fcc structure. The tetrahedrons all share a common edge that coincides with the noncrystallographic 5-fold rotation axis parallel to [110]. Adjacent tetrahedrons are separated by twin boundaries parallel to {111} crystallographic planes. The particles have ten {111} faces. Because regular tetrahedrons, packed in this manner, are not space filling, the particles must be strained and/or contain defects.



Figure 1 – Aberration-free HREM image (a) of a 30 nm (radius) pentagonal Au nanoparticle with 5fold twinning about the [110] axis. (b) Squares and circles in the diffractogram indicate 200 and 111 reflections, respectively, from each of the twin domains. (c) The arrow indicates the outer termination of one twin boundary from the boxed region in (a).

2. Experimental Results

Aberration-corrected HREM imaging and electron holography were performed on the SACTEM-Toulouse, a Tecnai F20 ST (FEI) fitted with an objective-lens aberration corrector (CEOS), rotatable electron biprism (FEI), imaging filter (Gatan Tridiem), and 2k CCD camera (Gatan). Strain analyses were done using the geometric

^{*} Auteur à contacter : johnson@cemes.fr – Tel : 05 62 25 78 83

phase analysis (GPA) software [3]. Aberration correction provides high-contrast images necessary for precise, high-spatial-resolution strain determination. HREM images (e.g., Fig. 1) of the nanoparticles reveal that they are pentagonal in projection and composed of five domains with roughly the same size separated by twin boundaries. The interiors of the twin domains appear to be free of defects. The cores of the particles ([110] axis where the twin planes intersect) occur at their geometric center. The particles are rounded at the pentagon edges in the proximity of the twin planes. Using GPA, we mapped the strain distributions and rotations within the particles. The rotation map (Fig. 2) reveals the existence of a disclination.



Figure 2 – Map of the rotational distortion within the individual segments of the Au nanoparticle in Figure 1. The rotation ($\sim 1.4^{\circ}$ for each segment) is a result of a disclination at the core of the particle.

3. Conclusion

From dark-field TEM images, Marks [2] showed that small multiply-twinned particles like ours have inhomogenous strains. A disclination model was proposed that accounts for both the inhomogeneity and the missing wedge of material required by the particle geometry [4]. Our quantitative strain determinations reveal the actual structure of the disclinations in these particles. Furthermore, the strain maps show the degree of strain inhomogeneities present in the particles. Strain measurements will show the effects of the real shape of the nanoparticles (including rounded pentagon edges and possible re-entrant faces at the twin boundaries) on their strain state rather than the idealized strain fields predicted by the models. We will compare experimental strain distributions with those predicted by elastic theory and finite-element simulations. A complete understanding of the unique electronic, mechanical and optical properties of these nanoparticles requires detailed quantitative measurements of their strain states and atomic structure, which are accessible by aberration-corrected HREM and strain mapping [5].

- [1] A. Sanchez-Iglesias et al., Synthesis and Optical Properties of Gold Nanodecahedra with Size Control, Adv. Mater. **18** (2006) 2529-2534
- [2] L.D. Marks, Inhomogeneous Strains in Small Particles, Surf. Sci. 150 (1985) 302-318
- [3] GPA phase plug-in for DigitalMicrograph (Gatan) available from HREM Research: www.hremresearch.com
- [4] V.G. Gryaznov et al., *Pentagonal Symmetry and Disclinations in Small Particles*, Cryst. Res. Technol. **34** (1999) 1091-1119
- [5] This research was supported by the EU Integrated Infrastructure Initiative ESTEEM [Ref. 026019 ESTEEM] and by the Spanish Ministerio de Educacion y Ciencia [Grants No. MAT2003-02991 and NAN2004-08843-C05-03(05)]

Observation de l'ordre chimique dans des nanoparticules de CoPt, par microscopie électronique en transmission à haute résolution

Florent Tournus^{a,*}, Nils Blanc^a, Thierry Épicier^b, Véronique Dupuis^a

^a LPMCN, UMR CNRS 5586, Université Lyon 1, Bât. L. Brillouin, 6 rue Ampère, 69622 Villeurbanne Cedex ^b MATEIS, UMR CNRS 5510, INSA de Lyon, Bât. B. Pascal, 7 av. J. Capelle, 69621 Villeurbanne Cedex

Résumé – Les agrégats de CoPt sont de bon candidats pour les applications de stockage magnétique haute densité, grâce à la très forte anisotropie magnétique attendue pour la phase $L1_0$ chimiquement ordonnée. La technique LECBD permet de synthétiser des agrégats de CoPt bien définis, d'une taille d'environ 2,5 nm, préformés en phase gazeuse et déposé en ultra-vide. La microscopie électronique en transmission à haute résolution se révèle être un outil de choix pour l'étude de ces nanoparticules : elle permet de déterminer leur structure et en particulier d'observer un contraste chimique, signature de la phase $L1_0$.

1. Introduction

Les alliages bimétalliques combinant des métaux 3d et 5d, comme par exemple le CoPt, sont de bons candidats pour l'obtention de nanoaimants stables à température ambiante [1], laissant entrevoir la possibilité de les utiliser pour le stockage magnétique à haute densité. La technique LECBD (Low Energy Cluster Beam Deposition) présente une alternative intéressante aux méthodes de synthèse chimiques de ce type de nanoparticules magnétiques [2, 3]. Ces nanoparticules font l'objet de nombreuses études à cause de la forte anisotropie magnétocristalline attendue pour la phase quadratique chimiquement ordonnée. Cette phase L1₀ de l'alliage CoPt, qui reste difficile à obtenir [4], permettrait ainsi de surmonter la limite superparamagnétique propre aux nanoparticules ferromagnétiques monodomaines.

2. Étude par microscopie électronique en transmission : signature de l'ordre chimique

Dans le but de bien connaître leur structure avant de mesurer leurs propriétés, nous avons étudié des agrégats de CoPt par microscopie électronique en transmission (MET). La connaissance de la taille et de la forme des nanoparticules est d'une aide précieuse pour interpréter et comprendre des mesures magnétiques (XMCD ou SQUID) et structurales (XAS ou GISAXS). Nos observations ont révélé que les agrégats, d'un diamètre moyen de 2,5 nm, sont bien cristallisés, avec des formes bien définies laissant apparaître des facettes correspondant à des octaèdres tronqués habituellement obtenus dans le cas des cristaux fcc, faisant de ces nanoparticules des systèmes modèles pour l'étude des effets de surface.

Par ailleurs, il est essentiel de caractériser l'ordre chimique, finalement souvent peu connu, puisqu'il peut fortement modifier les propriétés physiques des nanoparticules. Alors que les agrégats après dépôts sont cristallisés dans la phase A1 chimiquement désordonnées, un contraste de type L_{10} a pu être observé avec des agrégats recuits sous vide. Pour savoir si l'apparition d'un contraste correspondant à des pics de diffraction d'intensité nulle dans le cas d'un cristal fcc est bien une preuve directe que les nanoparticules sont chimiquement ordonnées, il est nécessaires d'effectuer des simulations dynamiques d'images de microscopie électronique en transmission à haute résolution (METHR). Nous avons donc étudié l'effet de la mise en ordre chimique sur les images METHR, à l'aide du logiciel JEMS qui effectue des calculs dynamiques avec la méthode « multislice ». Les résultats montrent que pour des particules désordonnées, on ne peut pas voir de contraste de type $L1_0$ qui apparaîtrait comme un artefact. Dans le cas des particules ordonnées, le contraste chimique peut être observé uniquement si la particule est correctement orientée et pour des plages particulières de défocalisation. Les simulations sont en excellent accord avec les images METHR expérimentales (cf. figure 1), si bien qu'on peut affirmer que le contraste de type $L1_0$ observé prouve que les nanoparticules recuites sont chimiquement ordonnées. En revanche, même si la METHR représente une méthode univoque de détermination de l'ordre chimique de particules individuelles, particulièrement adaptée à de si petites tailles, la caractérisation d'assemblées de particules restera tributaire de la statistique d'observation (orientation des particules) et de la variabilité des caractéristiques cristallo-chimiques des particules (taille, composition et ordre chimique).

Un contraste de type $L1_0$ a pu être observé pour différentes orientations cristallographiques et pour des particules de différentes tailles, jusqu'à des tailles de l'ordre de 2 nm de diamètre. Ce résultat peut-être confronté aux prédictions de modèles théoriques concernant la stabilité de la phase chimiquement ordonnée en fonction de la température et de la taille des nanoparticules.

Enfin, en perspective, nous montrerons des résultats récents concernant des dépôts d'agrégats de CoPt triés en masse (dispersion relative en taille inférieure à 10 %), à l'aide d'une nouvelle source à vaporisation laser équipée d'un déviateur électrostatique quadrupolaire. Nous montrerons également des résultats d'une étude sur l'effet des recuits pour des nanoparticules en matrice de carbone, en faisant apparaître les points forts de notre approche.

^{*} Auteur à contacter : ftournus@lpmcn.univ-lyon1.fr – Tel : 04 72 43 19 96



Figure 1 – Image METHR expérimentale d'un agrégat de CoPt déposé sur un film de carbone amorphe et recuit sous vide (b), avec la transformée de Fourier correspondant à l'image (a). Le pic [001] est la signature de l'ordre chimique dans la particule, correspondant à la phase L1₀. L'image METHR simulée (c) d'un agrégat parfaitement ordonné est en très bon accord avec l'image expérimentale.

- [1] S. Sun, C.B. Murray, D. Weller, L. Folks and A. Moser, Science 287 (2000) 1989
- [2] V. Dupuis, L. Favre, S. Stanescu, J. Tuaillon, E. Bernstein, A. Perez, J. Phys. Cond. Mat. 16 (2004) S2231
- [3] L. Favre, S. Stanescu, V. Dupuis, E. Bernstein, T. Épicier, P. Mélinon, A. Perez, Applied Surface Science 226 (2004) 265
- [4] A. Hannour, L. Bardotti, B. Prével, E. Bernstein, P. Mélinon, A. Perez, J. Gierak, E. Bourhis, D. Mailly, Surface Science 594 (2005) 1

Comparaison et optimisation de techniques d'observations microstructurales à l'aide d'échantillons tests non conducteurs

Par ordre alphabétique

I. Anselme-Bertrand (CMES, UJM), <u>F. Beauchesne Simonet</u>^{*} (IRCELYON, UMR5256), **B. Beaugiraud** (LTDS, UMR5513), **B. Burdin** (CTμ, UCBL), **A. Descamps** (CLAMS), **S. Descartes** (LaMCoS, UMR5259), **D. Dupeyre** (CERMAV, UPR5301), **P. Jouffrey** (PECM, UMR5146), **S. Peyrol** (CeCIL, UCBL), **I. Pignot-Paintrand** (CERMAV, UPR5301), **F. Roussel** (CMTC, INPG), **G. Thollet** (MATEIS, UMR5510)

http://recamia.rhone-alpes.cnrs.fr/

1. Présentation de RéCaMiA (Réseau CNRS) :

Le **Ré**seau des moyens de **Ca**ractérisation par **Mi**croscopies et Analyses couplées (RéCaMiA) regroupe, sur la base du volontariat, 25 laboratoires de recherche de la Région Rhône-Alpes. Ainsi les laboratoires du réseau, issus de cultures scientifiques très variées (biologie, chimie, géologie, matériaux et tribologie) ont à leur disposition une palette exceptionnelle d'outils de caractérisation : des microscopes électroniques à balayage (MEB) pour des observations sous vide ou en pression contrôlée, avec canon à filament de tungstène ou à effet de champ ; des microscopes électroniques en transmission (MET) conventionnels ou à haute résolution, avec canon à filament de tungstène, à pointe LaB6 ou à effet de champ ; des microscopes à sondes locales (AFM) travaillant en différents modes (contact intermittent, contact, non-contact) avec plusieurs extensions (électriques, sous atmosphère contrôlée, ...) ; un microscope confocal à balayage laser permettant, à une échelle différente des microscopies électroniques, de faire de la reconstruction en 3D si les échantillons s'y prêtent.

2. Les objectifs du projet

Le projet de RéCaMiA est parti du constat que l'observation d'objets non-conducteurs est commune à tous les laboratoires et suscite de nombreux questionnements (procédures, artéfacts, évolution des microscopes et des outils de métallisation...). En effet, la caractérisation de ce type d'échantillons nécessite d'avoir recours à des techniques de préparations et d'observations différentes : observation "directe" (basse tension sous vide, pression contrôlée ou AFM) et observation dite "indirecte" à cause du dépôt d'une très fine couche de matériau conducteur sur l'échantillon. Dans ce dernier cas d'autres facteurs, tels que la nature et l'épaisseur du dépôt, ou la méthode de dépôt (sous vide primaire ou secondaire, sublimation par effet Joule, "sputtering", canon à électrons) utilisée interviennent.

Neuf laboratoires de RéCaMiA ont mis alors en commun leurs compétences et leurs outils de caractérisation pour étudier des échantillons non conducteurs. Seulement une partie du projet est présenté ici et traite de l'observation, de l'analyse et de l'interprétation d'images obtenues sur une membrane de filtration en polymère (polyéthylène) (fig. 1a). Cet échantillon présente à priori peu de topographie et des nanopores traversant ou non son épaisseur.

3. Résultats

L'échantillon a été observé à plat (en surface) et en coupe transversale (ultramicrotomie).

Une sélection des images les plus pertinentes parmi plus de 500 images réalisées a été faite pour aboutir à la synthèse des résultats. Quelques critères communs de mode opératoire ont aussi été retenus dans la mesure du possible : les grandissements lors de la prise des images (2000, 20 000, 50 000, 100 000), les tensions d'accélération (5kV, 15 kV, 30kV) dans le cas des échantillons avec un dépôt conducteur en surface.

Chaque image sélectionnée a été notée selon l'information recherchée. Dans le cas de la membrane trois informations sont recherchées : la topographie de surface, taille des pores, pores débouchants ou non.

Les images des figures 1, 2 et 3 mettent en évidence les différentes informations obtenues selon l'outil de caractérisation, le mode choisi, le détecteur d'électrons utilisé, le dépôt conducteur utilisé. Selon les techniques de préparation et d'observations les interprétations s'avèrent parfois délicates. Il faut notamment interpréter les contrastes en MEB. Par exemple, la figure 1b représente une image de la membrane prise à l'aide d'un ESEM-FEG, en mode pression contrôlée ; il semblerait que les porosités débouchantes soient vues en noir et que celles situées sous la surface soient vues en gris clair. Une image a été faite à la même échelle en AFM mode "contact intermittent" (figure 2). Dans ce cas, les porosités de surface sont effectivement visibles et l'hypothèse des porosités débouchantes en noir de la fig 1b est confortée.

Dans le cas d'un dépôt conducteur est-ce la topographie de surface de la membrane qui est observée ou celle du dépôt ?

^{*} Auteur à contacter : france.simonet@ircelyon.univ-lyon1.fr



Figure 1 - Membrane sans dépôt conducteur, (a) vue macroscopique - Images en MEB (b) avec détecteur BSE en mode "pression contrôlée", (c) détecteur SE basse tension 0,6kV



Figure 2 - Membrane vue par AFM (a) en 2D, (b) en 3D inversée (ces images permettent de voir la forme conique des pores (en profondeur))



Figure 3 - Membrane observée au MEB avec différents dépôts conducteurs, (a) platine, (b) carbone, (c) or, (d) or-paladium – mêmes conditions opératoires par ailleurs.

Cette synthèse a permis d'imaginer et de créer une échelle qualitative qui regroupe les notations dans un tableau pour un échantillon donné et pour chaque information retenue. Il apparaît clairement que le type d'information recherchée détermine le choix de la technique ; pour une même technique le choix du détecteur, des conditions d'analyses donnera une information plutôt qu'une autre. Ainsi il n'y a pas de conditions optimales générales. Chaque paramètre expérimental (tension, grandissement...) est important en fonction des critères que l'on cherche à visualiser (ici topographie ou porosité).

4. Perspectives

La démarche est en cours sur deux autres types d'échantillons non conducteur :

- un qui présente à priori peu de topographie et permet une caractérisation en contraste chimique.
- un qui présente pour leur part une forte topographie de surface à différents niveaux d'échelles.

A terme, ce projet devrait permettre d'optimiser les techniques de préparation et de caractérisation des objets non conducteurs. Mais également de donner des critères de choix pour de meilleures conditions d'observation.

Etude par microscopie électronique en transmission de nano-fils de semi-conducteurs II-VI obtenus par Epitaxie par Jets Moléculaires

C. Bougerol*, T. Aichele, R. André, S. Tatarenko

Equipe mixte CEA-CNRS NanoPhysique et SemiConducteurs, Institut Néel

SP2M/DRFMC/CEA Grenoble, 17 rue des martyrs, 38054 Grenoble cedex 9, France

Résumé -. Des nano-fils de semiconducteurs II-VI ont été obtenus par EJM et étudiés par microscopie électronique en transmission. Selon les conditions de croissance, ceux-ci se présentent sous la forme de nano-fils ou de nano-aiguilles effilées dont le diamètre peut descendre jusqu'à 5nm. Leur structure cristallographique est de type wurtzite (hexagonale) mais l'orientation de l'axe de croissance dépend de la synthèse. Ils présentent souvent des fautes d'empilement correspondant à une structure cubique zinc-blende.

1. Introduction

Les boites quantiques auto-assemblées (BQ) sont du plus grand intérêt pour les applications optiques, telles que les diodes laser, ou la réalisation de sources de photon unique pour l'informatique quantique. En particulier, les boites quantiques à base de semi-conducteurs II-VI, tels que CdSe dans ZnSe, sont des systèmes prometteurs pour l'émission de lumière dans la gamme bleu-vert. Depuis quelques années, notre équipe s'est investie dans la croissance de BQ de tels systèmes par épitaxie par jets moléculaires (EJM). La méthode d'obtention des BQ est basée sur la relaxation des contraintes lors de l'hétéro-épitaxie de matériaux de paramètres de maille différents. En principe, les BQ se forment spontanément lors d'une transition morphologique 2D/3D. Cependant, dans ce type de croissance, le positionnement des BQ auto-assemblées dans le plan n'est pas contrôlé. Et de plus, dans le cas des semi-conducteurs II-VI, la nucléation des BQ ne se produit que dans des conditions de croissance très pointues [1]. C'est pourquoi nous nous intéressons maintenant à la réalisation d'hétéro-structures de semi-conducteurs II-VI à l'intérieur de nano-fils. En effet, dans le cas de sauts de composition le long d'un nano-fil, les contraintes induites par les variations de paramètres de maille entre matériaux successifs peuvent se relaxer spontanément par une déformation élastique de la surface libre latérale, et il est possible d'obtenir des BQ parfaitement positionnées. Par ailleurs la taille des BQ peut être facilement contrôlée via le temps d'exposition à un type d'élément durant la croissance.

Nous présentons ici l'étude par microscopie électronique en transmission de la structure de nano-fils de ZnSe obtenus dans différentes conditions de croissance.

2. Méthodes expérimentales

Les nano-fils ont été obtenus par épitaxie par jets moléculaires grâce à une croissance de type vapeur-liquide – solide (VLS) assistée par catalyseurs d'or. Pour cela, une fiche couche d'or (entre 0.2 à 5 nm) est déposée sur un substrat GaAs. Le substrat est ensuite transféré sous vide au bâti EJM et chauffé à 600° C où l'or démouille et forme des billes. La croissance des nano-fils a lieu entre 300° et 450° C sous des flux de Zn et Se. Les nano-fils croissent typiquement avec une vitesse de 0.5 nm/s.

Pour les études de microscopie, les échantillons ont été préparés soit par clivage, ce qui permet d'observer l'orientation des fils par rapport au substrat, soit par passage aux ultrasons et dépôt sur une grille recouverte d'une membrane de carbone. Les études de microscopie ont été réalisées sur un microscope Jeol 4000EX à 400kV.

3. Résultats

Nous avons constaté que la taille, la forme et l'orientation des nano-fils dépendait fortement des conditions de croissance et en particulier de la température et du rapport de flux Zn/Se.

Dans le cas d'une croissance en excès de Zn, des nano-aiguilles sont formées (figure 1a) d'environ $1\mu m$ de long. Leur diamètre varie d'au moins 80nm à la base à environ 5 nm au sommet, là où se fait le contact avec la particule d'or. La figure 1b montre une image haute résolution de la même nano-aiguille. L'arrangement atomique correspond à une structure wurtzite, l'axe de croissance étant [11-20] et nous n'avons pas observé de fautes d'empilement. Par contre, lorsque la base est très large, des défauts apparaissent, tels que ceux de la figure 1c. Nous avons là des domaines de structure cubique zinc blende et des domaines de structure wurtzite.

Pour des croissance en excès de Se, nous obtenons des nano-fils de diamètre régulier, de 20 à 50nm, pour une longueur de 1-2 μ m (Figure 2a). Ils présentent en majorité une structure de type hexagonale wurtzite, mais l'axe de croissance est cette fois [0001] (figure 2b). Des fautes d'empilement qui correspondent à des empilements cubique zinc blende apparaissent suivant l'axe de croissance (Figure 2c).



Figure1 – Nano-aiguilles

- a) Image basse résolution montrant la forme d'une nano-aiguille et le catalyseur d'or à son extrémité
- *b)* Image haute résolution de la même nano-aiguille selon l'axe de zone [0001] (structure wurtzite). Les plans (200) de la particule d'or sont visibles
- c) Nano-aiguille présentant des fautes d'empilement à la base



Figure2 – Nano-fils

a)Image basse résolution montrant le diamètre régulier des nano-fils et le catalyseur d'or à l'extrémité
b) image haute résolution d'un nano-fil de structure wurtzite selon l'axe de zone [-1100]
c) cas d'un nano-fil présentant des fautes d'empilement de type zinc blende selon l'axe de croissance

4. Conclusion

La majeur partie des résultats publiés dans la littérature sur les nano-fils de semiconducteurs II-VI concernent des échantillons obtenus par croissance MOCVD [2,3]. Pour notre part, nous avons cherché à relier conditions de croissance, morphologie et structure cristalline dans le cas d'échantillons obtenus par EJM. Nous avons constaté que c'est la structure wurtzite qui se forme majoritairement, avec certes des fautes d'empilement de type zinc blende. En général, l'extrémité des fils proche du catalyseur d'or est bien cristallisée et sans défauts ; de plus des diamètres d'environ 5nm peuvent être obtenus, ce qui devrait permettre de former des boites quantiques de petite taille et bien localisées dans le cas de la croissance d'hétéro-structures CdSe/ZnSe ou ZnTe/ZnSe. Des études de photoluminescence sont en cours pour comparer les propriétés optiques des différents types de nano-fils.

5. Références

[1] I.C. Robin, R. André, C. Bougerol, T. Aichele, S. Tatarenko, *Elastic and surface energies: Two key parameters for CdSe quantum dot formation*, Appl. Phys. Lett. **88** (2006) 233103

[2] C.X. Shan, Z. Liu, S.K. Hark, *Controlled growth of highly ordered CdSe one-dimensional nanostructures*, Nanotechnology **16** (2005) 3133

[3] C.X. Shan, Z. Liu, X.T. Zhang, C.C. Wong, S.K. Hark, *Wurtzite ZnSe nanowires : growth, photoluminescence, and single-wire Raman properties,* Nanotechnology **17** (2006) 5561

Suivi en conditions réactionnelles des propriétés d'agrégats d'or par microscopie électronique environnementale à haute résolution (E-HRTEM)

M. Cabié^{a,*}, S. Giorgio^a, C. Henry^a

^a CRMCN/CNRS, Campus de Luminy – Case 913, 13288 Marseille cedex 9

Résumé - L'avancée la plus importante dans le domaine des catalyseurs en microscopie électronique a été la possibilité d'introduire des gaz au niveau de l'objet au cours de l'observation. Nous présentons les résultats obtenus par cette technique appliquée à l'étude des changements de morphologie de nanoparticules d'or lors de réactions catalytiques d'oxydation.

1. Introduction

Bien que l'or soit non réactif à l'état massif, de récents travaux [1] ont montré que sous forme d'agrégats de quelques nanomètres de diamètre, il se révélait être un très bon catalyseur pour des réactions d'oxydation ou d'hydrogénation. De plus cette forte réactivité se manifeste dès la température ambiante.

A l'heure actuelle, les mécanismes élémentaires de ces réactions ne sont toujours pas clairement élucidés. Concernant l'oxydation du CO en particulier, des questions se posent sur la nature des espèces d'oxygène mises en jeu et sur le type de sites réactifs. Pour essayer de mieux comprendre ces mécanismes nous avons observé par HRTEM environnementale, les changements de structure et de morphologie d'agrégats d'or lors de cycles d'oxydo-réduction.

2. Dispositif expérimental

Jusqu'à présent les études par microscopie électronique en transmission des propriétés de nanoparticules de catalyseurs se limitaient à des observations comparatives d'agrégats avant et après réaction. Il n'était donc pas possible de savoir ce qui se passait réellement lors de la réaction, ni de caractériser exactement le même agrégat avant et après réaction. Grâce à l'acquisition récente au laboratoire d'un microscope électronique environnemental (le premier en France), nous pouvons suivre en continu l'évolution d'un même agrégat en présence de différents gaz.

Ce microscope est un microscope Jeol 3010 standard équipé d'un porte-objet environnemental. Au niveau de la tête de ce porte-objet conçu par Jeol, l'échantillon est isolé du vide de la colonne par deux membranes de carbone. A l'intérieur de ce réacteur étanche l'échantillon peut alors être soumis à des pressions de gaz inférieures à 30 mbar et chauffé jusqu'à 350°C. La grande stabilité de ce dispositif permet de conserver la résolution atomique du microscope.

L'ajout récent d'un spectromètre de masse connecté au porte objet, permet d'analyser le mélange gazeux à l'entrée et à la sortie de la cellule environnementale (figure 1) ainsi que de mesurer la vitesse de réaction.



Figure 1 – Spectre de masse obtenu en sortie de cellule environnementale pour des agrégats d'or soumis à un mélange $(N_2 + O_2 + CO)$.

Auteur à contacter : cabie@crmcn.univ-mrs.fr - Tel : 06 62 92 28 72

3. Résultats

Sur la figure 2, le même agrégat d'or supporté sur TiO_2 est observé in situ lors de cycles d'oxydo-réduction à des pressions de l'ordre de quelques centièmes de millibar. Cet agrégat initialement contaminé à cause du transfert à l'air se facette par adsorption d'hydrogène, puis s'arrondit sous flux d'oxygène.



Figure 2 – Agrégat d'or supporté sur TiO₂ observé lors d'un cycle d'oxydo-réduction.

4. Discussion

Le facettage sous circulation d'hydrogène conduit à la présence de faces (001) et (111) caractéristiques de la forme d'octaèdre tronqué à l'équilibre. L'arrondissement sous flux d'oxygène traduit la forte interaction de toute la surface de l'agrégat avec l'oxygène. Les mêmes résultats ont été obtenus pour des agrégats non supportés. Nous avons également mis en évidence la réversibilité de cette oxydo-réduction sur la morphologie des agrégats [2].

Ces observations montrent que l'oxygène s'adsorbe sur toute la surface, alors que les calculs DFT favorisent des sites particuliers tels que les surfaces rugueuses (marches, arêtes...) ou contraintes [3, 4].

5. Conclusion

Les observations in situ de réactions d'oxydo-réduction d'agrégats d'or par E-HRTEM ont montré que l'oxygène s'adsorbe sur toute la surface du catalyseur. Des travaux sont en cours pour étudier les variations structurales de ces agrégats en présence d'un mélange $(O_2 + CO)$ et mesurer la vitesse de réaction.

- [1] M. Haruta, Size and support dependency in the catalysis of gold, Catal. Today 36 (1997) 153-166
- [2] S. Giorgio, S. Sao Joao, S. Nitsche, D. Chaudanson, G. Sitja et C.R. Henry, *Environmental electron microscopy (ETEM) for catalysts with a closed E-cell with carbon windows*, Ultramicroscopy **106** (2006) 503-507
- [3] Y. Xu et M. Mavrikakis, Adsorption and dissociation of O2 on gold surfaces : effect of steps and strain, J. Phys. Chem. B **107** (2003) 9298-9307
- [4] G. Mills, M.S. Gordon et H. Metui, Oxygen adsorption on Au clusters and a rough Au(111) surface : the role of surface flatness, electron confinement, excess electrons and band gap, J. Chem. Phys. **118** (2003) 4198-4205

Chimie de nano-particules en STEM-HAADF

T.EPICIER^{a,1}

^a Laboratoire MATEIS, umr CNRS 5510, INSA De LYON, 20 Av. Albert Einstein, 69621 Villeurbanne Cedex

Résumé – Une approche d'analyse quantitative de la chimie de (nano-)particules à partir d'images acquises en mode *STEM-HAADF* dans un MET est présentée au travers de l'exemple principal de carbures mixtes de vanadium et niobium (précipités dans un acier, observés sur répliques d'extraction).

1. Introduction

L'imagerie en Champ Sombre Annulaire à Grand Angle (*HAADF* : *High Angle Annular Dark Field*) est devenue une méthode très efficace d'étude de la structure des matériaux jusqu'à la résolution atomique (voir R.F. Klie, Y. Zhao, G. Yang and Y. Zhu, symposium 'Microscopie Quantitative' dans le présent Colloque), et est de nos jours quasi-routinière du fait de la disponibilité commerciale de microscope '*TEM-STEMs*'. Dans son principe, l'*HAADF* permet une analyse quantitative de la densité atomique projetée, puisque l'intensité I_{HAADF} des images est directement liée au numéro atomique (Z, i.e. I_{HAADF} varie proportionnellement à $Z^{=2}$ [1]) et à la densité atomique moyenne dans l'épaisseur de l'objet. Si la quantification à l'échelle atomique pose certainement encore quelques problèmes (du fait par exemple des effets de canalisation,...ect), elle demeure rapide et simple à mettre en œuvre à une résolution moindre, typiquement à l'échelle du nanomètre. De manière surprenante, cette méthode élégante d'analyse chimique (au travers de la dépendance I_{HAADF} = f(Z)) a été peu appliquée depuis les premiers travaux de Treacy et Rice [2] dans le domaine des nano-particules en catalyse il y a près de 20 ans (voir néanmoins [3,4]).

Le propos de cette contribution est de poursuivre une approche entreprise récemment au laboratoire, et présentée au dernier colloque annuel de la Sf μ [5] : montrer comment une information quantitative sur la chimie de différents types de particules peut être déduite d'études *HAADF*.

2. 'Théorie'

Il est utile de rappeler ici comment l'intensité *HAADF* en un point de la sonde (d'intensité incidente I₀) lors du balayage *STEM* est idéalement reliée (pour un objet suffisamment mince pour négliger la rétro-diffusion et les pertes inélastiques) à la section efficace de diffusion atomique σ_i des espèces i présentes en nombre n_i :

 $I = I_0 \Sigma n_i \sigma_i$

Dans le cas d'une particule sphérique homogène, de Z 'moyen' correspondant à une espèce chimique j, il a initialement été montré qu'on obtient une variation linéaire en traçant son intensité intégrée $I_{particule}$, élevée à la puissance 1/3, en fonction de la racine carrée du diamètre D, la pente étant alors proportionnelle à $(\sigma_j/\Omega_j)^{1/3}$ [2]. Une manière plus simple d'analyser cette intensité (cf. figure 1) est de noter que la variation de l'intensité maximale au centre de cette particule sphérique I_{centre} est, elle aussi, linéaire en fonction du diamètre, avec une pente proportionnelle à (σ_j/ρ_j) (avec $\rho_j =$ densité atomique - en nombre d'atomes / unité de volume -). La section efficace de diffusion '*HAADF*' σ_j étant proportionnelle à Z_j^n (n voisin de 2 - typiquement 1.6 à 2 [1] -), la mesure de I_{centre} permet de remonter à Z_j si l'on connaît la densité ρ_j .

Ainsi, la méthode d'analyse est directement et aisément applicable après quelques pointés d'analyse chimique 'classique', en *EDX* par exemple, permettant un calibrage des coefficients de proportionnalité intervenant dans les relations précédentes.

3. Application : carbures mixtes V_xNb_{1-x}C

Dans le cadre d'une étude de la précipitation (dissolution) de carbures de métaux de transition dans un acier [6], nous avons appliqué l'*HAADF* à l'analyse quantitative de la composition chimique des précipités recueillis sur des répliques d'extraction. A partir de courbes de calibrage $I_{centre} = f(D)$ (fig. 1 b-c)) obtenues sur des particules de chimie connue (déterminée par *EDX* dans le cas présent), l'intensité normalisée à une taille fixe D' peut être déduite par une simple règle de trois, et de ce fait l'exposant exact de la loi puissance $I'_{centre} \propto Z_j^n$ peut être déterminé pour cette taille de 'normalisation' (fig. 1 d)). Dès lors, la chimie d'une particule quelconque se déduit instantanément de la détermination expérimentale de son intensité *HAADF* I'_{centre}. L'intérêt de la méthode est

¹ Auteur à contacter : thierry.epicier@insa-lyon.fr – Tel : 04 72 43 84 94

évidemment que le traitement de chaque particule est instantané (grâce à quelques routines informatiques élémentaires développées pour dépouiller les images *HAADF*), alors que l'analyse traditionnelle en *EDX* prend quelques dizaines de secondes par individu, ce qui représente un temps rédhibitoire dès lors qu'il s'agit d'établir des statistiques de chimie sur des centaines de particules dans un grand nombre d'états de précipitation [6].



Figure1 : analyse chimique 'HAADF' de carbures mixtes $V_xNb_{1-x}C$; en a), l'image montre clairement des précipités dont l'intensité n'est pas 'proportionnelle' à la taille (flèches), ce qui signe des différences chimiques (voir texte pour détails).

4. Conclusion

La méthode d'analyse chimique de nano-particules à partir du traitement quantitatif de l'intensité *HAADF* présente l'intérêt de la simplicité et de la rapidité. D'autres exemples seront montrés, notamment le cas de nano-particules Fe_xPt_{1-x} . Des perfectionnements sont de surcroît possibles pour des situations plus complexes que de simples objets sphériques (par exemple, des précipités polyédriques, ou des particules présentant des hétérogénéités chimiques), si l'on se donne la peine de modéliser leur géométrie : c'est notamment ce qui a été fait dans le cas de précipités $Al_3(Zr,Sc)$ dans l'aluminium, qui présentent une structure de type cœur-coquille [7].

- [1] D.E. Jesson and S. Pennycook, Proc. Roy. Soc. London, A449, (1995), 273-293
- [2] M.M.J. Treacy and S. Rice, J. Microsc., 156, (1989), 211-234
- [3] R. Darji and A. Howie, Micron, 28, 2, (1997), 95-100
- [4] F.J. Cadete Santos Aires, R. Darji, J.F. Trillat, A. Howie, and A.J. Renouprez, *Studies in Surf. Sci. & Catalysis*, **130**, (2000), 1109-1114
- [5] R. El Bouayadi, D. Araujo, T. Epicier, communication au 9° Colloque de la SFµ (Société Française des Microscopies), 4-8 Juillet 2005, F-Caen
- [6] D. Acevedo, M. Perez, S. Pecoraro, A. Vincent, T. Epicier, P. Dierickx, *Materials Science Forum*, 500-501, (2005), 695-702; D. Acevedo, thèse, INSA de Lyon, (2007)
- [7] E. Clouet, L. Laé, T. Epicier, W. Lefebvre, M. Nastar, A. Deschamps, *Nature Materials*, 5, (2006), 482-488.

Electrical transport and optical properties of carbon nanotubes probed by in situ and cross-correlated experiments

M. Kobylko^{a,1}, M. Kociak^a, K. Suenaga^b, A. M. Bonnot^c, A. Débarre^d, L. Henrard^e, A. Kasumov^a, C. Colliex^a, Y. Sato^b, K. Urita^b, S. Iijima^b

^a Laboratoire de Physique des Solides (LPS), CNRS/UMR 8502, Université Paris-Sud, Bâtiment 510, F-91405 Orsay Cedex ^b National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, 305-8565, Japan

^e Laboratoire d'Etude des Propriétés Electroniques des Solides (LEPES), CNRS/UPR 11, BP166, F-38042 Grenoble Cedex 9 ^d Laboratoire Aimé Cotton, CNRS/UPR 3321, Bâtiment 505, F-91405 Orsay Cedex

^e Laboratoire de Physique du Solide, University of Namur, Rue de Bruxelles 61, 5000 Namur, Belgium

Summary - Firstly, we will present the results of *ex situ* experiments supposed to probe the transport properties of individual carbon nanotubes which are in contradiction with elastic medium theory calculations. We will show that *in situ* experiments resolve this contradiction. Secondly, we will present the results of cross-correlated electron diffraction and Raman spectroscopy experiments. We will show that these experiments allow to conclude on electron-hole interactions in carbon nanotubes. Finally, we will briefly present recent development in *in situ* and nanomanipulation sample holders.

1. Introduction

It is widely known that the measurement of the electronic and structural properties of one and the same carbon nanotube (CNT) is a difficult experiment. However, the correlation between them is essential because it would provide experimental data to answer still open questions in fundamental and applied science, e.g. the influence of disorder on the transport properties of CNTs or the effect of electron-electron or electron-hole interactions.

2. Probing the electrical transport properties of the CNTs

We will first present a set of experiments where individual CNTs are dipped into mercury droplets. In principle, as described in a famous experiment [1], these experiments are supposed to give a precise idea of the transport properties of the CNTs (conductance quantification, ballisticity...). By using elastic medium theory, we will show that when CNTs with small radii or few walls are considered the probability that the CNT enters the drop of mercury is very small. This contradicts what can be measured in *ex situ* experiments, where appearance of conductance quantification can be observed (Fig.1).

We will demonstrate, based on *in situ* transport experiments in a TEM, that this contradiction can be overcome when considering the transport and mechanical properties of mercury itself [2].

3. Probing the optical properties of the CNTs

We will present a second set of experiments where the Raman spectra of individual single wall CNTs (SWCNTs) were recorded together with their parallel beam electron diffraction patterns (Fig.2). From the Raman spectra, the values of the Radial Breathing Mode (RBM) and the transition energies between the Van Hove singularities (VH) can be extracted. From the diffraction patterns, the values of the chiral indices are deduced. The comparison of the RBM values with the diameters deduced from the diffraction patterns will be discussed in the light of recent similar experiments [3]. More interestingly, we show that this cross-correlated technique may be a direct method of probing electron-hole interactions in SWCNTs and coupled CNTs.

4. In situ sample holders

Finally, we will briefly discuss recent development in *in situ* transport and nanomanipulation sample holders. The former is designed for transport measurements on *on chip* objects. The latter allows transport measurements and manipulation of nanoobjects placed on tips. The realization of the above-mentioned *in situ* transport measurements on individual carbon nanotubes dipped into mercury droplets requires a sample holder of this kind.

5. References

- [1] S. Frank et al., Science 280 (1998) 1744
- [2] M. Kobylko et al., in preparation
- [3] J.C. Meyer et al., Phys. Rev. Lett. 95, (2005) 217401

¹ Corresponding author : kobylko@lps.u-psud.fr – Tel : +33 (0) 1 69 15 53 80



Figure 1 – Adapted samples (metal tip (a) or metallized tip (b)) with CNTs on the apex (as indicated by the arrows). (c) Ex situ conductance measurement while the sample is repetitively approached and moved away from the Hg-surface. It shows conductance plateaux with no interim values. (d) Histogram of the conductance data showing two conductance values 1.05 G0 and 1.85 G0. The common interpretation would be to assume two ballistic CNTs on the apex, the first with a conductance of 1.05 G0 and the second with a conductance of 0.80 G0. However, in situ experiments can show that these results can be due to another effect.



Figure 2 – (a) Diffraction pattern and (b) Raman spectrum of the same SWCNT.

Les apports de la MET aux techniques d'analyses plus globales -Application à des matériaux nanostructurés à base de terres rares

M. Lamirand ^{a,*}, Y. Kihn^b, S. Verdier^c, A. Demourgues^a, J. Majimel^a

^a ICMCB-CNRS / Université Bordeaux 1 – 87, av. du Docteur Schweitzer – 33608 PESSAC Cedex
 ^b CEMES-CNRS – 29, rue Jeanne Marvig – 31055 TOULOUSE Cedex 4
 ^c RHODIA Recherches – 52, rue de la Haie Coq – 93308 AUBERVILLIERS Cedex

Résumé – Dans cette communication, nous montrerons comment la Microscopie Electronique en Transmission utilisée dans ses différents modes de fonctionnement complète les analyses plus globales traditionnellement mises en œuvre (microsonde, DRX, mesures magnétiques) pour améliorer la caractérisation d'un oxyde Ce-Zr-Pr qui s'avère particulièrement complexe du fait des différents états que peuvent prendre les valences du cérium et du praséodyme en fonction du vécu du matériau.

1. Contexte et protocole d'étude

Des oxydes Ce-Zr-Pr ont été préparés à l'ICMCB par coprécipitation et calcinés dans un premier temps à 600°C avant de subir un traitement thermique final à haute température.

Pour caractériser ces matériaux, la procédure communément appliquée est la suivante. La composition des phases Ce-Zr-Pr synthétisées est tout d'abord validée par microsonde de Castaing. La diffraction des rayons X est ensuite utilisée pour vérifier la pureté phasique et apporter les premières informations structurales sur ces composés ternaires (groupe d'espace,...). Leur structure est résolue par affinement de structures et les tailles des cristallites ainsi que les microcontraintes sont déterminées par les méthodes de Willimason-Hall et/ou Thomson-Cox-Hastings. Enfin, les degrés d'oxydation III ou IV des éléments à valences mixtes cérium et praséodyme sont déterminés par mesures magnétiques.

Ce protocle d'étude, plutôt simple et facile à mettre en œuvre de prime abord, se heurte cependant à trois problèmes majeurs : la connaissance très partielle du diagramme de phase ternaire Ce/Zr/Pr, la complexification du système par les valences mixtes du cérium et du praséodyme ainsi que les effets de la nanostructuration des particules. Il est donc important de mettre en œuvre un nouveau protocole d'étude susceptible de rendre compte de la complexité des matériaux.

Nous avons donc décidé de nous tourner vers la Microscopie Electronique en Transmission afin de compléter les informations auxquelles nous pouvons accéder en utilisant les techniques présentées précédemment. Depuis quelques années en effet, l'utilisation de la MET pour l'étude de systèmes nanostructurés connaît un essort exponentiel (Cf. *figure 1*) puisque la combinaison de ses différents modes de fonctionnement permet d'obtenir des informations rendant compte du matériau à une échelle nanométrique.



Figure 1 – Evolution du nombre de publications scientifiques répondant aux mots clefs « Microscopie Electronique en Transmission + Nanoparticules » (source ScienceDirect)

2. Matériau étudié et premiers résultats

L'analyse par microsonde de Castaing d'un oxyde Ce-Zr-Pr préparé à l'ICMCB par la voie coprécipitation décrite ci-dessus confirme que la composition visée a bien été atteinte. La diffraction des rayons X sur poudre confirme par ailleurs que le produit obtenu est constitué d'une phase unique quadratique de groupe d'espace $P4_{2/nmc}$ (Cf. *figure 2 (a)*). Enfin, le rapport trivalent/tétravalent a été déterminé par mesures magnétiques.

Malgré ces caractérisations suggérant la présence d'une seule phase, des observations en STEM-EDX

^{*} Auteur à contacter : <u>lamirand@icmcb-bordeaux.cnrs.fr</u>

(image 3 couleurs – *figure 2* (*b*)) ont mis en évidence des ségrégations chimiques traduisant la présence de 2 phases ! Les études réalisées en DRX se trouvent donc remises en cause et les mesures magnétiques ne sont alors plus significatives d'un seul et unique composé.

Suite aux résultats STEM-EDX, des obervations en MEHR visant à identifier les deux phases en présence sont actuellement en cours et permettront d'améliorer les afinements Rietveld. Des expériences d'EELS sont également programmées pour évaluer localement et par conséquent pour chaque phase formée les degrés d'oxydation du cérium et du praséodyme.



Figure 2 – (a) Affinement Rietveld du diffractogramme du composé étudié laissant présager l'existence d'une
seule phase quadratique $P4_{2/nmc}$

(b) Image 3 couleurs de l'analyse chimique réalisée en STEM-EDX mettant en évidence la présence de ségrégations chimiques dans le composé synthétisé

L'originalité de notre étude repose donc sur la confrontation et la complémentarité des études réalisées à l'aide de techniques « globales » telles que la DRX, les mesures magnétiques ou bien la microsonde de Castaing, avec la MET dans ses modes conventionnel, haute résolution, EDX et EELS. Nous avons démontré que le protocole d'étude mis en œuvre – même s'il peut s'avérer coûteux en terme de temps d'expérience – est essentiel afin de caractériser au mieux des systèmes complexes, qui plus est, organisés à une échelle nanométrique.

Synthèse de nanoparticules cœur-coquilles Etude par HRTEM et EFTEM

C. Langlois^{a,b*}, T. Oikawa^c, P. Bayle-Guillemaud^d, C. Ricolleau^{a,b}

^a Laboratoire 'Matériaux et Phénomènes Quantiques', Université Paris 7, 4 rue Elsa Morante, 75013 Paris
 ^b Laboratoire de Physique du Solide, ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris
 ^c JEOL Ltd, 1-2 Musashino 3-Chome, Akishima, 196-8558 Tokyo, JAPAN
 ^dDRFMC-CEA, 38000 Grenoble

Résumé – Cette étude porte sur l'élaboration sous ultra-vide de nanostructures bimétalliques cœur-coquilles, dont les propriétés physiques peuvent être ajustées principalement par le contrôle de la taille du cœur et de l'épaisseur de la coquille. L'imagerie haute résolution (HRTEM) et l'imagerie filtrée en énergie (EFTEM) ont permis d'identifier les paramètres structuraux expliquant la formation préférentielle de l'arrangement cœur-coquille. Nous avons montré que ce sont les morphologies particulières propres aux métaux nobles pour des tailles de particules en dessous de 10 nm, qui favorisent la croissance régulière de la coquille d'argent autour du cœur de cuivre.

1. Introduction

Les systèmes bimétalliques nanostructurés, sous forme biphasée ou alliée, offrent une vaste gamme de propriétés nouvelles, étendant ainsi potentiellement les applications déjà nombreuses des nanoparticules monométalliques. En particulier, les nanostructures coeur-coquilles présentent des propriétés accordables en fonction principalement des deux métaux choisis, de la taille du coeur, de l'épaisseur de la coquille et du couplage structural liant le coeur et la coquille. Il devient possible alors de modifier et de contrôler par exemple les résonances plasmons de telles particules

Nous présentons dans cette étude la synthèse de nanoparticules CuAg (cœur de cuivre et coquille d'argent) par évaporation thermique séquentielle sous ultra-vide, directement sur le film de carbone d'une grille de microscopie électronique en transmission. L'imagerie haute résolution ainsi que l'imagerie filtrée en énergie nous ont permis de caractériser le système de manière quantitative, et par conséquent d'optimiser les paramètres de la croissance pour favoriser la formation de nanostructures cœur-coquilles.

2. Synthèse des nanoparticules cœur-coquilles CuAg

Dans un premier temps, les épaisseurs nominales de dépôts (épaisseurs équivalentes si un film continu se formait) ont été de 6 nm de cuivre et 3 nm d'argent (6@3), déposées sur un substrat de carbone amorphe chauffé à 400°C. Le processus opératoire consiste à évaporer tout d'abord le cuivre, ce qui permet la croissance des nanoparticules à la surface du substrat, et ensuite l'argent qui va diffuser à la surface et nucléer préférentiellement sur les nanoparticules de cuivre déjà formées. L'imagerie par filtrage en énergie des électrons nous a permis de dresser des cartographies chimiques des nanoparticules, comme celles présentées Figure 1.



Figure 1 – Image en champ clair et cartographies chimiques du dépôt de CuAg 6@3 – (a) image en champ clair, (b) cartographie au seuil du cuivre, (c) cartographie au seuil de l'argent et (d) montage en fausses couleurs : cuivre en jaune et argent en bleu.

Il apparaît clairement sur ces images que les nanoparticules cœur-coquilles sont les plus petites de la distribution de tailles qui est assez large. Nous avons alors élaboré un second système avec moins de matière déposée, tout en gardant constant le rapport des épaisseurs nominales entre le cuivre et l'argent (2@1), ainsi que la température du substrat. La distribution de particules obtenue est décalée vers les faibles tailles et nous avons montré que la proportion de nanoparticules cœur-coquilles s'accroît de manière significative (Figure 2a) [1].

^{*} Auteur à contacter : cyril.langlois@paris7.jussieu.fr – Tel : 01 40 79 58 10



Figure 2 – (*a*) *Cartographie chimique au seuil de l'argent pour le système 2@1 élaboré à 400°C et* (*b*) *cartographie chimique (cuivre en jaune et argent en bleu) pour le système 2@1 – 500°C.*

La tendance observée est confirmée sans ambiguïté à partir des observations menées toujours sur le système 2@1, mais élaboré avec une température de substrat de 500°C. Cette augmentation de la température du substrat lors du dépôt de cuivre a pour effet d'accroître la diffusion à la surface, et ainsi d'augmenter la taille des particules. La figure 2b présente une cartographie chimique du dépôt obtenu, où les configurations ségrégées de part et d'autre de la particule sont cette fois majoritaires, au détriment des structures cœur-coquilles.

3. Interprétation

Tout comme l'or et l'argent, le cuivre présente des transitions de morphologie en fonction de la taille des particules : icosaèdres en dessous de 5 nm (20 tétraèdres parfaits de structure CFC imbriqués de manière à former un polyèdre à 20 faces), décaèdres entre 5 et 10 nm (5 secteurs structurés CFC séparés par des macles avec défaut de fermeture) et sous des formes sans défauts (i.e. purement CFC) pour des tailles plus grandes [2]. La microscopie haute résolution nous a permis de confirmer ces transitions pour le cuivre pur et de corréler l'arrangement en cœur-coquille avec des tailles des cœurs de cuivre en dessous de 10 nm, correspondant au cuivre sous forme d'icosaèdres et de décaèdres. Ce sont les faces cristallines toutes identiques d'un icosaèdre et d'un décaèdre (faces (111)) qui expliquerait la formation préférentielle de cœur-coquilles pour ces morphologies particulières. Ainsi, la vitesse de croissance en épitaxie de la coquille d'argent est la même sur toutes ces faces, et conduit à la formation de nanoparticules avec une épaisseur de coquilles homogène. Les observations en haute résolution menées sur les nanoparticules les plus petites vont dans ce sens. Plusieurs cas de figure montrent que la croissance de la coquille suit parfaitement la morphologie du cœur de cuivre sous-jacent. La figure 3 montre un exemple d'une telle configuration.



Figure 3 – (a) Nanoparticule icosaédrique cœur-coquille de CuAg et (b) spectre de puissance de (a).

4. Conclusion

Il ressort de notre étude que l'arrangement cœur-coquille est très fortement dépendant de la morphologie du cœur de cuivre déjà présent à la surface du substrat. L'étude se poursuit avec pour principale direction la confirmation de cette tendance par obtention de cartographies chimiques et d'images haute résolution sur particules uniques. Nous projettons d'utiliser les résultats et la méthodologie de cette étude pour développer des nanostructures cœur-coquilles magnétiques de CoAg. De la même manière que pour le système CuAg, la différence d'énergie de surface entre le cobalt et l'argent est telle que l'on s'attend à la formation de nanostructures cœur-coquilles.

- [1] M. Cazayous, C. Langlois, T. Oikawa, C. Ricolleau, and A. Sacuto, *Cu-Ag core-shell nanoparticles: a direct correlation between micro Raman and electron microscopy*, Phys. Rev. B 73 (11), 113402 (2006)
- [2] C. Mottet, J. Goniakowsky, F. Baletto, R. Ferrando and G. Tréglia, Modelling free and supported metallic nanoclusters: structure and dynamics, Phase Trans. 77 (2004) 101-113

Δ

Δλ λ



Croissance de nano-magnétites intracellulaires

Aude Isambert^a, Nicolas Menguy^{b,*}, Éric Larquet^b, François Guyot^b, Jean-Pierre Valet^a

^a Paléomagnétisme, IPGP et Université Paris 7, CNRS-INSU; Tour 14, 2 place Jussieu, 75005 Paris, France ^b IMPMC, Universités Paris 6 et 7, CNRS, IPGP; 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France

Résumé – Une population de bactéries magnétotactiques a été prélevée dans la Seine (France) et étudiée par microscopie électronique en transmission. 17 morphotypes différents ont été recensés sur la base de critères morphologiques dont le nombre et l'organisation des magnétosomes intracellulaires. Par ailleurs, deux modes principaux de croissance des magnétites ont été mis en évidence à partir de la distribution des tailles et rapport de forme. Il apparaît en outre que ces magnétites intracellulaires ne satisfont pas tous les critères de biogénicité habituellement utilisés pour distinguer les biomagnétites.

1. Introduction

Les bactéries magnétotactiques, découvertes par Blakemore [1] synthétisent des magnétosomes, constitués de cristaux de magnétite (Fe₃O₄) ou de greigite (Fe₃S₄) nanométriques à l'intérieur de vésicules membranaires intracellulaires. Les magnétosomes sont généralement assemblés sous forme d'une ou plusieurs chaînes, a priori fixées à l'intérieur des cellules et alignées parallèlement à l'axe de motilité de la bactérie (figure 1.a). Ces chaînes de particules magnétiques, comparables à l'aiguille aimantée d'une boussole, permettent à la cellule de s'orienter dans le champ magnétique terrestre. Cette faculté associée à un aérotactisme (la bactérie se dirige dans la direction du gradient de concentration en oxygène) permet à ces bactéries microaérophiles de se positionner de manière efficace dans la colonne d'eau à la zone de transition oxique – anoxique (OATZ) afin de trouver les conditions optimales en [O₂] pour leur métabolisme (figure 1.b) [2].



Figure 1 – (a) Image MET d'une bactérie magnétotactique prélevée dans la Seine. Une image agrandie des magnétosomes est représentée en insert (b) Description simplifiée d'une colonne d'eau.

2. Modes de croissance des magnétites intracellulaires

Une analyse systématique des caractéristiques morphologiques des magnétosomes a permis de mettre en évidence des particularités de certaines espèces quant au mode de croissance des magnétites [3]. Les magnétites visibles sur la figure 2.a présentent une croissance homomorphique : le rapport longueur / largeur reste constant.



Figure 2 – Comparaison des rapports de forme des magnétosomes pour deux souches de bactéries magnétotactiques prélevées dans la Seine (scale bar = 200 nm)

^{*} Auteur à contacter : Nicolas.Menguy@impmc.jussieu.fr – Tel : 01 44 27 50 59

Au contraire, dans le cas de la particule représentée sur la figure 2.b, un tout autre comportement est observé. Dans les premiers stades de la croissance, les magnétites présentent une morphologie isotrope ($w \approx l$). À partir de 45 nm, un brutal changement est observé : la largeur des magnétites n'augmente plus alors qu'une distribution quasi continue de longueur est observée jusqu'à environ 170 nm.

Un examen attentif des morphologies des magnétites "bullet shaped" similaires à celles représentées sur la figure 2.b montre que leur croissance est dirigée. La figure 3 montre un exemple de chaine de magnétites pour laquelle différents stades de croissance sont observables. Pour les premiers stades de la croissance, les magnétites ont une morphologie proche de celle du cuboctaèdre avec des faces {110} développées (fig. 3.b et 3.c). Dans le stade suivant de la croissance, la magnétite est légèrement allongée, mais les faces {110} sont encore visibles (fig. 3.d). Une seule face {110} est visible pour la magnétite représentée figure 3.e, la nature exacte des autres faces n'est pas déductible de manière simple. La magnétite de la figure 3.f présente une largeur comparable à celle des magnétites dites "matures". L'étape suivante de la croissance de cette magnétites "matures".



Figure 3 – Évolution de la morphologie des magnétites pour une chaîne de magnétosomes.(a) La chaîne complète présente des magnétites à des stades de croissance variable. Les cristaux repérés correspondent aux images (b), (d), (e) et (f).

Nous proposons un modèle similaire à celui proposé par Mann [4] pour expliquer cette séquence (figure 4): (1). une magnétite apparaît avec une morphologie ayant une symétrie cubique, (2). elle adhère à la paroi du magnétosome par une face {110}, (3). sa croissance commence, (4). sa base {110} atteint une largeur définitive, (5). elle pousse en longueur, (6). elle atteint sa longueur définitive limitée par la taille de la membrane du magnétosome.



Figure 4 – Modèle de croissance des magnétites pour la souche RS H dans le magnétosome

- [1] Blakemore, R.P. Magnetotactic bacteria. Science 190 (1975) 377–379
- Bazylinski D.A. and Frankel R.B. Magnetosome Formation In Prokaryotes Nature Reviews / Microbiology 2 (2004) 217-230
- [3] Isambert A., Menguy N., Larquet E., Guyot F., Valet J.-P. *TEM study of magnetites in a freshwater population of magnetotactic bacteria* American Mineralogist **92** (2007) 621-630
- [4] Mann, S., Sparks, N.H.C., and Blakemore, R.P. *Structure, morphology and crystal growth of anisotropic magnetite crystals in magnetic bacteria.* Proc. of the Royal Society of London B (1987) **231**, 477-487

Etude de la croissance de nanobatonnets de WO₃ sur mica par microscopie electronique en transmission

S. BRUYERE, V. POTIN^{*}, M. GILLET, E. LESNIEWSKA, S. BOURGEOIS, B. DOMENICHINI

Institut Carnot de Bourgogne, UMR 5209 CNRS-Université de bourgone, 9 avenue Alain Savary, 21000 Dijon

 \mathbf{R} ésumé – Le trioxyde de tungstène WO₃ est un semi-conducteur très étudié pour ces différentes propriétés en catalyse et dans les capteurs. Des nanobatonnets de WO₃ ont été synthétisés par une technique de dépot en phase vapeur sur un substrat de mica. Ils ont été observés par Microscopie à Force Atomique et par Microscopie Electronique en Transmission afin de déterminer leur structure atomique et d'analyser les premiers instants de la croissance.

.....

1. Introduction

 WO_3 est un semi-conducteur de type *n* très intéressant pour ces propriétés en catalyse et dans la détection des gaz[1,2]. Récemment, des matériaux de taille nanométrique ont été étudiés en raison de la découverte de nouvelles propriétés différentes liées à leur taille. Certaines études ont montré que les nanobatonnets de WO_3 ont de remarquables propriétés électriques qui pourraient être utilisées, entre autres, dans la détection de gaz [2]. Pour ces applications, les caractéristiques morphologiques du matériau comme leur taille est très importante et dépend en grande partie de la méthode de synthèse utilisée [3-6]. Il est aussi certain que certaines propriétés du matériau ne sont pas uniquement gouvernées par la structure mais aussi par les défauts présents dans le matériau [7].

Les nanobatonnets de WO₃ étudiés ici ont été préparés par une simple technique de déposition par vapeur. Une vapeur d'oxyde de tungstène est obtenue à partir d'une couche de WO₃ préalablement déposée sur un substrat chauffé de SiO₂. La vapeur est ensuite recondensée sur un substrat de mica.

Les échantillons de nanobatonnets de WO₃ obtenus ont été observés par Microscopie à Force Atomique (AFM) pour déterminer leur morphologie puis par Microscopie Electronique en Transmission (MET) pour déterminer leur structure cristallographique et étudier leurs eventuels défauts.

2. Résultats



Fig 1: Image AFM de nanobatonnets de WO₃ sur mica

Fig 2: Cliché de diffraction d'un nanobatonnet de WO₃

^{*} auteur à contacter: <u>valerie.potin@u-bourgogne.fr</u> Tel: 03 80 39 59 23
Les images obtenues par AFM montrent que les nanobatonnets de WO₃ (Figure 1) ont poussé parallèlement dans deux directions privilégiées. Ces nanobatonnets ont une longueur moyenne d'1µm, une largeur moyenne de 30 nm et une hauteur d'environ 5nm. Certains nanobatonnets présents sur la Figure 1 ont poussé les uns sur les autres jusqu'à une hauteur de 80nm. Les nanobatonnets sont observés au MET (JEOL 2100 LaB₆) après préparation par technique de répliques. Les spots intenses observés sur le cliché de diffraction (Figure 2) ont des distances d1=0,376nm et d2=0,366nm et sont indexés comme correspondant aux distances interréticulaires des plans (200) et (020) du WO₃ monoclinique. Ce cliché de diffraction est donc interprété comme du WO₃ monoclinique de paramètres a=7,29Å, b=7,53Å, c=7,68Å, $\beta=90,91^{\circ}$ (fiche JCPDS n°083-0950). L'analyse des rayons X à dispersion d'énergie (EDX) (Figure 3) des nanobatonnets indique, outre le tungstène et l'oxygène, une présence de potassium comprise entre 1 et 3% (le cuivre et le carbone proviennent de la grille autosupportée). Des images haute résolution (Figure 4) ont été réalisées et mettent en évidence la présence de défauts sous forme de fautes d'empilement. Des simulations sont actuellement en cours de réalisation pour expliquer ces phénomènes.



Fig 3: Analyse EDX

Fig 4: Image Haute Résolution

Une récente étude [8] a montré que les nanobatonnets de WO₃ croissent en aggrégats tridimentionnels sur des substrats de SiO₂ et Al₂O₃ alors qu'ils croissent en épitaxie dans des directions prédéfinies sur substrat de mica. Les auteurs suggèrent que le mécanisme de croissance des nanobatonnets de WO₃ dépend de la présence de potassium [9]. La croissance en épitaxie observée en AFM et la présence de potassium relevée par EDX corroborent ces deux études. La superposition de nanobatonnets pourrait être dû à une quantité plus importante de potassium à ces endroits et il y aurait aussi formation d'un composé K_xWO₃ comme le suggèrent les analyses EDX.

3. Conclusion

Des nanobatonnets de WO₃ ont été obtenus avec une technique de déposition par phase vapeur. Ils croissent en épitaxie sur le substrat de mica avec une structure cristallographique de type monoclinique. Les analyses EDX ont permis de mettre en évidence la présence de potassium dans les nanobatonnets.

4. Références

- [1] I. Jiménez, J. Arbiol, G. Dezanneau, A. Cornet, J.R. Morante, Sensors and Actuators B 93 (2003) 475
- [2] L.F. Reyes, A. Hoel, S. Saukko, P. Heszler, V. Lantto, C.G. Granqvist, Sensors and Actuators B 117 (2006) 128
- [3] F. Di Fonzo, A. Bailini, V. Russo, A. Baserga, D. Cattaneo, M.G. Beghi, P.M. Ossi, C.S. Casari, A. Li Bassi, C.E. Bottani, Catalysis Today 116 (2006) 69
- [4] Z. Liu, Y. Bando, C. Tang, Chem. Phys. Lett. 372 (2003) 179
- [5] Y.B. Li, Y. Bando, D. Golberg, K. Kurashima, Chem. Phys. Lett. 367 (2003) 214
- [6] Y. B. Li, Y. Bando, D. Golberg, K. Kurashima, Chem. Phys. Lett. 367 (2003) 214
- [7] H. Zhang, M. Feng, F. Lei, L. Liu, H. Chen, H. Gao, J. Li, Chem. Phys. Lett. 389 (2004) 337
- [8] M. Gillet, R. Delamare, E. Gillet, Crystal Growth 279 (2005) 93-99
- [9] M. Gillet, R. Delamare, E. Gillet, Eur. Phys. J.D. 34 (2005) 291-294

Caractérisation de nano-oignons de carbone: corrélation entre leurs propriétés physiques et leurs propriétés tribologiques

L. JOLY-POTTUZ^{1,2}, B. VACHER², J.-M. MARTIN², T. EPICIER¹

1: Laboratoire MATEIS, umr CNRS 5510, INSA de Lyon, 7 avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne Cedex 2: LTDS, umr CNRS 5513, Ecole Centrale de Lyon, 36, avenue Guy de Collongue, 69134 Ecully Cedex.

Utilisés comme additifs de lubrification, les nano-oignons de carbone présentent des propriétés tribologiques très prometteuses, beaucoup plus intéressantes que la structure lamellaire correspondante, le graphite. Nous avons utilisé l'EELS, la diffraction à sélection d'aire (SAED) et l'imagerie fond noir pour caractériser les nanoparticules avant et après frottement. A partir de résultats obtenus par EELS, le graphite peut être considéré plus dur « électroniquement » que les oignons, ce qui peut expliquer son abrasivité plus importante dans le contact. La SAED et l'imagerie fond noir ont montré que les nano-oignons sont intacts après frottement et forme un film qui « piège » les particules d'oxyde de fer créées par usure des pièces frottantes. Ces différentes techniques ont abouti à une meilleure compréhension des propriétés tribologiques des oignons de carbone.

Les résultats obtenus récemment avec des nano-oignons de carbone (structure sphérique multifeuillet), utilisés comme additifs de lubrification, montrent des propriétés tribologiques très intéressantes avec notamment des propriétés anti-usure supérieures à la structure lamellaire correspondante : le graphite. Dans ce travail, nous avons utilisé la spectroscopie de perte d'énergie (EELS), la diffraction électronique en mode sélection d'aire (SAED) et l'imagerie fond noir filtrée pour caractériser les oignons de carbone avant et après frottement (les oignons ont synthétisés à l'Université de Kobe, Japon, par le laboratoire du Professeur Ohmae). Une première partie de ce travail, basée sur les récents travaux de Oleshko, s'est tournée vers une comparaison des propriétés physiques du graphite et des nano-oignons. Dans un deuxième temps, l'observation de particules après frottement a permis de comprendre les bonnes propriétés anti-usure observées pour ces nanoparticules.

Des images MET haute résolution des nano-oignons montrent leur structure quasisphérique de fullerènes emboîtés avec un diamètre de l'ordre de 5 nm (figure 1). A partir du cliché de diffraction, la distance entre les plans de graphite a été déterminée égale à 0.35 nm, ce qui correspond à une expansion de 10% par rapport à la structure lamellaire.



Figure 1 : Image d'oignons de carbone avec, en encadré,le cliché de diffraction d'un ensemble de particules. Spectre EELS obtenus sur les oignons et le graphite

Howe et Oleshko ont récemment déterminé des relations empiriques entre le maximum du pic de faible perte d'énergie des électrons (dite perte par plasmons $-E_p$) et la dureté (H) pour les matériaux carbonés. [1] :

$$\log(H) = -7.44 + 6.1\log(E_P)$$
(1)

D'autres relations permettent de relier E_p à la densité du carbone (D) [2] :

$$\log(D) = -202.71\log(E_p)^2 + 605.84\log(E_p) - 450.72$$
(2)

L'utilisation de ces relations et des analyses EELS effectuées sur le graphite et les oignons permet de comparer leurs propriétés physiques. Ainsi, on obtient des densités respectives égales à 2897 et 2593 kg/m³. Ces valeurs sont un peu plus élevées que celles obtenues dans la littérature, mais on peut constater une chute de densité de 10% pour les oignons ce qui est en accord avec l'augmentation de l'espacement inter-feuillet déterminée par SAED. En ce qui concerne la dureté, on obtient respectivement des valeurs égales à 25 et 10 GPa. La valeur obtenue pour le graphite correspond à la dureté due aux liaisons dans les plans de graphite (ce qui explique la valeur élevée obtenue). Ainsi, on peut considérer que le graphite est plus dur « électroniquement » que les oignons, ce qui pourrait expliquer son caractère plus abrasif dans le contact.

Des analyses de particules d'usure collectées après un essai de frottement ont permis d'observer la présence d'oignons de carbone intacts (figure 2c) et de particules d'oxyde de fer (figure 2d). Le cliché de diffraction montre que les oxydes présents sont soit de la maghémite a-Fe₂O₃ soit de la magnétite Fe₃O₄. La différenciation des deux structures est très difficile, mais on peut en tous les cas constater qu'il ne s'agit pas d'hématite Fe₂O₃ (forme stable et abrasive d'oxyde de fer). Les oignons forment un film qui semble « pièger » les oxydes de fer évitant ainsi une usure supplémentaire.



Figure 2: cliché de diffraction d'une particule d'usure avec les emplacements du diaphragme de contraste utilisés pour obtenir les images en fond noir (c) correspondant à l'anneau (002) du graphite et (d) correspondant à deux anneaux de l'oxyde de fer.

L'utilisation des différentes techniques (HRTEM, SAED, EELS, imagerie fond noir) a permis d'obtenir des informations clés dans la compréhension des mécanismes des propriétés tribologiques des nano-oignons de carbone.

- [1] J.M. Howe and V.P. Oleshko. Journal of Electron Microscopy 2004; 53 (4): 339-351
- [2] Xu S, Tay BK, Tan HS, Zhong L and Tu YQ. Journal of Applied Physics 1996; 79(9): 7234-7240

Irradiation de systèmes nanotubulaires

A. Zobelli^{a,b,1}, A. Gloter^a, C.P. Ewels^c, G. Seifert^b, C.Colliex^a

^a Laboratoire de Physique des Solides, Univ. Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, F-91405 Orsay Cedex, France
 ^b Technische Universität Dresden, Institüt für Physikalische Chemie und Elektrochemie, D-1062 Dresden, Germany
 ^c Institute des Materiaux, CNRS UMR 6502, 2 rue de la Houssiniere, 44322 Nantes, France

Résumé - Nous démontrons la possibilité d'usiner a une échelle nanometrique nanotubes simple paroi de carbone et nitrure de bore en utilisant la sonde focalise d'un microscope a transmission a balayage. Le conditions expérimentales ont été optimisé sur la base des sections efficace d'émission dérivées dans le cadre de la théorie du fonctionnel de densité.

La nature et le rôle de défauts est de première importance pour la compréhension des propriétés physiques des nanotubes monoparoi (SWNT) de carbone et nitrure de bore. La microscopie électronique en transmission (TEM) est un outil très puissant pour l'étude des défauts dans les matériaux mais dans le cas de SWNT les atomes peuvent être aussi être éjectés par l'irradiation électronique. Cet effet peut changer la structure initiale du tube mais peut être également vu comme un outil potentiel pour "usiner" des structures nanométriques.

Nous avons développé un outil théorique pour la description du mécanisme d'irradiation [1]. Dans un premier temps, nous avons dérivé, par des calculs basés sur la théorie de la fonctionnelle de densité, la carte des seuils d'énergie d'émission. Successivement, nous avons dérivé numériquement la section efficace total de Mott pour différents sites d'émission dans des nanotubes de carbone et nitrure de bore. Utilisant un microscope STEM, nous avons été capables de contrôler la génération de défauts dans des systèmes nanotubulaires avec des conditions expérimentales optimisées sur la base de nos calculs de section efficace [2]. Défauts ponctuels ou ligne de dislocation peuvent ainsi être obtenu avec une résolution spatiale de quelques nanomètres. La structure, l'énergie et les propriétés électroniques des défauts ponctuels et des lignes de défauts ont été étudiées dans les systèmes de BN [3]. L'énergie d'activation et les chemins réactionnels pour la diffusion de mono et de bi-lacunes dans du BN hexagonal ont été dérivés en utilisant le "nudged elastic band method" combiné avec les techniques basées sur la fonctionnelle de la densité [4]. Nous avons aussi démontré que l'apparition de défauts étendus est plus favorable qu'une distribution aléatoire de défauts ponctuels et que cela est dû à l'existence de sites préférentiels pour l'émission d'atomes en présence de défauts préexistants plutôt qu'à des phénomènes de migration et nucléation thermique des lacunes [1,3].



Figure 1 – Irradiation locale de nanotubes de carbone mono paroi.

Auteur à contacter : zobelli@lps.u-psud.fr

Références

- [1] A. Zobelli, A. Gloter, C.P. Ewels, G. Seifert and C. Colliex, Phys. Rev. B (2007) accepted for publication
- [2] A. Zobelli, A. Gloter, C.P. Ewels and C. Colliex, submitted for publication
- [3] A. Zobelli, C. Ewels, A. Gloter, G. Seifert, O. Stephan, S. Csillag, and C. Colliex, Nano Lett. 6, 1955 (2006)
- [4] A. Zobelli, C.P. Ewels, A. Gloter and G. Seifert, Phys. Rev. B 75, 94104 (2007)

Caractérisation de nanoparticules de silicium dans une matrice de silice par EFTEM

C. Zoller^{a,*}, F. Lacour^b, C. Chanéac^c, N. Herlin^b, F. Béclin^a

^a Laboratoire de Structure et Propriétés de l'Etat Solide (UMR 8008), USTL, 59655 Villeneuve d'Ascq
 ^bService des Photons Atomes et Molécules (CEA-CNRS URA 2453), CEA Saclay, 91191 Gif sur Yvette cedex
 ^cLaboratoire Chimie de la Matière Condensée (UMR 7574), UPMC, 75252 Paris Cedex 05

Résumé – Dans le cadre d'un projet visant à la réalisation d'amplificateurs optiques dopés par des nanoparticules semi-conductrices, nous nous sommes intéressés à l'observation de nanoparticules de silicium imprégnées dans une matrice de silice massive. Pour cela nous avons eu recours à l'imagerie filtrée en microscopie électronique en transmission. Cette technique s'est avérée efficace pour contrôler l'intégrité des nanoparticules lors des traitements thermiques de vitrification des gels de silice.

1. Introduction

La photoluminescence des nanostructures de silicium a été mise en évidence par Canham [1]. De nombreuses études sur les nanocristaux de silicium seuls ou intégrés en optique planaire ont montré l'influence de la taille et de l'état de surface des nanoparticules sur les caractéristiques de photoluminescence (position et largeur de la bande d'émission, section efficace, durée de vie) [2]. Dans la finalité d'une application fibres optiques, nous nous sommes intéressés à la caractérisation de nanoparticules de silicium intégrées dans un monolithe de silice pure. La microscopie classique ne nous permettant pas de distinguer les nanoparticules de leur matrice, nous avons utilisé un filtre en énergie.

2. Matériaux et dispositif expérimental

Les nanoparticules ont été obtenues par pyrolyse laser. Le réactif gazeux (SiH_4) se dissocie suite à l'absorption d'un faisceau laser conduisant à la formation des nanoparticules de silicium. Celles-ci sont récupérées sur une barrière filtrante. Un spectromètre de masse par temps de vol permet de déterminer *in situ* la taille des nanoparticules. Deux séries de nanoparticules ont été utilisées. Elles sont cristallines (vérifié par microscopie haute résolution), photoluminescentes et mesurent respectivement 4,5 nm et 7,5 nm. Les nanoparticules de la première série ont été oxydées en surface à l'air (sur la barrière filtrante) avant d'être été mises en suspension, tandis que celles de la seconde se sont oxydées directement dans la suspension. Les nanoparticules sont ensuite été intégrées à un sol d'alkoxyde de silicium. Par des réactions d'hydrolyse-condensation, le sol est gélifié en étuve à 60°C. Différents traitements thermiques ont ensuite été appliqués pour densifier et vitrifier la silice.

Le microscope en transmission utilisé pour cette étude est un FEI Tecnai G2-20 twin (tension d'accélération : 200 kV) avec filament LaB₆, équipé d'un filtre en énergie post-colonne Gatan (GIF). Compte tenu de l'épaisseur de matrice qui entoure les nanoparticules, il n'était pas possible d'utiliser la technique classique de microscopie haute résolution pour les observer [3]. Nous avons donc eu recours à l'imagerie filtrée sur les bandes plasmon en utilisant le déplacement du pic plasmon entre le silicium (4 électrons de valence par atome Si) et la silice (16 électrons de valence par atome Si) [4]. Le plasmon du silicium (cristallin ou amorphe) se situe autour de 16 eV tandis que celui de la silice se situe à 23 eV [5]. En réglant le filtre sur l'une ou l'autre de ces valeurs, on peut obtenir une image filtrée où le silicium ou la silice apparaîtra en clair sur un fond noir.

3. Résultats

Les nanoparticules de la première série (4,5 nm) apparaissent clairement sur les images filtrées par rapport au plasmon du silicium à 16 eV (figures 1 et 2). Le diamètre apparent moyen est de 3,9 nm après traitement thermique à 300 puis 850°C, ce qui est légèrement inférieur à la valeur initiale. Cela est probablement dû à l'oxydation de surface. La différence entre les deux valeurs, soit 0,6 nm, correspondrait en effet à l'oxydation d'un couche atomique en surface. En positionnant le filtre sur le plasmon de la silice (23 eV), les nanoparticules apparaissent en contraste négatif.

Les nanoparticules de la seconde série (7,5 nm) sont présentées figure 3 sans traitement thermique et après traitement à 850 puis 1200°C. Sur les deux premières images, le diamètre mesuré est bien de 7,5 nm. Après le traitement à 1200°C, les nanoparticules ont coalescé, formant des amas d'environ 20 nm.

^{*} Auteur à contacter : carine.zoller@ed.univ-lille1.fr – Tel : 03 20 43 47 79



Figure 1 – Gel de silice dopé par des nanoparticules de silicium de taille 4,5 nm après traitement thermique à 300°C : image non filtrée – image filtrée sur le plasmon du silicium – image filtrée sur le plasmon de la silice



Figure 2 – Gel de silice dopé par des nanoparticules de silicium de taille 4,5 nm après traitement thermique à 850°C : image non filtrée – image filtrée sur le plasmon du silicium – image filtrée sur le plasmon de la silice



Figure 3 – Image filtrée sur le plasmon du silicium d'un gel de silice dopé par des nanoparticules de silicium de taille 7,5 nm a) avant traitement thermique b) après traitement thermique à 850°C (les nanoparticules sont indiquées par la flèche) c) après traitement thermique à 1200°C

4. Conclusion

L'imagerie filtrée sur les bandes du plasmon nous a permis d'observer l'intégrité et l'oxydation des nanoparticules au cours des traitements thermiques de densification. Il nous faut encore caractériser la dispersion des nanoparticules dans les échantillons et faire des mesures de photoluminescence pour vérifier si elles ont gardé leurs propriétés initiales.

5. Références

- [1] L.T. Canham, Porous Silicon Photoluminescence, Appl. Phys. Lett. 57 (1990) 1046
- [2] M. Pauthe, E. Bernstein, J. Dumas, L. Saviot, A. Pradel, M. Ribesa, Preparation and characterisation of Si nanocrystallites embedded in silica matrix, J. Mat. Chem. 9 (1999) 187-191
- [3] M. Mitome, Visibility of Si nanoparticles embedded in an amorphous SiO₂ matrix, J. of Electron Microscopy 55(4) (2006) 201-207
- [4] S. Schamm, R. Berjoan, P. Barathieu, Study of the chemical and structural organization of SIPOS films at the nanometer scale by TEM–EELS and XPS, Materials Science and Engineering B107 (2004) 58-65
- [5] R.F. Egerton, *EELS in the electron microscope*, Plenum Press (1986)

Dissection des fonctions d'une protéine virale : une étude par cryo-microscopie électronique corrélée à la radiocristallographie et la RMN

Jean Lepault, Sonia Libersou, Malika Ouldali et Xavier Siebert

Laboratoire de Virologie Structurale et Moléculaire Avenue de la Terrasse, F-91190 Gif-sur-Yvette

Les rotavirus possèdent une capside constituée de trois couches protéiques renfermant 11 segments d'ARN. La protéine VP7 forme la couche externe et joue un rôle important dans deux étapes du cycle viral : l'entrée du virus dans la cellule cible et la transcription. La cryo-microscopie électronique, corrélée aux résultats obtenus par radiocristallographie, et la RMN permettent de comprendre ces deux fonctions de VP7 à un niveau moléculaire.

Les structures de différentes particules virales ont été déterminées par cryo-microscopie électronique à une résolution d'environ 2 nm. La structure atomique de VP6, protéine majeure de la capside des rotavirus ayant été déterminée par radiocristallographie, a été insérée dans les cartes calculées à partir des micrographies. Cette approche montre que VP7 change la position et l'orientation de certains trimères de VP6 à la surface de la capside virale et par suite peut activer ou inhiber la transcription virale.

Enfin, nous avons précisé le rôle de VP7 dans l'entrée virale. Nous avons visualisé les pores membranaires induits par des fragments protéolytiques de VP7. La structure de peptides viraux a été déterminée par RMN. L'ensemble de ces résultats permet de formaliser un modèle d'entrée des virus non enveloppés dans la cellule.

DNA ejection from bacteriophage T5 analysed by cryo-electron microscopy

Amélie Leforestier^a* Sandrine Brasiles^b Marta de Frutos^a, Eric Raspaud^a, Pascale Boulanger^c Lucienne Letellier^c, Paolo Tavares^{ab}, Françoise Livolant^a

^a Laboratoire de Physique des Solides, UMR CNRS 8502, Bât 510, Université Paris-Sud, 91405 Orsay cedex

^b Unité de Virologie Moléculaire et structurale, UMR CNRS 2472, Bât. 14b, 91198 Gif-sur-Yvette cedex

^c Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR CNRS 8619, Université Paris-Sud, Bât. 430, 91405 Orsay cedex

Tailed bacteriophages are complex macromolecular machineries that deliver their genome into the host cytoplasm while their capsid and tail remain bound to the cell surface. The ejection is triggered by the interaction of the phage tail with a specific bacterial receptor. For some species, like T5, the DNA ejection can be reconstituted *in vitro* by adsoption of the phage onto its purified receptor (FhuA for T5) [1]. Light scattering and fluorescence microscopy analyses of the T5 ejection process *in vitro* have revealed an original stepwise process [2, 3].

Here we will show how the ejection can be followed by cryo-electron microscopy, and analyse how this process reacts to an opposing external pressure. In the phage capsid, DNA is indeed highly pressurized, due to the confinement of the molecule into the small volume of the capsid. It has been hypothesised that this internal pressure is responsible for DNA release [4]. This hypothesis has been confirmed in the case of phage λ , showing that DNA ejection is directly related to the difference between osmotic pressure inside and outside the phage [5, 6].

Our results confirm the stepwise ejection of bacteriophage T5. We will analyse the intermediate steps of the process and discuss their possible origin. When the ejection is triggered under external pressure, we evidence an unexpected behaviour: within a wide range of pressure, the phage population is heterogeneous and the ejection leads to the transfer of s 0%, 60%, 90 % or 100% of the genome, regardless of the applied pressure (Figure 1).



Figure 1 - T5 bacteriophages observed by cryoelectron microscopy after ejection under pressure (6.2 Atm): empty phages, full phages and phages containing intermediate amounts of DNA coexist in the specimen. Scale bar 100 nm.

^{*} Auteur à contacter : leforestier@lps.u-psud.fr – Tel : 01 69 15 60 87

These results illustrate the complexity of DNA ejection in bacteriophages, even in a simplified *in vitro* system. We will discuss the possible mechanisms involved in DNA transfer.

[1] Boulanger P., Le Maire M., Bonhivers M., Dubois S., Desmadril M., Letellier L. (1996) *Purification and structural and functional characterization of FhuA, a transporter of the Escherichia coli outer membrane*. Biochemistry **35**, 14216-14224.

[2] Mangenot S., Hochrein M., Rädler J., Letellier L. (2005) *Real-time imaging of DNA ejection from single phage particles*. Current Biology **15**, 430-435.

[3] De Frutos M., Letellier L., Raspaud E. (2005) DNA ejection from bacteriophage T5 : Analysis of the kinetics and energetics. Biophys. J. 88, 1364-1370.

[4] Earnshaw W, Casjens S. (1980) DNA packaging by the double-stranded DNA bacteriophages. Cell **21**, 319-331.

[5] Evilevitch A., Lavelle L., Knobler C.M., Raspaud E., Gelbart W.M. (2003) Osmotic pressure inhibition of DNA ejection from phage. Proc Natl Acad Sci. 100, 9292-5.

[6] Evilevitch A., Gober J.W., Phillips M., Knobler C.M., Gelbart W.M. (2005) *Measurements of DNA lengths remaining in a viral capsid after osmotically suppressed partial ejection*. Biophys. J., **88**, 751-756.

Etude structurale de l'auto-assemblage des protéines de capsides virales par microscopie électronique

R. Aramayo^{a*}, E. Larquet^a, D. Prangishvili^b, T. Basta^b, S. Jonic^a, F. Tama^c, P. Vachette^d, C. Mérigoux^d, J. Perez^e, C. Dumas^f et N. Boisset^a

^a Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, CNRS UMR 7590, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris ^b Unité de biologie moléculaire du gène chez les extrêmophile, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris CEDEX 15 ^c Department of Molecular Biology, Scripps Research Institute, La Jolla, California 92037, USA

^d Institut de Biochimie et Biophysique moléculaire et cellulaire, CNRS UMR 8619, Université Paris-sud, Bâtiment 430, F-91405 Orsay Cedex

^e Synchrotron SOLEIL, l'Orme des Merisiers, Saint-Aubin-BP 48, 91192 Gif-sur-Yvette Cedex ^f Centre de Biochimie Structurale, CNRS UMR 5048, INSERM UMR 554, 29 rue de Navacelles, 34090 Montpellier

Résumé – Deux virus de structure très différente sont étudiés : un virus de plante à symétrie icosaédrique (TBSV) et un virus d'archaebactérie à symétrie hélicoïdale (SIRV2). La première étude sur le TBSV a pour but de mieux comprendre le mécanisme dynamique de transconformation de la capside en se servant des techniques telles que la microscopie électronique, la diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles. Le deuxième travail a pour but de mieux caractériser la structure encore mal connue du virus d'archaebactérie SIRV2, à l'aide de la cryo-microscopie électronique et des techniques de coloration négative.

1. Le mécanisme calcium et pH-dépendant de transconformation du TBSV

Le TBSV, ou *Tomato Bushy Stunt Virus*, est un petit virus à ARN qui a la particularité de subir un changement conformationnel important lors de son cycle infectieux. Il passe d'une forme native compacte (32 nm de diamètre) à une forme infectieuse gonflée (36 nm de diamètre). Des ions calcium stabilisent la structure icosaédrique de la capside dans sa forme compacte en renforçant les interactions de ses protéines [1,2]. Lorsque le TBSV se retrouve dans un milieu à pH neutre, faible concentration de calcium et/ou en présence d'agents chélatants comme l'EDTA, la structure est déstabilisée et le virus change de conformation, passe d'un état compact à un état dit gonflé.

La structure atomique de la capside du virus sous sa forme compacte a été résolue par cristallographie X en 1978 [3]. Cette structure est incomplète car la région N-terminale de la protéine interagissant avec l'ARN est non résolue. De plus, des mécanismes comme ceux du gonflement de la capside et les interactions protéine de capside / ARN sont encore mal connus.

Plusieurs études complémentaires ont été réalisées : des reconstructions tridimensionnelles (3D) des deux formes compacte et gonflée du virus par cryo-microscopie électronique (figure 1) ainsi que des études de diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles (SAXS et SANS respectivement). Une méthode a été développée pour simuler des profils de SAXS à partir des reconstructions 3D de microscopie électronique dans le but de comparer avec les résultats expérimentaux [4]. Cette méthode nous a permis notamment de modéliser à basse résolution la position d'une partie du fragment N-terminal manquant. Une étude dynamique visant à produire une série d'intermédiaires conformationnels est actuellement en cours par approche hybride de modes normaux et de variance 3D [5].



Figure 1 – Coupes des reconstructions 3D des deux formes du TBSV, compacte (à gauche) et gonflée (à droite), obtenues à partir d'images de microscopie électronique.

2. Le virus d'archaebactérie SIRV2

Le virus SIRV2 ou *Sulfolobus Islandicus Rod-shaped Virus 2* est un virus à ADN double brin de 35.8 Kpb, non enveloppé d'une famille de virus récemment caractérisée : les *Rudiviridae* [6]. Ce virus infecte les archaebactéries hyperthermophiles et acidophiles du genre *Sulfolobus*. Il a une forme en tube creux, allongé, d'une taille de 23 nm x 900 nm (figure 2). Ses extrêmités présentent des « stoppers » pleins et se terminent par 3 fibres mobiles [7]. La capside de ce virus est constituée d'une seule protéine structurale de 15.8 Kda et présente une structure en forme d'hélice avec un pas de 4,3 nm. Le but de cette étude est de déterminer les caractéristiques structurales de ce virus par microscopie électronique et reconstruction 3D.



Figure 2 – Image de cryo-microscopie électronique du virus SIRV2. Barre d'échelle : 25 nm.

En règle générale, les approches hybrides où la cryo-microscopie électronique 3D se conjugue avec d'autres approches biophysiques permettent d'étudier les fonctions biologiques et les changements structuraux des capsides virales au cours du cycle infectieux.

3. Références

[1] P. Hopper, S.C. Harrison, R.T. Sauer, *Structure of Tomato Bushy Stunt Virus: V. Coat protein sequence determination and its structural implications*, J. Mol. Biol. **177** (1984) 701

[2] S.A. Speir, S. Munshi, J. Wang, T.S. Baker, J.E. Johnson, *Structures of the native and swollen forms of cowpea chlorotic mottle virus determined by X-ray crystallography and cryo-electron microscopy*, Structure **3** (1995) 63 – 78

[3] S.C. Harrison, A. Olson, C.E. Schutt, F.K. Winkler, G. Bricogne, *Tomato Bushy Stunt Virus at 2.9 A resolution*, Nature **276** (1978) 368 – 373

[4] R. Aramayo, C. Mérigoux, E. Larquet, P. Bron, J. Perez, C. Dumas, P. Vachette, N. Boisset, *Divalent ion-dependent swelling of Tomato Bushy Stunt Virus: A multi-approach study*, Biochimica et Biophysica Acta **1724** (2005) 345 – 354

[5] F. Tama, C.L. Brooks, *Diversity and identity of mechanical properties of icosahedral viral capsids studied with elastic network normal mode analysis*, J. Mol. Biol. **345** (2005) 399-314

[6] Zillig, W., A. Kletzin, C. Schleper, I. Holz, D. Janekovic, *Screening for Sulfolobales, their plasmids, and their viruses in Icelandic solfataras*, Syst. Appl. Microbiol. **16** (1994) 609–628

[7] D. Prangishvili, H.P. Arnold, D. Götz, U. Ziese, I. Holz, J.K. Kristjansson, W. Zillig, A novel virus family, the Rudiviridae: Structure, virus-host interactions and genome variability of the sulfolobus viruses SIRV1 and SIRV2, Genetics **152** (1999) 1387–1396

Analyse structurale de l'adenovirus par cryo microscopie électronique et analyse d'images

Céline Fabry, Pascal Fender, Jadwidja Chroboczek, Manuel Rosa-Calatrava, Eric Kremer, Stephen Cusack, Rob Ruigrok et Guy Schoehn

Institut de Virologie Moléculaire et Structurale UMR5233 CNRS-EMBL-UJF 6 rue Jules Horowitz 38042 Grenoble cedex 9, France

Les adénovirus sont de gros virus à ADN (1000 Å de diamètre). Ils provoquent uniquement des maladies bénignes chez le sujet sain. Ces virus font l'objet de nombreuses études et d'essais de thérapie génique ou anti-cancer in vitro mais leur structure n'est pas encore complètement élucidée à l'échelle atomique. La capside icosaédrique de l'adénovirus est composée de 3 protéines majeures : l'hexon qui est trimérique et dont les 240 copies constituent les facettes du virus et le penton qui est une association non covalente entre la base pentamérique et la fibre trimérique. Ces pentons forment les 12 sommets du virus. Plusieurs protéines mineures (IIIa, VI, VIII et IX) stabilisent également cette capside.

Nous avons obtenu une structure à 10 Å de résolution pour la capside de ce virus à l'aide d'images de cryo-microscopie électronique. En parallèle, nous avons également calculé des structures tridimensionnelles d'un adénovirus canin et de sous particules virales uniquement constituées par des pentons ou par des bases (dodécaèdres avec et sans fibres). En combinant ces données avec les structures atomiques disponibles pour certaines des protéines de la capside nous avons calculé un modèle quasi atomique de cette capside. Ce modèle nous a permis de localiser non seulement les protéines mineures au sein de cette capside mais également certaines parties absentes des structures cristallographiques.

Morphogenèse et trafic intracellulaire des particules sous-virales d'enveloppe du virus de l'hépatite B

PATIENT R ^(a), HOURIOUX C ^(a), SIZARET P-Y ^(a), TRASSARD S ^(a), SUREAU C ^(b), ROINGEARD P ^(a).

^a INSERM ERI19 & PFTI RIO Microscopie Electronique, Université François Rabelais, 37032 TOURS ^b Virologie Moléculaire, INTS, 75739 PARIS

Le virus de l'hépatite B possède l'étonnante propriété d'être toujours accompagné de particules sous-virales d'enveloppe. Ces particules sous-virales constituent d'ailleurs la base du vaccin contre l'hépatite B. Cependant, malgré la présence de ce vaccin, ce virus reste encore un problème majeur en santé publique, avec plus de 350 millions de porteurs chroniques dans le monde. Un grand nombre de travaux ont permis de mieux comprendre les mécanismes de réplication du virus, mais les étapes de sa morphogenèse restent encore obscures. Dans ce contexte, notre étude permet d'apporter des informations originales sur la morphogenèse des particules sous virale d'enveloppe par rapport au modèle présumé actuel. Une meilleure connaissance de cette morphogenèse pourrait permettre d'envisager de nouvelles stratégies antivirales et de mieux comprendre les mécanismes de la pathogénicité de ce virus.

1. Le virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) est un petit virus hépatotrope enveloppé, de 42 nm de diamètre, possédant un génome de type ADN, et constituant le virus prototype de la famille des *Hepadnaviridae*. Son génome à ADN partiellement double brin est contenu dans une capside de symétrie icosaédrique d'environ 30 nm de diamètre. Cette dernière est entourée d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les 3 protéines de surface du virus, qui interviennent dans la morphogenèse de la particule virale et dans l'infectivité du virus circulant.

Malgré l'existance d'un vaccin efficace depuis plus de 20 ans, le VHB reste encore un problème majeur de santé publique. Environ 350 millions de personnes dans le monde sont chroniquement infectées par le VHB, et présentent un risque élevé de développer une cirrhose hépatique voire un hépatocarcinome. Une meilleure compréhension des mécanismes de morphogenèse de ce virus pourrait permettre le développement de nouveaux traitements anti-viraux.

2. Travaux réalisés

Comparé à d'autre virus, une des particularités du virus de l'hépatite B (VHB) est que ses protéines de surface (S, M et L pour Small, Medium et Large) incorporées dans l'enveloppe du virion sont aussi capables de bourgeonner sous forme de particules d'enveloppe vides, qui prennent la forme de billes et de filaments. Ces particules sous-virales sont d'ailleurs produites et secrétées en très large excès par rapport au virion infectieux. Les mécanismes de morphogenèse de ces particules sous-virales d'enveloppe restent encore actuellement mal connus, mais la protéine S a été clairement montrée comme représentant l'élément nécessaire et suffisant pour leur bourgeonnement. La protéine M semble dispensable pour ce phénomène, tandis qu'il est généralement admis que la coexpression de S et de L tend à former des particules de forme filamenteuse.

Utilisant un sytème d'expression ayant été validé pour l'étude de la morphogenèse du virus de l'hépatite C [1, 2] nous montrons dans cette étude [3] par des méthodes d'imagerie cellulaire en microscopie confocale et électronique que les particules sous-virales d'enveloppe formées par la seule protéine S s'auto-assemblent en longs filaments branchés, au niveau de la lumière du réticulum endoplasmique (RE). Ces résultats contrastent avec le modèle présumé actuel de la morphogenèse de ces particules. Ces longs filaments sont ensuite repliés et pontés entre-eux pour être compactés en structures para cristallines (Figure 1-A), afin d'être transportés par des vésicules dérivées du RE vers un compartiment intermédiaire entre le RE et l'appareil de Golgi (ERGIC). Une fois adressés dans le ERGIC par ces vésicules de transport intracellulaire, ces filaments sont ensuite progressivement relâchés (Figure 1-B). Leur longue taille représente cependant probablement une limite à leur progression par la voie de sécrétion constitutive de la cellule. Cet événement semble en effet requérir leur conversion en particules sphériques, un phénomène spontané qui a pu être observé lors de la purification de ces filaments d'enveloppe par chromatographie d'affinité et leur observation en microscopie électronique par coloration négative.

Des filaments branchés plus petits sont également formés par l'assemblage de la grande protéine L au niveau de la lumière du RE, mais ces particules ne semblent pas êtres compactées dans les vésicules de transport. Leur transport vers le ERGIC semble beaucoup moins efficace et ceci pourrait expliquer la rétention dans la cellule de la protéine L.

Ces résultats apportent de nouveaux éléments sur une étape importante du cycle infectieux du VHB, d'autant que l'accumulation intracellulaire des filaments d'enveloppe du VHB semble jouer un rôle important dans la pathogenèse virale.



Figure 1 – Observation en microscopie électronique à transmission de particules d'enveloppe filamenteuses du virus de l'hépatite B avant et après purification. A : coupe cellulaire montrant l'accumulation de vésicules péri-nucléaires contenant des filaments S compactés en structure critalline. B : coloration négative d'un amas de particules sous-virales d'enveloppe filamenteuses purifiées à partir de cellules produisant la protéine S seule. Barre en A, 0,2 µm. Barre en B, 100 nm.

3. Références

- [1] Blanchard, E., D. Brand, S. Trassard, A. Goudeau, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle morphogenesis*. J Virol **76** (2002) 4073-4079
- [2] Blanchard, E., C. Hourioux, D. Brand, M. Ait-Goughoulte, A. Moreau, S. Trassard, P. Y. Sizaret, F. Dubois, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle budding: role of the core protein and importance of its Asp111*. J Virol 77 (2003) 10131-10138
- [3] Patient, R., C. Hourioux, P-Y. Sizaret, S. Trassard, C. Sureau and P Roingeard. 2007. *Hepatitis B subviral* envelope particle morphogenesis and intracellular trafficking. J Virol, **81** (2007), in press (Epub Jan 31, 2007)

Mécanismes d'assemblage de la protéine de capside du virus de l'hépatite C (VHC) et importance de sa variabilité dans un modèle de stéatose viroinduite *in vitro*.

HOURIOUX C*, PATIENT R, BLANCHARD E, BRAND D, ARCANGER-DOUDET F, ROINGEARD P^a.

INSERM ERI19 & PFTI RIO Microscopie Electronique, Université François Rabelais, 37032 TOURS

Résumé : Depuis sa découverte en 1989, le virus de l'hépatite C (VHC) a vu sa recherche longtemps entravée par l'absence d'un système de propagation *in vitro* facile à mettre en œuvre. Dans l'optique de mieux comprendre les aspects tardifs du cycle viral, notre équipe a développé un modèle de sur-expression des protéines structurales du virus, permettant d'étudier l'assemblage et le bourgeonnement viral en microscopie électronique à transmission. Ces travaux permettent de préciser le rôle moteur de la protéine de capside dans la morphogenèse virale. Au delà de ce rôle structural, cette protéine est aussi un acteur important dans la pathogénicité du virus, et notamment la stéatose hépatique observée au cours de l'infection virale. L'impact de la variabilité du virus sur cette accumulation de lipides peut être également étudié avec notre modèle, en quantifiant les gouttelettes lipidiques induites par des mutants, en microscopie électronique à transmission.

1. Introduction :

Le virus de l'hépatite C (VHC) est un petit virus à ARN enveloppé, du genre hepacivirus, appartenant à la famille des Flavivirus. Le génome du virus, d'environ 9600 nucléotides, code pour une unique polyprotéine d'environ 3000 acides aminés (aa), découpée en 10 protéines matures par des peptidases virales et cellulaires. Parmi ces protéines, 3 protéines structurales sont responsables de la formation des particules infectieuses : une protéine de capside (C) et deux protéines d'enveloppe (E1 et E2). La capside emprunte la voie de sécrétion pour sortir de la cellule et acquiert son enveloppe virale par bourgeonnement au travers de la membrane du réticulum endoplasmique (RE). Les autres protéines dites "non structurales" sont impliquées dans la réplication virale. Avec un nombre de porteurs chroniques du virus estimé à 170 millions d'individus dans le monde, l'infection par le VHC représente un problème de santé publique préoccupant. Si dans les pays développés le contrôle des voies de transmission ont permis de fortement diminuer l'incidence de nouveaux cas d'infection, la prise en charge des patients atteints d'hépatite chronique représente un challenge important pour les années à venir. Sans traitement, ces infections évoluent après plusieurs décennies vers une cirrhose, qui elle même évoluent en carcinome hépatocellulaire. Par ailleurs, les combinaisons antivirales actuellement disponibles ne permettre de guérir qu'environ 50 % des cas.

2. Travaux réalisés :

Notre équipe s'intéresse aux mécanismes impliqués dans l'assemblage et la morphogenèse virale du VHC. Nos travaux ont montré que l'expression de cette protéine, en l'absence des protéines d'enveloppe, était suffisante pour permettre le bourgeonnement de pseudo-particules virales (VLPs), observées au niveau des membranes du RE [1, 2]. Nous avons également confirmé l'association de la protéine de capside avec les gouttelettes lipidiques cellulaires par microscopie confocale (Figure 1C) et immuno-microscopie électronique. Cette interaction, liée à la présence de régions hydrophobes dans la séquence de la capside, pourrait être une étape essentielle à la morphogenèse de la particule virale, le bourgeonnement viral se faisant souvent au niveau du RE entourant les gouttelettes lipidiques (Figure 1B, flèches). La protéine de capside du VHC comprend trois domaines : le domaine I, relativement basique et correspondant aux 120 premiers aa N-terminaux, le domaine II, couvrant une région hydrophobe entre les aa 120 et 175, et finalement un domaine III correspondant à la séquence signal (aa 175 à 191) en position C-terminale. Afin de mieux comprendre les mécanismes d'assemblage de la protéine de capside, mais aussi d'évaluer ses rôles potentiels dans la pathogenèse virale, différents mutants ont été exprimés en cellules BHK-21 (rein de Hamster) ou FLC4 (hépatocytes humains), en utilisant un système d'expression dérivé du virus de la forêt Semliki. La capacité à induire la formation et l'accumulation de gouttelettes lipidiques cellulaires a aussi été quantifiée par microscopie électronique à transmission. Ces mutants ont été élaborés sur la base de comparaisons de séquences protéiques intra ou inter-génotypes, ou sur la base d'un alignement avec la protéine de capside du GBV-B, virus le plus proche phylogénétiquement du VHC [3]. L'expression de protéines contenant une ou deux délétions dans la partie N-terminale du domaine I (aa 15 à 28 ; aa 60 à 66) n'avait aucune incidence visible sur la capacité de formation des VLPs, ou sur la capacité d'association de la protéine aux gouttelettes lipidiques. Par contre, l'expression d'une protéine comportant une délétion de 18 aa dans la partie Cterminale du domaine I présentait des résultats différents. Bien que ce mutant soit correctement adressé vers le RE, aucun assemblage en VLPs n'a été observé. Ce défaut d'assemblage n'avait aucune incidence sur l'interaction et la localisation de la capside à la surface des gouttelettes lipidiques. Les raisons pour lesquelles l'amputation de ces 18 aa perturbe l'assemblage viral restent à explorer. La délétion de ce domaine pourrait cependant être à l'origine d'une déstabilisation de la protéine ou intervenir dans une perte de multimérisation de la protéine de capside pendant l'assemblage de la particule virale. Dans cette hypothèse, il est intéressant de noter que ce domaine est absent de la protéine de capside du GBV-B, qui ne semble pas constituer le moteur du bourgeonnement de ce virus, à la différence du VHC [3]. Ceci pourrait illustrer des modes de bourgeonnement différents au sein de la famille des *flaviviridae*. L'expression de mutants comportant des modifications dans le domaine II de la protéine a aussi été évaluée. Ces protéines localisées dans le cytoplasme présentaient une perte d'association aux membranes du RE, associée à un défaut de morphogenèse des VLPs et d'association aux gouttelettes lipidiques.

Ces résultats concernant le domaine II de la protéine de capside du VHC nous ont conduit à nous interroger sur l'importance et le rôle potentiel de ce domaine dans la formation et l'accumulation des gouttelettes lipidiques. Il est fréquemment retrouvé une stéatose dans l'infection chronique par le VHC, cette accumulation de lipides se révélant plus sévère pour les patients infectés par un virus de génotype 3. Dans l'optique de tester cette hypothèse, notre construction de protéine de capside de génotype 1a a été mutée en substituant la Tyr en position 164 par un résidu Phe retrouvé uniquement dans des séquences de génotype 3. De façon tout à fait intéressante, une accumulation de lipides significativement plus importante a été retrouvée dans les cellules exprimant cette construction, en comparaison des cellules exprimant la forme sauvage (Figure 1A). Ces premiers résultats pourraient expliquer les mécanismes de stéatose plus sévères observés chez les patient infectés par un virus de génotype 3 [4].

L'ensemble de ces résultats permettent de mieux comprendre les différents rôles de la protéine dans le cycle viral mais aussi dans les aspects probablement multiformes de la pathogenèse liée à l'expression de cette protéine dans les hépatocytes. Les perspectives actuelles de ce travail consistent à évaluer l'impact de ces mutants dans un système de culture complet du virus, récemment mis au point par une équipe japonaise.



Fig 1 : Expression et Localisation subcellulaire de la protéine de capside du VHC en MET (A) (B) et microscopie confocale (C). GL : gouttelettes lipidiques.

3. Références :

- [1] Blanchard, E., D. Brand, S. Trassard, A. Goudeau, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle morphogenesis*. J Virol **76** (2002) 4073-4079
- [2] Blanchard, E., C. Hourioux, D. Brand, M. Ait-Goughoulte, A. Moreau, S. Trassard, P. Y. Sizaret, F. Dubois, and P. Roingeard. *Hepatitis C virus-like particle budding: role of the core protein and importance of its Asp111*. J Virol 77 (2003) 10131-10138
- [3] Hourioux C, Ait-Goughoulte M, Patient R, Fouquenet D, Arcanger F, Brand D, Martin A, Roingeard P. *Core protein domains involved in hepatitis C virus-like particle assembly and morphogenesis at the endoplasmic reticulum membrane.* Cell Microbiol **9** (2007) 1014-1027 (Epub 2006 Dec 6).
- [4] Hourioux C, Patient R, Morin A, Blanchard E, Moreau A, Trassard S, Giraudeau B, Roingeard P. *The genotype 3-specific hepatitis C virus core protein residue phenylalanine 164 increases steatosis in an in vitro cellular model.* Gut (2007) in press (Epub 2006 Jan 9).

^{*} Auteur à contacter : hourioux@med.univ-tours.fr - Tel : 02 47 36 60 71

Intracellular behaviour of the lactating mammary gland cells after

aluminium injection. An ultrastructural study

<u>Ayadi Ahlem^{a,*}, Maghraoui Samira^a, Maaroufi Houcine^a, El Hili Ali^b and Tekaya Leila^a</u>

^aLaboratoire de physiologie, Faculté de Médecine de Tunis, 15 rue Jebel Lakhdhar, 1007 Bab Saâdoun. Tunis, Tunisie. ^b Laboratoire de microscopie électronique, Faculté des Sciences de Tunis, Campus universitaire 2092, El Manar II, Tunis Tunisie.

Summary- The intracellular localization of aluminium in the lactating mammary gland cells has been studied using conventional transmission electron microscopy. Deposits were observed in the lysosomes of glandular epithelial cells which correspond probably to an insoluble salt of aluminium phosphate.

1. Introduction

Aluminium is the most abundant metallic element and the third constituent of the earth's crust. Because of its physical and chemical properties, aluminium has a wide variety of uses 1) in medicines in the duodenal and gastric ulcers treatment and 2) in industry such as building, transportation, food packaging, cooking utensils, food additives, medicines, cosmetics, water purification,... but this element has been implicated also in the etiology of several neurodegenerative disorders including Alzheimer's disease.

The aim of this work is to study the intracellular localization of aluminium in the lactating mammary gland cells after its intraperitoneal injection to female rats using the conventional transmission electron microscopy.

2. **Results and discussion**

The ultrastructural study of the lactating mammary gland cells has demonstrated the presence of very dense granules in the lysosomes of the glandular epithelial cells (figure 1). No inclusions were observed in the cell lysosomes of the control rats (figure 2).

Previous studies have attempted to research the intracellular localization of aluminium after its intraperitoneal injection. These results demonstrated that this element was precipitated in the cell lysosomes of the liver, the kidney, the brain, the muscle, the parathyroid and the bone marrow associated with phosphorus [1]. Another element of the same group, the gallium has been studied. This element has been found, associated with phosphorus, in the lysosomes of the epithelial glandular cells [2].

These data show that the deposits observed in the cell lysosomes may probably be composed of an insoluble salt of aluminium phosphate. The lysosome seems to be the main organit in witch are sequestered foreign and toxic elements.





Altered mitochondria (m) and numerous charged lysosomes (L) are observed in the cytoplasm.









No alterations were observed in lysosomes

More sensitive analysis, such as secondary ion mass spectrometry and electron microprobe, have to been carried out to precise the chemical nature of the intralysosomal deposits.

3. Conclusion

^{*}Ayadi Ahlem : ayadi.ahlem@yahoo.fr

References

- [1] J.P. Berry. *The role of lysosomes in the selective concentration of mineral elements. A microanalytical study.* Cell. Mol. Biol. **42 (3)** (1996) 395- 41
- [2] J.P. Berry, M.F. Poupon, S. Galle and F. Escaig *Role of lysosomes in gallium concentration by mammalian tissues.* Biol. Cell. **51** (1984) 43-52.

^{*}Ayadi Ahlem : ayadi.ahlem@yahoo.fr

Non-Neutralizing HRV2-Specific Monoclonal Antibody 2G2 Attaches to a Region that Undergoes Most Dramatic Changes Upon Release of the Viral RNA

Elizabeth A. Hewat^{a,*}, Dieter Blaas^b

^aInstitut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel UMR 5057 CEA-CNRS-UJF, 41 rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble,

France

^b Max F. Perutz Laboratories, Vienna Biocenter, Medical University of Vienna, Austria

Abstract- The monoclonal antibody 2G2 has been extensively used for detection and quantification of structural changes of human rhinovirus serotype 2 (HRV2) during infection. It recognizes exclusively subviral particles produced during infection but not native virus. Since 2G2 is not a neutralizing antibody, viral escape mutants can not be obtained in order to determine the epitope. We have determined the structure of complexes between Fab fragments of 2G2 and 80S subviral B particles using cryo-electron microscopy. Thus we have elucidated the basis of the selectivity of 2G2 by determining its footprint on empty HRV2 capsids. The footprint of the antibody corresponds to the capsid region that we predicted to undergo the most dramatic changes upon RNA release.

1. Introduction

Human rhinoviruses (HRVs), the major cause of the common cold, belong to the family of picornaviruses. They are icosahedral with T=1, pseudo T=3 symmetry, about 30 nm in diameter, and composed of 60 copies of each of the proteins VP1 through VP4 that encapsidate a single stranded positive-sense RNA genome. During infection HRV2 binds to its cell surface receptor (LDL-R) [1], [2] and is internalized into an endosome where the virion undergoes coordinated structural changes preceding the RNA release into the cytosol. The low pH of the late endosomal compartment is the exclusive trigger for these modifications.

2. Results

Using cryo-EM and X-ray structural data we produced a model for the HRV2 empty capsid after RNA release [3]. The capsid was seen to have expanded by 4% with a relative movement of all capsid proteins. In particular, the viral protein VP1 around the 5-fold axes make an iris type of movement to open a 10Å diameter channel, which allows the RNA genome to exit.

The monoclonal antibody 2G2, obtained from a mouse injected with purified HRV2, proved extremely useful for the detection of the structural changes occurring upon infection. For example, it was employed to unequivocally demonstrate the low-pH dependency of HRV2 for infection. However, the binding epitope has remained unknown. We have now solved the structure of complexes between empty capsids of HRV2 and Fab fragments of 2G2 by cryo-electron microscopy [4]. EM and X-ray data of the empty capsid and a similar Fab those structure is known have been to combined to locate the footprint of 2G2. This analysis reveals that the binding epitope of this antibody lies in the region that we have predicted changes most upon the transition between the native virion and the empty capsid [3] Figure 1.

3. Conclusion

The footprint of this antibody thus helps to confirm the cryo-EM model of empty HRV2 and explains the high specificity of this antibody for HRV2 capsids modified during infection.

4. References

[1] E. A. Hewat, E. Neumann, J. F. Conway, R. Moser, B. Ronacher, T. C. Marlovits, and D. Blaas, The cellular receptor to human rhinovirus 2 binds around the 5-fold axis and not in the canyon: a structural view EMBO J. **19** (2002) 6317-6325.

[2] E. Neumann, R. Moser, L. Snyers, D. Blaas, and E. A. Hewat, A cellular receptor of human rhinovirus type 2, the very-low-density lipoprotein receptor, binds to two neighboring proteins of the viral capsid, J. Virol. **77** (2003) 8504-8511.

[3] E. A. Hewat, E. Neumann, and D. Blaas 2002. The concerted conformational changes during human rhinovirus 2 uncoating Mol. Cell **10** (2002) 317-326.

[4] E.A. Hewat, Blaas. D. Nonneutralizing human rhinovirus serotype 2-specific monoclonal antibody 2G2 attaches to the region that undergoes the most dramatic changes upon release of the viral RNA. J Virol. **80** (2006) 12398-401.

^{*} Contact Author: hewat@ibs.fr – Tel : 0438784568



Figure 1. 3D reconstructions of the empty capsid of HRV2 in complex with Fab fragments of 2G2. (A) is a view down a 5-fold axis of the complex with the 2G2 Fabs shaded in green. Representative 2-, 3- and 5-fold icosahedral axes are marked. In the following figures one Fab is shaded yellow and the others are shaded in green. The C_a chains of VP1 in the empty capsid are depicted in cyan. The density map of the complex is represented by a blue mesh. Docking was performed manually in O. A view down a 5-fold axis of a thick section shows two Fab molecules docked in the complex map (B) and the footprint of one Fab which overlaps two VP1 molecules is outlined in green (C). The disposition of the VP1 around a 5-fold axis for the native capsid shaded in dark blue (D) and the empty capsid shaded in cyan (E). (E) shows that each VP1 has moved with respect to its neighbour thus modifying any epitope that covers two VP1. (F) is a thick section parallel to a 5-fold axis of the Fab in the density of the complex. (G) shows the fit of the constant domains of the Fab. As for the variable domains steric hindrance is evident and will prevent more than 2 Fabs to bind on each 5-fold axis.

The figures made with PyMOL (http://pymol.sourceforge.net/)

Analyse de la dynamique par imagerie de FRAP-4D, ou 4D-FRAP imaging

Charles Gueudry^a, Cyril Favard^b, Vincent Fraisier^a, Victor Racine^a, Jean Salamero^a, Jean Baptiste Sibarita^{a,*}

^a Plateforme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire, UMR144 CNRS, Institut Curie, 12 rue Lhomond 75005 Paris, France ^b Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale, UMR5089 CNRS, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse, France ^{*} Auteur à contacter : jbs@curie.fr

Résumé – Les Progrès réalisés dans le domaine de la microscopie et de la biologie cellulaire permettent aujourd'hui l'acquisition et l'analyse de l'activité cellulaire à haute résolution spatiale, spectrale et temporelle. Les techniques de photo-perturbation, telles que le FRAP, la photo-activation la photo-conversion ou la photo-ablation par exemple, permettent d'obtenir des informations complémentaires à l'échelle moléculaire. Malheureusement, elles restent séparées des systèmes d'imagerie rapide car elles ne sont accessibles que par l'intermédiaire de microscopes confocaux à balayage laser. Pour palier à cette limitation, nous avons développé un module permettant de combiner sur un même microscope un système de guidage laser avec une imagerie rapide champ large, à onde évanescente ou confocale multipoints.

1. Introduction

Thanks to the discovery and cloning of naturally fluorescent proteins, it became conceivable to directly follow cellular structures and their molecular constituents under a microscope. It is now clear that the spatio-temporal localization of molecular constructions within the cell and their dynamic responses to diverse physical or biomolecular perturbations are keys for the understanding of basic mechanisms in life sciences. At the moment, multidimensional (nD) data of living cells required for this type of analysis are generated by multiple sophisticated instruments. One of the major drawbacks of these microscopic tools resides in the lack of flexibility needed to monitor, influence, perturb and measure life material and its behaviour. Moreover, most image processing and analysis techniques that are accessible to the research community through available packages are insufficiently adapted. Finally, as the amount of collected data is becoming extremely rich of information, the interest in developing computer-based techniques to allow automatic analyses of this data corpus is obvious. For all these reasons, we and others are currently developing "multi-mode" microscopy combining high throughput nD microscopy with or without photonic perturbations and subsequent automated image analysis.

2. Fast nD-FRAP/PA Imaging microscopy

As an example of our strategy for challenging acquisition and analysis of complex cellular activities, we present a novel instrument that brings together the advantages of both laser-assisted techniques, for FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) or PA (Photo-Activation), and those of rapid multidimensional imaging. More precisely, it combines on the same microscope a position-controlled laser system with a fast 4-5D deconvolution microscope (Fig. 1A and 1C). The laser module is coupled to the rear port of a wide-field microscope through a specific dichroic mirror placed in the dual illumination port (Fig. 1B and 1C). This ensures maximum efficiency for both monochromator and laser (405nm, 488nm) illuminations. Optical paths for wide-field and FRAP/PA illuminations are separated and independent, allowing simultaneous laser injection and image acquisition.

FRAP/PA is performed by precisely focusing down a laser beam in the sample during a short duration. Regions of the sample to bleach/activate are selected in 3D by the user (Fig. 1D). In order to get an accurate matching between image coordinates and scanner positions on the whole field of the camera, an automatic calibration with a 4th order polynomial fit is preliminary performed. This allows taking into account optical aberrations of the illumination path, especially distortion. We will first validate its performance, using quantitative analyses of diffusion measurements for two-dimensional lipid layers. We then apply this technique to living cells expressing Rab6-GFP, a protein cycling between a cytosolic pool and a membrane form partly concentrated on the inner face of the Golgi apparatus.



Figure 1 – A) Overview of the Fast 4D-FRAP imaging system and B) the laser module. C) Schema of the laser module, with 1) Beam combiner, 2) AOTF, 3) Scanning mirrors, 4) Coupling lens, 5) Power measurement and 6) Coupling mirror. D) (3D+t)-FRAP/PA Imaging sequence is divided in 4 steps: 0- Setup of the acquisition parameters of pre-bleach, bleaching and recovery sequences and determination of the volume of interest to bleach/PA. 1- Pre-Bleach acquisition in 3D+t. 2- 3D positioning of the laser in the region(s) of interest determined in step 0 for Photobleaching or PA. 3-Post bleach/PA acquisition in 3D+t.

3. Image Analysis

Beside measurements on 2D diffusion or biochemical exchange between cytosol and membrane associated molecules, full understanding of proteins dynamics in live cells often requires 3D imaging for the visualization of particular events, like membrane exchange. Dedicated tracking methods to study the movement of objects can then be performed. This is where nD-FRAP/PA Imaging associated with image analysis comes into play. Experimentally, the use of this methodology on 4D FRAP/PA Imaging data generated massive information, enlightening an unexpected heterogeneity of behaviours and allows statistical analysis of the contribution of vesicle movements to the cellular cycle of proteins.

4. Conclusion

We have developed optical tools (FRAP, PA) to perturb the cell activity equilibrium in combination with fast multidimensional microscopy and automated image analysis tools. Quantitative data collected in a very reproducible and normalized way can now be incorporated into statistical models. Ultimately we expect such a strategy to provide new models and concepts in life dynamics.

FLIM par imagerie multifocale multiphoton

Marc Tramier^{*}, Nicolas Audugé, Sergi Padilla-Parra, Maïté Coppey-Moisan

Laboratoire « Complexes macromoléculaires en cellules vivantes », Institut Jacques Monod, UMR7592 CNRS/université Paris6/université Paris7, 2 place Jussieu, 75251 Paris cedex 05

Résumé – Notre travail porte sur le développement de l'imagerie des durées de vie de fluorescence sous microscope (FLIM). Une excitation multifocale multiphoton (TriMscope, Lavision Biotech) et une CCD intensifiée à porte temporelle (Picostar, Lavision Biotech) ont été combinées pour l'acquisition rapide d'images 3D confocale de durées de vie de fluorescence. Un exemple de FRET en cellules vivantes mesurant l'interaction entre l'histone H4 et un domaine de reconnaissance à son acétylation illustre ce développement.

1. Introduction

Les avancées en imagerie et le développement de sondes fluorescentes appropriées permettent aujourd'hui de visualiser des protéines fluorescentes dans des cellules vivantes (et au sein d'organes ou d'embryons vivants) et de les étudier au cours du temps[1]. Grâce à ces nouvelles technologies, les interactions entre partenaires peuvent en principe être détectées en parallèle de la mesure de leur localisation subcellulaire, de leur abondance et de leur mobilité [2]. Pour ces analyses, la méthodologie repose sur la détection du transfert d'énergie par résonance en fluorescence (FRET). Ce phénomène provient d'une interaction dipole-dipole entre un luminophore donneur et un chromophore accepteur. L'efficacité du transfert dépend de la distance entre donneur et accepteur. Cette distance (quelques dizaines d'Angströms) est du même ordre de grandeur que les distances d'interaction physique entre molécules. Couplée à la microscopie, cette méthodologie apportent une nouvelle dimension en biologie cellulaire. Encore faut-il qu'elle soit utilisée avec de grande précaution au niveau de l'expérimentation et de l'interprétation des résultats. L'imagerie des déclins de fluorescence présente divers avantages pour la mesure du FRET [3]: (i) d'être extrêmement sensible, ce qui permet une observation non-invasive des cellules vivantes et la détection de protéines fluorescentes sans sur-expression, (ii) de mesurer le signal de FRET indépendamment de variations de concentrations subcellulaires des fluorophores, (iii) d'être capable de discriminer entre l'augmentation de la fluorescence de l'accepteur due au FRET et celle due à l'excitation directe de l'accepteur, (iv) de déterminer la proportion de donneur en interaction avec l'accepteur.

L'excitation moléculaire par absorption simultanée de deux photons a été introduite en microscopie confocale par W. Webb et son équipe [4]. Il existe trois avantages inhérents à l'application de cette méthodologie en microscopie : (i) la dépendance quadratique du processus physique de l'absorption bi-photonique en fonction de l'intensité d'excitation confine cette absorption à la région focale ne nécessitant pas de pinhole à l'émission, (ii) la profondeur de pénétration de l'excitation bi-photonique (proche infrarouge pour les fluorophores absorbant dans le visible) dans les milieux diffusants est d'environ 400 µm et permet de travailler sur les embryons, les tissus et même sur animaux vivants, (iii) les processus photodynamiques tels que la destruction irréversible des molécules fluorescentes ou la production de radicaux libres ne se produisent qu'à la région focale, minimisant sensiblement l'invasivité de la microscopie bi-photonique comparativement à la microscopie confocale conventionnelle. La récente introduction de microscopes deux-photons commerciaux rend cette méthodologie accessible à un grand nombre de groupes de recherche. Néanmoins, la microscopie bi-photonique conventionnelle utilise le balayage galvanométrique d'un unique faisceau laser. Ce balayage peut être trop lent pour l'imagerie de fluorescence en biologie. Nous avons choisi au laboratoire d'utiliser une microscopie multifocale pour l'excitation multiphotonique, consistant à séparer le laser plusieurs fois par une lame semirefléchissante.

Le système présenté dans ce travail est une combinaison d'un système multifocale multiphoton (TriMscope, Lavision Biotech) et d'une détection pour le FLIM avec une CCD intensifiée à porte temporelle (Picostar, Lavision Biotech). Cet instrument nous permet une acquisition rapide d'images 3D confocale de durées de vie de fluorescence.

2. FRET en cellules vivantes

Comme exemple d'utilisation de ce système, les images de FLIM du donneur sont utilisées pour la mesure de FRET. L'acétylation des histones corrèle avec l'activation des gènes et peut être reconnue par des protéines associées à la chromatine et contenant des bromodomaines. Le bromodomaine est un domaine conservé d'à peu près 110 acides aminés. TAF_{II}250 est un composant du facteur de transcription TF_{II}D, et son double bromodomaine (BD) se lie in vitro au peptide H4 acétylé [5-7] ainsi que in vivo comme montré par des expériences de FRET en cytométrie [8]. Néanmoins, ces méthodes ne donnent pas d'information quantitative sur la proportion des histones acetylés ni de leur distribution spatiale dans le noyau. Nous avons fusionné le double

^{*} Auteur à contacter : tramier@ijm.jussieu.fr – Tel : 01 44 27 82 93

bromodomaine de TAF_{II250} avec la protéine fluorescente, mCherry, (mCherry-BD) et l'histone H4 avec la EGFP pour visualiser et quantifier l'acétylation des histones en cellules vivantes par FRET.

3. Conclusion

Nous montrons les potentialités de cette méthode de FLIM par excitation multifocale multiphoton et CCD intensifiée à porte temporelle pour la quantification 3D de la mesure de FRET en cellules vivantes.

4. Références

- [1] Roessel & Brand Nature Cell Biol. 4, E15-E20 (2001)
- [2] Lippincott-Schwartz, Snapp and Kenworthy Nature Cell Biol. 2, 444-456 (2001)
- [3] Tramier et al. Methods Enzymol 360, 580-597 (2003)
- [4] Denk et al., Science, 248, 73 (1990)
- [5] Dhalluin et al., Nature, 399, 491-496 (1999).
- [6] Jacobson et al., Science, 288, 1422-1425 (2000).
- [7] Owen et al., EMBO Journal, 19, 6141-6149 (2000).
- [8] Kanno et al., Molecular Cell, 13, 33-43 (2004).

Microscopie corrélative

Dominique Ploton

UMR CNRS 6142, Pôle Santé, 51 rue C. Jay, 51092 Reims-cédex.

Les différents types de microscopie sont chacun caractérisés par leur résolution, leurs domaines d'application et leurs contraintes d'utilisation qui rendent impossible l'étude d'une même cellule vivante à différentes échelles de résolution (micrométrique à subnanométrique). Pour contourner cette limitation, il est nécessaire d'étudier la même cellule (ou des cellules identiques) successivement à l'aide de plusieurs types de microscopie puis de combiner les données obtenues. Cette démarche, dénommée microscopie corrélative, permet de réaliser une véritable imagerie moléculaire multi-échelle et multi-dimensionnelle indispensable à la compréhension des structures et fonctions cellulaires.

Au cours de cet exposé, nous insisterons plus particulièrement sur l'utilisation des nouveaux marqueurs (fluoronanogold, nanogold, quantum dots, GFP...) et des nouvelles approches telles que la photoconversion et/ou l'immunolocalisation de GFP qui permettent la réalisation de la microscopie corrélative. Enfin, l'intérêt de la complémentarité des approches allant de l'observation 3D de cellules vivantes (études 4D) jusqu'à l'observation de cellules équivalentes en tomographie électronique sera plus particulièrement démontré dans le cas de la réorganisation du noyau induite par un inhibiteur de synthèse des ARN.

Références

A. A. Mironov et al. Trends in cell biology, 10, 349-353 (2000)

J.M. Robinson et al. J. Hist. Cytochem., 49, 803-808 (2001)

K. Luby-Phelps et al. J. Hist. Cytochem., 51, 271-274 (2003)

- Y. Ren et al. J. Hist. Cytochem., 51, 605-612 (2003)
- R. Nisman et al. J. Hist. Cytochem., 52, 13-18 (2004)
- M. Grabenbauer et al. Nature methods, 2, 857-862 (2005)
- M. Gué et al. G.I.T. Imaging and microscopy, 3, 51-55 (2005)
- M. Branco and A. Pombo PloS Biology, 4, e 138 (2006)

T. Cheutin et al. Methods cell biol, 79, 560-574 (2007)

G. E. Sosinsky et al. Methods cell biol, 79, 575-591 (2007)

Etude tomographique des centrioles isolés: structure interne centriolaire et appendices subdistaux.

Ibrahim R.^{1, 2}, Messaoudi C.^{1,2} Chichon, J.³, Celati C.⁴, Bornens M.⁴ and Marco S^{1,2*}.

1. Institut Curie-INSERM, Equipe d'Imagerie Cellulaire, Centre Universitaire d'Orsay, Bât 112, 91405 Orsay, France.

2. Institut Curie, Centre de recherche, 26 rue d'Ulm, 75248, Paris cedex 05, France

3. Centro Nacional de biotecnologia, Department of macromolecular structure, C/ Darwin 3, Campus de Cantoblanco, 28049 Madrid, España.

4. Institut Curie, Centre de recherche, UMR144, 12 rue Lhomond, Paris cedex 05, France.

Le centrosome est une organelle cellulaire qui joue un rôle essentiel dans l'organisation, la polarité et la division des cellules eucariotes animales. Le centrosome est composé de deux centrioles (fis et père) liés par du matériel péricentriolaire. Avant la mitose, le centriole fils bourgeonne à partir du centriole père perpendiculairement à l'axe centriole est une structure polaire composé de 9 triplets de microtubules dans sa partie distale. Chez le centriole père, la partie distale porte des appendices, contrairement à la partie proximale. Il porte aussi dans cette partie distale une structure interne. Cette structure est mal connue dans la littérature.Des anomalies mitotiques et des développements d'aneuploïdie dans les cancers ont été montrées comme issus de défauts dans la structure du centrosome [1]. Ces défauts structuraux modifient la fonction de nucléation et d'organisation des microtubules et par conséquent perturbent l'architecture cellulaire et la bonne conduite de la mitose.

Nous avons réalisé une étude structurale par reconstruction tomographique sur des centrioles isolés des cellules KE37. Nos résultats apportent des informations détaillées de l'ultrastructure centriolaire notamment par rapport à : i) la structure interne du centriole, ii) la structure des appendices subdistaux et leur contact avec les doublets de microtubules dans la partie distale du centriole. L'analyse de Fourier de la structure interne révèle une organisation en anneaux empilés avec une période de 45 nm . ces anneaux sont inclinés de 65° par rapport à l'axe centriolaire. Le diamètre de ces anneaux est de 30nm et leur épaisseur de 15 nm (figure 1). Concernant les appendices subdistaux,ils sont formés de deux groupes de filaments, chacun branché sur un doublet de microtubules différents. Les filaments ont une longueur de 100nm ils fusionnent pour former une extension de 40 nm (figure 2).

^{*} Sergio MARCO : Sergio.Marco@curie.fr - Tel : +33 1 69 86 31 82



Figure 1 – Reconstruction tomographique d'un centriole père A) sections de tomogramme à 14 nm d'intervalle. Les flèches pointent sur les appendices subdistaux. la structure interne est encadrée. B)
Zoom sur la structure interne encadrée en A. C) segmentation du volume. Les appendices subdistaux en rose, les appendices distaux en rouge, le centriole fils en vert et la structure interne en bleu. D)
FFT de structure interne encadrée en A et B. les flèches pointent sur les lignes qui correspondent à des anneaux de période de 45.5 nm*



Figure 2 –Modèles des structures du centriole père. A) Model des appendices subdistaux formés par des filaments qui partent des microtubules et qui fusionnent à environ 140nm. B) Model des appendices subdistaux déduit à partir de notre reconstruction tomographique de centriole père. Ils sont formés par deux paquets de filaments de 20nm de diamètre séparés d'une hauteur de 68nm. Ils forment entre eux un angle de 68° et fusionnent en une pointe à 100 nm et se prolongent pour former une extension de 40nm. C) Modèle d'un centriole père d'après nos reconstructions tomographiques : les microtubules sont en jaune, la structure interne est en bleu, les appendices distaux sont en rouge et les appendices subdistaux sont en violet.

Références

 Centrosome amplification and the origin of chromosomal instability in breast cancer. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2004 Jul;9(3):275-83.

Les cellules dendritiques libèrent du glutamate pour communiquer à la synapse immunologique

Pierre Affaticati ^{a,b}, Olivier Mignen ^a, Florence Jambou ^a, <u>Jéril Degrouard</u> ^c, Danielle Jaillard ^c, Isabelle Klingel-Schmitt ^a, Thierry Capiod ^d, Sylvia Cohen-Kaminsky ^{a,*}

^a CNRS UMR 8078, IPSC-IFR 13, Université Paris XI, Hôpital Marie Lannelongue, 92350 Le Plessis Robinson ^b CNRS INAF, IFR 144, 91198 Gif sur Yvette cedex ^c CNRS UMR 8080, IFR 144, Université Paris XI, 91405 Orsay cedex ^d INSERM U 800, UFR de Biologie Université Lille 1, 59665 Villeneuve d'Ascq cedex

Les cellules dendritiques (DC) sont les principales cellules présentant l'antigène aux lymphocytes T. Elles sont nécessaires à la sélection et à l'activation des lymphocytes T. Nous avons mis en évidence un rôle des récepteurs au glutamate exprimés par des lymphocytes du thymus dans un modèle ex-vivo de sélection négative thymique. Dans ce modèle, des synapses immunologiques sont reconstituées entre des thymocytes de souris transgénique HNT/TCR fraîchement isolées et des cellules dendritiques pulsées avec l'antigène spécifique. Des antagonistes des récepteurs au glutamate modulent la signalisation calcique du thymocyte, générée lors du contact spécifique avec la cellule dendritique. Dans la mesure où le milieu utilisé dans ces expériences est dépourvu de glutamate, d'où provient alors le glutamate impliqué dans cette signalisation ?

En utilisant la méthode quantitative de marquage à l'or colloïdal post-inclusion avec des anticorps spécifiques, nous montrons que dans le couple DC/thymocyte les DC expriment fortement le glutamate. De plus, les DC expriment les transporteurs vésiculaires spécifiques du glutamate VGlut1 et VGlut2 comme l'indique le marquage punctiforme observé en microscopie confocale. Le marquage à l'or colloïdal de VGlut2 révèle des structures vésiculaires d'environ 100nm en accord avec les données de la littérature concernant les vésicules de glutamate dans le neurone ou l'astrocyte. La mesure en vidéo-imagerie du glutamate indique que des DC isolées sont capables de libérer rapidement du glutamate de manière Ca²⁺ dépendante avec un mécanisme qui semble impliquer les stocks internes de calcium du réticulum endoplasmique. De plus, les DC expriment des protéines de la famille SNARE, notamment VAMP2 et Synaptotagmine 1 qui sont des composants indispensables de la machinerie protéique d'exocytose. En microscopie électronique, Synaptotagmine 1 et VGlut2 co-localisent au sein de structures de type vésicule suggérant qu'il existe dans la cellule dendritique un compartiment vésiculaire compétent pour l'accumulation et l'exocytose du glutamate. Enfin, l'utilisation d'agents interférant avec la libération du glutamate comme le Riluzole ou la Bafilomycine A1 diminue l'apoptose induite lors du contact T/DC, suggérant un rôle du glutamate comme nouvel élément de communication à la synapse immunologique. Le glutamate ainsi libéré par la DC pourrait agir localement à la synapse immunologique en se fixant sur les récepteurs au glutamate fonctionnels du lymphocyte T.

Les signaux physiologiques conduisant à cette libération, en cours d'investigation, sont probablement consécutifs à la formation de la synapse et donc antigène-dépendant; leur identification devrait permettre de mieux comprendre la transmission glutamatergique à la synapse immunologique. Notre travail pourrait avoir des retombées sur la compréhension des interrelations entre système nerveux et système immunitaire et sur la modulation de la réponse immune adaptative.

* sylvia.kaminsky@ccml.u-psud.fr - Tel: 01 40 94 25 14

*Cryo-Electron Microscopy of FVIII bound to Phospholipid Vesicles

Christopher Parmenter, Svetla Stoilova-McPhie

Imaging Suite, Dept. Biological Sciences, University of Warwick, Gibbet Hill Rd, CV4 7AL, Coventry, UK

Abstract – Membrane-binding of a human blood clotting protein, factor VIII (FVIII), was studied by cryoelectron microscopy. Well visible gap junctions between adjacent phosphatydyl serine containing phospholipid vesicles were observed upon FVIII association. Digital images acquired with a JEOL2010FEG transmission electron microscope equipped with a 4x4k CCD camera were analysed with the Digital Micrograph software to study the lipid protein interactions and shed light onto the mechanism of FVIII membrane-binding. This study has been carried out in conjunction with ongoing structural electron microscopy studies of membrane-bound FVIII to better understand its role in blood coagulation and haemophilia.

1. Introduction

Human coagulation factor VIII (FVIII) is an essential protein in the blood clotting process, which after proteolytic activation acts as a co-factor to the serine protease factor IXa (FIXa) in the membrane-bound X-ase complex. Naturally occurring mutations of this protein result in mild to severe haemophilia. This life threatening blood disorder affects 1 in 5000 of the male population [1]. Binding of FVIII to Phosphatidylserine (PS) containing phospholipid (PL) membranes and to FIXa amplifies the production of Factor X and consecutively of Thrombin, 100,000 times.

We have investigated the association of full length human recombinant FVIII (rFVIII-FL provided by Baxter USA) to L- α -Phosphatidylcholine (PC) vesicles containing 10% L- α -Phosphatidylserine (PS) by Cryo-Electron microscopy (Cryo-EM) in the closest to *in vivo* conditions. The strong affinity of FVIII to PS containing PL membranes (dissociation constant, Kd ~ 10 nM), has so far allowed structural studies of FVIII membrane-bound conformation by electron microscopy [2, 3]. We have analysed in detail the protein-lipid interactions from the digital micrographs acquired with a 200kV and field emission gun (FEG) equipped microscope (JEM2010F), using a 4096 x 4096 pixels CCD camera (Ultrascan 4000, GATAN Inc, UK). The obtained results were combined with previous and ongoing structural and biophysical studies of the rFVIII-FL membrane-binding mechanism and conformation(s) in context of its crucial role in the blood coagulation process [4].

Cryo-Electron microscopy is a versatile tool in the study of lipid vesicles and lipid-protein interactions at the membrane level, ensuring that the samples remain fully hydrated and in the closest to the native state [5]. We have further explored the application of digital Cryo-EM microscopy using a 200 kV- FEG and high resolution CCD camera to follow protein interaction with a lipid bilayer. Images were captured at 15 μ m/pixel resolution, in low-doses of electrons (< 16 e.Å⁻²) and magnification range between 20,000x and 50,000x and analysed with the Digital Micrograph software (GATAN Inc, UK).

2. Results and Discusion

Cryo-EM of PL vesicles: 10% PS : 90% PC in 20mM Tris, 500mM NaCl, 3mM NaN₃, 2mM CaCl₂, pH 7.2 which were extruded through a 100nm polycarbonate filter, showed a heterogeneous solution of vesicles ranging from 100 nm up to 500 nm. The vesicles were often multilamellar, without pronounced fusion or aggregation and the separate bilayers were well resolved within multilayer vesicles (Figure 1A). Upon addition of the protein, rFVIII-FL in 1:1 w/w protein:lipid ratio, well defined gap junctions were observed between adjacent vesicles. The vesicles observed, were smaller in size and less multilamellar (Figure 1B). FVIII molecules have been shown to bind 2 -4 molecules PS and cover a surface of 50 lipid molecules [2]. From SDS-PAA gels it has been shown that the rFVIII-FL molecular mass is 270kDa, which at 1:1 w/w ratio of lipid to protein and 10% of PS contain of the membrane, ensures a saturation of all surface exposed PS molecules. The presence of gapjunction upon adding of rFVIII-FL suggests a deeper insertion of the protein than previously suggested [3], as well as tight interaction between adjacent protein molecules when bound to the membrane, and between molecules bound to opposite bilayers. Based on the presented Cryo-EM study we can elaborate further the mechanism of FVIII membrane-binding in conjunction of our ongoing structural electron microscopy and molecular modelling studies. Our data give strong evidence that gap junctions are formed by the interaction of FVIII molecules on the surface of the vesicles, when they come into contact. and we will continue to further improve our knowledge collecting more and better data at different ion concentration and lipid compositions.

Cryo-EM is a method of excellence to study PL vesicles, capable of following changes in the membrane organisation at different lipid compositions and in the presence or absence of proteins [6]. PS containing PL vesicles have been seen to aggregate in the presence of high concentrations of divalent ions *i.e.* Ca²⁺ or when fusenogenic peptides are included into the membrane [5, 7]. The Ca²⁺ and NaCl concentration as well as the PS

^{*} Corresponding authors: <u>S.McPhie@warwick.ac.uk</u>, <u>Christopher.Parmenter@warwick.ac.uk</u>

content of the vesicles in the present study was kept outside the theoretical values required to induce fusion and aggregation, confirming that he observed gap junctions are as a result of FVIII binding.



Figure 1 Cryo-EM micrographs of vesicles displaying "gap junction" structures. Row A. PCPS vesicles. Row B. Cryo-EM of PCPS vesicles + FVIII-FL. Full arrows indicate multilamellar vesicles. Hollow arrows indicate "gap junctions".

3. Conclusion

Binding of FVIII to PS containing PL vesicles has been studied by digital Cryo-TEM. Upon adding of the protein significant changes in the vesicle interactions and shape has been observed and the presence of gap junction unambiguously visualised. In comparison, cholesterol containing PC/PS vesicles did not show such a pronounced formation of gap junctions upon adding of the protein. Cryo-EM has been proven to be a unique and direct method to see protein-lipid interactions at the molecular level. We have used a high-resolution 200 kV FEG cryo-transmission electron microscope (JEM2010F) and a high resolution CCD camera (GATAN Ultrascan 4000) to routinely resolve a lipid bilayer and the effect and nature of protein binding to it, by Cryo-EM.

4. References

- 1. Kemball-Cook, G., E.G.D. Tuddenham, and A.I. Wacey, *The factor VIII Structure and Mutation Resource Site: HAMSTeRS version 4*. Nucl. Acids Res., 1998. **26**(1): p. 216-219.
- 2. Stoylova, S.S., et al., *Electron Crystallography of Human Blood Coagulation Factor VIII Bound to Phospholipid Monolayers.* J. Biol. Chem., 1999. **274**(51): p. 36573-36578.
- Stoilova-McPhie, S., et al., 3-Dimensional structure of membrane-bound coagulation factor VIII: modeling of the factor VIII heterodimer within a 3-dimensional density map derived by electron crystallography. Blood, 2002. 99(4): p. 1215-1223.
- 4. Parmenter, C.D.J., Kemball-Cook, G., Stoilova-McPhie, S. Comparing the structures of membrane-bound forms of the human antihemophillic factor. in IMC16. 2006. Sapporo, Japan.
- 5. Lambert, O., et al., *Novel Organization and Properties of Annexin 2-Membrane Complexes.* J. Biol. Chem., 2004. **279**(12): p. 10872-10882.
- 6. Frederik, P.M., Hubert, D.H, Cryoelectron microscopy of liposomes. Methods Enzymol., 2005. 391: p. 431 448.
- Duzgunes N, N.S., Wilschut J, Bentz J, Newton C, Portis A, Papahadjopoulos D., Calcium- and magnesiuminduced fusion of mixed phosphatidylserine/phosphatidylcholine vesicles: effect of ion binding. J. Memb. Biol., 1981. 59: p. 115 - 125.

Comment "lire" les images de la cryo-microscopie électronique

Jacques Dubochet^{a,*}

^a Université de Lausanne, Biophore, UNIL, 1015 Lausanne, Suisse

Il est probable que, dans les années à venir, les biologistes auront, de plus en plus, à prendre connaissance d'images obtenues par la méthode CEMOVIS (cryo-electron microscopy of vitreous sections) par laquelle les cellules et les tissus sont observés dans un état proche de l'état naturel, sans colorant, sans fixation chimique et avec toute leur eau. Les images CEMOVIS sont fort différentes de ce à quoi la microscopie électronique classique nous a habitué depuis 50 ans. Le première point qui saute aux yeux est l'aspect globalement homogène de la matière biologique lorsqu'elle n'est ni agglomérée ni colorée. L'observation détaillée, par contre, révèle une incomparable richesse structurale au niveau moléculaire. Le 3e point qui surprend est, hélas, l'omniprésence des déformations induites par le processus de coupe. Heureusement, il est généralement possible de contourner cette limitation.

Auteur à contacter : jacques.dubochet@unil.ch - Tel : +41 21 692 4280

ANALYSE TRIDIMENSIONNELLE DE LA CELLULE PAR TOMOGRAPHIE ELECTRONIQUE : le granule de Birbeck

Danièle Spehner^{a,*} Willie Geerts^b, Fabienne Proamer^c, Daniel Hanau^c, Patrick Schultz^a

^a IGBMC; INSERM, U596; CNRS, UMR7104, Illkirch, F-67400; Université Louis Pasteur, Strasbourg, F-67000

^b Molecular Cell Biology, Institute of Biomembranes, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, NL

^c INSERM, U725, Etablissement Français du Sang-Alsace, Université Louis Pasteur, Strasbourg, F-67000

Résumé - La tomographie en microscopie électronique [1] est un outil formidable pour visualiser les structures cellulaires ou moléculaires en 3-D. Pour reconstruire l'information 3-D, l'objet est incliné à différents angles dans le microscope. Une image est enregistrée pour chaque angle. Ces différentes vues sont ensuite combinées pour reconstruire le volume. Notre projet consiste à mettre en évidence à l'intérieur des cellules des complexes protéiques de quelques nm en taille. L'information tridimensionnelle est ici primordiale dans la mesure où ces complexes ne peuvent se distinguer dans des images de projection où ils sont noyés dans l'information sommée de l'épaisseur de la coupe. Pour mettre ces méthodes au point nous avons choisi d'étudier une structure plus grande localisée dans le cytoplasme des cellules et dont la morphologie est caractéristique, à savoir le granule de Birbeck.

1. Introduction

Le granule de Birbeck [2] est une organelle que l'on trouve principalement dans les cellules de Langerhans de la peau [3]. Les cellules de Langerhans sont des cellules dendritiques localisées dans l'épiderme et dans les épithéliums stratifiés des muqueuses. Elles sont impliquées dans la surveillance immunologique dans la mesure où elles peuvent capturer des antigènes, les dégrader partiellement et les présenter au CMH I et II. Le granule de Birbeck est décrit comme étant une structure en bâtonnet ou en raquette de tennis formée de deux membranes accolées et séparées par une zone régulièrement striée en fermeture éclair ou réseau cristallin d'une périodicité de 9nm. Des reconstructions 3-D de ces granules par Wolff [4] puis par Sagebiel et Reed [5], basées sur des observations de coupes sériées, montrent que ce sont plutôt des corps discoïdes avec une extension vésiculaire à la marge du disque. Plusieurs hypothèses quant à la formation de cette organelle particulière ont été avancées et il semblerait que la plus probable soit qu'elles dérivent d'une invagination de la membrane plasmique ou d'autres membranes cellulaires comme celles de l'appareil de Golgi. Des travaux récents [6] ont montré que la langerine, lectine spécifique pour le mannose, est associée au granule de Birbeck. D'autre part, l'expression de la langerine suffit pour former des pseudo-granules de Birbeck dans les cellules transfectées [6, 7]. Les auteurs concluent que le granule de Birbeck serait peut être un compartiment d'endocytose spécifique des cellules de Langerhans permettant le stockage de l'antigène et représenterait une voie particulière de présentation antigénique. Jusqu'à une époque récente, la microscopie électronique ne produisait qu'une image de projection 2-D qui ne reflète pas exactement la structure 3D. La tomographie électronique nous a permis de visualiser la morphologie de cette organelle dans l'épaisseur de la section afin de mieux comprendre la fonction de ce granule.

2. Préparation de l'échantillon

La méthode de préparation de l'échantillon est cruciale pour préserver au mieux la structure des organelles avant d'enregistrer les tomogrammes. Les cellules épidermiques de la peau contiennent environ 1% de cellules de Langerhans. Ces cellules sont isolées à partir de biopsies humaines et enrichies en gradient de Ficoll. Elles sont ensuite soit fixées chimiquement puis enrobées d'une manière classique, soit cryo-immobilisées sous haute pression et cryo-subsitutées avant d'être enrobée dans une résine. Ces différentes méthodes de préparation seront discutées et commentées en regard des résultats obtenus.

3. Préparation de l'échantillon

L'objectif de la tomographie électronique est de reconstruire une image 3-D à partir d'images de projection 2-D. Cette méthode comprend plusieurs étapes :

- l'acquisition automatisée au microscope d'images inclinées du granule de Birbeck
- l'alignement de ces séries
- la reconstruction 3-D du volume par rétro-projection pondérée ou par des méthodes algébriques
- la représentation tri-dimensionnelle du volume par isosurfaces et segmentation

^{*} Auteur à contacter : daniele.spehner@igbmc.u-strasbg.fr - Tel : 03 90 24 48 06

4. Résultats obtenus



RECONSTRUCTION 3D du GRANULE de BIRBECK



5. Références

- [1] A.J. Koster, et al., *Perspectives of molecular and cellular electron tomography*. J Struct Biol. **120** (3) (1997) 276-308
- [2] M.S. Birbeck, A.S. Breathnach, and J.D. Everall, *An electron microscope study of basal melanocytes and high-lavel clear cells (Langerhans cells) in vitiligo.* J Invest Dermatol. **37** (1961) 51
- [3] P. Langerhans, Über die Nerven der menschlichen Haut. Virchows Arch Path Anat. 44 (1868) 325-337
- [4] K. Wolff, The fine structure of the Langerhans cell granule. J Cell Biol. 35(2) (1967) 468-473
- [5] R.W. Sagebiel and T.H. Reed, Serial reconstruction of the characteristic granule of the Langerhans cell. J Cell Biol. 36(3) (1968) 595-602.
- [6] J. Valladeau et al., *Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules.* **12**(1) Immunity (2000) 71-81
- [7] R. McDermott, et al., *Reproduction of Langerin/CD207 traffic and Birbeck granule formation in a human cell line model*. J Invest Dermatol. **123**(1) (2004) 72-7

Imagerie optique corps entier du petit animal en 2 et 3 D

Véronique Josserand^{1,2}, Didier Boturyn³, Pascal Dumy³, Jérome Boutet⁴, Anne Koenig⁴, Lionel Hervé⁴, Philippe Rizo⁴, Marie Favrot¹ et Jean Luc Coll¹.

¹INSERM U823, Institut Albert Bonniot, 38706 La Tronche Cedex, France ²ANIMAGE, CERMEP, 59 boulevard Pinel, 69003 Lyon, France ³Université Joseph Fourier, 38041 Grenoble Cedex 9, France ⁴LETI-DTBS, CEA-Grenoble, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble cedex, France

Au cours des dix dernières années l'imagerie directe de cellules vivantes est devenue un outil fondamental pour étudier des processus biologiques. Notamment, les avancées technologiques dans le domaine de la bio-imagerie avec le développement de caméras CCD ultrasensibles à très haute résolution rendent aujourd'hui possible la détection de photons directement *in vivo* chez le petit animal. Ainsi, les techniques optiques offrent la possibilité d'un suivi spatio-temporel en temps réel de processus biologiques de façon non invasive directement au sein d'un organisme vivant.

L'imagerie en fluorescence est basée sur la détection de la lumière émise par un fluorophore en réponse à une excitation à une longueur d'onde donnée. Ce fluorophore peut être une protéine exprimée directement au sein des cellules, comme dans le cas de la GFP par exemple, ou ce peut être une petite molécule organique greffée sur un composé d'intérêt. L'imagerie en fluorescence offre ainsi la possibilité de suivre en temps réel de façon non invasive la biodistribution de drogues au sein d'un organisme ce qui représente un atout considérable pour l'évaluation et l'amélioration de nouvelles molécules thérapeutiques. De plus, Avec le développement de sondes fluorescentes spécifiques il devient possible de cibler des récepteurs et d'imager des processus biologiques (figure 1).



Figure 1 : Applications de l'imagerie de fluorescence *in vivo*

Dans certains cas l'imagerie de fluorescence par réflectance se montre insuffisante pour la visualisation des traceurs fluorescents dans des tissus profonds, absorbants ou diffusants tels que les poumons ou le foie (figure 2).



Figure 2 : Imagerie en fluorescence par réflectance de souris porteuses de tumeurs pulmonaires

Pour dépasser cette limite un tomographe de fluorescence a été développé et cette nouvelle instrumentation a été validée pour la détection précoce de nodules tumoraux pulmonaires profonds et le suivi longitudinal de leur développement *in vivo* par imagerie optique en 3 dimensions (figure 3).



Figure 3 : Imagerie en tomographie de fluorescence d'une souris porteuse de tumeurs pulmonaires 10, 12 et 14 jours post implantation
ETUDE DES JONCTIONS ADHERENTES INTERENDOTHELIALES: APPROCHE PAR CRYO-MICROSCOPIE ELECTRONIQUE ET VIDEOMICROSCOPIE DE FLUORESCENCE SUR MEMBRANES MODELES ET BIOLOGIQUES

Olivier Lambert^{a,*}, Jean-Christophe Taveau^a,Sébastien Almagro^b, Felix DeHaas^c, Alain Brisson^a Danielle Gulino-Debrac^b

^a UMR 5248 CBMN, CNRS-Université Bordeaux 1-ENITAB, IECB, 2 rue Robert Escarpit, 33607 Pessac, France ^b APV U INSERM 882, iRTSV, CEA-Grenoble 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble ^c FEI Electron Optics B.V. Achtseweg Noord 5, 5651 GG Eindhoven The Netherlands

Résumé – La formation de jonctions adhérentes interendothéliales a été étudiée par des approches combinées de cryomicroscopie électronique et de vidéomicroscopie de fluorescence. Les mécanismes d'assemblage d'ectodomaines de VE-cadhérine ont été abordés *in vitro* sur membranes modèles. La mise en place des jonctions est actuellement disséquée *in cellulo*.

L'endothélium vasculaire (VE) est une monocouche de cellules endothéliales qui tapisse l'intérieur des vaisseaux sanguins. Cette barrière semi-perméable régule au niveau des jonctions intercellulaires la transmigration de différents constituants sanguins. Ces jonctions adhérentes sont en partie constituées de VE cadhérine. Ces molécules sont les ancres transmembranaires qui élaborent des interactions de type homotypique entre cellules de phénotype identique via leur domaine extracellulaire, alors qu'elles interagissent par leur domaine cytoplasmique avec le cytosquelette d'actine via les β - et α -caténines.

De nombreuses questions concernant le mécanisme d'assemblage des jonctions adhérentes demeurent encore sans réponse : quel mécanisme est responsable du recrutement des molécules de cadhérine au niveau des jonctions ?, quel est le rôle respectif des édifices de cadhérine et du cytosquelette d'actine? Dans le but d'apporter des éléments de réponse à ces questions, une première étude a consisté à

Dans le but d'apporter des éléments de réponse a ces questions, une première étude à consiste à déterminer la structure d'assemblages de fragments extracellulaires de VE cadhérine au niveau de membranes lipidiques modèles. Des fragments comprenant quatre domaines extracellulaires de la VE cadhérine (VE-EC₁₋₄ pour Vascular Endothelial Ectodomain1-4) et présentant une extension polyhistidine au niveau C-terminal ont ainsi été exprimés [1]. Nous avons étudié la morphologie des assemblages formés par liaison de ces fragments de VE cadhérine à des liposomes contenant des lipides dotés de groupes NTA reconnaissant les peptides polyhistidine. L'analyse par cryo microscopie électronique a montré que les cadhérines s'assemblent spontanément *in vitro* entre liposomes constituant ainsi des jonctions adhérentes artificielles [2]. Ces "pseudo" jonctions adhérentes sont composées d'hexamères de VE-EC₁₋₄ orientés au niveau des surfaces membranaires (Figure 1). L'information structurale contenue dans les fragments des 4 domaines extracellulaires de cadhérine est donc suffisante pour induire la formation de jonctions adhérentes artificielles. De plus les structures formées ressemblent de manière remarquable aux jonctions adhérentes naturelles [3].



Figure 1: (A,B) Jonctions adhérentes formées à partir de fragments VE-EC₁₋₄ au niveau de membranes de liposomes observées en cryoME (barre 50 nm). (C,D) Vues agrandies de jonctions, observées de côté (C) et de dessus (D). Les hexamères de cadhérines apparaissent comme des objets cylindriques (23 nm de longueur, et 7 nm de diamètre - anneaux en D). (E) Projection de la structure de l'hexamère orienté à plat sur une monocouche lipidique. (F) Modèle de l'hexamère de VE-EC₁₋₄ cadhérine formé de trois dimères antiparalléles de VE-EC₁₋₄).

^{*} Auteur à contacter o.lambert@iecb.u-bordeaux.fr – Tel : 05 40 00 34 90

Ce travail a été complété par l'étude de l'organisation générale de la pseudojonction en trois dimensions (3D) par cryotomographie. L'orientation des hexamères de VE cadhérine ainsi que leur architecture 3D seront présentées.

Une deuxième étude vise à comprendre la mise en place des jonctions et les mécanismes moléculaires associés. L'élaboration de ces jonctions adhérentes qui résulte d'un effet synergique entre les VE cadhérines et le cytosquelette d'actine est un processus très dynamique. La vidéomicroscopie sur cellules endothéliales vivantes a permis de montrer que l'élaboration des contacts intercellulaires précoces passe par la formation des filipodes. Ces structures exposent à leur extrémité des complexes VE cadhérine/caténines qui sont ainsi propulsés vers la cellule adjacente. La construction des jonctions intercellulaires résulte donc de la rencontre de ces molécules de VE cadhérine propulsées les filopodes émanant de cellules voisines. La structure et les propriétés dynamiques (incluant les interactions cadhérine /filaments d'actine) de filipodes et des jonctions adhérentes sont étudiées par vidéomicroscopie de fluorescence et cryoME associée aux approches de cryotomographie 3D.

Avec l'intégration d'informations obtenues à partir de techniques possédant des résolutions différentes, l'architecture et la dynamique des filopodes et des jonctions matures dans leur environnement natif seront mieux comprises.

Références

- Legrand, P., Bibert, S., Jaquinod, M., Ebel, C., Hewat, E., Vincent, F., Vanbelle, C., Concord, E., Vernet, T., and Gulino, D. (2001) *J Biol Chem* 276, 3581-3588
- [2] Lambert, O., Taveau, J. C., Him, J. L., Al Kurdi, R., Gulino-Debrac, D., and Brisson, A. (2005) J Mol Biol 346, 1193-1196
- [3] Al-Amoudi, A., Dubochet, J., and Norlen, L. (2005) J Invest Dermatol 124, 764-777

Étude multi-échelle en microscopies d'un hydrogel glycosylé implanté dans le cerveau du rat

Stéphane Woerly^{a,*}, Isabelle Pignot-Paintrand^a, Carole Carcenac^b, Marc Savasta^b

 ^a Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, CNRS, affilié avec l'Université Joseph Fourier et membre de l'Institut de Chimie Moléculaire de Grenoble, BP 53 38041 Grenoble cedex 9
 ^b Dynamique des Réseaux Neuronaux du Mouvement, INSERM U836-Université Joseph Fourier BP 53 38041 Grenoble cedex 9

Résumé – Un hydrogel macroporeux comportant l'oligosaccharide sialyllactose a été implanté dans le cerveau du rat comme matrice de réparation tissulaire. La structure tridimensionnelle de l'hydrogel a été caractérisée en microscopie électronique à balayage et en microscopie confocale à balayage laser après marquage de l'oligosaccharide avec deux sondes fluorescentes. Quatre mois après implantation au niveau du striatum, la matrice polymère a été examinée en microscopie électronique et microscopie confocale pour la caractérisation de la réaction cellulaire à l'interface avec le tissu nerveux et à l'intérieur de la structure de la matrice. L'hydrogel est le siège d'une angiogenèse et d'une colonisation cellulaire qui est régit par la microgéométrie du réseau poreux de l'hydrogel.

1. Introduction

Les hydrogels, proposés comme outils d'ingénierie tissulaire, constituent des réseaux tridimensionnels de chaînes polymériques réticulées qui gonflent mais ne se dissolvent pas dans l'eau. Dans cette étude, un hydrogel de poly [N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide] (HPMA) a été synthétisé dans le but de servir de matrice *template* pour la réparation du tissu du système nerveux. Les études de porosimétrie et de microscopie électronique montre que la valeur de sa fraction poreuse est de l'ordre de 90% de son volume total avec une surface spécifique de l'ordre de 40 m²/g [1]. Dans ce travail, l'hydrogel a été fonctionnalisé avec le sialyllactose, partie oligosaccharidique du ganglioside GM₃, afin de favoriser les interactions cellulaires in vivo et la réparation tissulaire.

2. Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée avec le parc instrumental de microscopes suivant :

Microscope optique Zeiss Axioplan2 interfacé avec un système d'analyses d'images analySIS

Microscope confocal à balayage laser (MCBL) Leica TCS SP2 AOBS (Acoustico Optical Beam Splitter, Leica Microsystems) interfacé avec un microscope inversé à fluorescence.

Microscopes électroniques à balayage (MEB) Jeol JSM-6100 opérant à 8kV et en transmission (MET) Philips CM200 opérant à 80kV.

Pour la MEB, les échantillons ont été déshydratés par une série de bains de concentration croissante d'éthanol, puis séchés à l'hexamethyldisilisane [2]. Pour la MET, les échantillons ont été inclus dans une résine époxy après fixation et déshydratation, pour permettre la réalisation de coupes ultrafines.

La caractérisation microstructurale du gel a été réalisée en MCBL sur des coupes de 150 μ m d'épaisseur du polymère. Pour la détection et la distribution du sialyllactose sur le polymère de HPMA, nous avons utilisé un anticorps anti-GM₃ couplé au fluorochrome Alexa 488 (excitation laser 488 Argon/Krypton; émission 497-576 nm) et la lectine *Wheat germ Agglutinin* couplée au rouge texas (excitation laser 543 He/Ne; émission 576-654 nm). Des coupes optiques ont été réalisées par balayage en fluorescence et en contraste différentiel interférentiel (CDI) pour l'observation de la distribution des marqueurs spécifiques au niveau du réseau macromoléculaire du gel.

Le gel a été greffé au niveau du striatum du cerveau du rat. Après 4 mois, des coupes de 20 μ m, incluant l'hydrogel et traitées au crésyl violet, ont été observées en MCBL en mode balayage en fluorescence et en CDI pour caractériser la croissance cellulaire dans le réseau polymère. Les images ont été acquises avec une résolution de 512 x 512 pixels dans le plan xy, et les séries avec un pas delta Z de 0.5 μ m (*z-stack*) de balayage ont été acquises avec le logiciel Leica CLSM. Des reconstructions 3D ont été réalisées avec le logiciel Volocity 4.

3. Résultats

Les images en MEB de l'hydrogel lyophilisé ont permis de résoudre sa structure macroporeuse tridimensionnelle en corrélation avec les reconstructions volumiques 3D du gel hydraté à partir des images acquises en MCBL (mode CDI) (Figure 1A et 1B). Les images révèlent un réseau macro- et mésoporeux ouvert et complexe, formé de microsphères de 3-5 µm de diamètre (unité structurale) arrangées en agrégats. La surface de ce réseau délimite un systéme ouvert de pores dont la valeur moyenne de situe autour de 25 µm [1].

^{*} Auteur à contacter : stephane.woerly@cermav.cnrs.fr – Tel : 04 76 03 76 18



Figure 1 – Structure de l'hydrogel de HPMA en microscopie électronique à balayage (A) et en microscopie confocal à balayage laser (B)

Aprés marquage du sialyllactose, les images en MCBL du polymère révèlent un marquage fluorescent discret du réseau polymèrique avec, en mode plan xy, une distribution statistique de l'oligosaccharide à la surface des microsphères de HPMA et, en reconstruction 3D (*z-stacks*), sur la paroi des canaux du réseau poreux.

Grâce à l'autofluorescence du polymère (absorption en surface de protéines plasmatiques), des séries d'images superposées en MCBL en mode fluorescence et en CDI de coupes épaisses ($20 \ \mu m$) de tissu cérébral contenant la greffe du gel de HPMA ont été réalisées. Nous constatons la stabilité du réseau polymèrique in vivo, et une croissance cellulaire au travers de la structure poreuse de l'hydrogel jusqu'à former, par endroit, un néo-tissu. L'observation en microscopie optique, aprés coloration au crésyl violet, révèle un gradient cellulaire partant de l'interface du tissu nerveux et pénétrant le réseau polymérique. L'infiltrat cellulaire est principalement composé d'astrocytes réactifs et de cellules mononuclées. La microscopie électronique à balayage et la microscopie optique de coupes semi-fines de 1 μ m, colorées au bleu de toluidine, précisent la présence de cellules au sein du gel et la formation de capillaires sanguins de 4-6 μ m de diamètre (Figure 2A). En MET, nous observons que l'infiltrat cellulaire est dans une matrice extracellulaire de collagéne, constitué de nombreuses cellules dont le cytoplasme épouse la microgéométrie du réseau polymère (Figure 2B). La présence de neurones différenciés au contact du polymère a pu aussi être mis en évidence, corrélée avec des études en immunocytochimie des fibres nerveuses (Figure 2C).



Figure 2 – Images en MEB (A) de l'hydrogel implanté dans le cerveau du rat révèlant une forte infiltration cellulaire dans le réseau poreux. En MET on observe la présence de noyaux cellulaires et une infiltration du cytoplasme dans les pores de l'hydrogel (B) et un neurone différencié au contact du polymère (C).

4. Conclusion

Cette étude multi-échelle en microscopies montre qu'un hydrogel de HPMA ultraporeux forme in vivo une continuité structurale 3D, favorisant le remodelage tissulaire dans le cerveau du rat. Ce réseau poreux est envahi par du matériel extracellulaire et des cellules de natures hétérogènes, et est le siège d'une angiogénèse active. La présence de neurones dans la structure du gel provient vraisemblablement de cellules souches différenciées.

5. Références

- [1] S. Woerly et al. *Heterogeneous PHPMA hydrogels for tissue repair and axonal regeneration in the injured spinal cord.* J. Biomat. Sci. Polymer Edn **9** (1998) 681-711.
- [2] S. Woerly et al. *Neural tissue formation within porous hydrogels implanted in brain and spinal cord lesions: ultrastructural, immunohistochhemical and diffusion studies.* Tissue Eng. **5** (1999) 467-488.

Caenorhabditis elegans vu par cryo-microscopie électronique de sections vitreuses (CEMOVIS) : analyse du collagène cuticulaire et mise en évidence d'un processus d'auto-assemblage de type cristal liquide lors de la sécrétion du collagène par l'hypoderme

Amélie Leforestier*, Françoise Livolant

Laboratoire de Physique des Solides, UMR CNRS 8502, Bât 510, Université Paris-Sud, 91405 Orsay cedex

La cryo-microscopie électronique est une technique extrêmement puissante pour déterminer la structure des complexes macromoléculaires, et ce à une résolution maintenant inférieure au nanomètre [1]. Elle a été jusqu'à présent surtout développée pour l'analyse de nano-objets piégés en film minces vitrifiés (macromolécules et complexes, cristaux 2D, petits organelles), mais ne permet pas l'analyse d'objets d'épaisseur supérieure à 300-500 nm, donc de la plupart des cellules entières. La technique de cryo-microscopie de sections vitreuses (CEMOVIS [2]) permet de contourner cette limitation et d'accéder à la structure de la cellule entière dans son état natif. Cette technique consiste à vitrifier un échantillon (cellules isolées ou tissu) par congélation ultrarapide, de manière à préserver l'environnement ionique et aqueux des macromolécules qui le constituent. Cet échantillon est ensuite coupé en sections ultra-minces (40-60 nm), observées au microscope électronique à basse température (-180°C). On peut ainsi obtenir des « instantanés » de la cellule, à une résolution suffisamment haute (1 à 2 nm) pour visualiser les macromolécules dans leur environnement natif, sans déshydratation ni coloration. Dans ce cas, la principale limitation est l'analyse de l'information contenue dans chaque image (identification des macromolécules, détermination de la structure 3D) [3]. Malgré cela, la méthode s'avère déjà fructueuse dans l'étude de plusieurs structures cellulaires (voir par exemple [4-6]).

Nous montrerons comment cette technique peut être utilisée pour l'analyse de l'ultrastructure du nématode *Caenorhabditis elegans*. Nous présenterons une analyse de plusieurs structures et sous-structures cellulaires et extracellulaires : microvillosités des membranes apicales, muscle, cuticule, hypoderme, ...

En particulier, nous illustrerons l'apport de la méthode à la compréhension de processus cellulaires, tels que la sécrétion du collagène cuticulaire. La cuticule de *C. elegans* est une matrice extracellulaire essentiellement composées de collagènes, et synthétisée par l'hypoderme de l'animal. Sous la cuticule, nous mettons en évidence, au sein de structures membranaires complexes, un processus de ségrégation de phase qui conduit à une augmentation locale de la concentration en collagène. On observe alors la formation d'une organisation supramoléculaire de type cristal liquide cholestérique à laquelle se superpose un ordre pentagonal local entre molécules de collagène (Figure 1).

^{*} Auteur à contacter : leforestier@lps.u-psud.fr - Tel : 01 69 15 60 87



Figure 1 – Sécrétion du collagène chez C. elegans. Les molécules de collagène présentent une organisation de type cristal liquide cholestérique (les orientations moléculaires sont soulignées en noir par des traits et des points). Lorsque les molécules sont perpendiculaires au plan d'observation (insert) on visualise un ordre pentagonal entre les triple hélices (cercle blanc). Echelle 100 nm, insert 10 nm.

Ces résultats montrent l'implication des propriétés d'auto-assemblage cristallin liquide du collagène mises en évidence *in vitro* [7, 8, 9], dans le processus de sécrétion du collagène.

[1] Chiu W, Baker ML, Jiang, W, Dougherty M, Schmid MF (2005) *Electron cryomicroscopy of biological machines at subnanometer resolution*. Structure **13**, 363-72.

[2] Al-Amoudi A, Chang jj, Leforestier A, McDowall A, Salamin L, Norlen L, Sartori Blanc N, Studer D, Dubochet J (2004) *Cryo-Electron microscopy of vitreous sections*. EMBO J. **23**, 3583-3588.

[3] Dubochet J., Zuber B, Elstov M, Bouchet-Marquis C, Al-Amoudi A, Livolant F (2007) *How to read a vitreous section*. Methods Cell Biol, **79**, 385-405.

[4] Zuber et al, (2005) The mammalian central nervous synaptic cleft contains a high density of periodically organized complexes. Proc. Natl. Acad. Sci. **1032**, 19192-19197)

[5] Bouchet-Marquis et al (2007) Visualization of cell microtubules in their native state. Biol Cell. 99, 45-53

[6] Sartori Blanc N, Senn A, Leforestier A, Livolant F, Dubochet J (2001) DNA in human and stallion spermatozoa forms local hexagonal packing with twist and many defects. J. Struct. Biol. **134**, 76-81.

[7] Giraud-Guille MM (1992) Liquid crystallinity in condensed type I collagen solutions. A clue to the packing of collagen in extracellular matrices. J. Mol. Biol. **224**, 861-873.

[8] Martin R, Farjanel J, Eichenberger D, Colige A, Kessler E, Hulmes D, Giraud-Guille MM (2000) *Liquid* crystalline ordering of procollagen as a determinant of 3-dimesional extracellular matrix architecture. J. Mol. Biol. **301**, 11–17.

[9] Gobeaux F, Belamie E, Davidson P, Panine P, Giraud-Guille MM (2007) *Cooperative ordering of collagen triple helices in the dense state.* Langmuir, sous presse.

Morphologie et structure de nanoparticules composites et multicompartimentées observées par cryomicroscopie électronique

Jean-Luc Putaux^{a,*}, Norma Negrete-Herrera^b, Mingtao Lin^c, Fuxiang Chu^c, Alain Guyot^b, Elodie Bourgeat-Lami^b, Félix De Haas^d, Luc Choisnard^e, Annabelle Gèze^e, Yung-Sing Wong^e, Denis Wouessidjewe^e

^a Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, ICMG-CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9. ^b Laboratoire de Chimie et Procédés de Polymérisation, CNRS/CPE, BP 2177, F-69616 Villeurbanne Cedex. ^c Institute of Chemical Products of Forestry, Sinica Academy of Forestry, 210042 Nanjing, Chine. ^d FEI Company, Achtseweg Noord 5, 5600 MA Eindhoven, Hollande.

^e Université J. Fourier, UFR de Pharmacie, ICMG-DPM, UMR CNRS 5063, 5 Av. de Verdun, 38243 Meylan Cedex.

Résumé – Nous avons utilisé la cryomicroscopie électronique pour caractériser la morphologie et la structure de nanoparticules hybrides et/ou multicompartimentées dans des systèmes variés : latex composites constitués de billes de silice encapsulées par un polymère, nanosphères de polymères contenant un cœur de silicone ou bien recouvertes de plaquettes de Laponite, particules multilamellaires ou de type "parachute" formées par auto-association de cyclodextrines amphiphiles seules ou en présence de phospholipides.

1. Introduction

Des nanoparticules de formes et de structures variées sont préparées sur la base de formulations hybrides qui marient phases organiques et inorganiques. D'autres systèmes, uniquement organiques, contiennent des phases ou des "compartiments" de différentes structures. Tous ces objets peuvent être utilisés en suspension colloïdale, par exemple à des fins biomédicales, comme vecteurs de principes actifs ou comme traceurs. Mais ils jouent aussi souvent le rôle de "brique élémentaire" dans la préparation de matériaux nanocomposites, afin d'obtenir, par exemple, des répartitions homogènes de charges non-percolantes. Une connaissance approfondie de la morphologie de ces objets est indispensable pour comprendre leurs propriétés et celles des matériaux mis en œuvre. Ces dernières années, la cryomicroscopie électronique en transmission (cryo-MET) [1] a connu un essor grandissant dans le domaine des colloïdes et des systèmes moléculaires organisés [2]. En complément des techniques de diffusion de rayonnements, la cryo-MET apporte des informations sur la variabilité de forme, la polydispersité, la localisation des phases dans des particules composites, la multicompartimentation. Dans cette communication, nous présenterons plusieurs travaux récents, les images ayant été enregistrées, dans la plupart des cas, sur plans-films, au moyen d'un microscope Philips CM200 'Cryo', fonctionnant à 80 kV.

2. Nanoparticules composites

Des latex polymères à base de poly(acrylate de butyle) ont été synthétisés en présence de billes de silice à la surface desquelles étaient greffés des groupements silanes, un agent de couplage favorisant la polymérisation. Les conditions de préparation ont été variées afin de contrôler le nombre moyen de billes de silice par particule ou encore la quantité de polymère à la surface de la silice (Figures 1a,b) [3]. La cryo-MET a par ailleurs permis de vérifier si, selon les cas, la structure cœur-écorce était réalisée.

D'autres nanoparticules hybrides ont été élaborées par polymérisation en émulsion. Elle sont constituées d'un cœur "huileux" de polydiméthylsiloxane (PDMS) enveloppé dans une écorce de poly(méthacrylate de méthyleco-n-acrylate de butyle) (Figure 1c). Une morphologie plus complexe a été obtenue après qu'un réticulant ait été introduit dans le germe de PDMS, modifiant ainsi les propriétés interfaciales. L'écorce polyacrylate est alors formée de deux ou trois lobes encapsulant un cœur de PDMS très déformé (Figure 1d) [4].



Figure 1 – Nanoparticules composites observées par cryo-MET : a,b,) Billes de silice encapsulées par du poly(acrylate de butyle) [3]; c,d) particules hybrides PDMS / P(MAM-AB) [4]. Barres : 100 nm.

Auteur à contacter : putaux@cermav.cnrs.fr - Tél. : 04 76 03 76 04

La surface de nanoplaquettes de Laponite, une argile synthétique, a été fonctionnalisée au moyen d'un amorceur de polymérisation cationique : le dihydro chlorure azo bis amidino propane (AIBA). La polymérisation en émulsion de styrène et d'acrylate de butyle a ensuite été réalisée en présence de l'argile [5]. Les nanoparticules formées ont été observées avec un microscope Tecnai G² Polara (FEI), fonctionnant à 300 kV et équipé d'un filtre en énergie GIF2002 Gatan utilisé en mode "zero loss". Les images, enregistrées au moyen d'une caméra CCD Gatan 795 ont permis de visualiser la couche de Laponite recouvrant les sphères de polymère (Figure 2).



Figure 2 – Particules de poly(acrylate de butyle) recouvertes de nanoplaquettes de Laponite apparaissant comme des "filaments" sombres lorsqu'elles sont vues sur la tranche (images filtrées en mode "zero loss" avec une fenêtre de 20 eV).

3. Nanoparticules de cyclodextrines amphiphiles

Des β -cyclodextrines amphiphiles (β CDa) ont été préparées en greffant chimiquement des chaînes hexanoyles (C6) sur les groupements hydroxyles secondaires de l'heptasaccharide cyclique. Ces β CD-C6 se sont auto-assemblées pour former des nanoparticules colloïdales stables (Figure 3a) [6]. Lorsque la nanoprécipitation a été effectuée en présence de phospholipides, des morphologies de type "parachute" ont été observées : des particules facettées et semi-cristallines sont apparues partiellement recouvertes de vésicules de phospholipides (Figure 3b) [6]. D'autres β CDa ont été préparées en greffant des chaînes décanoyles (C10) par voie enzymatique. Les β CD-C10 ont alors formé des nanoparticules multilamellaires de type "oignon", leur cœur semi-cristallin étant entouré par une enveloppe constituée de plusieurs bicouches concentriques (Figure 3c) [7].



Figure 3 – Nanoparticules de β-cyclodextrines amphiphiles : a) βCD-C6 alkylées par voie chimique (barre : 100 nm); b) particules de βCD-C6 formées en présence de phospholipides ; c) particules multilamellaires obtenues par auto-assemblage de βCD-C10 préparées par voie enzymatique (cryo-MET - barres : 50 nm).

4. Références

- [1] J.R. Harris. Negative Staining and Cryoelectron Microscopy, Bios Scientific Pub., Oxford (1997)
- M. Goldraich et Y. Talmon. Direct-imaging cryo-transmission electron microscopy in the study of colloids and polymer solutions. Dans Amphiphilic Block Copolymers: Self-assembly and Applications, P. Alexandridis P. et B. Lindman, Elsevier, Amsterdam, (2000) 253-280
- [3] J.L. Putaux, S. Chalaye et E. Bourgeat-Lami. Cryo-TEM study of composite latex particles filled with silica. Proc. EUREM XII, Brno, Czech Republic, (2000) 325-326
- [4] M. Lin, F. Chu, A. Guyot, J.L. Putaux et E. Bourgeat-Lami. Silicone-polyacrylate composite latex particles. Particle formation and film properties. Polymer 46 (2005) 1331-1337
- [5] N. Negrete-Herrera, J.L. Putaux, L. David et E. Bourgeat-Lami. Polymer/Laponite composite colloids through emulsion polymerization: influence of the clay modification level on particle morphology, Macromolecules 39 (2006) 9177-9184
- [6] A. Gèze, L. Choisnard, B. Demé, I. Grillo, J.L. Putaux et D. Wouessidjewe. Toward a better understanding of the structure of amphiphilic cyclodextrins βCda/phospholipid-based nanoaggregates. Proc. 12th Int. Cyclodextrin Symp., Cyclodextrins and Nanotechnologies, Montpellier, France, (2004) 673-676
- [7] L. Choisnard, A. Gèze, J.L. Putaux, Y.S. Wong et D. Wouessidjewe. Novel nanoparticles of β-cyclodextrin esters obtained by self-assembling of bio-transesterified β-cyclodextrins. Biomacromolecules 7 (2006), 515-520

Cryogenic transmission electron microscopy and small-angle X-ray scattering: the structure of colloidal gels revisited

J. Crassous¹, C. N. Rochette¹, M. Drechsler², M. Ballauff¹

Physikalische Chemie I, Universität Bayreuth, Universitätsstrasse 30, D-95440 Bayreuth
 Makromolekulare Chemie II, Universität Bayreuth, Universitätsstrasse 30, D-95440 Bayreuth

We discuss recent studies of colloidal thermosensitive core-shell particles by cryo-transmission electron microscopy (cryo-TEM). The particles consist of a solid core of poly(styrene), onto which a network of crosslinked poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is affixed. In water the shell of these particles swells when the temperature is low. Raising the temperature above 32°C leads a marked shrinking of the shell. Recently, we presented the first study of these core-shell particles by cryo-TEM in situ, that is, in aqueous solution [1]. We demonstrated that the core-shell particles are well-defined and exhibit a narrow size distribution. In particular, the PNIPAM-shell is compact and has a defined outer surface of a slightly irregular shape. Moreover, the micrographs show that there are density fluctuations within the network. Cryo-TEM of the system above and below the transition temperature furnishes information about the thermosensitive particles that had not been available through other methods employed in previous investigations [2]. Moreover, we discuss a novel method by which the electron densities of the particles can be read out from the images and compare these data to measurements done by small-angle X-ray scattering (SAXS). In this way we can compare the results of cryo-TEM studies to SAXS-studies done on the same particles.

- [1] Alexander Wittemann, Markus Drechsler, Yeshayahu Talmon, Matthias Ballauff, *High Elongation of Polyelectrolyte Chains in the Osmotic Limit of Spherical Polyelectrolyte Brushes: A Study by Cryogenic Transmission Electron Microscopy*, J. Am. Chem. Soc. 2005, **127**, 9688.
- [2] J. J. Crassous, M. Ballauff, M. Drechsler, J. Schmidt, Y. Talmon, *Imaging the volume transition in thermosenstive core-shell particles by cryo-transmission electron microscopy, Langmuir* 2006, **22**,2403

Cryo-Electron Microscopy Study of Asymmetric PEG-b-PMMA Blockcopolymers

Christopher Parmenter^{a,*}, Stefan A.F. Bon^b, Svetla Stoilova-McPhie^a

^a Imaging suite, Dept of Biological Sciences, University of Warwick, Gibbet Hill Rd, CV4 7AL, Coventry ^bDept of Chemistry, University of Warwick, Gibbet Hill Rd, CV4 7AL, Coventry

Abstract - Asymmetric poly(ethylene glycol-*b*-methyl methacrylate) block copolymers have been synthesized by Atom Transfer Radical Polymerisation (ATRP) and the aggregates formed in solution investigated by Cryo-Transmission Electron Microscopy (Cryo-TEM). A morphology diagram has been constructed based on the obtained images and reveals that rod-like morphologies make a transition to vesicle based morphologies with increasing water content of the solvent system.

1. Introduction

In addition to phospholipids and synthetic surfactants, it has been shown that amphiphilic block copolymers have the ability to self assemble into multiple morphologies, including vesicles, which are of obvious commercial and biological interest for encapsulation technologies [1-3].

With a view to producing an amphiphilc block copolymer, an α -hydroxy poly(ethylene glycol) (Mn=2×10³ g/ mol) was transformed to a suitable initiator for ATRP. The resultant macroinitiator was used to polymerise methyl methacrylate to form an asymmetric amphiphilic PEG-b-PMMA block copolymer.

The self-assembly properties of this polymer was investigated by dissolution in an organic solvent, (Tetrahydrofuran, THF) followed by the slow addition of water, to induce partial precipitation of the hydrophobic block. Solutions were analysed by negatively stained TEM and Cryo-TEM, performed on a JEM 2011-LaB₆ microscope operating at 200KV, equipped with a Cryo-holder (Gatan Inc, Oxford, UK). Images were aquired on a 2048x2048 pixels CCD camera at 15 μ m/pixel resolution (Gatan Inc. UK) and a nominal magnification of 10,000 - 20,000x and a typical underfocus of 2-3 μ m. Samples were screened at a range of initial concentrations (10, 5 and 1 g L⁻¹) with solvent compositions ranging (10% - 80% water).

2. Results and Discussion

The Cryo-TEM images indicate that the PEG-*b*-PMMA system undergoes rod to vesicle transitions, with increasing water content of the solvent (Figure 1). However a number of intermediate complex morphologies were also observed including "pretzel", "bi-continuous" and mixed vesicle–tubule structures.



Figure 1 – Cryo-TEM images of PEG-b-PMMA at (a) 30% water (0.7 g/L), (b)40% water (3 g/L) and at (c) 60% water (2 g/L). 10,000 - 20,000x magnification, scale bars 0.2 μm

Corresponding author : christopher.parmenter@warwick.ac.uk - Tel : +44 24 76 57 45 44

The use of Cryo-TEM ensures that the true morphologies, present in solution are preserved, without drying effects, which are a disadvantage of negative staining techniques. A full characterisation of the self-assembled block-copolymer morphologies was achieved by Cryo-TEM at two initial concentrations and a range of solvent conditions. The observed morphologies are the result of thermodynamic minimum energy states, defined by the dimensions and chemistry of the amphiphiles, as the hydrophobic chains attempt to minimize unfavorable water contact. The observed structures were used to construct a morphology diagram (Figure 2) with respect to solvent and polymer concentration.



Figure 2. Morphology diagram of dilute solutions of PEG-b-PMMA

The morphology diagram indicates different transitional structures for the two studied initial concentrations (1 g L^{-1} in the region 20 – 50% water and also notes that there is a general trend to reach vesicle morphologies earlier for more concentrated polymer solutions *i.e.* 45 – 50% water at 5 g/L versus 55 – 60% water at 1 g/L.

3. Conclusions

In summary, an asymmetric PEG-*b*-PMMA block copolymer has been synthesised and shown to yield a variety of morphologies in dilute solution. By the construction of a morphology diagram from Cryo-TEM images, this system has displayed a range of structures with varying initial polymer concentrations and/or solvent composition. Cryo-TEM has been used with great effect to preserve the nano-aggregates in their hydrated state, without significant drying effects, demonstrating its versatility as a technique in both biological and soft matter systems.

4. References

- 1. Discher, D.E., Eisenberg, A, Nature, 2002. 297: p. 967 973.
- 2. Discher, B.D., Won, Y.Y., Ege, D.S., Lee, J.C-M., Bates, F.S., Discher, D.E., Hammer, D.A, *Polymersomes: Tough vesicles made from Diblock Copolymers*. Science, 1999. **284**(14 May): p. 1143 1146.
- 3. Cameron, N.S., Corbierre, M.K., Eisenberg, A., 1998 E.W.R. Steacie award lecture Asymmetric amphiphillic block copolymers in solution: a morphological wonderland. Can. J. Chem., 1999. 77: p. 1311 1326.

A = Soluble, M = Micelles, B = Bi-continuous phase, P = Pretzels, Rb = Budding rods, Vt = Vesicleswith tubules, V = Vesicles

Etude 3D par cryo-TEM "résolue en temps" de la cristallisation de CaCO₃ sur un template organique auto-assemblé

E.Pouget^{1,2}, B.P. Pichon¹, P.H.H. Bomans^{2,3}, P. M. Frederik^{2,3}, and N.A.J.M Sommerdijk^{1,2}

¹ Laboratory for Macromolecular and Organic Chemistry, Eindhoven University of Technology, P.O. Box 513, 5600 MB Eindhoven, The Netherlands,

² SoftMatter CryoTEM Unit , Eindhoven University of Technology, P.O. Box 513, 5600 MB Eindhoven, The Netherlands, <u>e.pouget@tue.nl</u>T

³ EM Unit, Department of Pathology, University of Maastricht, Universiteitssingel 50, 6229 ER Maastricht, The Netherlands.

Résumé - L'étude de la biominéralisation du carbonate de calcium sur des matrices organiques présente un grand intérêt pour la recherche de nouveau matériaux biocompatibles. Les tout premiers stades de cette nucléation semblent jouer un rôle d'une grande importance. L'étude présentée ici a pour but d'étudier ces premières étapes de minéralisation en utilisant la cryo-microscopie électronique en transmission comme technique "résolue en temps". Une combinaison entre la cryo-tomographie et la diffraction électronique permet ensuite de caractériser les échantillons obtenus.

Dans la nature, nombre d'organismes animaux ou végétaux présentent des formes très complexes composées de matière inorganique, dont le carbonate de calcium est l'une des plus abondantes. Ces structures sont formées par la cristallisation du composé inorganique sur une matrice organique appelée "template". De précédentes études ont montré que la nature du template organique influence fortement la sélection du polymorphe, l'orientation cristallographique ainsi que la morphologie des cristaux inorganiques obtenus. Inspiré par ces systèmes biologiques, le contrôle de la cristallisation biomimétique du carbonate de calcium est actuellement étudié par un grand nombre de chercheurs dans le but de former de nouveaux biomatériaux. [1]

Dans l'étude présentée ici, des auto-assemblages organiques sont utilisés comme templates dans le but de comprendre en détail le rôle du template organique dans les toutes premières étapes de la minéralisation du carbonate de calcium. Les templates organiques utilisés sont des surfactants bis-uré qui, dans l'eau, interagissent par liaisons hydrogènes, formant ainsi des rubans. Ces molécules possèdent des terminaisons amine ou acide qui jouent le rôle de point de nucléation pour les ions $CO_3^{2^-}$ ou Ca^{2^+} respectivement. Les études sur le mécanisme de nucléation reportées dans la littérature portent généralement sur la caractérisation des cristaux matures. Certains travaux portent sur les premières étapes de cristallisation, mais les cristaux sont étudiés après transfert sur les grilles de microscopie électronique en transmission qui peut engendrer des artefacts. Pourtant, il est généralement admis que d'importants changements et interactions ont lieu dans les tout premiers stages de la cristallisation et seuls quelques articles montrent des techniques in-situ sur l'étude de la formation biomimétique ou naturelle du minéral. [2,3] Ces études montrent la formation initiale de carbonate de calcium amorphe, qui semble jouer un rôle particulièrement important. [4]

Ici, la nucléation du carbonate de calcium sur les surfactants organiques est étudiée par une nouvelle méthode combinant la cryo-TEM, la tomographie et la diffraction électronique. La cryo-TEM permet l'obtention de résultats "résolus en temps". En effet, la réaction a lieu directement sur la grille de microscopie électronique couverte d'un film de carbone troué (holey carbone) et le temps de réaction est contrôlé par la vitrification de l'échantillon dans l'éthane liquide a des moments très précis. Toutes les expériences sont réalisées dans une chambre permettant le contrôle environnemental (Vitrobot). Lors de la réaction, les rubans sont déposés sur la grille puis le surplus de liquide est éliminé, dans une atmosphère saturée en eau afin de ne pas déshydrater l'échantillon. Une goutte de CaCl₂ est ensuite déposée sur la grille puis une atmosphère saturée en NH₃ et CO₂ est générée, entrainant ainsi la formation des cristaux CaCO₃ par réaction entre les ions Ca²⁺ et CO₃²⁻. La vitrification des échantillons a alors lieu après un temps compris entre 30s et 10min, après élimination du surplus de liquide (Figure 1).



Figure 1 –Schéma de préparation des échantillons directement sur la grille, sous atmosphère contrôlée au sein du Vitrobot.

Cette technique "résolue en temps" permet d'étudier la conversion des particules de carbonate de calcium amorphe en cristaux de calcite orientés sur le template. De plus, la cryotomographie électronique permet une vue en 3 dimensions du développement des particules de CaCO₃ (Figure 2) et de leur intéraction avec le template. Les premiers résultats indiquent qu'aux tout premiers stades, des particules amorphes sont formées dans la solution, avant la nucléation orientée de ceux-ci sur le template.



Figure 2 – Images de tomographie en cryo-microscopie électronique, et la reconstruction 3D faite a partir de cette série d'images.

Références :

¹ S. Mann, *Biomineralization, Principles and concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford press, (2001).

² A. Berman, D. J. Ahn, A. Lio, M. Salmeron, A. Reichert, D. Charych, *Science*, **269**, 515. (1995)

³ E. DiMasi, M.J. Olszta, V.M. Patel, L.B. Gower, Cryst. Eng. Comm, **5**, 346 (2003)

⁴ Y. Politi, T. Arad, E. Klein, S. Weiner, L. Addadi, *Science*, **306**, 1161 (2004)

Cristallisation de courtes chaînes d'amylose en solution diluée

Nicole Montesanti^{a*}, Jean-Luc Putaux^a, Gabrielle Potocki-Véronèse^b, Alain Buléon^c, Danièle Dupeyre^a, Frédéric Dubreuil^a

^a Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, ICMG-CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9
^b Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, UMR5504 INRA-CNRS, UMR792 INSA-INRA, 135 avenue de Rangueil, 31400 Toulouse Cedex 4
^c INRA, Rue de la Géraudière, BP 71627, 44316 Nantes Cedex 3

Résumé – Ce travail porte sur les mécanismes de cristallisation au sein du grain d'amidon pendant sa biosynthèse via l'étude de systèmes modèles. L'approche inclut la cristallisation de chaînes courtes d'amylose en phase homogène ainsi que son induction au contact de surfaces cristallines. Les cristaux ont été préparés à partir de chaînes d'amylose de DP 7-40 obtenues par biosynthèse *in vitro* ou dégradation acide d'amidon natif. Nous avons étudié l'influence de l'origine des chaînes, de leur longueur et des conditions de cristallisation.

1. Introduction

L'amidon natif est un mélange de deux homopolymères de glucose, l'un linéaire (l'amylose) et l'autre branché (l'amylopectine). Les grains d'amidon sont constitués d'anneaux de croissance alternés amorphes / semi-cristallins. Leur cristallinité partielle est associée à l'organisation en grappe des courtes branches linéaires de l'amylopectine qui s'organisent en doubles hélices parallèles et forment des lamelles. Le degré de polymérisation (DP) de ces branches courtes varie typiquement de 12 à 18 [1]. Deux principaux allomorphes sont connus : le type A (maille monoclinique) et le type B (maille hexagonale) [1]. Afin de comprendre les modes de cristallisation *in vivo* de ces branches, nous avons étudié la cristallisation *in vitro* de courtes chaînes d'amylose d'un DP similaire, ainsi que l'influence de paramètres tels que l'origine de l'amylose, la longueur des chaînes, leur polydispersité ainsi que la température de cristallisation.

2. Préparation des cristaux

Les courtes chaînes d'amylose ont été préparées par hydrolyse acide d'amidon natif de pomme de terre, de maltodextrines commerciales fractionnées [7], ou par biosynthèse *in vitro* en utilisant une enzyme, l'amylosaccharase [4], qui synthétise de l'amylose à partir de saccharose [5]. Des fractions de faible polydispersité, dans une gamme totale de DP de 7 à 31, ont été obtenues en séparant les chaînes synthétisées par chromatographie sur gel perméable (GPC). Chaque fraction a tout d'abord été solubilisée dans l'eau (0,05% p/v) par chauffage à 150°C. La solution a ensuite été filtrée sur 0.2 μ m à 80°C puis maintenue à une température entre 55 et 60°C durant 4 h en présence de vapeurs d'acétone et sous légère agitation.

3. Cristallisation homogène

Les images de microscopie électronique à balayage (MEB) montrent généralement des cristaux lamellaires oblongs, individuels ou agrégés (Figure 1), dont les caractéristiques géométriques dépendent des conditions de cristallisation et de la fraction d'amylose choisie. Les cristaux sont polydisperses et très agrégés lorsqu'ils sont préparés à partir de dextrines de pomme de terre (Figure 1a). Ceux préparés à partir d'amylose synthétique de DP 14-24 forment des cristaux de morphologie plus régulière, avec un extrémité plate et l'autre pointue (Figure 1b), tandis que des chaînes plus longues (DP 23-29) forment des agrégats de cristaux avec des extrémités plus arrondies (Figure 1c). Les clichés de diffraction électronique de monocristaux hydratés-congelés enregistrés à basse température permettent d'identifier sans ambiguïté l'allomorphe A (Figures 2a,b), les doubles hélices étant orientées parallèlement au grand axe du cristal (Figures 2a,c) [3]. La section transverse des cristaux est un parallélogramme dont les caractéristiques sont bien corrélées avec celles du plan de base de la maille monoclinique de l'allomorphe A (Figure 2d).



Figure 1 – Images MEB de cristaux d'amylose A préparés à partir de chaînes courtes d'origine et de DP différents : pomme de terre, DP 9-26 ; b) amylose synthétique, DP 14-24 ; c) amylose synthétique, DP 23-29.

Auteur à contacter : montesanti@cermav.cnrs.fr - Tél. : 04 76 03 76 11

Des travaux précédents ont montré par microscopie électronique en transmission (MET) que des petits cristaux de type A étaient constitués de lamelles de 5-7 nm d'épaisseur [6]. Le mécanisme de croissance de nos cristaux oblongs semble aussi reposer sur le développement d'un empilement lamellaire de doubles hélices. Les images de la surface de cristaux préparés à partir d'amylose synthétique, enregistrées par MEB avec un canon à effet de champ et par microscopie à force atomique (AFM), révèlent cette organisation lamellaire (Figure 2d) [7].



Figure 2 – a) monocristal d'amylose préparé en présence d'acétone (MET); b) cliché de diffraction électronique (allomorphe A). La flèche indique la direction des doubles hélices dans le cristal; c) micrographie optique en lumière polarisée. Les couleurs uniformes indiquent que les doubles hélices sont parallèles; d,e) structure lamellaire des cristaux suggérée par les images enregistrées par MEB-FEG (d) et AFM (e) en mode contact intermittent (image de phase) [7].

4. Cristallisation hétérogène

Des microfibrilles de cellulose ajoutées à une solution d'amylose constituent des sites de nucléation privilégiés pour le polymère. La cristallisation se développe alors à partir (Figure 3a) ou autour (Figure 3b) des microfibrilles. En particulier, cette technique s'est révélée indispensable pour déclencher la cristallisation de chaînes de faible DP (typiquement 7-12). Les cristaux obtenus à partir d'amylose synthétique restent oblongs mais sont moins longs (Figure 3a). Ceux formés à partir des chaînes issues du fractionnement de maltodextrines (donc légèrement branchées) présentent une organisation lamellaire irrégulière évoquant celle de l'amidon natif (Figure 3b). La cristallisation d'amylose synthétique induite par des surfaces de verre ou de mica conduit à la formation de "tapis" très denses de cristaux oblongs à section parallélogramme (Figures 3c,d).



Figure 3 –*a,b*) Images MET de cristaux de type A formés en présence de microfibrilles de cellulose, à partir d'amylose synthétique de DP 12-27 (a) et de dextrines commerciales (b, coloration négative) ; c,d) images MEB d'agrégats de cristaux d'amylose synthétique formés sur une lame de verre (DP 17-22).

5. Références

- [1] A. Buléon, P. Colonna, V. Planchot, S. Ball, *Starch granules: structure and biosynthesis*. Int. J. Biol. Macromol. **23** (1998) 85-112
- [2] J.L. Putaux, S. Molina-Boisseau, T. Momaur, A. Dufresne, *Platelet nanocrystals resulting from the disruption of waxy maize starch granules by acid hydrolysis.* Biomacromolecules **4** (2003) 1198-1202
- [3] A. Imberty, H. Chanzy, S. Perez, A. Buléon, V. Tran, *The double-helical nature of the crystalline part of A-starch.* J. Mol. Biol. **201** (1998) 365-378
- [4] G. Potocki de Montalk, P. Sarçabal, M. Remaud-Siméon, R.M. Willemot, V. Planchot, P. Monsan, *Amylosucrase from Neisseria polysaccharea: novel catalytic properties.* FEBS Lett. **471** (2000) 219-223
- [5] G. Potocki-Véronèse, J.L. Putaux, D. Dupeyre, C. Albenne, M. Remaud-Siméon, P. Monsan, A. Buléon, *Amylose synthesized in vitro by amylosucrase : morphology, structure and properties.* Biomacromolecules 6 (2005) 1000-1011.
- [6] A. Pohu, J.L. Putaux, V. Planchot, P. Colonna, A. Buléon, Origin of the limited α-amylolysis of debranched maltodextrins crystallized in the A form : a TEM study on model substrates. Biomacromolecules 5 (2004) 119-125.
- [7] Les auteurs remercient A. Heyraud (CERMAV) pour ses échantillons de maltodextrines fractionnées ainsi que les sociétés JEOL et VEECO pour les tests réalisés sur leurs appareils et durant lesquels certaines des images de MEB et d'AFM présentées dans ce travail ont été réalisées.

Nanotubes de diamides auto-assemblés en solvants organiques: études structurales et utilisation comme gabarits

Philippe Mésini^{a,*}, François-Xavier Simon^a, Nancy Diaz^a, Marc Schmutz^a

^a Institut Charles Sadron, 6 rue Boussingault, 67000 Strasbourg

Résumé – Une famille de composés diamides s'auto-assembent pour former des nanotubes dans certains solvants organiques. La structure des ces nanotubes a été étudiée par MET après cryofracture et par diffusion des RX et des neutrons aux petits angles, pour déterminer la géométrie de ces particules, puis par des méthodes spectroscopiques pour identifier les liaisons non-covalentes responsables de l'auto-assemblage. Ces nanotubes ont servi de gabarit pour former des matériaux polymères mésoporeux.

1. Etudes structurales de nanotubes auto-assemblés

De nombreux analogues du BHPB10 (figure 1) sont capables de s'auto-assembler pour former des objets fibrillaires de quelques microns de long et de quelques dizaines de nm de large. La formation de ces objets est réalisée en dissolvant les composés à chaud dans le solvant désiré et en laissant refroidir à température ambiante. On obtient à l'échelle macroscopique des gels qui sont thermoréversibles, ce qui montre que les molécules s'auto-assemblent par des liaisons non-covalentes.

La forme de ces auto-assemblages a été étudiée par cryofracture des organogels correspondant. Selon la structure de l'analogue, il s'agit soit de rubans plats, soit, comme dans le cas de BHPB10 lui-même, de nanotubes. La microscopie électronique et, en parallèle, des mesures de la diffusion des RX et des neutrons à petits angles nous ont permis de mesurer les caractéristiques géométriques des nanotubes : confirmation de la forme tubulaire, rayon interne et externe des nanotubes et estimation de la polydispersité des rayons. Les deux types de techniques donnent des résultats cohérents qui convergent pour montrer qu'il existe une corrélation entre le diamètre des nanotubes et la taille du groupe ester.



Figure 1 – Gauche: structure de BHPB10, un des diamides étudiés. Droite: cryofracture effectuées sur BHPB10/cyclohexane à 1% en poids. Barre = 100 nm

Dans cet exposé, on présentera également des études spectroscopiques par IR et UV qui permettent d'identifier les liaisons non covalentes responsables de la formation de ces particules, en particulier des liaisons H entre les groupes alides et des interactions π - π entre les parties aromatiques.

2. Utilisation de rubans hélicoïdaux et de nanotubes comme gabarit pour la formation de matériaux mésoporeuses

Le solvant dans lequel les nanotubes de BHPB10 se forment peut être remplacé par un monomère réticulable. Par cryofracture, nous avons montré que l'éthylèneglycol diacrylate conservait la forme des agrégats obtenus dans dans C_6H_{12} : on obtient des rubans hélicoïdaux à faible concentration et des nanotubes lorsque la concentration augmente. Le monomère est ensuite photopolymérisé pour former une résine contenant les particules auto-assemblées. Ces dernières, qui ne doivent leur cohésion qu'à des liaisons non-covalentes, peuvent

^{*} Auteur à contacter : mesini@ics.u-strasbg.fr – Tel : 03 88 41 40 70

être redissoutes en utilisant un solvant dissociant les liaisons H. La structure de la résine obtenue a été étudiée par tomographie sur des sections minces. Les tomogrammes obtenus montrent que la résine contient des pores qui sont la réplique des nanoparticules utilisées avec une bonne résolution. En particulier, il est possible d'obtenir des mésopores hélicoïdaux qui moulent les rubans auto-assemblés. A plus hautes concentrations en gabarit, on obtient des résines ayant des pores cylindriques. Des mesures de porosimétrie menées sur ces échantillons montrent que la distribution en taille de ces pores est étroite et que leur taille moyenne est bien imposée par le diamètre des nanotubes utilisés comme gabarit.

3. Références

- [1] N. Diaz; F.-X. Simon; M. Schmutz; M. Rawiso; G. Decher; J. Jestin; P. J. Mesini, *Self-assembled diamide nanotubes in organic solvents*. Angew Chem Int Ed Engl **44** (2005) 3260-4.
- [2] F. X. Simon; N. S. Khelfallah; M. Schmutz; N. Diaz; P. J. Mesini, *Formation of Helical Mesopores in Organic Polymer Matrices*. J. Am. Chem. Soc. **129** (2007) 3788-3789.

Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals

Roel P.A. Dullens^{1,2}, Volkert W.A. de Villeneuve¹, Maurice C.D. Mourad¹, A.V. Petukhov¹ and Willem K. Kegel¹

¹ Van 't Hoff Laboratory for Physical and Colloid Chemistry, Debye Institute, Utrecht University, Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The Netherlands

² 2. Physikalisches Institut, Universität Stuttgart, 70569 Stuttgart, Germany

Received: date / Revised version: date

Abstract. Confocal microscopy has been used to study the crystallization of two colloidal model systems that are geometrically frustrated in a completely different way: (I) hard colloidal polyhedrals, where crystallization is frustrated due to the incommensurate particle shape and (II) large spherical impurities in a sea of monodisperse colloidal hard spheres, where crystallization is frustrated by the introduction of impurities. As a reference system, we analyzed the crystallization of pure monodisperse colloidal hard spheres. We show that although the crystal structures of both systems are highly dissimilar on the individual particle level, both sources of geometrical frustration have a similar effect on the structure on the grain level. We quantitatively characterize the polycrystalline structures and study the crystallization process in time. Whereas grain boundaries persist in the frustrated systems due to structural arrest, the majority of grain boundaries anneals out quite rapidly in the reference system. Therefore, we argue that both sources of geometrical frustration experiment.

PACS. 61.72 Mn Grain and twin boundaries - 61.82 Rx Nanocrystalline materials - 82.70 Dd Colloids

1 Introduction

Crystals are characterized by perfect periodic order. However, in practice crystals always exhibit various types of imperfections or defects such as vacancies, dislocations, stacking faults, grain boundaries and impurities [1]. Defects can arise since these are frozen in during crystal growth or formed due to stress on the crystal. Furthermore, they strongly influence macroscopic properties of many materials like semiconductors, metals and ceramics [2]. Grain boundaries in crystals crucially influence the mechanical properties, as the grain size is directly related to the strength of materials [1–4]. For relatively small grain sizes the strength increases with increasing grain size [4-6], while for larger grain sizes the materials strengthens if the crystallites gets smaller (Hall-Petch effect) [7, 8]. Therefore, controlling the grain size, for instance by tuning the solidification rate, heating or mechanical annealing, is of paramount importance in material science [1, 3, 9, 10].

Studying grain boundary formation and grain growth in atomic and molecular crystals in real-space is rather difficult due to the small length scales involved in atomic and molecular systems. Consequently, computer simulations have proven to be beneficial to study these issues on the atomic level [11–17]. Inherent to their typical size, colloidal systems provide an excellent tool to address these issues experimentally. In contrast to atomic systems, colloidal systems consist of particles with a characteristic size between a nanometer and several micrometers. This length scale makes them very suitable to be studied in real-space and real-time by microscopy techniques [18–20]. In particular, the combination of advanced colloidal particles and confocal microscopy has already made it possible to study several fundamental condensed matter problems, such as freezing, melting and glass formation, on the single-particle level [10, 18–32]. Interestingly, colloidal systems exhibit similar phase-behaviour as atomic systems, making colloids a powerful model-system for condensed matter and atomic materials [33–36].

In this work, we consider two colloidal model systems that exhibit completely different types of geometrical frustration: the crystals of the colloidal polyhedrals are frustrated due to incommensurate particle shape [37], whereas the crystals in the second system are frustrated by the addition of model impurities [28, 30]. The influence of particle shape is e.g. relevant for applications in powder technology and ceramics [38], while the colloidal crystal containing impurities may serve as a model system for nanocrystalline materials containing dopants [15–17,39]. In our previous work we studied the structure of single crystalline domains of hard polyhedral colloids, without considering grain boundaries [37]. Furthermore, we addressed the influence of the presence of impurities on the dynamics of crystallization of colloidal hard spheres, without quantita-



Fig. 1. Confocal microscopy images of (A) the polyhedral particles and (B) the spherical reference particles $(9 \times 9 \ \mu m^2)$. (C) Confocal image of the impurities $(70 \times 70 \ \mu m^2)$ directly after synthesis. The larger particles (i.e. $d_i \in 7.5 - 31.5 \ \mu m$) were used as model impurities in a sea of small monodisperse particles $(d_p = 1.5 \ \mu m)$.

tively analyzing the final crystal structure [28,30]. Here, we use real-space confocal microscopy [40] to quantitatively characterize the polycrystalline structure of geometrically frustrated colloidal crystals. Our results clearly show that both sources of geometrical frustration –which are completely different in nature– significantly reduce the grain size of the colloidal crystals in a very similar way. In addition, we investigate the arrested grain growth by identifying the (time-dependent) defect-structure during grain growth.

2 Experimental

The 'polyhedral system' consists of crosslinked and fluorescently labeled polymethyl methacrylate (PMMA) colloids that are monodipserse in size, but exhibit a polyhedral particle shape [37,41] (see Fig. 1 A). In our experiments, we compare the polyhedrals to a reference system of spherical and size-monodisperse reference PMMA particles of equal size [42] (see Fig. 1B). The diameters d of the polyhedral and reference particles are respectively $d = 2.23 \pm 0.09$ and $d = 2.33 \pm 0.07$. The 'impurity system' consists of a sea of fluorescently labeled monodisperse PMMA particles with a diameter d_p of 1.5 ± 0.09 μm containing a small fraction of very large PMMA particles, called the impurities [28,30]. The impurities were obtained by a synthesis following [42]. The resulting particles were extremely polydisperse and very large ($d_i \in 0.1 - 100$ μ m) as illustrated in Fig. 1C. Impurities of different sizes were separated by repeated sedimentation. Subsequently a small amount (typically < 0.1 weigh %) of impurities of the desired size was added to a sea of small PMMA particles. As a result, systems of monodisperse PMMA spheres contaminated with differently sized model impurities were obtained. Obviously, the reference system is formed by the same monodisperse PMMA spheres $(d_p = 1.5 \ \mu m)$ without impurities. The impurtiy systems are characterized by the size ratio between the particles and the impurities

 $\alpha \equiv (d_i/d_p)$ m with d_i and d_p respectively the diameters of the impurity and the particles. In this work, we consider impurity systems with $\alpha = 5, 8, 13$ and 21.

The colloidal model systems were dispersed in a mixture of cis-decalin (Merck, for synthesis), tetralin (Merck, for synthesis) and carbontetrachloride (Merck, for spectroscopy), which simultaneously matches the refractive index and almost the mass density of the particles [30, 43]. In this solvent the particles interact via a hard-sphere-like potential [43,44]. The dispersions were contained in small homemade vials [43] and the particles were imaged using a Nikon TE 2000U inverted microscope with a Nikon C1 confocal scanning laser head. For the polyhedral colloids, samples with a volume fraction $\phi \equiv \rho v \approx 0.40$ were prepared (with ρ the number density and v the particle's volume). The impurity systems were prepared at relatively high volume fraction ($\phi \approx 0.55$) to minimize the mobility of the impurity during the measurements [28, 30]. The volume fractions of the samples were defined relative to the random close packing density at the relevant polydispersity [45].

In the polyhedral, the impurity and the reference systems the colloidal crystal heterogeneously nucleates at the wall, followed by subsequent upward growth [28, 30, 32, 46]. As a result, the (111)-plane of the crystal is oriented at the wall, allowing a quantitative 2D in-plane analysis of the systems [24, 28, 30, 37, 46, 47]. The structure of the polyhedrals was analyzed after slow sedimentation had fully completed as the influence of the particle shape is most pronounced at highest compression. Since the layering in the polyhedral system did not persist in bulk [37], we studied the first layer at the glass wall in this system. Although certainly interesting, the question as to how the structure of the polyhedrals evolves in the third dimension lies outside the scope of this work. The impurity system was studied in the plane corresponding to the center of the impurity, which was typically 20 μ m above the glass wall. Furthermore, we studied the time-dependent structure of both systems during crystallization. The centers of the particles were located using image-analysis software similar to that described in [48]. We verified that the polyhedral particle shape did not significantly affect the accuracy of the particle tracking.

3 Results and discussion

Representative confocal micrographs of the colloidal crystal formed by the frustrated and reference systems are shown in Fig. 2. The structure of both the polyhedrals and the impurity system exhibit a much higher degree of polycrystallinity compared to the structure formed by the reference spheres. To quantify this, we computed the radial distribution function g(r) (being proportional to the probability of observing a particle a distance r away from a given particle):

$$g(r) = \frac{1}{\rho} \left\langle \sum_{j \neq i} \delta(r_i - r_j - r) \right\rangle.$$
 (1)

Roel P.A. Dullens et al.: Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals



Fig. 2. Representative confocal images of (A) the polyhedrals $(75 \times 75 \ \mu m^2)$ and (B) the impurity system for $\alpha = 13$ (60 × 60 μm^2) and (C) the reference spheres for the polyhedrals $(75 \times 75 \ \mu m^2)$. The system without impurities is equivalent to the image shown in (C).

The indices i and j run over all particles. The radial distribution functions for the polyhedral, the impurity and the reference systems are shown in Fig. 3 A1) and B1). We observe for the polyhedrals that the peaks in the q(r)are markedly broadened and that the structure in the q(r)decays much faster with respect to the reference q(r). Nevertheless, the clear differences between the q(r) of the polyhedrals and the reference q(r) are not due to polycrystallinity. The polyhedral particle-shape frustrates the hexagonal crystal on the single-particle level, leading to significant differences between the radial distribution functions [37]. Moreover, the differences in the radial distribution functions observed in Fig. 3 A1), are similar to those observed in single-crystalline regions [37]. Thus, the q(r) is relatively insensitive to the presence of grain boundaries. This is corroborated by the impurity-q(r), which appears to be rather similar to that of the reference system without impurities. Hence, in the impurity system the crystals are not frustrated on the particle level, leading to similar radial distribution functions for the impurity and reference system despite the presence of grain boundaries. Note that the difference between the reference radial distribution functions in Fig. 3 A1) and B1) is due to a difference in volume fraction. Recall that the polyhedral system has been analyzed after sedimentation had fully completed, in contrast to the impurity system. The volume fraction can be quantified in terms of the two-dimensional packing fractions $(\eta = N_T A_p / L^2)$, with N_T the total number of particles in the image and L^2 the area of the image). Indeed, the more pronounced peaks in the reference g(r) in Fig. 3 A1) (polyhedrals) correspond to a packing fraction of $\eta = 0.85$, which is clearly higher than $\eta = 0.74$ for the reference q(r) in Fig. 3B1) (impurity system).

The loss of positional order shows up strongly in reciprocal space. The 2D structure factor is computed on a 2D grid of **q** -values with a sampling rate of π/L with L the size of the microscopic image, as in [?]:

$$S_{\mathbf{q}} = \frac{1}{N} \left| \sum_{n=1}^{N} exp(i(\mathbf{q}) \cdot)(\mathbf{r})_{\mathbf{n}} \right|$$
(2)

with $\mathbf{r_n}$ the particle coordinates and N the total number of particles. The structure factor profile S(q) and the g(r) profile are two related but distinctly different representations. As will be shown in more detail below, the S(q) is more convenient for quantitative characterization of various types of long-range positional disorder, which is hidden in the details of the decay of the higher-order peaks of q(r). The distinction between the finite-size effects (abrupt loss of the positional order) and the secondtype disorder (monotonic deformation of the lattice) is extremely difficult on the basis of g(r) but is easily obtainable from S(q). The structure factors are presented in figure 4 A) and B) for, respectively, the polyhedrals and the reference spheres. Whereas the spheres are monocrystalline, the S(q) for the polyhedrals is powderlike, with characteristic rings instead of sharp spots. A similar trend is observed for the impurity system and its reference system in figure 4D) and E). A notable difference between the impurity system and the polyhedral system shows up in the radially averaged profiles, shown for the polyhedral system and the impurity system and their refence systems in figure 4C) and figure 4F) respectively. As was clear from the g(r) as well the positional order decays much faster in the polyhedral system. However, the angular profiles of the polyhedral system seem much wider than in the impurity system as well, which also follows from figure 4 A), where the intensity range used to depict the profile is much smaller than in figure 4B). This seems to point to orientational changes within the grain for the polyhedral system.

The bond-orientational correlation function $g_6(r)$ is significantly affected by the polycrystallinity, as is evident from Fig. 3A2) and B2). The bond-orientational correlation function $g_6(r)$ [47,49] is defined as

$$g_6(r) = \langle \psi_6^*(0)\psi_6(r)\rangle \tag{3}$$

with

$$\psi_6(r_i) = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^{N} \exp[6i\theta(r_{ij})].$$
 (4)

Here, ψ_6 is the local bond-orientational order parameter, where the summation j runs over all, in total N, near-



Fig. 3. (A1) Radial distribution functions g(r), (A2) bond-orientational correlation functions $g_6(r)$ and angle distributions (A3) for the polyhedrals (grey) and the reference spheres (black). (B1-B3) Same as A1-A3, but now for the impurity system (grey) and the reference system without impurities (black). (B1) and (B2): $\alpha = 21$, (B3): $\alpha = 5, 13, 21$. The radial distribution functions corresponding to the reference system have been vertically shifted for clarity. The insets in (A1 and B1) show an enlargement of the first peaks of g(r) to emphasize the differences between the geometrically frustrated and reference systems.

est neighbors of particle *i*. $\theta(r_{ij})$ is the angle between the bond-vector connecting particles i and j and an arbitrary fixed reference axis. The $\langle \rangle$ in Eq. (3) denote averaging over all pairs of particles and the index i in Eq. (4) runs over all particles. For both the polyhedral and the impurity system, the $g_6(r)$ decays much faster than for the reference systems, indicating that the bond-orientational correlation is gradually lost in the frustrated systems. Indeed, polycrystallinity, where every crystallite has a different orientation, is expected to destroy the bond-orientational order on a length scale comparable to the grain size. Therefore, we determined the orientational correlation length ξ_O by fitting an exponential decaying function to the envelope of $g_6(r)$: envelope of $g_6(r) \propto \exp\left[-r/\xi_O\right]$ [47,49, 51]. Hence, ξ_O is a measure for the typical size of the single crystalline domains. The orientational correlation length ξ_O being approximately 18 diameters for the polyhedrals and 9 diameters for the impurity system, indeed roughly corresponds to the grain size as can be inferred from the confocal images (Fig. 2A and B). Interestingly, no systematical trend in the grain size as a function of the size ratio α was found, which suggests that the impurities act as immobile obstacles during the annealing of the grain boundaries. The bond-orientational correlation function of the reference systems show much slower, algebraic decay. The accompanying orientational correlation length ξ_O is more than 100 particle diameters for the reference systems, which points to the presence of long-range orientational order, i.e. large single-crystalline domains. Again,

4

the (minimal) difference between the $g_6(r)$ of both reference systems can be attributed to the slightly different packing fraction.

Direct information about the polycrystallinity of a crystalstructure is also given by orientational profile of the structure factor [51]. In Fig. 3A3) and B3), we show the real-space analog of this profile, that is, the distribution of angles that all nearest neighbor particles makes (with respect to an arbitrary reference axis). Clearly, in both reference systems three peaks at multiples of 60° are observed, corresponding to the three lattice orientations of a hexagonal crystal. Note that peaks with an orientational difference of 180° correspond to the same lattice orientation and are omitted for clarity. The absence of side-peaks points towards the single-crystalline structure of the reference colloidal crystals. The situation changes dramatically in the frustrated systems, where the peaks of the angle distributions are considerably broadened. Moreover, the angle distributions of the frustrated systems do not reach the zero baseline and show many other peaks. This is a direct consequence of the polycrystalline nature of the frustrated systems, as the presence of differently oriented crystalline domains results in broadening and eventually in a whole range of peaks in the angle distribution. We did not find a correlation between the orientations of the crystallites and the local curvature of the impurity, which is consistent with the absence of a relation between the grain size and the size ratio α . Note that the peaks in the angle distribution of the impurity system are generally sharper than



Roel P.A. Dullens et al.: Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals

Fig. 4. The structure factor $S(\mathbf{q})$ for the polyhedrals (A) and the impurity system (D). The reference structure factors for both systems are shown in panels B) and E). The radially averaged profiles are shown in panels C) and F). The structure factor for the potatoe system decays remarkably more rapidly.

those of the polyhedral system, which is related to the different nature of geometrical frustration in both systems: the orientation within the single grains is quite uniform in the impurity system, but changes much faster for the impurity system. This is illustrated in figure 5, which show plots of the particle positions with colors assigned based on the local ψ_6 orientation. Within the grains, the orientation of the polyhedral sometimes changes within several color ranges, which is certainly not the case in the impurity and reference systems.

To elucidate how the grain boundaries are formed we studied the crystallization as a function of time. In Fig. 6 Delaunay triangulations corresponding to different stages during crystallization are presented. The color in the triangulations corresponds to the coordination number of the particles (see caption Fig. 6). In both the polyhedral and the impurity system, crystalline regions appear (Fig. 6A1, B1) simultaneously in different regions of the sample. These crystallites subsequently grow (Fig. 6A2-A4, B2-B4) and meet at a certain time. Due to the random orientations of the crystallites, grain boundaries are initially formed. This rules out the scenario that an single crystallite breaks into different crystallites due to the geometrical frustration. Interestingly, the reference systems crystallize similarly as the frustrated systems, resulting in a crystal that is initially relatively rich in grain boundaries [28,46]. However, the striking difference is that in the reference systems, the grain boundaries gradually anneal in time as is evident from Fig. 2C, whereas they persist in the

polyhedral and impurity system on our experimental time scales (Fig. 2A and B) [28]. In other words, the time scale associated with the reorientation of the different crystal-lites –necessary to form a single crystal– is much larger for the frustrated systems than for the the reference systems.

The final structure in both systems studied here is determined by a subtle interplay between geometrical frustration, crystallization and kinetic arrest. Could it be that in the geometrically frustrated crystals the grain boundaries provide a route to minimize the stress in a similar way as the grain boundary scars that appear in a hexagonal crystal on a curved surface [25,26]? Despite their incommensurate shape, the polyhedral particles form hexagonal structures, with well defined and on average straight crystal axes [37]. Therefore, there it is unlikely that the introduction of a grain boundary reduces the stress in the crystal. However, due to the increased excluded volume with respect to a sphere, a polyhedral shape decreases the mobility of the particles, especially at high densities. As particle mobility drives the reorientation of crystallites, we argue that decreased mobility of the polyhedral particles leads to structural arrest of the crystallites, i.e. a "glass" of small, structurally arrested crystallites. The observation of vacancies and line defects (Fig. 2), which form due to the annealing of small crystallites, corroborate that the crystallization process has indeed been arrested. A similar argument can be given for the impurity system. An impurity locally introduces defects, but does not necessarily induce grain boundaries. Note that, if there exists

Roel P.A. Dullens et al.: Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals



Fig. 5. (Color Online) Plots of (A) the polyhedral system, (B) the impurity system and (C) the polyhedral system. Particles are assigned a color based on their ψ_6 orientation, as indicated in the legend of panel C). Within the grains, the reference system and the impurity system have a fairly uniform orientation, whereas the distribution of orientations within the polyhedral orientations is relatively broad.

a grain boundary, it is energetically favourable to annihilate some defects by locating the impurity in the grain boundary [15,17,51,52]. Nevertheless, the impurities serve as immobile obstacles, which significantly slow down the reorientation-proces of the crystallites around the impurity. Consequently, this structural arrest again leads to the formation of a polycrystalline glass around the impurities.

4 Conclusions

Colloidal systems provide a powerful, many-particle, experimental system that can provide valuable contributions to increase the understanding of the microscopic origins behind macroscopic properties of nanocrystalline materials and a valuable addition to the widely used computer simulation studies. In this work, we have shown how colloidal crystals can be used to demonstrate that two completely different ways of geometrical frustration both significantly decrease the grain size in materials: (I) frustration due to a polyhedral particle shape stabilizes small crystal grains on a single particle level whereas (II) frustration by the introduction of impurities stabilizes small crystallites on the single grain level. We expect that by increasing the roughness of the particle-shape or the concentration of the impurities, this structural arrest becomes more pronounced, which could be used to tune the grain size, to stabilize nanocrystalline materials and addressing fundamental issues in materials science [15–17,53,54]. Examples include designing highly ductile nanocrystalline materials [15–17,53–55], tackling the microscopic origin of embrittlement due to impurities [14,39] and understanding the high diffusivities and catalytic properties [56].

5 Acknowledgements

Hans Scherff and Esther Groeneveld are acknowledged for particle synthesis. This work is part of the research programme of the Stichting voor Fundamenteel Onderzoek der Materie (FOM), financially supported by the Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO). RPAD acknowledges the Alexander von Humboldt Foundation for financial support. Support through the Transregion Sonderforschungsbereich 6 (SFB TR6) through the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) is acknowledged.

References

- 1. R. Phillips, *Crystals, defects and microstructure* (Cambridge University Press, Cambridge, 2001)
- J.P. Hirth, J. Lothe, *Theory of dislocations*, 2nd edn. (Wiley, New York, 1982)
- S.E. Offermans, N.H. van Dijk, J. Sietsma, S. Grigull, E.M. Lauridsen, L. Margulies, H.F. Poulsen, M.T. Rekveldt, S. van der Zwaag, Science 298, 1003 (2002)
- 4. S. Yip, Nature **391**, 532 (1998)
- J. Schiotz, F.D. Di Tolla, K.W. Jacobsen, Nature **391**, 561 (1998)
- 6. H. Van Swygenhoven, Science 296, 66 (2002)
- 7. E.O. Hall, Proc. Phys. Soc. Lond. B 64, 747 (1951)
- 8. N.J. Petch, J. Iron Steel Inst. 174, 25 (1953)
- 9. H. Gleiter, Acta Mater. 48, 1 (2000)
- 10. Q.H. Wei, X.L. Wu, Phys. Rev. E 70, 020401(R) (2004)
- H. Van Swygenhoven, D. Farkas, A. Caro, Phys. Rev. B 62, 831 (2000)
- P.M. Derlet, H. Van Swygenhoven, Phys. Rev. B 67, 014202 (2003)
- D. Wolf, V. Yamakov, S.R. Phillpot, A. Mukherjee, H. Gleiter, Acta Mater. 53, 1 (2005)
- R. Schweinfest, A.T. Paxton, M.W. Finnis, Nature 432, 1008 (2004)
- P.C. Millett, R.P. Selvam, S. Bansal, A. Saxena, Acta Mater. 53, 3671 (2005)
- P.C. Millett, R.P. Selvam, A. Saxena, Acta Mater. 54, 297 (2006)
- P.C. Millett, R.P. Selvam, A. Saxena, Acta Mater. 55, 2329 (2007)
- 18. A. van Blaaderen, P. Wiltzius, Science 270, 1177 (1995)
- 19. W.K. Kegel, A. van Blaaderen, Science 287, 290 (2000)
- E.R. Weeks, J.C. Crocker, A.C. Levitt, A. Schofield, D.A. Weitz, Science 287, 627 (2000)

Roel P.A. Dullens et al.: Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals



Fig. 6. (Color online) (A1-A4) Delaunay triangulations corresponding to different stages during crystallization of the polyhedral colloids (100 × 100 μ m²): A1-A4 respectively correspond to 0, 6, 12, 25 minutes after homogenization. (B1-B4) The same, but now for the impurity system with $\alpha = 13$ (60 × 60 μ m²): B1-B4 respectively correspond to 41, 60, 65, 80 minutes after homogenization. The color code for the coordination number of the particles is as follows: four-fold: blue, five-fold: green, six-fold: no color, seven-fold: red, eight-fold: purple and more than eight-fold: brown. The triangulation within the impurity has no physical meaning.

- 21. A. Pertsinidis, X.S. Ling, Nature 413, 147 (2001)
- S. Kodambaka, S.V. Khare, 1, W. Swich, K. Ohmori, I. Petrov, J.E. Greene, Nature 429, 49 (2004)
- P. Schall, I. Cohen, D.A. Weitz, F. Spaepen, Science 305, 1944 (2004)
- R.P.A. Dullens, W.K. Kegel, Phys. Rev. Lett. 92, 195702 (2004)
- P. Lipowsky, M.J. Bowick, J.H. Meinke, D.R. Nelson, A.R. Bausch, Nature Mater. 4, 407 (2005)
- T. Einert, P. Lipowsky, J. Schilling, M.J. Bowick, A.R. Bausch, Langmuir 21, 12076 (2005)
- 27. A. Pertsinidis, X.S. Ling, New J. Phys. 7, 33 (2005)
- V.W.A. Villeneuve, R.P.A. Dullens, D.G.A.L. Aarts, E. Groeneveld, J.H. Scherff, W.K. Kegel, H.N.W. Lekkerkerker, Science **309**, 1231 (2005)
- A.M. Alsayed, M.F. Islam, J. Zhang, P.J. Collings, A.G. Yodh, Science **309**, 1207 (2005)
- V.W.A. Villeneuve, D. Verboekend, R.P.A. Dullens, D.G.A.L. Aarts, W.K. Kegel, H.N.W. Lekkerkerker, J. Phys.: Condens. Matter 17, S3371 (2005)
- P. Schall, I. Cohen, D.A. Weitz, F. Spaepen, Nature 440, 319 (2006)
- R.P.A. Dullens, D.G.A.L. Aarts, W.K. Kegel, Phys. Rev. Lett. 97, 228307 (2006)
- A. Vrij, E.A. Nieuwenhuis, H.M. Fijnaut, W.G.M. Agterhof, Faraday Discuss. Chem. Soc. 65, 101 (1978)
- 34. P.N. Pusey, W. van Megen, Nature **320**, 340 (1986)
- P.N. Pusey, in *Liquids, Freezing and the Glass Transition*, edited by J.P. Hansen, D. Levesque, J. Zinn-Justin (Elsevier, Amsterdam, 1991)
- 36. W. van Megen, S. Underwood, Nature 362, 616 (1993)

- R.P.A. Dullens, M.C.D. Mourad, D.G.A.L. Aarts, J.P. Hoogenboom, W.K. Kegel, Phys. Rev. Lett. 96, 028304 (2006)
- R.W. Rice, Ceramic Fabrication Technology (Marcel Dekker, New York, 2003)
- G. Duscher, M.F. Chisholm, U. Alber, M. Rühle, Nature Mater. 3, 621 (2004)
- 40. R.H. Webb, Rep. Prog. Phys. 59, 427 (1996)
- R.P.A. Dullens, E.M. Claesson, W.K. Kegel, Langmuir 20, 658 (2004)
- 42. G. Bosma, C. Pathmamanoharan, E.H.A. de Hoog, W.K. Kegel, A. van Blaaderen, H.N.W. Lekkerkerker, J. Colloid Interface Sci. 245, 292 (2002)
- E.H.A. de Hoog, W.K. Kegel, A. van Blaaderen, H.N.W. Lekkerkerker, Phys. Rev. E 64, 021407 (2001)
- R.P.A. Dullens, D.G.A.L. Aarts, W.K. Kegel, Proc. Natl. Ac. Sci. USA **103**, 529 (2006)
- 45. W. Schaertl, H. Sillescu, J. Stat. Phys. 77, 1007 (1994)
- 46. J.P. Hoogenboom, P. Vergeer, A. van Blaaderen, J. Chem. Phys. **119**(6), 3371 (2003)
- C.A. Murray, in Bond-orientational order in condensed matter systems, edited by K. Strandburg (Springer-Verlag, New York, 1992), pp. 137–215
- 48. J.C. Crocker, D.G. Grier, J. Colloid Interface Sci. 179, 298 (1996)
- 49. D.R. Nelson, *Defects and geometry in condensed matter physics* (Cambridge University Press, Cambridge, 2002)
- R.P.A. Dullens, A.V. Petukhov, Europhys. Lett. 77, 58003 (2007)
- D.R. Nelson, M. Rubinstein, Philosophical Magazine A. 46(1), 105 (1982)
- Y. Ishida, S. Okamoto, S. Hachisu, Acta Met. 26, 651 (1978)

8

Roel P.A. Dullens et al.: Confocal microscopy of geometrically frustrated hard sphere crystals

- 53. J. Weissmüller, Nanostruct. Mater. $\mathbf{3},\,261~(1993)$
- 54. C.E. Krill, R. Klein, S. Janes, R. Birringer, Mater. Sci. Forum **179 - 181**, 443 (1995)
- 55. J. Weissmüller, J. Markmann, Adv. Eng. Mat. 7, 202 (2005)
- 56. C. Suryanarayana, Adv. Eng. Mat. 7, 983 (2005)

Auto-assemblage du collagène en phases denses : du cristal liquide au gel fibrillaire.

F. Gobeaux^{*a,b*}, G. Mosser^{*a*}, E. Belamie^{*a*}, P. Davidson^{*b*}, P. Panine^{*c*}, Anny Anglo^{*a*}, M.-M. Giraud-Guille^{*a*}

 ^a Chimie de la Matière Condensée, UMR 7574 CNRS – Université Pierre et Marie Curie, ENSCP-Ecole Pratique des Hautes Etudes, 12 rue Cuvier 75005 Paris, France
 ^b Laboratoire de Physique du Solide, UMR 8502 CNRS Université Paris Sud XI, Bât. 510, Orsay 91405 Cedex, France.
 ^c High Brilliance Beamline ID2, European Synchrotron Radiation Facility BP 220, F-38043 Grenoble Cedex

Résumé – Nous avons étudié la transition isotrope/nématique chiral de solutions concentrées de collagène. La connaissance de la structure de la phase cristal-liquide et le contrôle des conditions physicochimiques (concentration, pH, force ionique) nous a permis de mieux comprendre certains aspects de la fibrillogenèse. Nous montrons comment ces différents paramètres influencent la structure des gels fibrillaires ainsi obtenus.

1. Etude de la transition isotrope/cholestérique

Le collagène est une protéine structurale majeure de la matrice extracellulaire. Dans les conditions physiologiques, les molécules de collagène sont assemblées sous forme de fibres qui structurent différents tissus tels que les os, la peau et la cornée.

Les solutions concentrées de collagène acido-soluble s'organisent spontanément en phase cholestérique (ou nématique chiral) pour des raisons entropiques de volume exclu. En appliquant un cisaillement modéré, nous arrivons à produire une phase nématique uniaxe. Le pic d'interférence mesuré par diffusion des rayons x aux petits angles nous a permis de caractériser l'ordre positionnel de part et d'autre de la transition isotropenématique (I/N*). Nous avons ainsi estimé la distance moyenne entre les molécules à différentes fractions volumiques φ et montrons qu'elle décroit linéairement en fonction de $\varphi^{-1/2}$ depuis 14.2±1.2 nm à 20 mg/mL jusqu'à 5±0.6 nm à 160 mg/mL. Les concentrations critiques à la transition et le paramètre d'ordre de la phase nématique sont cohérents avec les prédictions théoriques pour des macromolécules flexibles.



Figure– a) Phase cholestérique observée en microscopie optique entre polariseurs croisé. Barre d'échelle =10µm - b) fibre de collagène reconstituée observéeen microscopie électronique à transmission (détail). Barre d'échelle=200 nm.

En modifiant les conditions électrostatiques, nous pouvons induire la fibrillogenèse. Dans une large gamme de pH (6-12) autour du point isoélectrique (9,3) nous obtenons des gels fibrillaires denses conservant l'ordre à grande distance de la phase cristal-liquide. Ces gels ont été caractérisés par diffusion des rayons x et microscopie électronique à transmission sur coupes et sur cryofractures. Nous montrons notamment que la taille des fibres de collagène augmente avec la concentration jusqu'à atteindre un maximum vers 150 mg/ml. Au-delà, leur taille chute, probablement pour des raisons de mobilité moléculaire réduite.

2. Conclusion

Des matrices denses de collagène peuvent être obtenues en modulant les interactions electrostatiques dans des solutions concentrées de collagène de type I. De tels matériaux biomimétiques ont potentiellement de nombreuses applications dans le domaine de l'ingénierie tissulaire du fait de leur proximité structurale avec les principaux tissus biologiques tels que les os, la peau et la cornée.

3. Références

M.-M. Giraud-Guille, G. Mosser, C. Helary, D. Eglin Bone matrix like assemblies of collagen : From liquid crystals to gels and biomimetic materials Micron, 36, 7-8 (2005) 602-608

G. Mosser, A. Anglo, C. Helary, Y. Bouligand, M.-M. Giraud-Guille Dense tissue-like collagen matrices formed in cell-free conditions Matrix Biology, 25, 1 (2006) 3-13

F. Gobeaux, E. Belamie, G. Mosser, P. Davidson, P. Panine, M.-M. Giraud Guille *Cooperative ordering of collagen triple helices in the dense state* Langmuir, XX, X (2007) (accepté)

Auto-organisation de microcristaux de cellulose de coton en suspension dans l'eau ou dans les solvants organiques apolaires

Samira Elazzouzi^{a*}, Jean-Luc Putaux^a, Marc Schmutz^b, Yoshiharu Nishiyama^a, Isabelle Paintrand^a et Laurent Heux^a

^a Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, ICMG-CNRS, BP 53, F-38041 Grenoble cedex 9 ^b Institut Charles Sadron, CNRS-ULP, BP 40016, 6 Rue Boussingault, 67083 Strasbourg cedex

Résumé - Les microcristaux préparés par hydrolyse acide de microfibrilles de cellulose de coton sont constitués de quelques cristallites accolés et sont très polydisperses en longueur et en largeur. En suspension dans l'eau ou dans des solvants organiques apolaires, au-delà d'une concentration critique, ces objets s'auto-organisent en phase cristal liquide de type chiral nématique. Le diagramme de phase et la variation du pas cholestérique en fonction de la concentration dépendent fortement des dimensions des microcristaux et du taux de charge de surface.

1. Introduction

L'hydrolyse de microfibrilles de cellulose de coton par l'acide sulfurique permet de préparer des microcristaux qui forment des suspensions stables dans l'eau ou dans des solvants organiques. Selon la concentration, ces objets s'auto-organisent spontanément en phases cristal liquide de type chiral nématique (cholestérique) [1,2]. Ce phénomène est bien décrit par la théorie d'Onsager [3], moyennant la prise en compte des interactions électrostatiques [3]. Dans un premier temps, nous avons caractérisé la morphologie et la structure des bâtonnets de cellulose par microscopie électronique à transmission (MET). Nous avons ensuite étudié l'influence de la géométrie des microcristaux, de leur taux de charge de surface et de leur concentration sur leurs propriétés d'auto-organisation dans l'eau et dans quelques solvants organiques apolaires [4].

2. Préparation des microcristaux de cellulose de coton

Des microcristaux ont été préparés par une hydrolyse à l'acide sulfurique de microfibrilles de coton à différentes températures (45 à 72°C) suivie d'une sonication [4]. Dans l'eau, ces bâtonnets ont formé des suspensions stables par répulsion électrostatique des groupements sulfonates présents en surface. Dans les solvants organiques apolaires (cyclohexane, toluène et méthacrylate de méthyle), la dispersion des microcristaux a été rendue possible par adsorption d'un tensioactif de type Beycostat NA (ester phosphorique de nonylphénol éthoxylé) qui génère une répulsion stérique [4].

3. Morphologie des microcristaux – taux de charge

La coloration négative (Figure 1a) et la cryo-MET (Figure 1b) ont été utilisées pour déterminer la géométrie des microcristaux. Leur polydispersité en longueur et en largeur est très grande. Plus la température d'hydrolyse est élevée, plus la longueur moyenne des objets diminue et plus le taux de charge augmente. Les images MET montrent que les particules sont constituées de cristallites élémentaires accolées, qui n'ont été séparées ni par l'hydrolyse ni par la sonication. La chiralité géométrique observée pour des microcristaux de cellulose d'origine différente n'a pu être mise en évidence sur des objets si courts [4].

4. Auto-organisation des microcristaux en suspension

La microscopie optique en lumière polarisée de capillaires en verre contenant les suspensions permet d'observer la séparation de phase en fonction de la concentration (Figure 2a). La phase chirale nématique est identifiée par la présence d'une texture dite en "empreinte digitale" (Figure 2b).



Figure 1 - Micrographies MET de microcristaux obtenus par hydrolyse à l'acide sulfurique de microfibrilles de cellulose de coton : a) coloration négative ; b) cryo-MET.

^{*} Auteur à contacter : samira.elazzouzi@univ-rennes1.fr – Tél. : 02 23 23 56 45

Pour les suspensions aqueuses, l'étude des diagrammes de phase met en évidence une augmentation du volume exclu avec le taux de charge (et donc la température d'hydrolyse). Le pas P varie avec la concentration C selon une loi $P \propto C^{-1}$, ce qui est cohérent avec une description des microcristaux comme des objets chiraux rigides [5]. Dans les solvants organiques, l'évolution de la concentration critique avec la longueur des objets montre que l'on reste probablement dans un modèle d'interaction de cœur dur [3]. Cette concentration critique diminue lorsque la constante diélectrique du solvant organique apolaire augmente. Cet effet est probablement dû à une contribution électrostatique partielle dans l'interaction entre bâtonnets. La variation du pas cholestérique avec la nature du solvant ne permet pas de décider si la chiralité de l'auto-organisation hélicoïdale est seulement due à la géométrie des microcristaux ou à une effet de type électrostatique. Nous avons par ailleurs montré que la texture en empreinte digitale de la phase cholestérique évoluait dans le temps et/ou avec la température vers une texture polygonale (Figure 2c).



Figure 2 – a) Images de microscopie optique en lumière polarisée de la phase chirale nématique d'une suspension à 38,7% (p/p) de microcristaux de cellulose de coton dans le cyclohexane ; b) vue agrandie des "empreintes digitales" ; c) texture de champs polygonaux observée dans une suspension à 24,5% (p/p) après plusieurs jours à 60°C.

5. Caractérisation ultrastructurale par cryofracture

L'observation par MET de répliques de cryofracture de suspensions concentrées nous a permis de caractériser l'ultrastructure de phases anisotropes à l'échelle de l'objet individuel (Figure 3). En particulier, pour une suspension à 35% dans le toluène, on reconnaît une texture en arceaux typiques d'arrangements hélicoïdaux lorsque la fracture est oblique par rapport au directeur du cholestérique (Figure 3a). Les microcristaux ont une direction commune si la fracture est perpendiculaire (Figure 3b). Pour une phase anisotrope de type gel d'une suspension à 14% dans l'eau, les microcristaux semblent groupés en paquets de quelques unités, eux-mêmes organisés en torsades (Figure 3c).



Figure 3 – Images de MET de répliques de surface après cryofracture : a,b) phase anisotrope cholestérique d'une suspension de microcristaux de cellulose de coton dans le toluène pour une concentration de l'ordre de 35% (p/p) ; c) phase anisotrope de type gel d'une suspension de microcristaux à 14% dans l'eau.

6. Références

- [1] J.F. Revol, H. Bradford, J. Giasson, R.H. Marchessault et D.G. Gray, *Helicoidal self-ordering of cellulose microfibrils in aqueous suspension*, Int. J. Biol. Macromol. **14** (1992) 170-172.
- [2] L. Heux, G. Chauve et C. Bonini, Nonflocculating and chiral-nematic self-ordering of cellulose microcrystals suspensions in nonpolar solvents, Langmuir 16 (2000) 8210-8212.
- [3] L. Onsager, *The effects of shapes on the interaction of colloidal particles*. Annals of the New York Academy of Sciences 51(1949) 627-659.
- [4] S. Elazzouzi, Auto-organisation de microcristaux de cellulose en suspension dans l'eau ou dans les solvants organiques apolaires. Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier, Grenoble (2006).
- [5] J.P. Straley, Theory of piezoelectricity in nematic liquid crystals, and of the cholesteric ordering, Phys. Rev. A 14 (1976) 1835-1841.

La caséine κ : quel rôle dans la structuration de la micelle de caséines ?

Joëlle Léonil^{a1}, Stéphane Marchin^a, Gwenaëlle Henry^a, Diane Jouanneau^a et Jean-Luc Putaux^b

^a INRA - Agrocampus, UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, 65 Rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes Cedex ^b Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, ICMG-CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9

Résumé – La micelle de caséines est un composant-clé du lait de par son rôle fonctionnel (digestibilité, apport de calcium, aptitudes technologiques). Malgré son importance, la structure de cet assemblage supramoléculaire n'est toujours pas élucidée. Nous avons utilisé la microscopie électronique, notamment la cryomicroscopie, pour étudier la morphologie et la structure interne de la micelle ainsi que les assemblages formés par l'un des ses constituants, la caséine κ .

1. Introduction

Les micelles de caséines sont élaborées dans la cellule épithéliale mammaire au cours d'un processus compartimenté. Celui-ci est initié dans le réticulum endoplasmique, se poursuit dans l'appareil de Golgi et se termine dans les vésicules de sécrétion où les micelles sont transportées vers la membrane apicale des cellules épithéliales mammaires [1]. Les observations morphologiques indiquent que des structures pré-micellaires semblent déjà exister dans le cis Golgi. Ces micelles sont des colloïdes édifiés à partir de quatre types de caséines (α_{s1} , α_{s2} , β et K) en interaction avec une fraction minérale dont le composant prédominant est le phosphate de calcium. Elles se présentent sous la forme d'édifices supramoléculaires polydisperses, de 180 nm de diamètre moyen. Cette organisation propre aux caséines confère au lait des propriétés très spécifiques tant sur le plan biologique que technologique. Notre objectif est de comprendre l'organisation et le rôle des caséines au sein de cet assemblage micellaire. Sous forme individuelle, les caséines sont des protéines peu structurées [2] qui ont une forte propension à s'auto-associer et possèdent, pour certaines, comme la caséine K, l'aptitude à former des fibrilles de type amyloïde [3]. Cette caséine a pourtant un rôle stabilisateur dans la structure micellaire. Ces informations sont à intégrer dans le processus de structuration in vivo de la micelle de caséines pour comprendre les règles qui président à son assemblage, sachant que la structure de la micelle n'est toujours pas clairement établie. Dans cette communication, nous présenterons les observations réalisées par microscopie électronique en transmission (TEM) sur des micelles de caséines et illustrerons l'influence des autres caséines sur la fibrillation de la caséine kappa.

2. Observation de la micelle de caséines par cryo-MET

En raison de la susceptibilité de la micelle aux facteurs environnementaux, nous avons utilisé la cryo-MET pour observer la micelle de caséines à l'état natif et modifié. Ces observations ont été réalisées au moyen d'un microscope Philips CM200 'Cryo', à une tension d'accélération de 80 kV. Les images ont été enregistrées sur plaques photographiques Kodak SO163. Afin de mieux comprendre l'organisation des caséines et du phosphate de calcium dans la micelle, les informations morphologiques et structurales ont été complétées par des données de diffusion de la lumière et diffusion des rayons X aux petits et ultra-petits angles (SAXS et USAXS) [4,5].

Les images de cryo-MET montrent que les micelles de caséines présentent une surface irrégulière avec des protubérances (Figure 1a). Selon la taille des objets, cette périphérie est plus ou moins diffuse. La confrontation des images avec les données de diffusion de rayonnements montre que la micelle est constituée d'un réseau hétérogène de caséines dans lequel sont distribués des grains nanométriques ("nanoclusters") de phosphate de calcium (Figure 1b) [6,7].



Figure 1 – Micelles de caséines (cryo-MET), en vue générale (a ; barre : 100 nm) et à plus fort grossissement (b ; barre : 50 nm). En b, les points les plus sombres correspondraient aux nanoclusters de phosphate de calcium.

¹ Auteur à contacter : joelle.leonil@rennes.inra.fr – Tél. : 02 23 48 53 40

3. Fibrillation de la caséine ĸ

Il est généralement admis que la caséine κ est préférentiellement localisée à la périphérie de la micelle, jouant un rôle à la fois de limitation dans la croissance de la micelle et de maintien de celle-ci en suspension dans le lait. Cette protéine possède deux résidus dans sa séquence et a pour caractéristique d'être la seule caséine glycosylée. Lorsque les cystéines sont réduites ou carboxyméthylées, la caséine κ forme des fibrilles de type amyloïde d'une largeur de 12 nm mais dont la longueur varie en fonction des conditions environnementales (pH, force ionique, température) ou de paramètres intrinsèques de la protéine (taux de glycosylation, troncation N-ter). La Figure 2 montre des images de caséines κ carboxyméthylée avant (Figure 2a) et après (Figure 2b) traitement à 37°C et 50°C (Figure 2c). Nous avons également montré que la fibrillation de la caséine κ était inhibée par les autres caséines α_{s1} et β (Figure 3).



Figure 2 – Fibrillation de la caséine κ carboxyméthylée : a) état initial ; b) après incubation 18 h à 37°C (MET, coloration négative - barre : 100 nm) ; c) après incubation 5 h à 50°C (cryo-MET – barre : 100 nm).



Figure 3 – Inhibition de la fibrillation de la caséine κ carboxyméthylée par les caséines $\alpha_{s1}(a)$ et $\beta(b)$ à 37°C (MET, coloration négative - barres : 100 nm).

4. Conclusion

Nos résultats suggèrent que les étapes précoces d'interaction entre les caséines définissent la morphologie de l'assemblage. A cet égard, la caséine κ semble jouer un rôle déterminant dans la structuration de l'assemblage, voire même dans sa viabilité cellulaire.

5. Références

- [1] E. Chanat, P. Martin et M. Ollivier-Bousquet, *Alpha (S1)-casein is required for the efficient transport of beta- and kappa-casein from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus of mammary epithelial cells.* J. Cell. Sci. **112** (1999) 3399
- [2] C. D. Syme, E. W. Blanch, C. Holt, R. Jakes, M. Goedert, L. Hecht et L. D. Barron, A raman optical activity study of rheomorphism in caseins, synucleins and tau: New insight into the structure and behaviour of natively unfolded proteins. Eur. J. Biochem. **269** (2002) 148-156
- [3] D.C. Thorn, S. Meehan, M. Sunde, A. Rekas, S.L. Gras, C.E MacPhee, C.M. Dobson, M.R. Wilson et J.A. Carver, Amyloid fibril formation by bovine milk κ -casein and its inhibition by the molecular chaperones α_{S} and β -casein. Biochemistry **44** (2005) 17027-17036
- [4] F. Pignon, G. Belina, T. Narayanan, X. Paubel, A. Magnin et G. Gesan-Guiziou, *Structure and rheological behavior of casein micelle suspensions during ultrafiltration process.* J. Chem. Physics. **121** (2004) 8138
- [5] C.G. De Kruif et C. Holt. *Casein micelle structure, functions and interaction*. Advances in Dairy Chemistry I, Part A. Proteins (2003) 233
- [6] S. Marchin, *Dynamique de la Micelle de Caséines: Caractérisation Structurale*. Thèse de doctorat de l'Agrocampus de Rennes (2007)
- [7] S. Marchin, J.L. Putaux, F. Pignon, J. Léonil, *Effects of the environmental factors on the casein micelle structure studied by cryo-TEM and SAXS/USAXS*. J. Chem. Phys. **126** (2007) 045101

Advances in High-Speed EBSD Orientation Mapping

K. Dicks, T.M. Maitland, A. Gholinia

Oxford Instruments HKL A/S, Majsmarken 1, Hobro 9500, Denmark

Since the advent of digital cameras, EBSD mapping speeds have broken the 30Hz barrier of TV rate (US) cameras and have continued to climb with advances in hardware and software. Fig. 1 shows the rise in quoted mapping speeds by year [1] [2]. In this context, mapping includes obtaining an electron backscatter pattern at every point within a map, and solving its orientation.

To achieve today's speeds (300Hz) requires a high speed digital camera capable of integrating and transferring the images within 3ms. The camera system (detector) must be sufficiently sensitive such that it can be illuminated to near its full bit depth by a typical scanning electron microscope (SEM) electron probe.

In addition, during this 3ms period, the analysis software must receive the transferred image, correct its background, create a Hough transform, detect several Kikuchi bands and solve the orientation correctly. The software not only needs to be efficient, but must also utilize a multi-threaded software architecture to take advanced of modern operating systems and PC hardware with multiple CPUs. Such software has been developed and tested on a four CPU PC.

To assess whether the data acquired during high speeds is of sufficient quality, two measures are used. *Hit Rate,* which is a simple measure of the total number of solved pixels versus the whole mapped area in pixels. This results in a simple percentage but does not alone determine the quality of the data since it does not consider the correctness of the result. Solving the orientation of a crystal under the beam from its Kikuchi pattern is termed *indexing*. Thus *misindexing* occurs when a solution shows an incorrect orientation, when compared to its neighbors on a sample of known microstructure. In a simple, fully recrystallized microstructure, misindexing shows up as a speckled effect as pixels change color within a grain of single orientation, which should be displayed in single color.

A fully recrystallized Ni sample was used for this test, since each grain had very little internal misorientation. In principle, a well-prepared sample such as this should index at near 100% and with no misindexing.

Results in Fig. 3 and Fig. 4 show that data can be acquired at rates of 272HZ and 409Hz without a compromise in quality.

Fig. 3 shows data at 99% hit rate with no misindexing and Fig. 4 shows data at 91% hit rate, again with no misindexing. Neither map has been processed with noise filters, so each hit rate can be considered *raw*. Indexed pixels in these maps are of high confidence since they have been indexed with five simultaneous Kikuchi bands, and thus the hit rate is not biased upward by the inclusion of low confidence points.

Detector limitations take the form of sensitivity since the on-chip integration times are very short. In practice this means that for the highest speeds, SEM probe current requirements are approximately 5nA versus 1nA for the 100Hz detector. Thus high brightness SEMs are desirable particularly if high spatial resolutions are required.

The pixel array used in the high speed camera is smaller than that of the 100Hz detector, and thus the ultimate angular resolution is lower. Further, when used at its maximum speed, pixel binning is used to increase sensitivity, thus angular resolutions are further reduced, see Fig. 5.

High quality, high speed mapping of at least 300Hz has been shown on a fully recrystallized Ni sample.



Fig. 1 Maximum quoted EBSD mapping speed (Hz) by year



Fig. 3 272Hz orientation map of Ni sample - 99% hit rate, no misindexing



Fig. 5 Estimated angular resolution versus detector distance (mm) and EBSP size (pixels)

References

- [1] T.M. Maitland, Microsc. Microanal. (2004), 10: 936-937
- [2] M.M. Nowell et al., Microscopy Today, Vol: 14 # 6 (2006)



Fig. 2 Forescatter image of fully recrystallized Ni test sample.



Fig. 4 409Hz orientation map of Ni sample - 90% hit rate, no misindexing

<u>Confocal LEXT, OLYMPUS</u>. Haute résolution de surfaces 3D ainsi que précision des mesures 3D en Confocal Laser Microscopie. (LSM)

Olympus a développé le LEXT*- Le nouveau microscope confocal laser pour des mesures tridimensionnelles de précision et d'observation en temps réel avec un excellent niveau de répétabilité. Aucune préparation d'échantillon n'est nécessaire, l'échantillon doit être directement placé sur la platine du microscope sans traitement aucun. Avec une résolution fortement supérieure à un microscope optique conventionnel ainsi qu'une variété d'observation importante de l'échantillon, tout utilisateur peut effectuer une analyse rapide et précise de tous spécimens en temps réel.

Le LEXT utilise une diode laser à longueur d'onde optique courte proche UV (408nm), combinée d'un miroir galvanométrique. Par cette association technologique Olympus a accompli une résolution optique inégalée : $0,12\mu m$ en X,Y et $0,01\mu m$ en Z.

C'est l'utilisation d'un Micro-Electro Mechanique System (MEMS) développé par Olympus qui permet d'obtenir de telles résolutions doublées d'une vitesse d'acquisition inférieure à 1s par plan. Le LEXT combine deux systèmes, un microscope optique muni d'un capteur CCD, ainsi q'un microscope confocal dont la détection est un Tube PhotoMultiplicateur (PMT) avec un excellent rapport signal sur bruit. Ceci offre une diversité de visualisation importante du spécimen, y compris en vraie couleur (FC, FN, Laser DIC) ainsi que la possibilité de mesure 3D et d'analyse de rugosimétrie.



* LEXT contraction des thermes LASER et NEXT. « Next-Generation 3D confocal Laser Microscopes »

SARFUS[®] : Une nouvelle solution optique pour l'imagerie d'objets nanométriques

Nicolas MEDARD

SELCO-NANOLANE, Parc des Sittelles, 72450 Montfort-le-Gesnois, FRANCE

 $SARFUS^{(0)}$ est une nouvelle technique d'imagerie de surface qui augmente la sensibilité actuelle d'un microscope optique par un facteur 100 sans en réduire la résolution latérale. La technique est basée sur l'association de surfaces spécifiques utilisées comme porte-échantillons – les *Surfs* – et d'un microscope optique en lumière polarisée.

Il est ainsi possible de visualiser directement, sans marquage, des films de quelques nanomètres d'épaisseurs ou des objets de diamètres nanométriques (1D, 2D). En raison de l'absence de balayage, l'étude de la dynamique de structures nanométriques est facilement accessible et ouvre de nouvelles potentialités dans des domaines variés tels que, par exemple, le mouillage, les phénomènes de cristallisation de couches minces, les modifications de surface par traitement chimique ou physico-chimique (plasma, CVD, PVD...), la visualisation de biopuces, de nanotubes de carbone, de couches de Langmuir-Blodgett...

SARFUS® est complété par un logiciel de reconstitution 3D qui permet de mesurer l'épaisseur optique des échantillons déposés.

Symposium GN-MEBA - Mercredi 6 juin - 11.00-12.45 Nouveaux développements techniques

Jacky Larnould (JEOL Europe)

JSM 7700F, le premier ACSEM commercial (aberration corrected SEM)

Depuis 1936 et les travaux de SCHERZER, on sait que les lentilles magnétiques sont entachées d'aberrations telles que le Cc (aberration chromatique) et le Cs (aberration sphérique) qui en plus de la diffraction, s'ajoutent pour dégrader la résolution et le contraste de l'image finale.

Dans le JSM 7700F, l'utilisation de lentilles non symétriques telles les quadrupôles et les octopôles permettent d'annuler complètement les ordres 1 et 3 de ces aberrations.

Ceci permet d'obtenir une résolution de 0,6 nm à 5 kV, une diminution de la taille de sonde d'un facteur 10, ainsi qu'une augmentation du courant de sonde, à conditions égales, de 30 fois environ.

Rabah Benbalagh (Cameca) La technique LEXES appliqué aux semi-conducteurs

Nous décrirons l'introduction récente du LEXES comme technique de métrologie entrant dans le contrôle du processus de fabrication des circuits intégré. Nous traiterons les avantages de cette méthode analytique et le large champ des applications potentielles.

Aurélie Wauthier (LPMTM, CNRS Villetaneuse – Arcelor) EBSD à haute température: Recristallisation d'un acier IF dans un MEB à colonne inclinée

La recristallisation d'un acier IF laminé à froid a été observée in-situ dans un MEB-FEG équipé de l'EBSD. Les spécificités techniques de ce MEB seront abordées dans une première partie. Ensuite, l'apport de cette technique pour les mesures de migration de joints de grain ainsi que l'évolution de la microstructure pendant la recristallisation sera présenté. Les mesures d'EBSD faites avant et pendant la recristallisation ont permis d'évaluer l'impact des hétérogénéités de déformation sur le processus de germination et de croissance. La migration de joint de grain a été trouvée fortement dépendante de la sous-structure déformée et la désorientation locale s'est avérée être un bon paramètre pour la détermination des grains qui vont croître avant les autres. D'autre part, l'histoire thermique de l'échantillon semble jouer un rôle très important sur la vitesse de migration des joints de grain, allant de 0.05μ m/s à 0.32μ m/s.
Analyses combinées WDS/EDS au MEB

Marc Briant^{a,*}, David Balloy^b,

^a Elexience, 9, rue des Petits-Ruisseaux BP 61 91371 Verrières-le-buisson Cedex, France ; e-mail: m.briant@elexience.fr ^b Ecole Centrale de Lille BP 48, 59651 Villeneuve d'Ascq cedex, France ; david.balloy@ec-lille.fr

Résumé

En raison de leur souplesse et de leur simplicité d'utilisation, les spectromètres EDS (Energy Dispersive Spectrometry) se sont largement répandus dans le domaine de la microanalyse X. Cependant, la faible résolution spectrale et les limites de détection de ces détecteurs peuvent poser des problèmes d'analyse. L'autre grande famille de détecteurs, les spectromètres WDS (Wavelength Dispersive Spectrometry), sont plus performants en termes de résolution et de limite de détection. Mais cette technique d'analyse étant séquentielle, elle peut s'avérer être très longue. Aussi il est apparu intéressant de combiner ces deux types de spectromètres afin de tirer avantage des deux. L'analyse combinée WDS et EDS n'est pas pratiquée de façon courante car rares sont les microscopes équipés des deux détecteurs [1]. Cependant ce type d'analyse présente un intérêt certain pour analyser des éléments en trace, pour éviter les superpositions de raies et enfin pour gagner du temps. Les éléments majoritaires ou ne présentant pas de difficulté seront analysés en EDS alors que dans les autres cas, le spectromètre WDS sera utilisé.

Le dispositif expérimental utilisé est composé du MEB Hitachi S-3600/N, d'un spectromètre EDS « silicon drift » (SDD) et d'un spectromètre WDS « MAXray », tous deux Thermo Fisher. Le choix du détecteur SDD a été fait en raison de son aptitude à garder sa résolution spectrale, même à fort taux de comptage. Le MAXray est un spectromètre WDS particulier puisqu'il s'agit d'un PBS (Parallel Beam Spectrometer).

Le principe de fonctionnement du MAXray fera l'objet de la première partie de cet exposé. L'analyse combinée WDS-EDS y sera également présentée.

Les résultats des analyses combinées seront exposés dans la seconde partie. Dans un premier temps l'étude d'un échantillon de référence, un mélange Ni-Cu-Zn, permettra de montrer la validité de l'analyse combinée. En effet, la composition de cet échantillon est bien connue car il a fait l'objet de nombreuses analyses notamment à l'aide de microsondes de Castaing et de spectromètres EDS [2]. Il est possible d'analyser les éléments Ni-Cu-Zn soit à partir des raies d'émission L soit à partir des raies K. L'analyse utilisant les raies K est plus précise, mais leur excitation nécessite une tension d'accélération beaucoup plus importante, ce qui conduit à des volumes d'interaction plus importants. Cela peut être pénalisant pour la caractérisation de matériaux polyphasés de structures petites. L'analyse combinée a été réalisée en détectant les raies L des éléments minoritaires (Ni-Zn) avec le spectromètre WDS et la raie K du Cu avec le spectromètre EDS. Les valeurs des titres massiques mesurées par l'analyse combinée se situent entre celles obtenues sur les microsondes de Castaing en n'utilisant que les raies L.

Enfin, les résultats de l'analyse combinée obtenus sur un échantillon contenant les éléments Fe, Si et W seront présentés. Ce matériau est polyphasé avec une microstructure assez fine. Son analyse nécessite des tensions d'accélération modérées afin de bien caractériser chacune des phases séparément. D'autre part, les titres massiques de Si (0,1<wt%<5 selon les phases) et de W (10<wt%<60 selon les phases), et la superposition de Si(K) et W(M) rendent l'analyse EDS extrêmement difficile. L'analyse de Si et W en WDS et de Fe en EDS a donné des résultats très satisfaisants.

Références

- [1] Moran K., Wuhrer R., Microchim Acta <u>155</u>, 59 (2006)
- [2] http://mr.gnmeba.free.fr/fichiers/reunions/gnmeba_dec05_JR_ech%20test.pdf

Auteur à contacter

Symposium GN-MEBA - Mercredi 6 juin - 17.00-18.30 Mesures des textures, déformations et contraintes

D.J.Dingley, S Wright (EDAX_TSL, Utah USA) *Techniques in phase identification and determination using EBSD*

The procedures for identifying crystal phase from examination of electron backscatter diffraction patterns are well established. The advantages of simultaneous collection of the patterns with an associated chemical fingerprint using x-ray EDS techniques have also significant benefits and elaborate methods of post data collection interrogation have recently been developed. The techniques rely on first using the chemical information to search the established materials data bases to produce a list of potential crystal phases and then seeing which of the crystal phases would produce an EBSD diffraction pattern that best matches the one observed. Because of the reliance on published data bases the techniques are ineffective for crystal phases that have not been observed before and in cases where the diffraction pattern calculated from the known crystallography differs significantly from that observed due to complications such as anomalous line invisibilities or double diffraction effects

A more fundamental method of determining the crystal phase from the observed diffraction pattern alone is required. Significant steps in this respect have now been achieved.

D.J.Dingley*, G Meaden[†]

(*TSL, Utah 84020 USA and Bristol University, † BLG Productions Bristol UK) Progress in the determination of orientation maps and phase determination using the dark field conical scan technique in the Transmission electron microscope

There has been continued progress in the Dark Field Conical scan technique that was first investigated in 1996 for the determination of crystal orientation maps in the transmission electron microscope. The technique relies on collecting a series of dark field images from a selected area of the specimen as the incident beam is moved so that all points on all diffraction rings observable from that area are successively forced to pass through the objective aperture. From these images a diffraction pattern for each point in the selected area is constructed and analysed to extract the respective crystal orientation. The technique is particularly applicable to nano crystalline materials and studies on platinum and silicon vapor deposited films and highly deformed copper and iron have been successful in this respect. Because of the small size of the crystals and sub-cells in these structures there are frequent instances of superimposed grains through the development of a new method for interpreting the patterns based on finding each separate set of points in the pattern that belong to the same crystal. The points in each set are associated as they must fall on the same zero order Laue reciprocal lattice plane or onto its neighbouring first order planes. Computer techniques have been developed to discover each such set of points and to determine automatically the associated crystal orientation.

It has been shown that the dark field conical scan technique can be adapted for extracting diffraction patterns that come from each crystal phase in the specimen. This is done off-line by observing the dark field images formed from separate diffraction rings in the reconstructed patterns. Those rings that arise from a second phase result in the second phase being the only bright crystals in the dark field image. By determining which rings belong to the same phase it is possible to select only those rings for the pattern reconstruction process and hence each reconstructed pattern so formed must arise from the second phase alone.

Anne Laure Etter^{1,2}, Thierry Baudin^{2,1} et Richard Penelle^{2,1} (¹ Université Paris-Sud, Laboratoire de Physico-Chimie de l'Etat Solide, Orsay, ² CNRS, Orsay)

Etude de l'évolution des textures de déformation lors de la recristallisation en fonction de l'énergie stockée, force motrice en recristallisation. Application au fer et au cuivre.

Durant la déformation à froid d'un métal, une petite partie de l'énergie de déformation est stockée dans le matériau sous forme d'énergie élastique, associée à la présence des dislocations. Cette énergie est mesurée pour quelques orientations cristallographiques dans un acier IF-Ti laminé de 40%. Plusieurs méthodes sont alors comparées, de la diffraction des neutrons jusqu'à l'utilisation d'un modèle fondé sur la morphologie des sous-structures de dislocations (Dillamore et al., 1967), en passant par l'information fournie par l'indice de qualité des diagrammes de Kikuchi en diffraction des électrons retrodiffusés. Certaines de ces méthodes sont appliquées à des matériaux cubiques à faces centrées comme le cuivre. Les évolutions de textures lors du recuit et les mécanismes de recristallisation associés sont discutés en fonction de cette énergie stockée.

F. Esposito^{1,a}, **F. Barou^{2,b}**, **J-M. Feppon^{1,c}** and **Cl. Maurice^{2,d}** (¹Alcan CRV, Voreppe² Ecole des Mines de St Etienne, Microstructures and Processing Department) Sur la reconstruction des cartes EBSD dans les microstructures restaurées

L'EBSD est une méthode puissante qui permet de cartographier finement les microstructures. L'EBSD donne des informations quantitatives sur des désorientations, les tailles de sous-structures et les dépendances complexes de ces paramètres selon les composantes de texture. En ce qui concerne les microstructures restaurées, la fermeture des contours est une étape qui demande une attention particulière lorsque l'on souhaite obtenir des résultats fiables. Ce document présente un nouveau traitement des cartes EBSD qui ferme complètement les contours des sous-grains. L'originalité de l'approche est d'utiliser un logiciel d'analyse d'image du commerce pour post-traiter les cartes d'acquisition avant l'utilisation de logiciels courants type Channel 5. L'algorithme de post-traitement comprend 3 opérations distinctes : dans un premier temps les sous-joints de grains sont détectés en utilisant les indicateurs Band Slope en Band Contrast, ensuite les contours sont fermés par une routine dédiée, et finalement chaque pixel indexé dans un sous-grain donné se voit affecter le jeu d'angles d'Euler du pixel ayant été le mieux indexé. Le résultat principal est que les sous-grains apparaissent entièrement fermés dans Channel 5. Le protocole a été étalonné avec la technique GEM (Gallium Enhanced Microscopy) dans un alliage d'aluminium restauré comprenant 0.1% de Manganèse en solution solide.

Kangying Zhu, B. Bacroix, D. Chaubet (LPMTM-CNRS, Institut Galilée, Université Paris-Nord, Villetaneuse)

Etude de la recristallisation dans un alliage de zirconium par la technique EBSD

L'évolution de la microstructure et de la texture pendant la recristallisation primaire et le stade de croissance du grain succédant la recristallisation primaire, a été étudiée par EBSD. L'observation de la même zone d'un échantillon avant et après recuit a permis la mise en évidence des mécanismes de recristallisation. L'analyse OIM a été utilisée pour mesurer la fraction des grains recristallisés et suivre leur texture cristallographique au cours des recuits. Les résultats montrent que les recristallisations continue et discontinue interviennent simultanément pendant la recristallisation primaire. Les nouveaux grains formés possèdent deux composantes de texture d'intensité équivalente, de type (0001) <10-10> incliné (D) et (0001) <11-20> incliné (R), dès le début et jusqu'à la fin de la recristallisation primaire. Durant le stade de la croissance normale du grain, la composante R se développe aux dépens de la composante D en raison d'une énergie stockée résiduelle plus importante dans les grains d'orientation D. Dans le cas des taux de déformation très élevés, une croissance anormale des grains possédant une orientation préférentielle de type D, se produit au cours des recuits à haute température.

Symposium GN-MEBA - Jeudi 7 juin - 11.00-12.45 et 14.30-16.00 Imagerie 3D et reconstruction

Denis Boivin (ONERA, Châtillon)

Reconstruction 3D de surface à partir d'images de Microscopie Electronique à Balayage et de Microscopie Optique sériée

La reconstruction 3D de surfaces rugueuses à partir d'images stéréoscopiques acquises au MEB sous divers angles d'inclinaison de l'échantillon est basée sur l'évaluation du décalage de chaque point-objet d'une image à l'autre, appelé aussi disparité. Une relation géométrique, fonction principalement des paramètres d'inclinaison et de grandissement, relie cette disparité à l'élévation de du point-objet, définie par rapport à celle de l'axe d'inclinaison. Pour mesurer ces disparités, il faut tenir compte de la distorsion des images MEB inhérentes au procédé d'acquisition. Plusieurs approches sont possibles. Par son domaine d'application (dimension des champs et rugosité), cette technique de reconstruction 3D de surface se positionne comme complémentaire d'autres techniques comme l'AFM, la microscopie confocale, et la microscopie interférométrique, ainsi que de la microscopie optique sériée. Cette dernière technique est une méthode digne d'intérêt lorsque l'on s'intéresse à des champs de plus grande dimension (> 1 mm) et de rugosité plus importante. D'une mise en œuvre aisée, la méthode consiste simplement à acquérir une série d'images en faisant varier pas à pas la distance objectif-échantillon, et à rechercher les régions les plus au point dans la série d'images, et ainsi leur affecter une altitude. Dans ces deux méthodes, il est nécessaire de définir une dimension de fenêtre sur laquelle sera appliqué l'algorithme clef du processus. Une fenêtre de grande dimension lissera le résultat; une fenêtre trop petite risquera de faire apparaître des artéfacts (image 3D "bruitée").

Marie-Anne Prévost (ONERA, Châtillon) Suivi de joints de grains par AFM

La microscopie à force atomique (AFM) est l'une de ces nouvelles microscopies dites de proximité, ou encore à champ proche, basées sur l'interaction entre une pointe-sonde et la surface de l'échantillon. Sa mise au point a suivi celle du microscope à effet tunnel et ses performances relatives à l'imagerie de la topographie des surfaces sont très similaires à celles de ce dernier. Toutefois, comme le vecteur de l'information est non plus le courant tunnel mais une force, l'AFM est capable de faire des images de surfaces isolantes, ce qui constitue un très gros avantage. Le grand intérêt de ce microscope est également lié au fait que c'est une sonde d'analyse locale qui permet d'obtenir des images tridimensionnelles de la topographie des surfaces avec une très haute résolution spatiale et verticale, pouvant atteindre le nm. L'AFM permet de mesurer ou d'imager des forces électromagnétiques entre surfaces sur une échelle de longueur de 10^{-10} à 10^{-7} m. Quelques unes des forces les plus communément mesurées incluent les forces de van der Waals, les forces répulsives, les forces électrostatiques et magnétiques, les forces adhésives et les forces de friction. Par le caractère local de l'analyse effectuée et la richesse des informations fournies, la microscopie à force atomique est complémentaire des méthodes classiques d'analyse des surfaces comme la microscopie à force atomique à balayage.

Une expérience de gravage de joints de grains par AFM a été mise en place. Le but est d'étudier les phénomènes de diffusion de surface qui interviennent dans l'évolution à haute température de la structure poreuse de céramiques (utilisées en tant que barrière thermique dans les aubes de turbine ou les chambres de combustion). En suivant l'évolution, en fonction du temps et de la température de vieillissement, des profils des joints de grains par AFM, on peut obtenir des informations sur la diffusion de surface des matériaux. Dans cette étude, nous allons nous intéresser à deux oxydes : la zircone stabilisée à l'yttrine (système actuel des barrières thermiques) et une perovskite complexe (éventuelle remplaçante de la zircone).

L'intersection d'un joint de grain avec une surface entraîne un gradient de courbure. Ce gradient de courbure donne lieu à une différence de potentiel chimique qui amène un déplacement de matière. Ce déplacement de matière se fait par diffusion. Si on se place dans le cas où les grains ont des tailles de l'ordre de 10 microns, où le temps de traitement thermique n'est pas trop long et où la température de traitement thermique est inférieure à la moitié de la température de fusion du matériau, on s'assure en principe que seule la diffusion de surface opère. Ainsi, en regardant l'évolution d'un joint de grain et en utilisant la théorie de Mullins [1], on peut remonter au coefficient de diffusion de surface. Il va dépendre essentiellement de la largeur du joint de grain W et de l'énergie de surface du matériau γ_s .

Dans cet esprit, différents suivis en températures ($1000^{\circ}C < T < 1600^{\circ}C$ et 3h <t< 100h) ont été réalisés sur la zircone yttriée et la perovskite. Le fait d'opérer à différentes températures et à différents temps de traitements thermiques fait intervenir d'autres types de diffusion, comme la diffusion en volume ou l'évaporation. Le but est ensuite de développer des modèles permettant d'accéder aux différents coefficients de diffusion dans les cas où plusieurs mécanismes de diffusion sont actifs simultanément.

Catherine Sant (Université d'Evry, Laboratoire d'étude des Milieux Nanométriques) Caractérisation de dépôts nanométriques par réflectivité des rayons X

Dans de nombreux domaines faisant intervenir les matériaux en couches minces, la tendance est de concevoir des hétéro-structures de plus en plus complexes afin d'obtenir des propriétés spécifiques pour des applications technologiques ciblées. Ces propriétés dépendent en outre fortement de la qualité des surfaces et interfaces, de l'épaisseur, de la cristallinité, ... La réflectivité des rayons X est une méthode non destructive qui permet de déterminer avec une grande précision l'épaisseur, la densité et la rugosité de couches minces (monocouches ou hétérostructures non nécessairement monocristallines) déposées sur un substrat non rugueux. Ainsi, cette méthode est devenue un outil majeur pour l'étude de la structure et l'organisation des matériaux en couches minces dans la gamme des épaisseurs de quelques manomètres à quelques centaines de nanomètres.

Les aspects techniques d'obtention d'un diagramme, leur exploitation et les facteurs limitatifs de la méthode seront abordés.

Serge Carras (Altimet) *Le chromatisme axial en lumière blanche, une métrologie optique des surfaces à caractère normatif*

Le chromatisme axial en lumière blanche autorise une métrologie optique des surfaces dont le projet de norme ISO 25 178 constitue le caractère normatif. Cette nouvelle technologie de profilométrie optique possède des caractéristiques de mesure très proches du rugosimètre mécanique qu'elle est destinée à remplacer dans de multiples applications de laboratoire, métrologie bord de ligne, contrôle en ligne. La robustesse du principe, sa précision, sa qualité de signal et son prix représentent des atouts significatifs qui expliquent sa pénétration au sein de nombreuses niches industrielles des industries mécaniques, papier & impression, matériaux & substrats, automobile-aéronautique et enfin plus récemment, des nanotechnologies.

Anne Colonna (L'Oréal Recherche)

La microscopie confocale : un moyen d'investigation volumique et temporel d'échantillons biologiques.

Depuis le XVIe siècle où le premier microscope optique voyait le jour, la microscopie photonique a fait l'objet d'un grand nombre de travaux pour devenir un outil très performant, alliant les dernières avancées dans le domaine de la photonique, de la micromécanique et du traitement d'image. Un des progrès majeur a été l'apparition de la microscopie confocale, qui permet d'observer des échantillons entiers à l'échelle cellulaire dans les trois dimensions de l'espace, et ainsi de réaliser une véritable imagerie microscopique tridimensionnelle. Dans le cas de matériel vivant, il est en outre possible d'obtenir des informations dynamiques en temps réel, par exemple sur la viabilité des cellules ou sur la diffusion d'une substance fluorescente qui pourra être suivie en fonction des conditions expérimentales.

Brigitte Gaillard-Martinie (INRA Clermont-Ferrand-Theix)

L'organisation d'un centre commun de Microscopie. Mise en place de la démarche qualité

Comme M. Jourdain qui faisait de la prose sans le savoir, nous travaillons déjà avec des éléments de la qualité sans le savoir. C'est à partir de ce constat que nous avons été sensibilisés à la démarche qualité et qu'au sein du Réseau des centres Communs de Microscopie un groupe de travail s'est constitué dans ce domaine. La réflexion de ce groupe a permis de créer une dynamique de travail puisque nous parlions tous le même langage et que nous étions confrontés au même type d'analyse : traiter un échantillon biologique pour son observation en microscopie électronique. Nous avions tous des utilisateurs ou clients internes ou externes à notre structure et les étapes pour parvenir à un résultat étaient identiques. Dans cette optique, ce groupe a élaboré un certain nombre de documents facilement utilisables et s'est doté récemment d'un sous-groupe « prévention », de manière à intégrer parallèlement les consignes d'hygiène et de sécurité.

Liste des participants

Cyril AILLIOT

CEA Leti, DPTS/SCPIO/LCPO 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble - Email : <u>cyril.ailliot@cea.fr</u>

Komla AKO

Université du Maine Laboratoire Polymères, Colloïdes et Interfaces UMR CNRS 6120 Avenue Olivier Messian 72085 Le Mans cedex 9 Tél : 02 43 83 33 18 - Email : <u>akokomla@hotmail.com</u>

Rana AL KURDI

Institut Pasteur, Unité de Virologie structurale Department de Virologie 75015 Paris Tél : 01 40 61 38 13 - Email : rakurdi@pasteur.fr

Mathieu ALLIX

CNRS / CRMHT 1D avenue de la Recherche Scientifique 45071 Orléans Tél : 02 38 25 55 26 - Email : <u>mathieu.allix@cnrs-orleans.fr</u>

Damien ALLOYEAU

Onera, Laboratoire d'Etude des Microstructures BP 72, 93322 Chatillon Tél : 01 46 73 48 90 - Email : <u>alloyeau@onera.fr</u>

Luis ALVAREZ

Laboratoire de Chimie Physique Bâtiment 349, Université de Paris Sud 91405 Orsay Tél : 01 69 15 56 15 - Email : alvarez@lcp.u-psud.fr

Anny ANGLO

CNRS / UPMC UMR 7574, Equipe Materiaux du Vivant 12 rue Cuvier 75005 Paris Tél : 01 44 27 65 63 - Email : <u>anny.anglo@snv.jussieu.fr</u>

Isabelle ANSELME-BERTRAND

Faculté de Médecine, CMES 15 rue Ambroise Paré 42023 Saint-Etienne Tél : 04 77 42 14 34 Email : <u>isabelle.anselme.bertrand@univ-st-etienne.fr</u>

Ricardo ARAMAYO

IMPMC (Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés) Campus Boucicaut, 140 rue de Lourmel 75015 Paris Tél : 01 44 27 52 41 Email : <u>ricardo.aramayo@impmc.jussieu.fr</u>

Brigitte ARBEILLE

Faculté de Médecine, Département des Microscopies 10 boulevard Tonnellé, BP 3223 37032 Tours cedex Tél : 02 47 36 60 71 Email : brigitte.arbeille@med.univ-tours.fr

Thierry ASTRUC

INRA de Clermont-Ferrand-Theix Unité "Qualité des Produits Animaux" Equipe "Microscopie-Histologie-Histochimie" 63122 Saint Genés Champanelle Tél : 04 73 62 41 56 - Email : <u>astruc@clermont.inra.fr</u>

Jeanne AYACHE

CNRS / LM2C - Institut Gustave Roussy Laboratoire microscopie moléculaire et cellulaire, UMR CNRS 8126 39 rue Camille Desmoulins 94805 Villejuif cedex Tél : 01 42 11 48 79 - Email : <u>ayache@igr.fr</u>

Ahlem AYADI

Faculté de Médecine de Tunis Laboratoire de Physiologie 15 rue Djebel Lakdhar , La Rabta 1007 Tunis, Tunisie Tél : +216 22545625 - Email : <u>ayadi.ahlem@yahoo.fr</u>

Jean-Pierre AYOUB

L2MP, Faculté des Sciences et Techniques Université Paul Cézanne, Campus de Saint Jérôme Avenue Escadrille Normandie Niemen - Case 142 13397 Marseille cedex 20 Tél : 04 91 28 91 64 - Email : jean-pierre.ayoub@l2mp.fr

David BABONNEAU

Université de Poitiers, SP2MI Laboratoire de Métallurgie Physique, UMR 6630 CNRS Bvd Marie & Pierre Curie, BP 30179 86962 Futuroscope-Chasseneuil Tél : 05 49 49 67 25 Email : <u>david.babonneau@univ-poitiers.fr</u>

Maria BACIA

CNRS, Institut Néel, département MCMF, Bât. F 25 avenue des Martyrs 38042 Grenoble Tél : 04 76 88 79 41 Email : <u>maria.bacia@grenoble.cnrs.fr</u>

Matthias BALLAUFF

University of Bayreuth, Physical Chemistry I Universitaetsstrasse 30 95447 Bayreuth, Germany Tél : +49 921 55 27 60 Email : <u>matthias.ballauff@uni-bayreuth.de</u>

Paul BALLONGUE

CNRS / Laboratoire de Physique des Solides Bâtiment 510 91405 Orsay Tél : 01 69 15 81 29 - Email : <u>ballongue@lps.u-psud.fr</u>

Gérard BALOSSIER

INSERM, Laboratoire de Microscopie Electronique Analytique, ERM 0203 21 rue Clément Ader 51685 Reims Tél : 03 26 77 07 24 - Email : <u>gerard.balossier@univ-reims.fr</u>

José BARUCHEL

European Synchrotron Radiation Facility Rue Jules Horowitz Polygone Scientifique Louis Néel 38043 Grenoble Tél : 04 76 88 21 01 - Email : <u>baruchel@esrf.fr</u>

Wolfgang BAUMEISTER Max-Planck-Institute of Biochemistry

Am Klopferspitz 18 82152 Martinsried, Allemagne Tél : +49 89 8578-2592 - Email : <u>baumeist@biochem.mpg.de</u> Pascale BAYLE-GUILLEMAUD CEA Grenoble DRFMC/SP2M/LEMMA, GEM@Minatec 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 39 70 Email : pascale.bayle-guillemaud@cea.fr

France BEAUCHESNE SIMONET

CNRS / IRCELYON Service microscopie - RéCaMiA 2 Avenue Albert Einstein 69626 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 44 54 44 Email : <u>france.simonet@ircelyon.univ-lyon1.fr</u>

Emmanuel BEAUREPAIRE

Ecole Polytechnique - CNRS - INSERM Laboratoire d'optique et biosciences 91128 Palaiseau Tél : 01 69 33 50 21 Email : <u>emmanuel.beaurepaire@polytechnique.fr</u>

Armand BECHE

CEA Grenoble, DSM/DRFMC/SP2M/LEMMA 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 19 26 - Email : armand.beche@cea.fr

Lydiane BECU

CNRS, Université du Maine Avenue Olivier Messiaen 72085 Le Mans Tél : 02 43 83 32 54 - Email : <u>lydiane.becu@univ-lemans.fr</u>

Samir BENLEKBIR

INSA de Lyon, MATEIS Bâtiment Blaise Pascal 20 avenue Albert Einstein 69621 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 70 33 - Email : samir.benlekbir@insa-lyon.fr

Sophie BERVEILLER

ENSAM / LPMM Laboratoire de Physique et Mécanique des Matériaux 4 rue Augustin Fresnel 57078 Metz cedex 3 Tél : 03 87 37 54 78 - Email : <u>sophie.berveiller@metz.ensam.fr</u>

Nils BLANC

Laboratoire de physique de la matière condensée et nanostructures (LPMCN) Bâtiment Léon Brillouin 43 boulevard du 11 Novembre 1918 69622 Villeurbanne cedex Email : <u>nblanc@lpmcn.univ-lyon1.fr</u>

Fabienne BOBARD

EPFL - CIME Bâtiment MXC036, Station 12 1015 Lausanne, Suisse Tél : +41 21 693 67 05 - Email : <u>fabienne.bobard@epfl.ch</u>

Agnès BOGNER

CEA Grenoble, DRT/LETI/DPTS/SCPIO/LCPO 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 48 70 - Email : <u>agnes.bogner@insa-lyon.fr</u>

Nicolas BOISSET

CNRS / IMPMC, Université Pierre et Marie Curie UMR 7590, Université Pierre et Marie Curie 140 Rue de Lourmel 75015 Paris Tél : 01 44 27 45 85 Email : <u>nicolas.boisset@impmc.jussieu.fr</u>

Emmanuelle BONNET PIRO Sanofi Pasteur 1541 avenue Marcel Mérieux 69280 Marcy L'Etoile Tél : 04 37 37 30 08

Email : <a href="mailto:emailt

Catherine BOUGEROL

CNRS, Equipe NPSC, SP2M/DRFMC/CEA Grenoble 17 rue des martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 26 75 - Email : <u>catherine.bougerol@cea.fr</u>

Loïc BOULANGER

CEA Saclay, DEN/DANS/DMN/SRMP 91191 Gif sur Yvette Tél : 01 69 08 64 19 - Email : loic.boulanger@cea.fr

Jacqueline BOUMENDIL 107 avenue du Casino 69890 La Tour de Salvagny Tél : 06 80 43 58 30 - Email : <u>iboumendil@tiscali.fr</u>

Dominique BOURGEOIS

Institut de Biologie Structurale 41 rue Jules Horowitz 380427 Grenoble Tél : 04 38 78 96 44 - Email : <u>dominique.bourgeois@ibs.fr</u>

Emmanuel BOUZY

Université de Metz, LETAM, UMR CNRS 7078 Ile du Saulcy 57045 Metz Tél : 03 87 31 53 96 - Email : <u>bouzy@univ-metz.fr</u>

Dalil BROURI

Université Pierre et marie Curie, LRS Laboratoire Réactivité de Surface 4 place Jussieu 75005 Paris Tél : 01 44 27 55 12 - Email : <u>brouri@ccr.jussieu.fr</u>

Philippe A. BUFFAT

Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne Chalet l'Amadou, Ch. des Vioz CH-1865 Les Diablerets, Suisse Tél : +41 79 337 9384 - Email : <u>philippe.buffat@epfl.ch</u>

Martiane CABIE

CNRS / CRMCN Campus de Luminy - Case 913 13288 Marseille cedex 9 Tél : 06 62 92 28 72 - Email : <u>cabie@crmcn.univ-mrs.fr</u>

Francisco José CADETE SANTOS AIRES

Institut de Recherches sur la Catalyse et l'Environnement de Lyon (IRCELYON) UMR 5256 CNRS/Université Lyon 2 avenue Albert Einstein 69626 Villeurbanne Tél : 04 72 44 53 03 Email : <u>francisco.aires@ircelyon.univ-lyon1.fr</u>

Marco CANTONI

EPFL - CIME Bât. MXC-135, Station 12 1015 Lausanne, Suisse Tél : +41 21 693 4830 Email : marco.cantoni@epfl.ch

Cyril CAYRON

CEA Grenoble, DRT/LITEN/DTH/LCPEM 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 93 29 - Email : <u>cyril.cayron@cea.fr</u>

Rémi CHASSAGNON

Université de Bourgogne, ICB UMR 5209 BP 47870, 9 avenue Alain Savary 21078 Dijon Tél : 03 80 39 55 08 Email : remi.chassagnon@u-bourgogne.fr

Jean-Michel CHAUVEAU

CNRS / CRHEA Avenue Bernard Gregory 06560 Valbonne Sophia-Antipolis Tél : 04 93 95 78 22 - Email : jmc@crhea.cnrs.fr

Cécile CHEMARIN

Centre Hospitalier St Joseph St Luc Service de pneumologie 20 quai Claude Bernard 69007 Lyon Tél : 04 78 61 62 59 Email : <u>cchemarin@ch-stjoseph-stluc-lyon.fr</u>

Marie CHEYNET

CNRS / SIMAP ENSEEG Grenoble, BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 66 08 - Email : <u>marie.cheynet@ltpcm.inpg.fr</u>

Radoslaw CHMIELOWSKI

Université du Sud Toulon - Var Avenue de l'Université, BP 20132 83957 La Garde cedex Tél : 04 94 14 25 07 - Email : <u>chmielow@univ-tln.fr</u>

Laurent CLEMENT

NXP Semiconductors 860 rue Jean Monnet 38926 Crolles Tél : 04 38 92 35 01 - Email : laurent.clement@nxp.com

Christian COLLIEX

CNRS / Laboratoire de Physique des Solides Université Paris Sud, Bâtiment 510 91405 Orsay Tél : 01 69 15 53 70 - Email : colliex@lps.u-psud.fr

David COOPER

CEA LETI - Minatec 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 19 27 - Email : <u>daveycooper@gmail.com</u>

Marine COTTE

Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France, UMR 171 Palais du Louvre, Porte des Lions 14 quai François Mitterrand 75001 Paris Tél : 01 40 20 57 59 - Email : <u>cotte@esrf.fr</u>

Christoph CREMER

University Heidelberg Kirchhoff Institute of Physics Im Neuenheimer Feld 227 D-69126 Heidelberg, Germany Tél : +49 6221 54 9271 Email : cremer@kip.uni-heidelberg.de

Francisco DE LA PEñA

Université Paris-Sud Laboratoire de Physique des Solides, CNRS UMR8502 Bâtiment 510 91405 Orsay Tél : 01 69 15 53 81 - Email : <u>delapena@lps.u-psud.fr</u>

Volkert DE VILLENEUVE

Universiteit Utrecht van't Hoff Laboratorium voor Fysische en Colloid Chemie, Physical & Colloid Chemistry P.O.Box 80.051 3584 CH Utrecht, Pays-Bas Tél : +31 30 2533650 Email : <u>v.w.a.devilleneuve@chem.uu.nl</u>

Mohamed Yacine DEBILI

Université d'Annaba Département de Physique BP 12 El-hadjar 23200 Annaba, Algérie Email : <u>mydebili@yahoo.fr</u>

Bernard DECONIHOUT

CNRS & Université et INSA de Rouen / GPM Groupe de Physique des Matériaux - UMR 6634 Avenue de l'Université 76801 St Etienne du Rouvray Tél : 02 32 95 50 48 Email : <u>bernard.deconihout@univ-rouen.fr</u>

Jéril DEGROUARD

CNRS / Développement et Evolution UMR 8080, CCME Bât. 440 bis, Université Paris XI 91405 Orsay Tél : 01 69 15 64 17 - Email : jeril.degrouard@u-psud.fr

Antoine DELON

Laboratoire de Spectrométrie Physique UJF/CNRS, BP 87 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 63 58 01 - Email : <u>adelon@ujf-grenoble.fr</u>

Antoine DEMOLLIENS

CNRS / L2MP, UMR CNRS 6137 Université du Sud Toulon Var, Bât. R, BP 20132 83957 La Garde Tél : 06 85 33 69 38 - Email : <u>ad79@hotmail.fr</u>

Martien Ilse DEN HERTOG

CEA Grenoble, DRFMC/LEMMA 17 rue des martyrs 38052 Grenoble Tél : 04 38 78 19 46 - Email : <u>martien.den-hertog@cea.fr</u>

Sylvie DESCARTES

INSA de Lyon, LaMCoS Bât Jean d'Alembert 20 avenue Albert Einstein 69621 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 63 43 - Email : <u>sylvie.descartes@insa-lyon.fr</u>

Béatrice DOISNEAU-COTTIGNIES

SIMAP (LTPCM), UMR5266 1260 rue de la piscine - BP 75 Domaine Universitaire 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 66 58 - Email : <u>doisneau@ltpcm.inpg.fr</u>

Patricia DONNADIEU

SIMAP (LTPCM), ENSEEG-INPG Domaine Universitaire BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 67 46 Email : <u>patricia.donnadieu@ltpcm.inpg.fr</u>

Thierry DOUILLARD

INSA DE Lyon, MATEIS, UMR CNRS 5510 Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne Tél : 04 72 43 79 13 - Email : thierry.douillard@insa-lyon.fr

Jacques DUBOCHET

Université de Lausanne LAU, Biophore, UNIL 1015 Lausanne, Suisse Tél : +41 21 692 4280 - Email : jacques.dubochet@unil.ch

Danielle DUPEYRE

CNRS / CERMAV, BP53 38041 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 03 76 68 - Email : <u>dupeyre@cermav.cnrs.fr</u>

Samira ELAZZOUZI HAFRAOUI

Université Rennes 1, GMCM Bât 11A, Campus Beaulieu 35042 Rennes Tél : 02 23 23 56 45 Email : <u>elazzouzi.samira@univ-rennes1.fr</u>

Thierry EPICIER

INSA de Lyon, MATEIS, UMR CNRS 5510 Bât. Blaise Pascal 69621 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 84 94 - Email : <u>thierry.epicier@insa-lyon.fr</u>

Mathieu ERHARDT

CNRS / IBMP Institut de biologie moléculaire des plantes 12 rue du général Zimmer 67084 Strasbourg Tél : 03 88 41 72 92 Email : mathieu.erhardt@ibmp-ulp.u-strasbg.fr

Ovidiu ERSEN

IPCMS - GSI 23 rue du Loess, BP 43 67034 Strasbourg Tél : 03 88 10 71 02 - Email : <u>ovidiu.ersen@ipcms.u-strasbg.fr</u>

Céline FABRY

UVHCI, UJF - CNRS- EMBL 6 rue Jules Horowitz, BP181 38042 Grenoble cedex 9 Tél: 04 76 20 94 66 - Email: <u>fabry@embl.fr</u>

Antonin FAES

EPFL - CIME MXC 133 - Station 12 1015 Ecublens, Suisse Tél : +41 21 693 44 37 - Email : <u>antonin.faes@epfl.ch</u>

Leandro FARIAS ESTROZI

IBS Grenoble 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 01 59 - Email : <u>estrozi@ibs.fr</u>

Francesca FARINA

Solvay Solexis viale Lombardia 20 20021 Bollate, Italie Tél : +39 02 3835 6626 - Email : <u>francesca.farina@solvay.com</u>

Luc FAVRE

CNRS, Laboratoire Matériaux et Microélectronique de Provence, UMR CNRS 6137 Université Aix-Marseille 3 - Paul Cézanne Faculté des Sciences de Saint Jérôme, Case 142 13397 Marseille cedex 20 Tél : 04 91 28 91 59 - Email : <u>luc.favre@l2mp.fr</u>

Daphna FENEL

IBS 4 rue Wilfried Kilian 38000 Paris Tél : 06 16 95 45 43 - Email : <u>daphna.fenel@ibs.fr</u>

Eric FERNANDEZ Yves Rocher

Yves Rocher 101 Quai du Pdt Roosevelt 92444 Issy les Moulineaux Tél : 01 41 08 56 64 - Email : <u>eric.fernandez@yrnet.com</u>

Magali FLORIANI

IRSN - DEI/SECRE/LRE Bât 186, CEA Cadarache 13115 Saint-Paul-Lez-Durance Tél : 04 42 19 95 22 - Email : magali.floriani@irsn.fr

Brigitte FLORIN

CEA LETI, Minatec 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 44 04 - Email : <u>brigitte.florin@cea.fr</u>

Roland FORTUNIER Ecole des Mines de Saint-Etienne, Centre SMS 158 cours Fauriel 42023 Saint-Etienne cedex 2 Tél : 04 77 42 00 34 - Email : <u>fortunier@emse.fr</u>

Brigitte GAILLARD-MARTINIE

INRA, CR de Clermont-Ferrand-Theix Plateau de Microscopie Electronique 63122 Saint Genes Champanelle Tél : 04 73 62 40 17 - Email : <u>martinie@clermont.inra.fr</u>

Cécile GARCIA

LCTS 3 allée de la Boétie 33600 Pessac Tél : 06 72 66 53 98 - Email : <u>garcia@lcts.u-bordeaux1.fr</u>

Anaïs GARCIA

EDF R&D, Département MMC Avenue des Renardières, Ecuelles BP46 77818 Moret sur Loing Tél : 01 60 73 63 73 - Email : <u>anais.garcia@edf.fr</u>

Christophe GATEL CNRS / Université Paul Sabatier, CEMES 29 rue Jeanne Marvig, BP 94347 31055 Toulouse Tél : 05 62 25 78 93 - Email : gatel@cemes.fr

Eric GAUTIER

CNRS / SPINTEC, URA 2512 CEA/CNRS CEA Bât. 1005 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 45 04 - Email : <u>eric.gautier@cea.fr</u>

Thierry GAUTIER

Institut Albert Bonniot, Domaine de la Merci 38706 La Tronche Tél : 04 76 54 94 90 - Email : <u>thierry.gautier@ujf-grenoble.fr</u>

Cécile GENEVOIS Ecole des Mines de Saint Etienne / Centre SMS 158 cours Fauriel 42100 Saint Etienne Tél : 04 77 42 00 39 - Email : <u>genevois@emse.fr</u>

Edgar GENTILHOMME

Centre de Recherche du Service de Santé des Armées BP 87 38702 La Tronche cedex, France Tél : 04 76 63 69 13 - Email : <u>edgargentilhomme@crssa.net</u>

Patrice GERGAUD

CEA LETI - Minatec 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 56 26 - Email : <u>patrice.gergaud@cea.fr</u>

Louis GERRER

CEA Grenoble, DRFMC/LEMMA 15 bis rue Ponsard 38100 Grenoble Tél : 06 71 32 65 67 - Email : <u>louis.gerrer@ensps.u-strasbg.fr</u>

Suzanne GIORGIO

CNRS / CRMCN Campus de Luminy, Case 913 13288 Marseille cedex 9 Tél : 06 62 90 38 28 - Email : giorgio@crmcn.univ-mrs.fr

Pierre-Emmanuel GLEIZES

CNRS / LBME 118 route de Narbonne 31062 Toulouse Tél : 05 61 33 59 26 - Email : <u>gleizes@ibcg.biotoul.fr</u>

Frédéric GOBEAUX

Université Pierre et Marie Curie Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris Equipe Matériaux du Vivant 12 rue Cuvier 75005 Paris Tél : 01 44 27 65 53 - Email : <u>fgobeaux@snv.jussieu.fr</u>

Franck GODIARD

Université Montpellier 2 Service Commun Microscopie Electronique CC087 Bat 24 RDC Place Eugene Battaillon 34095 Montpellier Tél : 04 67 14 93 80 - Email : <u>franck.godiard@univ-montp2.fr</u>

Alexeï GRICHINE

Institut Albert Bonniot, CR Inserm U823 Université Joseph Fourier Grenoble I Domaine de la Merci 38706 La Tronche Tél : 04 76 54 94 89 - Email : alexei.grichine@ujf-grenoble.fr

Laure GUETAZ

CEA Grenoble LITEN / DTH / LCPEM 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 39 23 - Email : <u>laure.guetaz@cea.fr</u>

Irina GUTSCHE

Unit for Virus Host-cell Interactions UMR CNRS 5233 UJF-EMBL-CNRS 6 rue Jules Horowitz 38042 Grenoble Tél : 04 76 20 94 63 - Email : <u>gutsche@embl.fr</u>

Olivier HAEBERLE

Université de Haute-Alsace Laboratoire MIPS/LabEl IUT de Mulhouse 61 rue Albert Camus 68093 Mulhouse Tél : 03 89 33 76 60 - Email : <u>olivier.haeberle@uha.fr</u>

Anne-Marie HAEBERLE

CNRS / INCI 5 rue Blaise Pascal 67084 Strasbourg Tél : 03 88 45 66 37 Email : haeberle@neurochem.u-strasbg.fr

Marek HAFTEK

Université Lyon 1 / CNRS / Matrix Labo de Dermatologie Pavillon R, Hôpital Edouard Herriot 69437 Lyon Tél : 04 72 11 02 92 - Email : <u>haftek@lyon.inserm.fr</u>

Paul HAGHI-ASHTIANI

CNRS - Ecole Centrale Paris Laboratoire MSSMAT Grande Voie des Vignes 92290 Châtenay-Malabry Tél : 01 41 13 12 53 - Email : <u>paul.haghi-ashtiani@ecp.fr</u>

Danièle HERNANDEZ-VERDUN

CNRS / Institut Jacques Monod 2 place Jussieu 75251 Paris Tél : 01 44 27 40 38 - Email : <u>dhernand@ccr.jussieu.fr</u>

Aïcha HESSLER-WYSER

EPFL - CIME Bat MXC 135, Station 12 1015 Lausanne, Suisse Tél : +41 21 693 48 30 - Email : <u>aicha.hessler@epfl.ch</u>

Elizabeth Ann HEWAT

Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 45 68 - Email : <u>hewat@ibs.fr</u>

Florent HOUDELLIER

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig 31099 Toulouse Tél : 05 62 25 78 80 - Email : <u>florent@cemes.fr</u>

Christophe HOURIOUX

Faculté de Médecine Laboratoire de Biologie Cellulaire et Microscopie électronique 10 boulevard Tonnellé 37032 Tours cedex Tél : 02 47 36 60 71 - Email : <u>hourioux@med.univ-tours.fr</u>

Florian HÜE

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig, BP 94347 31055 Toulouse Tél : 05 62 25 78 31 - Email : <u>hue@yahoo.fr</u>

Marielle HUVE

UCCSn ENSCL, Bâtiment C7, BP 90108 59652 Villeneuve d'Ascq cedex Tél : 03 20 33 72 99 - Email : <u>huve@ensc-lille.fr</u>

Martin HYTCH

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig 31000 Toulouse Email : <u>hytch@cemes.fr</u>

Rana IBRAHIM

Institut Curie 7A bd Jourdan 75014 Paris Tél : 06 27 26 81 01 - Email : <u>rana.ibrahim@curie.u-psud.fr</u>

Dominique IMHOFF

CNRS / Laboratoire Physique des Solides Bât. 510, Université Paris-Sud 91405 Orsay Tél : 01 69 15 60 76 - Email : <u>imhoff@lps.u-psud.fr</u>

Damien JACOB

USTL, CNRS / LSPES Bât. C6, Cité Scientifique 59655 Villeneuve d'Ascq Email : <u>damien.jacob@univ-lille1.fr</u> Danielle JAILLARD Université Paris XI / Centre Commun de Microscopie Electronique, UMR 8080 CNRS 9405 cedex Orsay Tél : 01 69 15 64 17 - Email : danielle.jaillard@u-psud.fr

Sylvie JAMON-GACHET Michelin, Centre de Technologies Ladoux, Bât. E1 Place des Carmes Déchaux 63040 Clermont-Ferrand cedex 9 Tél : 04 73 10 74 42 Email : <u>sylvie.jamon-gachet@fr.michelin.com</u>

Eric JANOT ALCAN CRV, Centre de Recherches de Voreppe Centr'Alp, BP27 38341 Voreppe cedex Tél : 04 76 57 82 02 - Email : <u>eric.janot@alcan.com</u>

Xavier JAURAND

Université Claude Bernard Lyon 1 Centre Technologique des Microstructures, Bâtiment Darwin B 5 rue R. Dubois 69622 Villeurbanne Tél : 04 72 44 82 65 - Email : <u>xavier.jaurand@univ-lyon1.fr</u>

Craig JOHNSON

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne-Marvig 31000 Toulouse Tél : 05 62 25 78 83 - Email : johnson@cemes.fr

Lucile JOLY-POTTUZ

INSA de Lyon, MATEIS Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne Tél : 04 72 43 71 02 - Email : <u>lucile.joly-pottuz@insa-lyon.fr</u>

Pijarn JORNSANOH INSA de Lyon, MATEIS, UMR CNRS 5510 Bât. Blaise Pascal - 1er étage 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne Tél : 04 72 43 70 33 - Email : <u>pijarn.jornsanoh@insa-lyon.fr</u>

Véronique JOSSERAND

Institut Albert Bonniot, INSERM U823 Cibles Diagnostiques ou Thérapeutiques et Vectorisation des Drogues dans le Cancer du Poumon Rond point de la Chantourne 38700 La Tronche Tél : 04 76 54 95 53 Email : veronique.josserand@ujf-grenoble.fr

Pierre-Henri JOUNEAU

CEA Grenoble, DRFMC/LEMMA 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 42 26 - Email : <u>pierre-henri.jouneau@cea.fr</u>

Abdelkhalek KAMMOUNI

Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III Laboratoire TECSEN, UMR CNRS 6122 Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme - Case 261 13397 Marseille Tél : 04 91 28 90 10 Email : abdelkhalek.kammouni@univ-cezanne.fr

Angus KIRKLAND

Oxford University, Department of Materials Parks Road OX13PH Oxford, Royaume-Uni Tél : +44 1865273662 Email : <u>angus.kirkland@material.ox.ac.uk</u> Holger KLEIN Institut Néel, CNRS et UJF 25 avenue des Martyrs, BP 166 38042 Grenoble Tél : 04 76 88 79 41 - Email : <u>holger.klein@grenoble.cnrs.fr</u>

Robert KLIE

University of Illinois 845 W Taylor Street, M/S 273 60607 Chicago, IL, USA Tél : +1 312 996 6064 - Email : <u>rfklie@uic.edu</u>

Mathias KOBYLKO

CNRS / LPS Laboratoire de Physique des Solides, CNRS UMR 8502 Bâtiment 510, Université Paris-Sud 91405 Orsay cedex Tél : 01 69 15 53 80 - Email : <u>kobylko@lps.u-psud.fr</u>

Mathieu KOCIAK

CNRS / LPS Bâtimet 510, université Paris-Sud, 91405 Orsay Tél : 01 69 15 53 61 - Email : <u>kociak@lps.u-psud.fr</u>

Maxim KORYTOV

CNRS / CRHEA Rue Bernard Grégory 06560 Valbonne Tél : 04 93 95 42 13 - Email : <u>mk@crhea.cnrs.fr</u>

Viacheslav KUKSNKO

INSA de Lyon, MATEIS Bât. Blaise Pascal Avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne cedex Email : <u>viacheslar.kuksenko@insa-lyon.fr</u>

Laurens KWAKMAN

NXP Semiconductors Crolles R&D 860 rue Jean Monnet 38920 Crolles Tél : 06 07 45 85 95 - Email : <u>laurens.kwakman@nxp.com</u>

Lydia LAFFONT

LRCS 33 rue Saint Leu 80039 Amiens Tél : 03 22 82 79 01 - Email : <u>lydia.laffont@u-picardie.fr</u>

Dominique LAFOND

CEA / LETI 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 48 70 - Email : <u>dominique.lafond@cea.fr</u>

Olivier LAMBERT

CNRS / CBMN Bât. B8, Avenue des Facultés 33405 Talence Tél : 05 40 00 34 90 - Email : <u>o.lambert@iecb.u-bordeaux.fr</u>

Mélanie LAMIRAND

ICMCB 87 avenue du Docteur Schweitzer 33608 Pessac cedex Tél : 05 40 00 30 95 Email : <u>lamirand@icmcb-bordeaux.cnrs.fr</u>

Cyril LANGLOIS

Université Paris 7 Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques 4 rue Elsa Morante 75013 Paris Tél : 01 40 79 58 10 - Email : <u>cyril.langlois@paris7.jussieu.fr</u> Ludovic LARGEAU CNRS / LPN Laboratoire de Photonique et de Nanostructures Route de Nozay 91460 Marcoussis Tél : 01 69 63 61 74 - Email : <u>ludovic.largeau@lpn.cnrs.fr</u>

Laurence LATU-ROMAIN

CEA / LITEN Laboratoire des Composants Hybrides 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 43 45 - Email : <u>laurence.latu-romain@cea.fr</u>

Sabine LAY

INPG / SIMAP, ENSEEG 1130 rue de la Piscine, BP 75 38402 St Martin d'Hères cedex Tél : 04 76 82 66 28 - Email : <u>sabine.lay@ltpcm.inpg.fr</u>

Isabelle LE BRUN

UJF Grenoble Email : <u>isabelle.lebrun@ujf-grenoble.fr</u>

Mireille LEBOEUF

Université de Neuchatel Institut de Microtechnique Jaquet-Droz 1 2002 Neuchâtel, Suisse Tél : +41 32 720 52 54 - Email : mireille.leboeuf@unine.ch

Valerie LECOUTURIER

Sanofi Pasteur 1541 av. Marcel Mérieux Campus Mérieux 69280 Marcy l'Etoile Tél : 04 37 37 07 92 Email : <u>valerielecouturier@sanofipasteur.com</u>

Amélie LEFORESTIER

CNRS / LPS Laboratoire de Physique des Solides Université Paris-Sud, Bât. 510 91405 Orsay Tél : 01 69 15 60 87 - Email : leforestier@lps.u-psud.fr

Laurent LEGRAS

EDF R&D, Département MMC Avenue des renardières Moret sur Loing cedex 77250 Ecuelles Tél : 01 60 73 62 36 - Email : <u>laurent.legras@edf.fr</u>

Joëlle LEONIL

INRA, Agrocampus, UMR 1253 65 rue de Saint Brieuc 35042 Rennes Tél : 02 23 48 53 40 - Email : joelle.leonil@rennes.inra.fr

Jean LEPAULT

CNRS / LVMS 1 avenue de la Terrasse 91190 Gif sur Yvette Tél : 01 69 07 38 55 - Email : <u>lepault@vms.cnrs-gif.fr</u>

Christine LEROUX

Université du Sud Toulon-Var / L2MP Bât. R, BP 20132 83957 La Garde cedex Tél : 04 94 14 23 12 - Email : <u>leroux@univ-tln.fr</u>

Amélie LINTANF

INPG / ENSEEG, SIMAP Domaine Universitaire 1130 rue de la piscine 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 65 74 - Email : <u>amelie.lintanf@enseeg.inpg.fr</u> Fabiola LISCIO SIMAP, Science et Ingénierie des Matériaux & Procédés INP Grenoble-CNRS-UJF, BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 66 14 - Email : <u>fabiola.liscio@ltpcm.inpg.fr</u>

Fréderic LORUT

ST Microelectronics 850 rue Jean Monnet 38950 Crolles Email : <u>frederic.lorut@st.com</u>

Wolfgang LUDWIG

INSA de Lyon, MATEIS, UMR 5510 CNRS 25 av. Jean Capelle 69621 Villeurbanne Tél : 04 76 88 29 73 - Email : ludwig@esrf.fr

Isabelle LY

CNRS - Centre de Recherche Paul Pascal Avenue Albert Schweitzer 33600 Pessac Tél : 05 56 84 56 55 - Email : <u>ly@crpp-bordeaux.cnrs.fr</u>

Françoise MADELAN

ALCAN – CRV, Centre de Recherches de Voreppe Centr'Alp, BP 27 38341 Voreppe cedex Tél : 04 76 57 831 3 - Email : <u>francoise.madelan@alcan.com</u>

Véronique MADIGOU

Laboratoire L2MP, UMR CNRS 6137 Université du Sud Toulon-Var, Bât. R, BP 20132 83957 La Garde Tél : 04 94 14 20 32 - Email : <u>madigou@univ-tln.fr</u>

Jérôme MAJIMEL

CNRS / ICMCB 87 avenue du docteur Schweitzer 33608 Pessac cedex Tél : 05 40 00 31 98 Email : <u>majimel@icmcb-bordeaux.cnrs.fr</u>

Annie MALCHERE

INSA de Lyon, MATEIS Domaine de la Doua, Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 79 13 - Email : <u>annie.malchere@insa-lyon.fr</u>

Katia MARCH

Université Paris-Sud / LPS Laboratoire de Physique des Solides Bât. 510, Université Paris-Sud 91405 Orsay cedex Tél : 01 69 15 53 61 - Email : <u>march@lps.u-psud.fr</u>

Sergio MARCO

Institut Curie, Laboratoire Raymond Latarjet, INSERM U759 Imagerie intégrative, Equipe d'Imagerie Cellulaire Centre Universitaire d'Orsay, Bât 112 91405 Orsay Tél : 06 67 07 42 14 - Email : <u>sergio.marco@curie.fr</u>

Karine MASENELLI-VARLOT

INSA de Lyon, MATEIS Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne Tél : 04 72 43 62 09 Email : <u>karine.masenelli-varlot@insa-lyon.fr</u>

Aurélien MASSEBOEUF

CEA Grenoble, DRFMC/LEMMA 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 27 88 - Email : <u>amasseboeuf@cea.fr</u>

Mr Jacques MATHIEU

Centre de Recherche du Service de Santé des Armées 24 avenue des Maquis du Grésivaudan - BP87 38702 La Tronche Tél : 04 76 63 69 36 - Email : jdmathieu@crssa.net

Vincent MAUCHAMP

INSA de Lyon, MATEIS, UMR CNRS 5510 Bât Blaise Pascal 69621 Villeurbanne Tél : 04 72 43 61 31 - Email : <u>vincent.mauchamp@insa-lyon.fr</u>

Jean-Luc MAURICE

Unité mixte de physique CNRS/Thales Route départementale 128 91767 Palaiseau Tél : 01 69 41 58 37 Email : jean-luc.maurice@thalesgroup.com

Stefano MAZZUCCO

CNRS / Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502 Université Paris-Sud, Bât. 510 91405 Orsay

Tél: 01 69 15 53 71 - Email: <u>mazzucco@lps.u-psud.fr</u>

Nicolas MENGUY

Institut de Minéralogie et Physique des Milieux Condensés 140 rue de Lourmel 75015 Paris Tél : 01 44 27 50 59 Email : <u>nicolas.menguy@impmc.jussieu.fr</u>

Philippe MESINI

Institut Charles Sadron 6 rue Boussingault 67000 Strasbourg Tél : 03 88 41 40 70 - Email : <u>mesini@ics.u-strasbg.fr</u>

Cédric MESSAOUDI

Institut Curie Bât 112, Centre universitaire d'Orsay 91405 Orsay cedex Email : cedric.messaoudi@curie.u-psud.fr

Sylvain MOLON-NOBLOT

MSD-Chibret, Centre de Recherche Route de Marsat, Riom 63963 Clermont-Ferrand cedex 9 Tél : 04 73 67 50 89 - Email : sylvain molonnoblot@merck.com

Serge MONNERET

CNRS, Institut Fresnel Domaine universitaire de Saint-Jérôme 13397 Marseille Tél : 04 91 28 80 52 - Email : <u>serge.monneret@fresnel.fr</u>

Nicole MONTESANTI

CNRS / CERMAV Domaine Universitaire 601 rue de la Chimie 38400 St Martin d'Hères Tél : 04 76 03 76 15 - Email : <u>nicolemontesanti@yahoo.fr</u>

Adam MORAWIEC

Polish Academy of Sciences Institute of Metallurgy and Materials Science 30-059 Krakow, Pologne Tél : +48 12 637 4200 ext.385 Email : <u>mmorawi@cyf-kr.edu.pl</u>

Gérard MOREL

CNRS - Université Claude Bernard-Lyon1 Centre Technologique des Microstructures, UMR 5123 69622 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 29 27 - Email : <u>gerard.morel@univ-lyon1.fr</u>

Stéphanie MORLENS

CNRS / Institut Néel 25 avenue des Martyrs BP 166 38042 Grenoble Email : <u>morlens@grenoble.cnrs.fr</u>

Jean-Paul MORNIROLI

USTL, ENSCL, CNRS Laboratoire de Métallurgie et Génie des Matériaux Bâtiment C6, Cité Scientifique 59500 Villeneuve d'Ascq Tél : 03 20 43 69 37 Email : jean-paul.morniroli@univ-lille1.fr

Claudie MORY

Laboratoire de Physique des Solides Bât. 510, Université Paris Sud 91405 Orsay Tél : 01 69 15 53 69 - Email : <u>mory@lps.u-psud.fr</u>

Gervaise MOSSER

CNRS / Equipe Matériaux du Vivant UMR7574-CNRS-UPMC 12 rue cuvier 75005 Paris Tél : 01 44 27 65 53 - Email : <u>gervaise.mosser@snv.jussieu.fr</u>

Jérôme MUTTERER

CNRS / Institut de Biologie Moléculaire des Plantes 12 rue du général Zimmer 67084 Strasbourg Tél : 03 88 41 72 16 Email : jerome.mutterer@ibmp-ulp.u-strasbg.fr

Christine NARDIN

ALCAN CRV Centre de Recherches de Voreppe Centr'Alp, BP27 38341 Voreppe cedex Tél : 04 76 57 81 01 - Email : <u>christine.nardin@alcan.com</u>

Jorge NAVAZA

IBS Grenoble LMES, UMR5075 CEA-CNRS-Univ. Joseph Fourier 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 20 58 - Email : jorge.navaza@ibs.fr

Jaysen NELAYAH

CNRS / LPS Laboratoire de Physique des Solides, UMR CNRS 8502 Bâtiment 510, Université Paris-Sud 91405 Orsay Tél : 01 69 15 80 04 - Email : <u>nelayah@lps.u-psud.fr</u>

Emmanuelle NEUMANN CEA Grenoble, DSV / IBS - LMES 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 01 57 - Email : <u>emmanuelle.neumann@ibs.fr</u>

Antoine Luan NGUYEN

CNRS / CRHEA Rue Bernard Grégory 06560 Valbonne Tél : 04 93 95 42 13 - Email : <u>luan.nguyen@crhea.cnrs.fr</u>

Frédéric PAILLOUX

Université de Poitiers, CNRS / LMP SP2MI, Bd. Marie & Pierre Curie Téléport 2 86962 Futuroscope-Chasseneuil Tél : 05 49 49 67 83 Email : <u>frederic.pailloux@univ-poitiers.fr</u>

Isabelle PAINTRAND

CNRS / CERMAV, BP53 38041 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 03 76 06 - Email : isabelle.paintrand@cermay.cnrs.fr

Roland PANTEL

STMicroelectronics, Crolles 2 850 Rue Jean Monnet 38926 Crolles Tél : 04 38 92 25 90 - Email : <u>roland.pantel@st.com</u>

Anne-Marie PAPON

CEA LETI, Minatec, DRT/DPTS/SCPIO 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 32 63 - Email : <u>ampapon@cea.fr</u>

Christopher PARMENTER

University of Warwick, Electron Microsopy and Imaging Suite Dept. Biological Sciences Gibbet Hill Rd CV4 7AL Coventry, Royaume-Uni Tél : +44 2476574544

Email : <u>christopher.parmenter@warwick.ac.uk</u>

Gaël PATAUT Michelin

Site de Ladoux, Bâtiment E1 Place des Carmes 63000 Clermont Ferrand cedex 9 Tél : 04 73 31 10 84 40 - Email : gael.pataut@fr.michelin.com

Romuald PATIENT

Faculté de Médecine Laboratoire de Virologie / INSERM ERI-19 10 boulevard Tonnellé 37032 Tours Tél : 02 47 36 61 27 - Email : patien_r@med.univ-tours.fr

Gilles PATRIARCHE

CNRS / Laboratoire de Photonique et de Nanostructures Route de Nozay 91460 Marcoussis Tél : 01 69 63 61 73 - Email : gilles.patriarche@lpn.cnrs.fr

Virginie PELLERIN

Université de Pau et des Pays de l'Adour IPREM - EPCP, Hélioparc 2 av. Président Angot 64053 Pau cedex 09 Tél : 05 59 40 75 92 - Email : <u>virginie.pellerin@univ-pau.fr</u>

Denis PELLOQUIN

CRISMAT, Laboratoire Crismat-Ensicaen 6 bd du Maréchal Juin 14050 Caen cedex Tél : 02 31 45 26 51 - Email : <u>denis.pelloquin@ensicaen.fr</u>

Eva PEREIRO

ALBA Light Source Ed. Cièncias Nord. Mòdul C3 central Campus Universitari de Bellaterra 08193 Bellaterra, Barcelona, Espagne Tél : +34 935924376 - Email : <u>epereiro@cells.es</u>

Olivier PEREZ

CRISMAT 6 Bd du marechal Juin 14050 Caen Tél : 02 31 45 26 13 - Email : <u>olivier.perez@ensicaen.fr</u>

Karin PERNET GALLAY

INSERM 17 avenue des martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 43 25 - Email : <u>karin.pernet-gallay@cea.fr</u>

Petra PERNOT

ESRF BP 220 38043 Grenoble Tél : 04 76 88 28 42 - Email : <u>rejma@esrf.fr</u>

Florence PETTINARI-STURMEL

CNRS / CEMES, BP 94347 29 rue Jeanne Marvig 31055 Toulouse Tél : 05 62 25 78 73 - Email : <u>florence.pettinari@cemes.fr</u>

Dominique PLOTON

UFR de Médecine 51 rue Cognacq-Jay 51092 Reims cedex Tél : 03 26 91 83 36 - Email : <u>dominique.ploton@univ-reims.fr</u>

Richard PORTIER

ENSCP, Groupe de Métallurgie Structurale 11 rue Pierre et Marie Curie 75231 Paris Tél : 01 43 54 32 76 - Email : <u>richard-portier@enscp.fr</u>

Valérie POTIN

CNRS / Institut Carnot de Bourgogne, UMR 5209 CNRS Université de Bourgogne , Faculté des Sciences Mirande 9 Avenue Alain Savary BP 47870 21078 Dijon cedex Tél : 03 80 39 59 23 - Email : <u>vpotin@u-bourgogne.fr</u>

Emilie POUGET

Eindhoven University of Technology Department of Biomedical Engineering Laboratory of Macromolecular and Organic Chemistry and Soft Matter, Cryo-TEM Research Unit STO 3.23, PO Box 513 5600 MB Eindhoven, Pays-Bas Tél : 06 72 71 53 45 - Email : <u>e.pouget@tue.nl</u>

Marie-Christine PREVOST

Institut Pasteur 25-28 rue du Doct Roux 75724/15 Paris Tél : 01 45 68 87 10 - Email : <u>mprevost@pasteur.fr</u>

Jean-Luc PUTAUX

CNRS / CERMAV, BP 53 38041 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 03 76 04 - Email : <u>putaux@cermav.cnrs.fr</u>

Guillaume RADTKE

Université Paul Cézanne Aix Marseille III Laboratoire TECSEN, UMR 6122 CNRS Faculté des Sciences de St Jérôme Case 262 13397 Marseille cedex 20 Tél : 04 91 28 90 12 Email : guillaume.radtke@univ-cezanne.fr

Laetitia RAPENNE HOMAND

CNRS / LMGP-INPG-MINATEC 3 parvis Louis Néel, BP 257 38016 Grenoble cedex 1 Tél : 04 56 52 93 31 - Email : <u>laetitia.rapenne@inpg.fr</u>

Edgar RAUCH

SIMAP / GPM2 101 rue de la physique ENSPG - BP 46 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 63 40 - Email : <u>edgar.rauch@inpg.fr</u> Pierre-Ivan RAYNAL Faculté de Médecine Département des Microscopies 10 bd Tonnellé, BP 3223 37032 Tours cedex 1 Tél : 02 47 36 60 71 - Email : <u>raynal@med.univ-tours.fr</u>

Abdelkrim REDJAïMIA

Ecole des Mines Laboratoire de Science et Génie des Surfaces Parc de Saurupt 54042 Nancy Tél : 03 83 58 41 90 Email : <u>abdelkrim.redjaimia@mines.inpl-nancy.fr</u>

Olivier RENAULT

CEA LETI - Minatec 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 96 48 - Email : <u>orenault@cea.fr</u>

Vincent RICHARD

Université Pierre et Marie Curie, LRS Laboratoire de Réactivité de Surface, UMR 7609 CNRS Tour 54, 1er étage 4 place de Jussieu 75005 Paris Tél : 01 44 27 55 12 - Email : vrichard@ccr.jussieu.fr

Christian RICOLLEAU

Université Paris 7, ESPCI/LPS Laboratoire Matériaux et Phénomènes Quantiques 10 rue Vauquelin 75005 Paris Tél : 01 40 79 44 10 - Email : christian.ricolleau@espci.fr

Christian RIEKEL

ESRF BP 220 38043 Grenoble cedex Tél : 04 76 88 20 51 - Email : riekel@esrf.fr

Hervé RIGNEAULT

CNRS / Institut Fresnel Bât Fresnel Domaine Universitaire de St Jérôme 13397 Marseille cedex 20 Tél : 04 91 28 80 49 - Email : <u>herve.rigneault@fresnel.fr</u>

Michel ROBERT-NICOUD

Université Joseph Fourier - Grenoble 1 Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche INSERM U 823 Domaine de la Merci, BP 170 38042 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 54 94 61 Email : michel.robert-nicoud@ujf-grenoble.fr

Philippe ROINGEARD

Université de Tours INSERM ERI 19 Faculté de Médecine 10 bld Tonnellé 37032 Tours Tél : 02 47 36 60 71 - Email : <u>roingeard@med.univ-tours.fr</u>

Olivier ROMEYER

Université de Savoie, UFR CISM - MEB 73376 Le Bourget du Lac Tél : 04 79 75 81 06 - Email : <u>olivier.romeyer@univ-savoie.fr</u>

Nicolas ROUGEMAILLE

CNRS - Institut Néel NANO - Boite D 25 rue des Martyrs 38042 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 88 74 27 Email : <u>nicolas.rougemaille@grenoble.cnrs.fr</u>

Karine ROUSSEAU

Serma Technologies BHT - Bâtiment 52 7 Parvis Louis Néel - BP 50 38040 Grenoble Tél : 04 38 02 36 86 - Email : <u>k.rousseau@serma.com</u>

Jean-Luc ROUVIERE

CEA Grenoble DRFMC/SP2M/LEMMA, GEM@Minatec 17 rue des Martyrs 38240 Grenoble Tél : 04 38 78 50 86 - Email : <u>jean-luc.rouviere@cea.fr</u>

Violaine SALVADOR

CEA Grenoble DRFMC/SP2M/LEMMA, GEM@Minatec 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 97 05 - Email : <u>violaine.salvador@cea.fr</u>

Mabel SAN ROMAN

Institut Jacques Monod Plate-forme de Microscopie Electronique 2 place Jussieu - tour 43, 1er étage 75005 Paris Tél : 01 44 27 50 95 - Email : <u>sanroman.mabel@ijm.jussieu.fr</u>

Yasmina SAOUDI

INSERM, Grenoble Institut Neurosciences (GIN), CEA-UJF-INSERM UMR_S 836, Groupe de Physiopathologie du Cytosquelette iRTSV CEA-Grenoble 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble Tél : 04 38 78 43 25 - Email : <u>ysaoudi@cea.fr</u>

Robin SCHAEUBLIN

EPFL - CRPP Centre de Recherches en Physique des Plasmas Association Euratom – Confédération Suisse 5232 Villigen, Suisse Tél : +41 56 310 40 82 - Email : robin.schaeublin@psi.ch

Marc SCHMUTZ

CNRS - ULP, Institut Charles Sadron 6 rue Boussingault, BP 40016 67083 Strasbourg Tél : 03 88 41 40 17 - Email : <u>schmutzm@ics.u-strasbg.fr</u>

Guy SCHOEHN

UJF-EMBL-CNRS / UVHCI Unit of Virus Host Cell Interactions, UMR 5233 6 rue Jules Horowitz, BP 181 38042 Grenoble cedex 9, france Tél : 04 76 20 94 23 - Email : <u>schoehn@embl.fr</u>

Aicha SERIER

Université M'hamed Bougara Laboratoire des revétements, matériaux et environnement Faculté des Sciences de l'Ingénieur 35000 Boumerdes, Algérie Tél : +213 24816459 - Email : <u>serier_ac@yahoo.fr</u>

Virginie SERIN

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig 31055 Toulouse cedex Tél : 05 62 25 78 67 - Email : <u>serin@cemes.fr</u>

Jean-Baptiste SIBARITA

Institut Curie, Plateforme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire -UMR CNRS 144 12 rue Lhomond 75005 Paris Tél : 01 42 34 64 49 - Email : <u>jbs@curie.fr</u> Xavier SIEBERT Institut de Biologie Structurale, LMES 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 01 58 - Email : <u>xsiebert@gmail.com</u>

Pierre-Yves SIZARET UFR de Médecine, Département des Microscopies 10 Boulevard Tonnellé 37032 Tours cedex Tél : 02 47 36 60 71 - Email : <u>sizaret@med.univ-tours.fr</u>

Etienne SNOECK

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig 31055 Toulouse Tél : 05 62 25 78 91 - Email : <u>snoeck@cemes.fr</u>

Catherine SOUCHIER

Institut Albert Bonniot, INSERM CRI U823 Equipe Stress et DyOGenIAB BP 170 - La Tronche 38042 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 54 94 66 Email : <u>catherine.souchier@ujf-grenoble.fr</u>

Danièle SPEHNER

IGBMC 1 rue Laurent Fries 67400 Illkirch Tél : 03 90 24 48 06 Email : <u>daniele.spehner@igbmc.u-strasbg.fr</u>

Odile STEPHAN CNRS / Laboratoire de Physique des Solides Université Paris-Sud, Bâtiment 510 91405 Orsay Tél : 01 69 15 53 69 - Email : <u>stephan@lps.u-psud.fr</u>

Svetla STOILOVA-MCPHIE

University of Warwick, Department of Biological Sciences Imaging and Electron Microscopy Facility CV4 7AL Coventry, Royaume-Uni Tél : +44 2476 574 544 - Email : <u>S.McPhie@warwick.ac.uk</u>

Jean SUSINI

European Synchrotron Radiation Facility 6 rue Jules Horowitz, BP220 38043 Grenoble cedex 9 Tél : 04 76 88 21 24 - Email : <u>susini@esrf.fr</u>

Elena Igorevna SUVOROVA-BUFFAT

Ecole Polytechnique Fédérale Lausanne Chalet l'Amadou, Ch. des Vioz CH-1865 Les Diablerets, Suisse Tél : +41 21 337 9384 - Email : <u>elena.suvorova@epfl.ch</u>

Pierre David SZKUTNIK

Université Paul Cézanne, L2MP Faculté des Sciences et Techniques, Campus de Saint Jérôme Avenue Escadrille Normandie Niemen - Case 142 13397 Marseille cedex 20 Tél : 04 91 28 91 64 - Email : <u>pierre.szkutnik@l2mp.fr</u>

Jany THIBAULT-PENISSON

CNRS / TECSEN, UMR6122-CNRS Université Paul Cézanne Aix-Marseille III Rue Normandie Niemen 13397 Marseille Tél : 04 91 28 90 87 - Email : jany.thibault@univ-cezanne.fr

Gilbert THOLLET

INSA de Lyon, MATEIS Bâtiment Blaise Pascal 7 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne cedex Tél : 04 72 43 84 95 - Email : <u>gilbert.thollet@insa-lyon.fr</u>

Olivier TOTTEREAU

CNRS / CRHEA Rue Bernard Gregory Sophia Antipolis 06560 Valbonne Tél : 04 93 95 42 04 - Email : <u>ot@crhea.cnrs.fr</u>

Florent TOURNUS

CNRS / LPMCN Université Claude Bernard Lyon 1 Domaine Scientifique de la Doua — Bâtiment Léon Brillouin 43 Boulevard du 11 novembre 1918 69622 Villeurbanne Tél : 04 72 43 19 96 - Email : <u>ftournus@lpmcn.univ-lyon1.fr</u>

Marc TRAMIER

IJM, Universite P6 et P7, UMR 7592 CNRS 2 place Jussieu 75005 Paris Tél : 01 44 27 82 93 - Email : tramier@ijm.jussieu.fr

Stefano TRAPANI

Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel Laboratoire de Microscopie Électronique Structurale UMR 5075, CNRS 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 92 62 - Email : <u>trapani@ibs.fr</u>

David TROADEC

Institut d'Electronique et de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN) Avenue Poincaré 59652 Villeneuve d'Ascq Tél : 03 20 19 79 92 Email : <u>david.troadec@iemn.univ-lille1.fr</u>

Robert TRUCHE

CEA Grenoble, DRT LETI MINATEC 17 rue des Martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 47 67 - Email : <u>robert.truche@cea.fr</u>

Christian TURQUAT

Université du Sud, Toulon-Var, L2MP, UMR CNRS 6137 BP 20132 83957 La Garde cedex Email : <u>turquat@univ-tln.fr</u>

Corinne ULHAQ-BOUILLET

IPCMS 23 rue du Loess, BP 20CR 67037 Strabourg Tél : 03 88 10 70 81 - Email : <u>ulhaq@ipcms.u-strasbg.fr</u>

Yves USSON

CNRS / TIMC-IMAG, UMR CNRS 5525, IN3S Pavillon le Taillefer, Domaine de la Merci 38706 La Tronche cedex Tél : 04 56 52 00 74 - Email : <u>yves.usson@imag.fr</u>

Béatrice VACHER

Ecole Centrale de Lyon / LTDS, UMR 5513 36 avenue Guy de Collongue - Bat H10 69134 Ecully cedex Tél : 04 72 18 62 79 - Email : <u>beatrice.vacher@ec-lyon.fr</u>

Roger VALLE

ONERA / DMSC 29 avenue de la Division Leclerc 92322 Chatillon cedex Tél : 01 46 73 45 69 -

Bertrand VAN DE MOORTELE

ENS-Lyon 46 allée d'Italie 69007 Lyon Tél : 04 72 72 84 05 Email : bertrand.van.de.moortele@ens-lyon.fr

Christophe VANBELLE

CeCIL / IFR62 / Inserm / UCBL Faculté de médecine Laennec 7 rue Guillaume Paradin 69372 Lyon cedex 8 Tél : 04 78 77 86 52 Email : <u>christophe.vanbelle@recherche.univ-lyon1.fr</u>

Jonas VANNOD

EPFL-CIME Bâtiment MXC 116 1015 Lausanne, Suisse Tél : +41 21 693 68 13 - Email : jonas.vannod@epfl.ch

Denis VENET

CEA Grenoble, DRT/LITEN/DTH/LCPEM 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9 Tél : 04 38 78 49 65 - Email : <u>denis.venet@cea.fr</u>

Philippe VENNEGUES

CNRS / CRHEA Rue Bernard Gregory 06560 Valbonne Tél : 04 93 95 78 26 - Email : <u>pv@crhea.cnrs.fr</u>

Marc VERDIER

CNRS – INPG, SIMAP-ENSEEG Domaine Universitaire, BP 75 38402 Saint Martin d'Hères cedex Tél : 04 76 82 66 09 - Email : <u>marc.verdier@ltpcm.inpg.fr</u>

Muriel VERON

SIMAP, Groupe Physique du métal 1130 rue de la piscine Domaine universitaire, BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 66 22 - Email : <u>muriel.veron@inpg.fr</u>

Vanessa VIDAL

CNRS / CEMES 29 rue Jeanne Marvig BP 94347 31055 Toulouse cedex 4 Tél : 05 62 25 78 70 - Email : <u>vidal@cemes.fr</u>

Michael WALLS

CNRS / Laboratoire de Physique des solides Université Paris Sud, Bât. 510 91405 Orsay Tél : 01 6915 53 35 - Email : <u>walss@lps.u-psud.fr</u>

Guillaume-Yangshu WANG

CNRS / ICMPE (ex CECM) Institut de chimie et des matériaux Paris Est / Equipe MCMC 15 rue Georges Urbain 94407 Vitry sur Seine Tél : 01 56 70 30 74 - Email : <u>guillaume.wang@glvt-cnrs.fr</u>

Fabienne WARMONT

CNRS / Centre de Recherche sur la Matière Divisée 1b rue de la Férollerie 45071 Orléans cedex 2 Tél : 06 09 17 15 13 Email : fabienne.warmont@cnrs-orleans.fr

Jacques WERCKMANN CNRS / IPCMS-GSI

23 rue du Loess, BP 43

67034 Strasbourg cedex 2 Tél : 03 88 10 70 30 Email : jacques.werckmann@ipcms.u-strasbg.fr

Ling WINNIE

IBS / CEA Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Tél : 04 38 78 92 62 - Email : <u>wai-li.ling@ibs.fr</u>

Stéphane WOERLY

CNRS / CERMAV 601 rue de la Chimie 38041 Grenoble Tél : 04 76 03 76 18 - Email : <u>woerlymj@wanadoo.fr</u>

Xiao-Chuan XIONG

Ecole des Mines Laboratoire de Science et Génie des Surfaces Parc de Saurupt 54042 Nancy Tél : 03 83 58 40 27 - Email : <u>xiong@mines.inpl-nancy.fr</u>

Elodie XOLIN

ALCAN - Centre de Recherches de Voreppe Centr'Alp , BP27 38341 Voreppe cedex Tél : 04 76 57 84 94 - Email : <u>elodie.xolin@alcan.com</u>

Oussama YOUSFI

LTPCM-ENSEEG-INPG, SIMAP Groupe Physique du Métal Domaine Universitaire BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 65 09 - Email : <u>oussama.yousfi@ltpcm.inpg.fr</u>

Stefan ZAEFFERER

Max-Planck-Institute for Iron Research Max-Planck-Str. 1 40237 Duesseldorf, Allemagne Tél : +49 211 6792 803 - Email : <u>s.zaefferer@mpie.de</u>

Alberto ZOBELLI

Université Paris-Sud, CNRS / LPS Laboratoire de Physique des Solides, UMR 8502 91405 Orsay Email : <u>zobelli@lps.u-psud.fr</u>

Carine ZOLLER

USTL, Laboratoire de Structure et Propriétés de l'Etat Solide Université des Sciences et Technologies de Lille Bâtiment C6 59655 Villeneuve d'Ascq Tél : 03 20 43 47 79 - Email : <u>carine.zoller@ed.univ-lille1.fr</u>

Lan ZUAZO

INPG / SIMAP Domaine Universitaire 1130 rue de la Piscine, BP 75 38402 Saint Martin d'Hères Tél : 04 76 82 66 69 - Email : <u>izuazo@ltpcm.inpg.fr</u>

Invités membres d'honneur SFµ

Alain Bourret

Françoise Hagueneau

Peter Hawkes

Bernard Jouffrey

Invités

Paul Ballongue (LPS Orsay)

Henri Chanzy (CERMAV Grenoble)

Participants et invités GN-MEBA

Participants

Sonia Achard Renault

Jerôme Barbotin Corning European Technology Center, 77210 Avon Marc Biosa

Lafarge LCR, Saint Quentin Fallavier **David Bonina**

LSG2M - Ecole des Mines de Nancy Catherine Bouillon

Lafarge LCR, Saint Quentin Fallavier Philippe Bridot

ALCAN CRV, Voreppe

Hubert Bril Labo. Hydrasa - Faculté des Sciences, Limoges François Brisset

ICMMO - Bât 410, Orsay

Bénédicte Brugier AREVA NP, Centre technique corrosion chimie, Le Creusot Giavanni Bruno

Corning European Technology Center, 77210 Avon

Olivier Calonne AREVA NP, Centre technique corrosion chimie, Le Creusot

Pierre Caulet ARJOWIGGINS, Apprieu

Dominique Cauvin Mittal Steel Europe - R & D Amnéville

Frédéric Charlot INPG - CMTC – ENSEEG, St-Martin d'Hères

Patrick Chaudouet LMGP - INP Grenoble – MINATEC, Grenoble Rémi Chiron

CNRS - LPMTM – Université Paris 13, Villetaneuse Stephane Coindeau

INPG - CMTC - ENSEEG St-Martin d'Hères cx Alexandre Courtin

Nomade Labo. Hydrasa - Faculté des Sciences, Limoges Anne Crochet

Corning European Technology Center 77210 Avon

Jocelyne Daraspe Laboratoire ROLLEX SA

Oléna Danylova IMPHY Alloys, Imphy Pierre-Emmanuel Dubois

UGITECH SA – CR, Ugine **Pascal Dubos**

ROLEX SA, Chêne Bourg Jean Marie Feppon

ALCAN CRV, Voreppe Odile Fraboulet

Corning European Technology Center, 7721 Avon François Grillon

Centre des Matériaux, Evry

Philippe Hallegot L'OREAL Recherche, Aulnay sous Bois Guy Hesser

IUT d'Orsay, Orsay Nicolas Jourjon

IMPHY Alloys – CR, Imphy Emmanuel Joussein

Labo. Hydrasa - Faculté des Sciences, Limoges Alain Kohler

Université Henri Poincaré, Vandoeuvre les Nancy

Sébastien Lombard Lafarge LCR, Saint Quentin Fallavier Laurent Maniguet INPG - CMTC - Bât ENSEEG, Saint Martin d'Hères Sandrine Mathieu Université Henri Poincaré, Vandoeuvre les Nancy **Claire Maurice** Ecole des Mines de St-Etienne, Saint Etienne **Alexandre Montani** CEA - DRT/LITEN/DTH/LEV, Grenoble Johann Ravaux Université Henri Poincaré - LCSM, Vandoeuvre les Nancy Julien Renard Corning European Technology Center, 77210 Avon Monique Repoux CEMEF, Sophia-Antipolis Florence Robaut INPG - CMTC - ENSEEG, Saint Martin d'Hères **Olivier Robyr** MICROSCAN - Svce SA, Chavannes-Près-Renens Pierre Rolland ALPRIMAGE, Les Ulis Francine Roussel INPG - CMTC - ENSEEG, Saint Martin d'Hères Raphaëlle Rousset AREVA NP, Centre technique corrosion chimie, Le Creusot Jacky Ruste 23 rés. la Baronnière, Saintry sur Seine **Eddy Schmidt** ROLEX SA, Chêne Bourg **Randolfo Villegas** Mittal Steel Europe - R & D, Amnéville Philippe Volckaert SERMA Technologies Invités **David Balloy** Ecole centrale de Lille Rabah Benbalagh CAMECA, Gennevilliers **Denis Boivin** ONERA - DMMP/MACC, Chatillon **Elisabeth Bouchaud** CEA Saclay Serge Carras Altimet Anne Colonna L'OREAL Recherche, Aulnay sous Bois **David Dingley** TSL-Utah et Université de Bristol **Fabrice Esposito** Alcan, Voreppe Anne Laure Etter LPCES, Orsay **Marie-Anne Prévost ONERA Catherine Sant** Université d'Evry Val d'Essonne, Evry

Aurélie Wauthier Arcelor, Maizières les Metz Kangying Zhu

LPMTM – CNRS, Villetaneuse

Mardi 5 juin						
12.30-14.00	Accueil et installation des posters					
14.00-16.00	Cérémonie d'ouverture du colloque SFµ 2007 Conférences plénières Jany Thibault-Pénisson (Marseille) - La microscopie électronique en transmission : de l'observation à la mesure Christoph Cremer (Heidelberg) - Nouveaux développements en microscopie photonique					
16-00-17.15	Pause café et session posters					
17.15-18.00	Conférences plénières (suite) Jean Susini (Grenoble) - Etat de l'art et actualité en microscopie X					
18.00-20.00	Inauguration de l'exposition : remise des prix Favard et apéritif					
Mercredi 6 juin						
08.30-10.30	Symposium commun Nouveaux développements techniques			iques		
10.30-11.00	Pause café, session posters et expositio			osition		
11.00-12.45	Symposium Physique / Ma Microscopie quantita	atériaux tive	Symposium GN-MEBA Nouveaux développements techniques	Symp Dével mi	osium Bio / Matière molle oppements techniques en icroscopie photonique	
12.45-13.30	Déjeuner					
13.30-14.30	Contributions des exposants "Au café de l'expo - I (physique)"			Cont "Au c	ributions des exposants afé de l'expo - l (biologie)"	
14.30-16.30	Symposium commun Physique / Matériaux / GN-MEBA Mesures des textures, déformations et contraintes - I			Symp Le m	osium Bio / Matière molle es virus : structures et écanismes d'infection	
16.30-17.00		Pa	ause café, session posters et expo	osition		
17.00-18.30	Symposium Physique / Ma Matériaux pour les transp l'énergie	atériaux ports et	Symposium GN-MEBA Mesures des textures, déformat et contraintes	ions Micr	osium Bio / Matière molle oscopie et rayonnement synchrotron	
18.30-19.00						
19.30			Réception au Musée de Grenob	ble		
Jeudi 7 juin						
08.30-10.30	Symposium commun Imagerie 3D et reconstruction					
10.30-11.00	Pause café, session posters e			osition		
11.00-12.45	Symposium Physique / Matériaux Nano-objects		Symposium GN-MEBA Imagerie 3D et reconstructio	n Ap m	osium Bio / Matière molle proche 3D en imagerie oléculaire et cellulaire	
12.45-13.30	Déjeuner					
13.30-14.30	Contributions des exposants "Au café de l'expo - II"					
14.30-16.00	Assemblée général de la SFµ	e	Symposium GN-MEBA Imagerie 3D et reconstructio	n	Assemblée générale de la SFµ	
16.00-16.30	Pause café, session posters et exposition					
16.30-18.30	Symposium Physique / Matériaux Mesures des textures, déformations et contraintes - II				Symposium Bio / Matière molle Approche 3D en imagerie tissulaire et intra-vitale	
20.00	Banquet					
Vendredi 8 juin						
8.30-10.30	Symposium Physique / Matériaux Matériaux fontionnels I - Dispositifs électronique, optiques, mécaniques			Symp Nar or	Symposium Bio / Matière molle Nano particules et coloïdes organiques ou hybrides	
10.30-11.00			Pause café et session posters			
11.00-12.45	Symposium Physique / Matériaux Matériaux fontionnels II - Dispositifs magnétiques et thermoélectriques			Symp Autoass	Symposium Bio / Matière molle Autoassemblage, auto-organisation, cristaux liquides	
Fin du colloque						
	Amphithéâtre		Salle GN-MEBA		Salle Bio / MM	