



HAL
open science

Analyse de la microscopie de force dynamique : application à l'étude de l'ADN

Laurent Nony

► **To cite this version:**

Laurent Nony. Analyse de la microscopie de force dynamique : application à l'étude de l'ADN. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, 2000. Français. NNT : . tel-00008804

HAL Id: tel-00008804

<https://theses.hal.science/tel-00008804>

Submitted on 17 Mar 2005

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

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

N° d'ordre: 2328

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES PHYSIQUES ET DE
L'INGÉNIEUR**

Par M. Laurent NONY

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : LASERS ET MATIERE DENSE

**Analyse de la microscopie de force dynamique : application à
l'étude de l'A.D.N.**

Soutenue le : 4 Décembre 2000

Après avis de : MM. **V. CROQUETTE** Directeur de Recherche, CNRS Rapporteurs
C. GIRARD Directeur de Recherche, CNRS

Devant la commission d'examen formée de :

MM. Y. LEROYER	Professeur	Président
C. RULLIERE	Directeur de Recherche, CNRS	Examineurs
C. THERMES	Chargé de Recherche, CNRS	
R. BOISGARD	Maître de Conférences	Directeur de thèse
J.-P. AIME	Directeur de Recherche, CNRS	Directeur de thèse

N° d'ordre: 2328

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES PHYSIQUES ET DE
L'INGÉNIEUR**

Par M. Laurent NONY

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : LASERS ET MATIERE DENSE

**Analyse de la microscopie de force dynamique : application à
l'étude de l'A.D.N.**

Soutenue le : 4 Décembre 2000

Après avis de : MM. **V. CROQUETTE** Directeur de Recherche, CNRS Rapporteurs
C. GIRARD Directeur de Recherche, CNRS

Devant la commission d'examen formée de :

MM.	Y. LEROYER	Professeur	Président
	C. RULLIERE	Directeur de Recherche, CNRS	Examineurs
	C. THERMES	Chargé de Recherche, CNRS	
	R. BOISGARD	Maître de Conférences	Directeur de thèse
	J.-P. AIME	Directeur de Recherche, CNRS	Directeur de thèse

*à Laurence,
à Jacques et Joëlle,
à Julien et Catherine,
à toute ma famille,
et à Christophe aussi.*

Avant-propos

Ce travail a été réalisé au Centre de Physique Moléculaire Optique et Hertzienne de l'Université Bordeaux I. Je remercie son directeur, Monsieur Claude Rullière, directeur de recherche, de m'y avoir accueilli ainsi que d'avoir pris part au jury de cette thèse.

Je souhaite remercier Monsieur Christian Girard, directeur de recherche au Centre d'Elaboration des Matériaux et d'Etudes Structurales de Toulouse et rapporteur de ce mémoire pour toute l'attention qu'il lui a témoignée ainsi que pour ses remarques constructives et les discussions qui suivirent concernant la description de l'interaction pointe-surface. Tous mes remerciements s'adressent également à Monsieur Vincent Croquette, directeur de recherche au Laboratoire de Physique Statistique de l'Ecole Normale Supérieure et second rapporteur pour la lecture critique de ce travail qu'il a faite. Je lui sais grès de m'avoir fait partager son expérience sur l'ADN et de m'avoir indiqué plusieurs perspectives de travail.

Je remercie Monsieur Claude Thermes, chargé de recherche au Centre de Génétique Moléculaire de Gif-sur-Yvette pour avoir examiné ces pages ainsi que pour m'avoir fait bénéficier de son point de vue concernant la pertinence biologique de cette étude de l'ADN.

J'exprime toute ma reconnaissance à Monsieur Yves Leroyer, professeur à l'Université Bordeaux I et directeur du Centre de Physique Théorique et de Modélisation de Bordeaux pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant le jury de cette thèse.

Enfin, comment ne pas remercier Messieurs Jean-Pierre Aimé, directeur de recherche à l'Université Bordeaux I et Rodolphe Boisgard, maître de conférences à l'Université Bordeaux I pour avoir dirigé cette thèse. Je leur exprime ma profonde reconnaissance. Ce travail est la conséquence de nos nombreuses discussions, de leur disponibilité ainsi que de l'autonomie et de la confiance qu'ils m'ont accordées. Rodolphe, ta pédagogie ainsi que ton approche de la physique ont été précieuses pour ma propre culture. Jean-Pierre, pour ton indicible et étonnamment communicative (surtout le lundi matin...) passion de la recherche, pour toutes nos discussions en général et celles autour de la rédaction du manuscrit¹ en particulier, je n'aurai qu'un mot : merci !

¹ J'ai à cet instant une pensée appuyée pour toutes les notes de fin de page qui n'apparaîtront jamais dans ce manuscrit.

Je souhaiterais maintenant remercier l'ensemble des personnes qui ont participé aux différentes collaborations de ce travail : Etienne Delain, Eric Le Cam et Denis Michel de l'Institut Gustave Roussy de Villejuif pour nos différentes discussions ainsi que pour nous avoir fourni les molécules d'ADN utilisées dans ce travail ; Antoine Vekris et Jacques Bonnet du Laboratoire de Pharmacologie des Médicaments Anticancéreux de l'Université Bordeaux II pour nous avoir fait profiter de leur expertise sur l'ADN et pour les différentes tentatives de dépôts des molécules ; l'équipe de Bernard Bennetau du Laboratoire de Chimie Organique et Organométallique de l'Université Bordeaux I, dont Bernard Bennetau, Franck Choplin, Sébastien Navarre et Iyad Hassan.

Ces remerciements seraient très incomplets si j'omettais de citer les personnes de l'équipe avec lesquelles j'ai partagé ces trois années et qui m'ont toutes apporté les éléments dont j'avais besoin à un moment ou à un autre. Mes pensées vont à Sophie, Touria, Gérard, Jean, Anne et Fabien. Je les remercie en particulier pour l'ensemble de leurs remarques concernant la préparation de cette thèse. Une pensée particulière et amicale pour Jean pour le weekend dans les Pyrénées dont il nous a fait profiter.

J'en viens maintenant à la partie plus personnelle de ces remerciements. L'inconvénient des énumérations est qu'elles supposent *a priori* un premier et un dernier. N'en croyez rien ici car vous tous y êtes les premiers. Laurence, ta présence à mes côtés depuis notre rencontre, mais plus particulièrement depuis ces trois dernières années, m'a été d'une aide fondamentale. Les moments difficiles dans le travail et dans le reste ont vite été écartés par ton écoute, ta compréhension et ta patience infinie. Je te remercie pour tout ce que tu m'as apporté et souhaite t'en avoir rendu autant. Jacques, pour tout ce que tu m'as donné et parce que le "*perdant*" n'existe que dans la tête du "*gagnant*", Joëlle pour ton amour de mère et pour toute notre complicité, je vous dis merci. Julien, pour **tout** ce qui nous relie, mais aussi pour ton incroyable sens de l'humour qui m'a tellement soulagé parfois, je t'embrasse. Catherine, je ne désespère pas que tu m'aides à retrouver mon agrafeuse et je voulais te remercier de ta compagnie depuis ces quelques années. J'ai une pensée affectueuse pour mes grands-parents, Raymond, Ginette, Marguerite et François pour leur présence permanente à mes côtés depuis tout le temps et je les en remercie. Et je voulais bien entendu aussi remercier Christiane, pour tous ses petits courriers et pour tout le reste ainsi que Denis, Laurence, Jean-Pierre, Nicolas et Chloé pour leur soutien régulier !

Je ne saurais terminer cet avant-propos sans faire un clin d'oeil à tous mes ami(e)s avec qui j'ai partagé mes moments de joie et de galère : Christophe, l'ami de longue date, même ton épisode à Maison Laffitte, qui aurait pu nous fâcher, ne nous a pas séparés. Je ne désespère pas non plus de te faire faire un tour de moto. Un grand merci à, Sylvain, pour ton amitié depuis très très longtemps, Céline, pour tous les bons moments partagés ; Yann, pour cet été à Tours, nos parties de squash et ton ineffable 4L ; et bien entendu à tous les autres, Marco et Sylvie, pour tous ces weekends à Paris dont vous nous avez fait profiter, Christophe, pour tous nos premiers de l'an, Joseph, pour le très sérieux coup de main pour le réseau... Mais je voudrais tout à fait terminer, et je pense que Julien se joindra à moi sans difficulté, en ayant une pensée appuyée pour Thierry et Michel au nom de tous les fou-rires qu'ils nous ont fait avoir.

Table des matières

TABLE DES MATIÈRES	iii
INTRODUCTION	ix
I Microscopie à Force Atomique	1
I.1 Principe général du microscope à force atomique	2
I.1.a Cadre général	2
I.1.b Principe de fonctionnement	3
I.2 Éléments fondamentaux	4
I.2.a Les courbes d'approche-retrait	4
I.2.b La pointe	5
I.3 Fonctionnements dynamiques	7
I.3.a Mode " <i>Tapping</i> "	7
I.3.b Mode " <i>Non-Contact résonant</i> " (NC-AFM)	8
I.4 Forces entre une nanopointe et une surface	9
I.4.a Forces de Van der Waals	10
I.4.a-i Interaction pointe-surface	11
I.4.a-ii Forces de Van der Waals entre corps de géométries simples	13
I.4.b Forces d'adhésion	16
I.4.b-i Approximation de Derjaguin	16
I.4.b-ii Force adhésive entre corps solides	16
I.4.b-iii Force d'adhésion par capillarité	17
I.4.c Contact élastique entre corps solides	19
I.4.c-i Raideurs de contact	20
I.4.c-ii Théorie de Hertz	20
I.4.c-iii Théorie Derjaguin-Muller-Toporov (D.M.T.)	21
Synthèse	23
II Microscopie de force dynamique	25
II.1 Données expérimentales	26
II.1.a Signaux de mesure	26

II.1.b	Prérequis.....	28
II.1.b-i	Choix du substrat de référence	28
II.1.b-ii	Calibration de l'amplitude des oscillations	29
II.1.c	Système pointe-levier : un oscillateur harmonique	29
II.1.c-i	Equations du mouvement	31
II.1.c-ii	Aspects expérimentaux	33
II.2	Différentes approches pour la modélisation.....	35
II.2.a	Approche perturbative	36
II.2.a-i	Position du problème	36
II.2.a-ii	Approche linéaire : Le gradient de force	36
II.2.a-iii	L'oscillateur de Duffing	38
II.2.b	Approche non perturbative	42
II.2.b-i	Principe de moindre action	43
II.2.b-ii	Méthode variationnelle	44
II.2.c	Approche numérique	44
II.3	Situations de non-contact	46
II.3.a	Système d'équations.....	46
II.3.b	Courbe d'approche-retrait en Tapping.....	47
II.3.b-i	Etude en amplitude	48
II.3.b-ii	Etude en fréquence.....	51
II.3.b-iii	Stabilité des branches de solutions	53
II.3.b-iv	Pente de la réduction d'amplitude avec la distance	57
II.3.c	Courbe d'approche-retrait en NC-AFM	58
II.3.c-i	Décalage de la fréquence de résonance non-linéaire	59
II.3.c-ii	Comparaison avec l'approche en gradient de force	61
II.3.c-iii	Diagramme de bifurcation	62
II.3.c-iv	Rayon effectif des pointes	64
II.3.d	Résultats expérimentaux et discussion.....	66
II.3.d-i	Résultats expérimentaux.....	66
II.3.d-ii	Discussion.....	69
II.3.e	Processus de dissipation en non-contact	69
II.4	Situations de contact intermittent.....	74
II.4.a	Interaction purement répulsive	75
II.4.b	Interactions répulsive et attractive	80
II.4.c	Validation des équations	82
II.4.c-i	Contribution de l'adhésion	82
II.4.c-ii	Evaluation des hypothèses à partir des simulations numériques ..	84
II.4.c-iii	Pertinence du modèle élastique	84
II.4.c-iv	Processus de dissipation en contact intermittent.....	86
II.4.d	Résultats expérimentaux et discussion.....	87
II.4.d-i	Résultats expérimentaux.....	87
II.4.d-ii	Discussion.....	89
II.4.e	Processus de dissipation en non-contact	90
II.5	Exploitation expérimentale du modèle analytique.....	93
II.5.a	Evaluation de la taille et de la pollution de la pointe	93

II.5.b	Evaluation de la pollution de la surface	95
	Synthèse	97
III	L'A.D.N.	101
III.1	Introduction et intérêt de l'A.D.N. comme système d'étude	101
III.2	Structure primaire	102
III.2.a	Les bases	102
III.2.b	Les nucléosides et les nucléotides	103
III.2.c	Structure primaire des acides nucléiques	103
III.2.d	Ionisation des bases et des nucléotides	104
III.3	Structure secondaire	104
III.3.a	Le modèle de la double hélice de Watson et Crick	104
III.3.b	Les différentes formes d'A.D.N.	107
III.3.c	Dénaturation et renaturation de l'A.D.N.	107
III.4	Sur-enroulement de l'A.D.N. et structures tertiaires	108
III.5	Quelques aspects des propriétés physico-chimiques de l'A.D.N. en solution	110
III.5.a	Conformation de l'A.D.N. en solution	110
III.5.b	Condensation de l'A.D.N. en solution : le rôle de l'eau et des cations multivalents	115
IV	Préparation de substrats pour le dépôt d'A.D.N.	119
IV.1	Revue bibliographique	120
IV.1.a	Études en S.T.M.	120
IV.1.b	Études en M.F.A. : Tapping et Contact	121
IV.1.b-i	Molécules d'A.D.N. en solution	121
IV.1.b-ii	Types de substrats	122
IV.1.c	Synthèse et discussion	123
IV.2	Étude préliminaire : le Virus de la Mosaïque du Tabac (V.M.T.)	125
IV.3	Préparation de substrats de silice greffée de silanes	129
IV.3.a	Description de la silice	129
IV.3.b	Réaction de silanisation	130
IV.3.c	Silanes retenus pour le dépôt de l'A.D.N.	132
IV.3.d	Résultats expérimentaux	133
IV.3.d-i	Surface de silice	133
IV.3.d-ii	Surface d'aminopropyltriéthoxysilanes	135
	Synthèse	140
V	Étude de séquences d'A.D.N.	141
V.1	Protocole expérimental	141
V.2	Molécules d'A.D.N. déposées et conditions de dépôt	142

V.3 Résultats expérimentaux	142
V.3.a Échantillon de pSP65.....	142
V.3.a-i Reconstruction d'une section expérimentale à partir des courbes d'approche-retrait	144
V.3.a-ii Identification de super-structures de la chaîne.....	150
V.3.a-iii Evolution de l'interaction attractive.....	153
V.3.b Échantillon de poly(dA)-poly(dT)	157
V.3.c Échantillon de [poly(dA-dT)] ₂	158
Synthèse	163
VI Discussions, modélisation et perspectives	165
VI.1 Remarques préliminaires	165
VI.2 Simulation numérique d'une section imagée en mode dynamique .	167
VI.3 Réponse mécanique de l'A.D.N.	170
VI.4 Modélisation	170
VI.4.a Contribution de la réponse mécanique de l'objet	170
VI.4.b Contribution d'une interaction de Debye : interprétation des épaulements	174
VI.5 Perspectives	180
CONCLUSION GÉNÉRALE	185
ANNEXES	187
A Instrumentation	189
A.1 Le système pointe-levier	189
A.2 Mécanique de la poutre encastree	190
A.3 Méthodes d'évaluation du rayon de la pointe	192
A.4 Système de détection quatre-quadrants	193
A.5 Les céramiques piézoélectriques	194
A.5.a Déplacements dans le plan (x, y)	195
A.5.b Déplacements verticaux.....	196
B Le mode dynamique	199
B.1 Linéarité de la réponse du piézoélectrique exciteur	199
B.2 Balayage et inclinaison du levier	199
B.3 Thermalisation du levier	202
B.4 Qualité des systèmes pointe-levier	203
B.5 Conditions d'engagement de la pointe	203
C Traitements des pointes et des surfaces	205

C.1	Identification de la pollution	205
C.2	Traitement des pointes	206
C.2.a	Traitement thermique	206
C.2.b	Traitement par solvants organiques	209
C.3	Hydratation des surfaces de silice	211
D	Approche analytique du mode dynamique	213
D.1	Principe de moindre action et méthode variationnelle	213
D.2	Interaction purement attractive	215
D.3	Extension à une loi de puissance quelconque	217
D.3.a	Expression générale	217
D.3.b	Démonstration du résultat	217
D.3.c	Exemple d'application	219
D.3.d	Interaction entre une sphère et une ligne de dipôles aléatoires	221
D.4	Interaction purement répulsive	222
D.4.a	Système d'équations	222
D.4.b	Pente du contact intermittent	223
D.5	Interaction attractive et répulsive	224
D.6	Stabilité des branches de solutions de l'équation de Duffing	224
D.6.a	Équations du mouvement des solutions stationnaires	224
D.6.b	Stabilité des solutions	225
E	Simulations numériques	229
E.1	Prérequis	229
E.1.a	Unités	229
E.1.b	Critère d'adiabaticité	229
E.2	Courbe d'approche-retrait sur une surface	231
E.2.a	Géométrie du problème et construction de la simulation	231
E.2.b	Situations de non-contact et de contact intermittent	233
E.2.c	Optimisations et perspectives	234
E.3	Courbe d'approche-retrait sur une couche organique	234
E.4	Reconstruction de section	234
E.4.a	Géométrie du problème	236
E.4.b	Construction de la simulation	236
E.4.c	Equations du mouvement	237
E.4.d	L'asservissement	238
E.4.e	Étape de validation	240
F	Séquence du pSP65	243
	BIBLIOGRAPHIE	245

Introduction

Depuis l'avènement de la microscopie à effet tunnel et de la microscopie à force atomique, les microscopies à champ proche n'ont cessé de se développer, tant du point de vue technique que dans leurs applications à des domaines les plus variés. Leur principal attrait est leur capacité à produire des images avec un contraste à l'échelle du nanomètre ou inférieur.

La microscopie à force atomique a contribué à cet élargissement en se développant autour de l'analyse des matériaux mous, en particulier des polymères et ces dix dernières années, autour des matériaux biologiques. Dans ce cadre spécifique, elle est susceptible d'apporter des informations complémentaires aux techniques de microscopie électronique, de chromatographie et de spectroscopie utilisées par les biologistes. En permettant d'imager, parfois dans des conditions proches des conditions *in vivo*, des cellules, des virus, des macromolécules... et de donner, à ces échelles, potentiellement accès à des réponses mécaniques, le microscope de force semble un outil adapté à l'étude des conformations de chaînes d'acides nucléiques. Depuis la découverte de l'Acide Désoxyribo Nucléique en 1869 et de sa structure en double hélice en 1953, les biologistes ont développé de nombreuses méthodes pour le manipuler, le fonctionnaliser et le séquencer. De ce point de vue, bien que constituant un système très complexe, l'ADN est un polymère modèle car il est susceptible d'être obtenu identique à lui-même et parfaitement monodisperse.

L'objectif poursuivi lors de ce travail a été de réaliser des mesures d'interactions locales ainsi que des mesures mécaniques sur une seule chaîne d'ADN.

Le microscope de force mesure les forces issues des interactions entre une pointe de dimensions nanométriques et l'objet ou la surface à analyser. Le premier chapitre de ce mémoire est un descriptif du microscope utilisé et des forces auxquelles il est sensible. Ces forces se situent en général autour du nanonewton, et sont donc très élevées à l'échelle de quelques molécules. La microscopie de force dynamique permet d'une part de réduire leur influence, mais également de les contrôler en parti. Elle constitue ainsi, à double titre, une alternative particulièrement intéressante à l'étude des macromolécules biologiques. Nous introduisons les forces de Van der Waals entre atomes pour déduire, de la théorie de Hamaker, les forces de Van der Waals entre objets mésoscopiques.

En microscopie de force dynamique, la pointe oscille au voisinage de la surface à des fréquences typiques de quelques centaines de kilohertz avec des amplitudes de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres. Ce comportement dynamique peut devenir non-

linéaire selon l'intensité de l'interaction attractive et des conditions d'oscillation. Varier ces conditions en termes d'amplitude ou de fréquence constitue une opportunité de contrôler cette interaction. Le deuxième chapitre décrit en détail le mode dynamique et la modélisation du comportement de l'oscillateur au voisinage de la surface. La pertinence d'une approche analytique non perturbative, menée en parallèle avec des simulations numériques, permettra de préciser les comportements que nous exploiterons et corroborerons expérimentalement.

Le troisième chapitre est une introduction courte aux propriétés de la molécule d'ADN. Nous y discutons en particulier les éléments exploités aux chapitres cinq et six qui concernent la description des structures de la molécule sous différentes contraintes.

La microscopie de force dynamique ne sera pleinement efficace que si l'on est capable de maîtriser l'interaction entre la pointe et l'objet d'étude déposé sur la surface. Lorsqu'il s'agit d'une nanopointe, cela impose un contrôle de la qualité de l'échantillon et de la pointe à l'échelle moléculaire. Le quatrième chapitre traite ainsi du problème du dépôt de l'ADN sur une surface pour une étude en champ proche. Dans le cadre de l'identification des interactions entre la nanopointe et l'ADN, des expériences préliminaires nous amèneront à orienter la préparation des substrats en choisissant des silices greffées avec des molécules de silanes.

Concernant les molécules d'ADN, trois types de séquences ont été étudiés. Une longue chaîne de 2500 paires de bases comportant une succession de séquences non périodique, une séquence constituée d'une succession de 450 molécules d'Adénine sur l'un des mono-brins et de Thymine sur le brin complémentaire, et une séquence de longueur identique, mais constituée d'une alternance d'Adénine et de Thymine sur chaque mono-brin. Cette palette d'échantillons est intéressante par la diversité des caractéristiques mécaniques attendues.

Les cinquième et sixième chapitres concernent l'étude, la discussion et les perspectives du travail mené sur les différentes séquences d'ADN retenues. Expérimentalement, l'exploitation des différents régimes va permettre de révéler des informations géométriques sur les conformations des molécules, des informations mécaniques sur les structures identifiées, ainsi que des informations physico-chimiques sur l'origine de ces structures.

Chapitre I

Microscopie à Force Atomique

Chapitre I

Microscopie à Force Atomique

La *Microscopie à Force Atomique* (MFA) développée par Binnig *et al.* en 1986 [1] constitue aujourd’hui, avec la microscopie à effet tunnel [2], l’une des *microscopies à champ proche*² les plus répandues dans les laboratoires de recherche. Son caractère expérimental apparemment simple, l’encombrement réduit de la machine et le fait qu’elle permette de caractériser des échantillons isolants ou conducteurs à l’échelle du nanomètre ont contribué à son rapide développement au sein de la communauté scientifique. Le caractère attractif supplémentaire de la MFA est qu’elle produit une image de la zone étudiée dans l’espace direct, ainsi la lecture de la zone est *a priori* immédiate.

Le microscope à force atomique mesure les forces locales, attractives ou répulsives, entre l’extrémité d’une pointe de dimensions nanométriques et une surface. Elles sont à courte portée. Il s’agit en premier lieu des forces attractives de Van der Waals et des forces de répulsion liées au contact de la pointe sur la surface.

En microscopie à champ proche, la pointe est tout à la fois l’origine et le collecteur de l’information. En MFA en particulier, elle peut être au contact de l’échantillon – donnant accès, en termes de forces, à des mesures de réponses mécaniques locales, de topographie, de tribologie –, ou en non-contact au voisinage de la surface – donnant alors accès à des mesures de distribution d’interactions –.

La nature très différente de ces forces, le grand nombre d’atomes impliqués dans les interactions entre la pointe et la surface en même temps que les échelles de temps des expériences sont caractéristiques de processus moyens. Les différentes théories évoquées dans ce chapitre considèrent les objets, la pointe ou la surface, comme des milieux continus.

Ce chapitre s’organise de la façon suivante. Il débute par une présentation du principe de fonctionnement du microscope puis détaille son mode de fonctionnement dynamique.

² La notion de microscopie à champ proche est vaste et recouvre aujourd’hui un large panel de *microscopies à sondes locales*. C’est le caractère “petit”, de l’ordre de quelques nanomètres, de la sonde qui assure la localité de l’interaction de la sonde avec la surface : la pointe en MFA, la pointe conductrice en STM, une fibre optique étirée et aluminisée en microscopie à champ proche optique, une pointe magnétique en microscopie à force magnétique, des pointes fonctionnalisées pour diverses applications (chimie, biologie...).

Nous précisons ses spécificités dans les modes d'imagerie qu'il permet : le mode dit de “*Contact intermittent*”, plus connu sous le nom de “*Tapping*”, et le mode dit “*Non-contact résonant*” (NC-AFM).

La traduction plus ou moins littérale de la terminologie anglaise, bien que largement employée, est toutefois abusive, puisque, comme nous le verrons, le “*Tapping*” peut également conduire à des situations de non-contact de la pointe avec la surface.

Pour introduire de façon définitive le vocabulaire employé, le terme de non-contact sera défini comme la situation pour laquelle la pointe reste dans le domaine attractif du potentiel d'interaction avec la surface et le contact intermittent comme celle pour laquelle elle se trouve parfois dans le domaine répulsif.

Le dernière partie de ce chapitre introduit finalement les différentes théories relatives aux forces susceptibles d'être mesurées avec le microscope.

Il ne s'agit pas ici de décrire de manière exhaustive le fonctionnement de la machine d'un point de vue technique, plusieurs travaux ayant déjà été dédiés à cet aspect. Pour une étude systématique, nous renvoyons par exemple aux références [3–6]. L'annexe A reprend les éléments caractéristiques de l'instrumentation organisés autour de trois points clés :

- ▶ le système pointe-levier, avec l'introduction de la mécanique de la poutre encastrée.
- ▶ le système de détection quatre-quadrants du signal.
- ▶ les céramiques piézoélectriques, qui assurent le déplacement de l'échantillon.

Le lecteur non initié à la technique y trouvera les éléments nécessaires à la compréhension de ce chapitre.

Le microscope dont nous disposons est un NANOSCOPE III de chez DIGITAL INSTRUMENTS [7] avec une détection de phase pour le mode dynamique.

I.1 Principe général du microscope à force atomique

I.1.a Cadre général

Par les dimensions caractéristiques des zones qu'elles permettent d'étudier, de quelques nanomètres à quelques dizaines de microns de côté, ainsi que l'ordre de grandeur des forces en jeu, de quelques piconewtons à quelques nanonewtons, les expériences de microscopie à champ proche sont sensibles à l'environnement direct dans lequel elles se situent. En MFA en particulier, les conditions de bruits (acoustiques, électriques), d'humidité ambiante, de température, sont autant d'obstacles à la qualité des mesures.

En vue de pallier ces difficultés, nous avons adopté au laboratoire deux stratégies. La première consiste, pour les expériences qui ne requièrent pas de conditions de vide, c'est-à-dire dans le cadre des expériences usuelles de statique (mode Contact) ou de dynamique

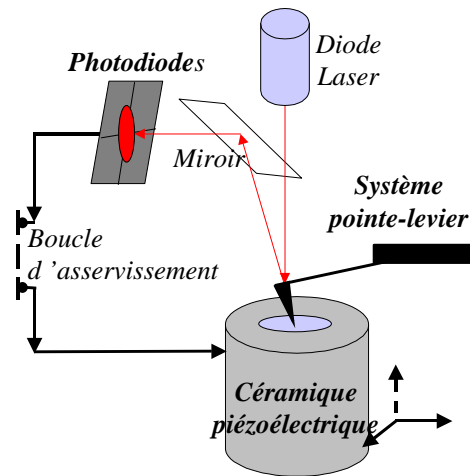


FIGURE I.1: Principe général du microscope à force atomique.

(mode Tapping), à travailler en atmosphère neutre, contrôlée en eau et en oxygène dans une boîte à gant à pression atmosphérique. Dans les meilleures situations, il est possible de travailler en atmosphère inerte d'azote au p.p.m. d'eau et à quelques dizaines de p.p.m. d'oxygène. L'intérêt particulier de la boîte à gant est de conférer aux réglages du microscope une bonne stabilité. L'origine probable de cette stabilité est que l'hygroscopie contrôlée limite l'adsorption d'eau sur le levier qui présente alors des caractéristiques similaires (facteur de qualité, fréquence de résonance) à l'échelle d'une semaine.

Cet environnement particulier permet également de conserver plusieurs jours des échantillons sensibles au taux d'humidité dans de bonnes conditions, sans avoir à régénérer l'atmosphère de la boîte, donc de travailler sur des systèmes identiques à l'échelle de deux séries d'expériences.

La seconde stratégie consiste à minimiser les origines possibles de bruit. Nous disposons au laboratoire de deux salles d'expériences. La première est située au sous-sol en vue de s'affranchir des vibrations du bâtiment. Une dalle flottante massive finit d'isoler la boîte à gant, dans laquelle est situé le microscope, des murs porteurs du bâtiment. La seconde salle est située au quatrième étage. Son plancher a été étayé de façon à diminuer la portance des murs et ainsi désolidariser la pièce de l'ensemble du bâtiment. Des tables anti-vibrations avec des fréquences de coupure au hertz [8] permettent de filtrer les principales composantes acoustiques restantes.

I.1.b Principe de fonctionnement

Nombre de points relatifs à cette partie sont reportés en annexe A.

Le principe général du microscope à force atomique est schématisé sur la figure I.1. Une pointe de dimensions nanométriques située à l'extrémité libre d'un microlevier est approchée au voisinage d'une surface au moyen d'un système de vis micrométriques jusqu'à une distance de l'ordre de quelques dizaines de microns.

Afin de préserver la pointe, la fin de l'approche de la surface est gérée par un moteur pas à pas qui assure des déplacements verticaux de quelques dizaines de nanomètres par pas. Une fois la pointe engagée sur la surface, la formation d'une image est assurée par le déplacement sous la pointe de l'échantillon grâce à une céramique piézoélectrique. Les déflexions du levier sous l'action des forces qui s'exercent entre la pointe et la surface sont mesurées par un système de détection optique constitué d'un faisceau laser et de quatre photodiodes. Le faisceau laser, centré sur l'extrémité supérieure du levier, est réfléchi vers les photodiodes qui délivrent une tension électrique proportionnelle aux déflexions.

Le contraste vertical d'une image peut alors être obtenu de deux façons :

- 1- Les positions verticales de l'échantillon peuvent être ajustées par un asservissement Proportionnel, Intégral et Différentiel (PID). La céramique piézoélectrique se déplace alors dans les trois directions de l'espace pendant la formation de l'image. Le contraste vertical est assuré par l'évolution de sa position verticale pendant le balayage (x, y) de façon à conserver le signal de déflexion du levier constant et égal à un signal de référence fixé expérimentalement appelé *point de fonctionnement* (cf. partie suivante). L'avantage premier de l'asservissement est de travailler en conservant constante la force entre la pointe et la surface. Mais il permet en outre de préserver la pointe.
- 2- Si l'asservissement est coupé, la céramique ne se déplace que dans le plan (x, y) de formation de l'image à la position verticale définie par le point de fonctionnement, c'est-à-dire à une hauteur constante par rapport à la position du levier. Ce mode d'imagerie est particulièrement dommageable pour la pointe si la rugosité de la surface est importante.

I.2 Éléments fondamentaux

I.2.a Les courbes d'approche-retrait

Pour la formation d'une image, avec ou sans la boucle d'asservissement, il est nécessaire de fixer un *point de fonctionnement* au microscope, c'est-à-dire d'imposer la déflexion du levier retenue comme signal de référence avant d'initier le balayage dans le plan (x, y) .

Cela suppose de connaître l'évolution du comportement du levier en fonction de la position verticale de la surface. Elle est obtenue à partir des *courbes d'approche-retrait*. En mode dynamique, elles donnent accès aux propriétés de l'oscillateur en fonction de la distance entre la pointe et la surface. Elles sont homologues aux caractéristiques courant-tension de la STM.

Lors d'une courbe d'approche-retrait, le balayage dans le plan de la surface est arrêté. Une tension triangulaire périodique est appliquée à la céramique qui va approcher puis éloigner l'échantillon de la pointe selon le signe de la tension sur une extension verticale

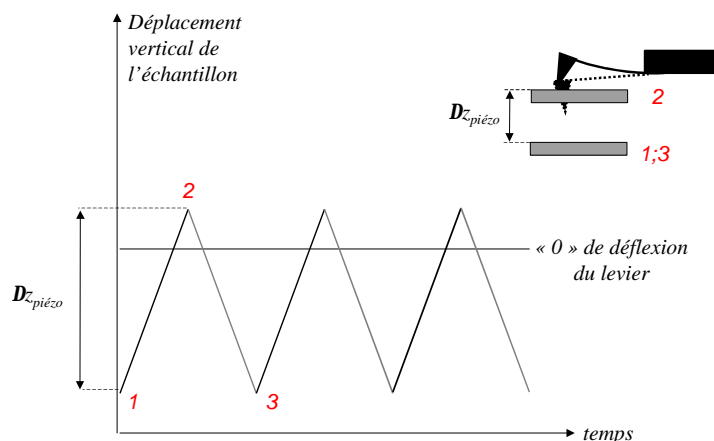


FIGURE I.2: *Déplacements verticaux de la céramique piézoélectrique lors d'une courbe d'approche-retrait.*

donnée. Les déflexions du levier sont enregistrées en fonction de ce déplacement. La figure I.2 schématise les déplacements de la céramique lors d'une courbe d'approche-retrait.

Le point de fonctionnement fixe donc à la fois la valeur du signal de référence sur lequel l'asservissement est fait – la plupart du temps la déflexion du levier³ – et la position verticale de la céramique associée au signal de référence.

Les courbes d'approche-retrait sont donc essentielles à l'interprétation du contraste des images de MFA, quel que soit le mode d'imagerie retenu. Le propre de cette technique étant de mesurer un contraste en force, il est impératif d'avoir accès à la mesure de la résultante de ces forces en termes de déflexions du levier en fonction de la distance à la surface.

Les courbes d'approche-retrait permettent également d'évaluer les non-linéarités de la céramique piézoélectrique (cf. annexe A), de calibrer les déflexions du levier en termes de forces en mode statique, ainsi que l'amplitude des oscillations en mode dynamique.

La nature très différente des modes de fonctionnement requiert une analyse spécifique de la courbe d'approche-retrait selon le mode utilisé. Elles seront présentées lors de l'introduction des modes de fonctionnement du microscope au paragraphe I.3.

I.2.b La pointe

A l'extrémité libre du levier est présente une pointe obtenue, soit par croissance électrochimique, soit au moment de la préparation du microlevier⁴ [9]. Sa hauteur peut varier de quelques microns à une dizaine de microns et son rayon d'apex de quelques

³ Le signal sur lequel se fait l'asservissement est généralement la déflexion du levier dans le cas du mode contact et l'amplitude moyenne des oscillations en Tapping, ce qui est une autre façon de considérer la déflexion (moyenne, dans ce cas) du levier. Mais l'asservissement peut se faire sur n'importe quel autre signal susceptible d'être mesuré en même temps que la déflexion du levier. On pense ici au signal de phase en Tapping, la fréquence à la résonance de l'oscillateur ou le signal de dissipation en NC-AFM.

⁴ Selon la microscopie utilisée, les techniques d'obtention des pointes sont différentes : fil métallique étiré en STM, fibre optique étirée pour le champ proche optique...

nanomètres⁵ pour les plus fines, à plusieurs dizaines de nanomètres. Les pointes sont en silicium pour les leviers du mode dynamique ou en nitrure de silicium pour ceux du mode statique.

Les pointes utilisées en contact présentent généralement des rayons de courbure plus importants et des géométries différentes des pointes du mode dynamique. Elles sont pyramidales pour les leviers de contact et coniques pour celles des leviers utilisés en mode dynamique. Pour obtenir des résultats quantitatifs, la modélisation de la forme et taille de la pointe est nécessaire. Diverses méthodes en vue de reconstruire leur forme sont également citées en annexe A.

En raison de leurs dimensions, les pointes sont vendues avec une incertitude sur la taille du rayon d'apex qui peut être importante. Ainsi leur taille et leur forme précises ne nous sont pas connues *a priori*.

La pointe constitue pourtant la clé de voûte du microscope puisqu'elle est le collecteur de l'information. Sa taille, en même temps que sa propreté aux pollutions, sont deux éléments fondamentaux pour de bonnes expériences, tant en termes de sensibilité à l'interaction qu'en termes de résolution. Pour optimiser la taille et la propreté des pointes qu'ils utilisent lors de leurs expériences, certains auteurs leur font subir un traitement préalable *in situ*, en les bombardant avec des ions d'argon. Ces traitements ont été beaucoup utilisés pour les expériences de NC-AFM [11, 12].

Dans les situations de contact intermittent du Tapping, la pointe se trouve au contact de la surface. La résolution latérale des images ainsi que le caractère local des mesures mécaniques⁶ qu'elle autorise sont donc directement corrélés à sa taille. Mais la taille de la pointe est également pertinente pour les situations de non-contact⁷ du mode dynamique (cf. chapitre II).

Dans le cadre du mode dynamique, nous détaillons ce que le terme de "pollution" peut recouvrir au chapitre II. Il s'agit essentiellement des forces de capillarité liées à un mauvais contrôle de la propreté de la surface et de la pointe. Nous revenons sur l'une et l'autre de ces notions pour montrer qu'il est possible d'évaluer de façon simple la taille et la pollution de la pointe et de proposer des protocoles expérimentaux en vue de les contrôler (cf. annexe C).

⁵ NANOPROBES [10] annonce des pointes (dites *ultrasharp*) avec des rayons de courbures de $1nm$. Si la taille précise du rayon est difficile à évaluer de façon quantitative, l'expérience que nous avons acquise avec elles indique que ces pointes sont effectivement beaucoup plus petites que les autres.

⁶ Les différents modèles de contact élastique introduits au paragraphe I.4 présentent une dépendance explicite en R .

⁷ Le potentiel sphère-plan (relation I.4.11) présente une dépendance proportionnelle à R .

I.3 Fonctionnements dynamiques

Afin de préciser davantage le contexte de cette étude, nous introduisons maintenant le mode dynamique et ses deux modes d'imagerie selon le signal de mesure : *Tapping* et *NC-AFM*. Les aspects fondamentaux, tant théoriques qu'expérimentaux, du fonctionnement dynamique de l'oscillateur sont détaillés au chapitre II. L'annexe B présente certaines spécificités expérimentales du mode *Tapping* qui ont été évaluées pour réaliser les expériences.

En dynamique, la pointe n'est pas au contact de la surface de façon continue comme dans le mode contact. Le système pointe-levier est excité par un cristal piézoélectrique situé à la base du support de levier. Les fréquences de résonance caractéristiques de ces leviers sont situées autour de 300kHz et les amplitudes d'oscillation autour de 40nm .

I.3.a Mode “*Tapping*”

Le mode *Tapping* tel qu'il est utilisé aujourd'hui en MFA a en fait été détourné de l'origine première pour laquelle il avait été développé. Historiquement, c'est P. Gleyzes *et al.* en 1991 [13] qui ont réalisé les premières expériences de pointe oscillante au voisinage d'une surface dans le cadre d'expériences en champ proche optique dites sans ouverture. Leur objectif était de contrôler l'approche de la pointe.

Mais l'avantage du *Tapping* s'est particulièrement fait ressentir avec le nombre croissant d'études sur les matériaux mous comme les polymères ou les matériaux biologiques.

En effet, il permet de minimiser les forces de cisaillement à l'interface entre la pointe et la surface au cours du balayage. Lors des expériences de contact, la force de frottement induite par le balayage de la pointe sur la surface peut être assez importante pour induire, par cisaillement, une déformation plastique de l'échantillon [5, 6, 14, 15]. Pour fixer un ordre de grandeur, considérons que la pointe exerce une force de 1nN sur une aire de 10nm^2 . La pression appliquée est dans ce cas de 1GPa , donc suffisamment importante pour déformer plastiquement les échantillons les plus mous. Ces effets sont dommageables pour l'obtention de résultats reproductibles.

En *Tapping*, le point d'application de la force est normal à la surface et ne s'exerce que sur un intervalle de temps négligeable du balayage. Pour une oscillation à 300kHz et un balayage de $1\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, vitesse déjà grande par rapport à celles qui sont le plus souvent utilisées ($\simeq 0,3\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), la pointe touche la surface sur une fraction de sa période d'oscillation, c'est-à-dire très inférieure à $3\mu\text{s}$. Pourtant sur cet intervalle de temps, la surface ne s'est déplacée que de $3\cdot 10^{-6}\mu\text{m} = 3\text{pm}$. Cela assure un régime de réponse élastique en cisaillement de la surface, et toute déformation plastique est donc rendue négligeable.

En *Tapping*, l'amplitude ainsi que la fréquence d'excitation sont fixées. La mesure se fait sur l'amplitude et le déphasage des oscillations par rapport à l'excitation. Le signal reçu par les photodiodes est échantillonné, la période d'échantillonnage la plus courte étant de $100\mu\text{s}$ (1024 points en $0,1024\text{s}$), puis l'amplitude et le déphasage des oscillations

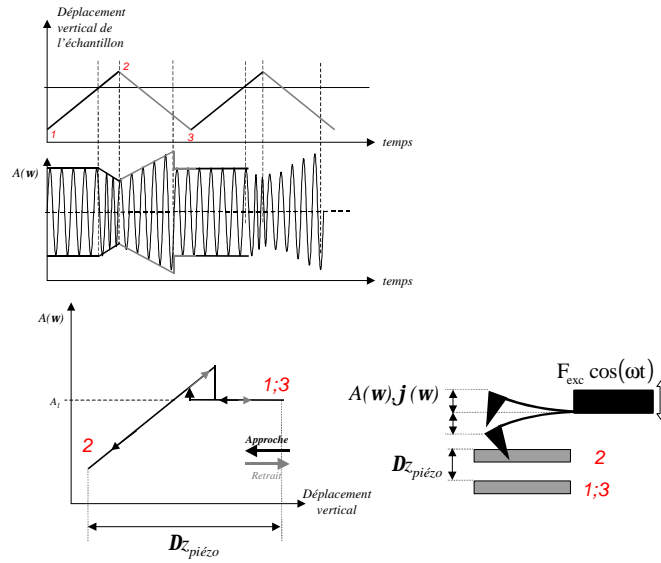


FIGURE I.3: Représentation schématique d'une courbe d'approche-retrait en mode Tapping.

obtenus grâce à une détection synchrone. La figure I.3 présente la façon dont est réalisée une courbe d'approche-retrait dans le mode dynamique.

Pour la formation des images, l'asservissement est effectué sur l'amplitude des oscillations de façon à conserver une amplitude d'oscillation constante. Pour chaque position verticale lors du balayage, le signal de phase associé est mesuré et l'image en phase est construite en même temps que l'image à amplitude constante.

La compréhension du comportement du levier au voisinage de la surface est nécessaire pour interpréter la formation des images. L'interprétation du contraste des images de Tapping a été l'objet, les années passées, de plusieurs controverses [14]. Même si, aujourd'hui, la description qualitative du contraste en hauteur est correcte, celle du contraste de phase du Tapping ou de fréquence de résonance et de dissipation (“*Damping*”) du NC-AFM reste délicate. Nous reviendrons très précisément sur ces problèmes au chapitre II.

Les courbes d'approche-retrait vont donner accès à la dynamique de l'oscillateur en fonction de sa distance à la surface.

A ce stade, rappelons qu'elle permet de fixer le point de fonctionnement – ici l'amplitude des oscillations à laquelle l'image est enregistrée – et de calibrer l'amplitude des oscillations. L'analyse de ces courbes dans le cadre de la description du comportement dynamique non-linéaire de l'oscillateur est l'objet du chapitre II.

I.3.b Mode “*Non-Contact résonant*” (NC-AFM)

Dans la course à la résolution de contrastes toujours plus faibles, le microscope à effet tunnel a été le premier à révéler des structures à l'échelle atomique. La physique sous-jacente du fonctionnement de l'appareil, par son caractère quantique, ne posait pas de problème conceptuel à l'obtention de tels contrastes.

En microscopie à force atomique, le problème semblait plus délicat puisque les processus quantiques ont une incidence négligeable sur les expériences⁸.

Dans ce cadre, le NC-AFM initialement développé en 1995 par F. Giessibl [16], a pourtant montré qu'il était possible d'obtenir avec un microscope à force atomique un contraste à l'échelle atomique, contraste difficilement accessible aux autres modes d'imagerie⁹. Giessibl a ainsi obtenu sous ultra-vide la reconstruction de la 7×7 du silicium.

Par la suite, Y. Sugarawa *et al.* [11], S. Kitamura *et al.* [20, 21] ainsi que d'autres équipes [22–24] ont développé cette même instrumentation et montré qu'il était possible d'obtenir des contrastes de quelques dizaines de picomètres.

Depuis, le NC-AFM s'est développé et la résolution atomique sur des semi-conducteurs est devenue quasi "routinière". Pour une étude plus ou moins exhaustive des travaux en cours utilisant cette technique, nous renvoyons aux références [25, 26].

En NC-AFM, le système pointe-levier est excité de façon analogue au Tapping, mais les situations de non-contact sont essentiellement utilisées. L'amplitude de l'oscillateur à sa fréquence de résonance est fixée. La pointe oscille alors au voisinage de la surface sans la toucher à des distances de l'ordre de quelques angströms.

Ce mode exploite de manière similaire au Tapping le comportement non-linéaire de l'oscillateur au voisinage de la surface. La mesure se fait sur l'évolution de la fréquence de résonance en fonction de la distance pointe-surface ainsi que sur l'amplitude d'excitation nécessaire pour conserver constante cette amplitude. Cette méthode de modulation de fréquence, à distinguer de la méthode de modulation d'amplitude du Tapping, a été proposée pour la MFA par T.R. Albrecht *et al.* [27] en vue de faire une cartographie des forces d'interaction entre la pointe et la surface en non-contact.

En NC-AFM, la courbe d'approche-retrait permet la mesure de l'évolution de la fréquence de résonance en fonction de la distance pointe-surface. L'asservissement des positions verticales de la céramique piézoélectrique se fait de façon à ce que le décalage de la fréquence par rapport à la fréquence de résonance soit constant. Les images enregistrées sont donc des images à décalage en fréquence constant. L'amplitude d'excitation nécessaire à l'oscillateur pour conserver l'amplitude à la résonance constante est mesurée en même temps que le signal de décalage en fréquence.

I.4 Forces entre une nanopointe et une surface

Pour préciser les forces en jeu lors des expériences de MFA et leurs différents ordres de grandeurs, nous terminons ce chapitre en évoquant les trois principales origines des forces envisagées entre la pointe et la surface. Il s'agit des forces de Van der Waals, des forces

⁸ Plus exactement, l'interprétation des résultats expérimentaux semble pouvoir être faite sans introduire les processus quantiques. Les interactions, par le grand nombre d'atomes impliqués, sont décrites par la physique classique. Nous détaillerons cette assertion dans l'introduction du prochain chapitre.

⁹ En mode contact, il a été montré que des contrastes à l'échelle atomique pouvaient être obtenus. Dans ce cas spécifique, il s'agit de transitions de contact collés-glissés (la terminologie anglaise parle "*stick slip*") à l'échelle de la taille des atomes [17–19].

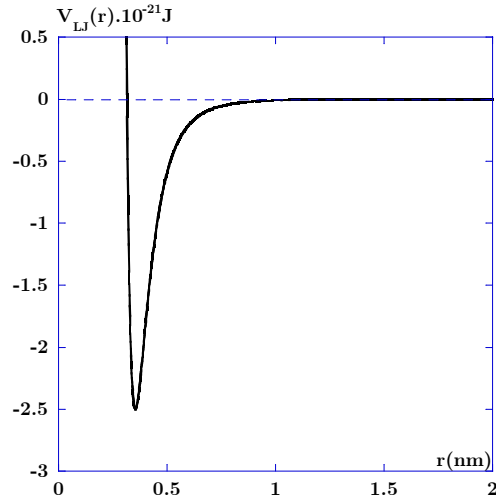


FIGURE I.4: *Potentiel de Lennard-Jones.* Les valeurs des coefficients sont $\mathcal{B} = 10^{-134} \text{ J.m}^{12}$ et $\mathcal{C}_{vdW} = 10^{-77} \text{ J.m}^6$, d'après [28, §1 p.9].

d'adhésion et de force de répulsion stérique liées au contact et décrites dans le cadre de modèles élastiques.

L'ensemble des éléments introduits de façon rapide dans cette partie, peuvent être retrouvés en détail par exemple dans le livre de J. Israelachvili [28].

I.4.a Forces de Van der Waals

Le potentiel d'interaction atome-atome couramment utilisé aujourd'hui est de type Lennard-Jones. Il s'écrit sous la forme d'une contribution répulsive en r^{-12} et attractive en r^{-6} :

$$V_{LJ}(r) = \frac{\mathcal{B}}{r^{12}} - \frac{\mathcal{C}_{vdW}}{r^6} \quad (\text{I.4.1})$$

La figure I.4 représente les variations de ce potentiel. Pour des distances interatomiques supérieures à un nanomètre, la contribution attractive à l'interaction est faible. Pour des distances inférieures à quelques angströms la force associée au potentiel d'interaction est attractive et devient répulsive avec une dépendance rapide pour des distances inférieures à un ou deux angströms.

Le potentiel attractif de Van der Waals en r^{-6} peut être obtenu en calculant l'énergie d'interaction électrostatique entre atomes ou molécules en la limitant aux contributions dipolaires. Cette hypothèse suppose que les distances entre atomes ou molécules sont grandes devant les dimensions atomiques.

Ce potentiel est généralement écrit sous la forme de trois contributions relatives à des interactions d'atomes ou de molécules présentant un moment dipolaire permanent

d'orientation aléatoire ou non qui interagissent avec le moment dipolaire induit d'autres atomes ou molécules :

- ▶ le terme de *Keesom*, qui décrit l'interaction entre deux dipôles permanents d'orientation aléatoire.
- ▶ le terme de *Debye*, qui décrit l'interaction entre un dipôle permanent d'orientation fixée ou non et un dipôle induit.
- ▶ le terme de *London-Van der Waals* ou de *dispersion* qui décrit l'interaction entre deux dipôles induits.

Les interactions de Keesom et de Debye font intervenir des molécules polaires présentant des moments dipolaires d'orientation fixée ou non. L'interaction dispersive est présente dans tous les matériaux car elle décrit l'interaction entre atomes ou molécules ne possédant pas de moment dipolaire permanent. Elle a été décrite par F. London en 1931 [29].

London a montré en 1937 [30] que pour deux atomes de polarisabilités électroniques α_{0_1} et α_{0_2} , l'interaction était de la forme :

$$V_{London}(r) = -\frac{3\alpha_{0_1}\alpha_{0_2}h\tilde{\nu}_I}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}, \quad (\text{I.4.2})$$

où $h\tilde{\nu}_I$ est l'énergie d'ionisation et $\tilde{\nu}_I$ la fréquence d'absorption du système couplé atome 1-atome 2, définie à partir des fréquences d'absorption ν_{I_1} et ν_{I_2} des atomes 1 et 2 :

$$\tilde{\nu}_I = \frac{\nu_{I_1}\nu_{I_2}}{\nu_{I_1} + \nu_{I_2}} \quad (\text{I.4.3})$$

Les interactions de Van der Waals entre deux molécules polaires identiques (de moment dipolaire p) placées dans le vide peuvent s'écrire sous la forme des trois contributions :

$$\begin{aligned} V_{VdW}(r) &= -\frac{\mathcal{C}_{VdW}}{r^6} = -\frac{\mathcal{C}_{Keesom} + \mathcal{C}_{Debye} + \mathcal{C}_{London}}{r^6} \\ &= \left[\frac{p^4}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T} + \frac{2p^2\alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2} + \frac{3\alpha_0^2 h\nu_I}{4(4\pi\epsilon_0)^2} \right] \frac{1}{r^6} \end{aligned} \quad (\text{I.4.4})$$

Pour fixer les ordres de grandeur, le tableau I.1 présente un comparatif de chacune des contributions à l'interaction de Van der Waals pour différentes molécules dans le vide et à une température de $293K$, d'après [28, §6 p.95]. Pour les molécules polaires ne présentant pas de moments dipolaires importants, le terme de dispersion est généralement dominant devant celui de Keesom, lui-même grand devant celui de Debye. Cette tendance peut toutefois être modifiée si les molécules présentent des moments dipolaires plus importants.

I.4.a-i Interaction pointe-surface

Pour déduire de l'interaction atome-atome l'interaction entre une pointe de dimensions nanométriques et une surface, plusieurs approches théoriques existent. Dans le cadre

Molécules identiques	$\mathcal{C}_{Debye} = \frac{2p^2\alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2}$	$\mathcal{C}_{Keesom} = \frac{p^4}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T}$	$\mathcal{C}_{London} = \frac{3\alpha_0^2 h\nu_I}{4(4\pi\epsilon_0)^2}$	Contribution (%) du terme de dispersion
<i>Ne – Ne</i>	0	0	4	100
<i>CH₄ – CH₄</i>	0	0	102	100
<i>HCl – HCl</i>	6	11	106	86
<i>CH₃Cl – CH₃Cl</i>	32	101	282	68
<i>NH₃ – NH₃</i>	10	38	63	57
<i>H₂O – H₂O</i>	10	96	33	24
Molécules différentes	$\frac{p_1^2\alpha_{0_2} + p_2^2\alpha_{0_1}}{(4\pi\epsilon_0)^2}$	$\frac{(p_1 p_2)^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T}$	$\frac{3\alpha_{0_1}\alpha_{0_2}h\nu}{2(4\pi\epsilon_0)^2}$	
<i>Ne – CH₄</i>	0	0	19	100
<i>H₂O – Ne</i>	1	0	11	92
<i>H₂O – CH₄</i>	9	0	58	87

TABLEAU I.1: Contributions des termes de Debye, Keesom et London à l'interaction de Van der Waals ($10^{-79} J.m^6$), d'après [28].

d'interactions de Van der Waals non retardées et additives, la théorie de Hamaker [31] propose de considérer les corps qui interagissent comme des assemblées d'atomes et de sommer les potentiels d'interaction par paires d'atomes sur les volumes en regard.

Ce modèle a été proposé initialement en 1937 pour déterminer l'interaction entre deux sphères macroscopiques à partir du potentiel de dispersion de London. Dans cette approche “microscopique”, les interactions entre atomes d'un même milieu sont négligées.

Le problème de l'additivité, et donc celui, plus général, des effets à plusieurs corps, est implicitement pris en compte dans la théorie de E.M. Lifschitz [32, 33] qui considère les corps en interaction comme des milieux continus. Nous ne détaillerons pas davantage cette approche. Pour une étude plus systématique, nous renvoyons aux références précédentes ou [34, §2 et 3] et [35, §2].

Signalons enfin les liens qui existent entre l'approche de Lifshitz et la théorie généralisée des forces de Van der Waals introduite par A.D. McLachlan en 1963 [36, 37] en vue de décrire des interactions de Van der Waals dans le cadre de corps considérés, là aussi, comme des milieux continus et séparés par un troisième milieu.

Pour obtenir les lois d'interaction pointe-surface qui, par leur caractère analytique simple, restent aisément exploitables et transposables en microscopie à force atomique, nous avons exploité la théorie de Hamaker. Dans le cadre de cette approche, le potentiel d'interaction de Van der Waals entre deux corps 1 et 2 de volumes respectifs V_1 et V_2 peut s'écrire¹⁰ :

$$V_{1-2} = - \iiint_{V_1} \iiint_{V_2} \frac{\mathcal{C}_{vdW} \rho_1 \rho_2}{\|\vec{r}_1 - \vec{r}_2\|^6} dr_1^3 dr_2^3 \quad (\text{I.4.5})$$

ρ_1 et ρ_2 sont les nombres d'atomes ou de molécules par unité de volume de chacun des corps.

¹⁰ Dans l'expression I.4.5, nous considérons que le terme \mathcal{C}_{vdW} est susceptible de dépendre de la sommation sur les volumes des objets, c'est la raison pour laquelle l'écriture retenue le laisse à l'intérieur des intégrales sur les volumes V_1 et V_2 . Cette remarque est vraie si l'on considère par exemple des dipôles orientés pour lesquels l'orientation intervient explicitement dans la façon dont la sommation est faite.

Milieu	\mathcal{C}_{VdW} ($10^{-79} J.m^6$)	ρ ($10^{28} m^{-3}$)	H ($10^{-20} J$)	
			Hamaker	Lifshitz
Hydrocarbure	50	3,3	5	7,1
CCL_4	1500	0,6	5	–
H_2O	140	3,3	15	3,7
Acétone				4,1
Polystyrène				6,5
Mica				10
Carbure de Silicium				44
Métaux (Au, Ag, Cu)				25 – 40

TABLEAU I.2: Constantes de Hamaker de quelques milieux, d'après [28].

Cette écriture suppose qu'aucune hypothèse n'est faite sur la géométrie des corps en regard. Le calcul direct pour n'importe quelle géométrie reste, dans la plupart des cas, impossible. Pour obtenir des expressions simples, cela conduit le plus souvent à ne considérer que des pointes hémisphériques ou coniques [38]. Pour l'échantillon, un plan semi-infini ou une sphère permettent d'obtenir des expressions simples.

Signalons enfin que, pour pallier la difficulté de la description analytique de l'interaction pointe-surface, plusieurs travaux présentent des calculs numériques *ab initio* [39–43].

I.4.a-ii Forces de Van der Waals entre corps de géométries simples

Nous donnons ci-après les expressions des potentiels d'interaction calculés dans le cas de quelques géométries simples. Nous les utiliserons très régulièrement tout au long de ce travail. Les hypothèses sont les suivantes : les corps 1 et 2 interagissent dans le vide, les interactions sont additives et non retardées. Pour les détails des calculs, nous renvoyons en référence [28]. Nous précisons, le cas échéant, les hypothèses faites.

La *constante de Hamaker* non retardée [31] de l'interface 1 – 2, H , est alors définie comme :

$$H = \pi^2 \mathcal{C}_{VdW} \rho_1 \rho_2 \quad (\text{I.4.6})$$

Des valeurs typiques de constantes de Hamaker entre corps identiques dans le vide et calculées dans le cadre de la théorie de Hamaker ou dans celui de la théorie de Lifshitz sont données dans le tableau I.2. Nous retiendrons l'ordre de grandeur de H , de $5.10^{-20} J$.

► 1 - Interaction atome ou molécule-plan :

Le potentiel d'interaction entre une molécule située à une distance D d'un plan semi-infini présentant une densité volumique d'atomes ρ peut se calculer de façon exacte en intégrant sur le plan semi-infini en coordonnées cylindriques. Le calcul donne :

$$V_{VdW}^{mp}(D) = -\frac{\pi\mathcal{C}_{VdW}\rho}{6D^3} \quad (\text{I.4.7})$$

La force associée est $\mathcal{F}_{VdW}^{mp}(D) = -\partial_D V(D) = -\pi\mathcal{C}_{VdW}\rho/(2D^4)$. L'intégration sur le plan semi-infini conduit à une augmentation de la portée de l'interaction par rapport à l'interaction atome-atome. C'est un résultat général du principe d'additivité. L'intégration conduit à une réduction de la loi d'interaction d'un facteur égal au nombre de dimensions sur lesquelles l'intégration est faite, ici 3.

Ces arguments conduisent à une divergence logarithmique de l'interaction entre deux volumes. C'est vrai si les volumes ne présentent pas de dimensions caractéristiques (le rayon par exemple, dans le cas d'une sphère). C'est le cas de l'interaction plan-plan, qui est définie par unité de surface. Si, par contre, l'objet présente un volume caractéristique ξ , la loi d'interaction est alors proportionnelle à $\sqrt[3]{\xi}/D$.

► 2 - Interaction atome ou molécule-sphère :

Le calcul du potentiel d'interaction entre une molécule ou un atome et une sphère de rayon R présentant une densité volumique ρ d'atomes peut se faire là encore de façon exacte. En intégrant sur le volume de la sphère en coordonnées sphériques l'expression I.4.4, nous obtenons :

$$V_{VdW}^{ms}(D) = -\frac{4\pi\mathcal{C}_{VdW}\rho R^3}{3(D+2R)^3 D^3}, \quad (\text{I.4.8})$$

et $\mathcal{F}_{VdW}^{ms}(D) = -4\pi\mathcal{C}_{VdW}\rho R^3 \{1/(D+2R)^4 D^3 + 1/(D+2R)^3 D^4\}$. Dans la limite $R \gg D$, la relation I.4.8 permet de retrouver la relation molécule-plan.

► 3 - Interaction sphère-sphère et sa limite sphère-plan :

C'est le cas le plus intéressant pour la microscopie à force atomique. La partie pertinente de la pointe qui contribue à l'interaction avec la surface est son apex. De façon générale, le rayon de courbure de l'apex est assimilé à un rayon de sphère équivalente. Ainsi dans les développements théoriques, la pointe est fréquemment modélisée par une sphère¹¹.

Considérons d'abord le cas de deux sphères de rayons respectifs R_1 et R_2 et de densités volumiques d'atomes ρ_1 et ρ_2 . Le calcul peut se conduire à partir de l'expression I.4.8 en intégrant sur la seconde sphère en coordonnées sphériques. Pour $R_1, R_2 \gg D$, nous obtenons :

$$V_{VdW}^{ss}(D) = -\frac{HR^*}{6D}, \quad (\text{I.4.9})$$

¹¹ Il est possible d'extrapoler à une très petite sphère et de considérer une interaction molécule-plan. Les calculs analytiques développés dans le cadre du mode dynamique (cf. chapitre II) présentent les résultats obtenus.

où R^* est un rayon équivalent défini à partir des rayons R_1 et R_2 de chacune des sphères¹² par :

$$R^* = \frac{R_1 R_2}{R_1 + R_2} \quad (\text{I.4.10})$$

L'interaction sphère-plan est la limite de l'interaction sphère-sphère si on considère que l'un des deux rayons devient grand devant l'autre, soit $R_{1 \text{ ou } 2} \rightarrow +\infty$. Pour une sphère de rayon R , l'expression I.4.9 devient :

$$V_{VdW}^{sp}(D) = -\frac{HR}{6D}, \quad (\text{I.4.11})$$

et la force associée est $\mathcal{F}_{VdW}^{sp}(D) = -HR/(6D^2)$. Pour une constante de Hamaker de l'interface de $5 \cdot 10^{-20} J$ et de rayon de courbure $20 nm$, la force associée à un nanomètre de la surface est donc de $-5 \cdot 10^{-20} \times 20 \cdot 10^{-9} / 10^{-18} = -0,17 nN$, et qui varie de $-0,67 nN$ à $-0,075 nN$ pour D variant de $0,5 nm$ à $1,5 nm$. Ces ordres de grandeur sont typiquement ceux des forces engagées entre la pointe et la surface en MFA.

► 4 - Interaction plan-plan :

Le potentiel d'interaction de Van der Waals entre deux surfaces diverge logarithmiquement conduisant à une interaction *a priori* infinie. Dans ce cas, l'interaction est définie par unité de surface. En utilisant la relation I.4.7 et en intégrant dans le second plan de densité volumique ρ_2 en coordonnées cylindriques, le calcul conduit à la relation [28, §10 p.158] :

$$V_{VdW}^{pp}(D) = -\frac{H}{12\pi D^2} \quad (\text{I.4.12})$$

► 5 - Interaction sphère-ligne de molécules :

L'interaction entre une sphère de densité ρ et une ligne d'atomes ou de molécules à la distance D est un cas déductible de l'interaction molécule-sphère (cf. annexe D). En supposant une densité linéique λ d'atomes le long de la ligne, le calcul donne :

$$V_{VdW}^{sph-ligne} = -\frac{\pi^2}{4} R^3 \rho \lambda \times \frac{C_{VdW}}{D^2 (2R + D)^2 \sqrt{D^2 + 2RD}} \quad (\text{I.4.13})$$

Dans la limite $R \gg D$, ou de façon équivalente pour la position de la pointe la plus proche de la ligne, l'expression précédente peut se réduire à :

$$V_{VdW}^{sph-ligne}(D) \stackrel{D \rightarrow 0}{\simeq} -\frac{\pi^2 \sqrt{R} \rho \lambda}{8\sqrt{2}} \times \frac{C_{VdW}}{D^{5/2}} \quad (\text{I.4.14})$$

¹² Cette définition reste vraie pour tous les problèmes pour lesquels l'introduction du rayon équivalent R^* est nécessaire, aussi cette grandeur ne sera pas redéfinie.

Cette expression peut s'étendre à l'interaction de Debye en considérant que les molécules constitutives de la ligne présentent un moment dipolaire d'orientation aléatoire. Dans ce cas, il suffit de remplacer \mathcal{C}_{VdW} par \mathcal{C}_{Debye} (cf. relation I.4.4).

► *Remarque : L'hypothèse récurrente $R \gg D$ et la portée des interactions :*

Les expressions précédentes sont souvent évaluées dans le cadre de cette hypothèse parce qu'elle autorise les développements limités nécessaires à l'analyticité des intégrales. Appliquée au cas particulier de la MFA, cette hypothèse n'est pas trop forte puisque les rayons typiques des pointes sont de l'ordre de 20nm alors que la portée des interactions de Van der Waals est, au plus, de l'ordre du nanomètre.

I.4.b Forces d'adhésion

Dans ce paragraphe, nous nous limitons à la description de deux origines des forces d'adhésion. Pour une étude systématique, nous renvoyons aux références [28, 44, 45].

Nous détaillons donc les forces les plus susceptibles de rentrer en jeu lors d'expériences de microscopie à force atomique : les forces adhésives entre corps solides et les forces capillaires, dont les origines physiques restent les interactions de Van der Waals. Les descriptions qui suivent sont valides pour les interactions de Van der Waals pour lesquelles le terme de dispersion est dominant.

Nous commençons par introduire l'approximation de Derjaguin qui s'avère être pratique pour exprimer simplement les forces d'adhésion entre corps solides.

I.4.b-i Approximation de Derjaguin

Cette approximation géométrique relie l'expression de la force entre deux surfaces courbes à celle de l'énergie d'interaction par unité de surface entre surfaces planes distantes de D . Pour deux sphères de rayons $R_{i=1,2}$, B.V. Derjaguin montre [46] que, dans la limite $R_1, R_2 \gg D$:

$$\mathcal{F}(D) \simeq 2\pi V_{VdW}^{pp}(D) R^* \quad (\text{I.4.15})$$

I.4.b-ii Force adhésive entre corps solides

L'approximation de Derjaguin s'applique strictement s'il n'existe pas de contact entre les sphères. L'hypothèse $R_1, R_2 \gg D$ conduit toutefois à considérer la limite de la relation I.4.15 et de supposer les deux sphères en contact.

Les relations qui décrivent le potentiel attractif d'interaction de Van der Waals entre corps macroscopiques divergent en $D = 0$. Cela suppose que le contact soit défini pour une distance de coupure qui corresponde à la saturation des forces attractives au moment où les corps entrent en contact [47–50]. Cette *distance de contact*, d_c , est définie et semblable pour la plupart des matériaux organiques, liquides ou solides, pour lesquels les interactions de Van der Waals sont prépondérantes : $d_c = 0,165nm$ [28, §11 p.203].

Considérant le contact $D = d_c$ de deux sphères macroscopiques incompressibles dans le vide (définissant une interface 1 – 0 – 2, l’indice “0” étant référencé au vide), la relation I.4.12, $V_{VdW}^{pp}(d_c)$, définit le *travail d’adhésion* de l’interface, noté W_{102} . La *force adhésive*¹³ entre les sphères est reliée au travail d’adhésion de l’interface par la relation :

$$\mathcal{F}_{adhésive} = -2\pi W_{102} R^* = -\frac{HR^*}{6d_c^2}, \quad (\text{I.4.16})$$

qui permet également de relier l’énergie d’interface et la constante de Hamaker de l’interface 1 – 0 – 2.

Pour introduire les ordres de grandeur avec une simple interface pointe-surface dans le vide, prenons à nouveau une pointe hémisphérique de rayon $20nm$ au contact d’une surface plane avec une constante de Hamaker de l’interface typique de $5.10^{-20}J$. La force adhésive est de l’ordre de $-6nN$, à comparer avec la dépendance en $-HR/(6D^2)$ de la force associée à la relation I.4.11. A une distance de la surface de $1nm$, cette force attractive n’est plus que de $-0,15nN$.

Ce résultat donne clairement le domaine de sensibilité de la pointe du microscope aux interactions de Van der Waals : pour des distances entre la pointe et la surface supérieures à un nanomètre, l’interaction pointe-surface devient faible devant celle induite par l’adhésion.

I.4.b-iii Force d’adhésion par capillarité

Dans les conditions atmosphériques ambiantes, les surfaces des échantillons sont couvertes d’une pellicule d’eau [51] susceptible de contenir des contaminants électriquement chargés [52].

Les ordres de grandeur des forces introduits jusque-là indiquent que le microscope à force atomique est un outil adapté à la mesure des forces de Van der Waals entre la pointe et la surface. L’annexe C, montre que la pointe est sensible à la cinétique d’adsorption d’eau sur la surface d’un échantillon de silice en mesurant l’évolution de son adhésion. Des résultats expérimentaux récents en MFA obtenus dans l’équipe, croisés avec des expériences de spectroscopie infra-rouge, ont également illustré l’évolution de la force d’adhésion d’une surface de silice en fonction de la température de l’échantillon et de relier cette évolution au nombre de monocouches d’eau adsorbées [53]. L’étude montre que la surface de silice présente de quatre à deux couches d’eau selon la température. Les deux couches les plus proches du substrat de silice sont très liées à la surface. La silice se comporte alors comme un matériau amorphe.

La capillarité peut également être liée à la structure de l’échantillon. Par exemple, avec des matériaux viscoélastiques tels que des polymères. Pour les poids moléculaires les plus faibles, la taille des unités monomériques est telle que le polymère se comporte, au-dessus de sa température de transition vitreuse, comme un liquide. Dans ce cas, la pointe peut rester piégée dans l’échantillon par capillarité [14].

¹³ La force adhésive est définie comme la force d’adhésion entre corps solides. La terminologie de force d’adhésion est retenue de façon plus générale et inclut, en plus des forces adhésives, les forces de capillarité susceptibles d’apparaître au moment du contact.

Les processus d'adhésion par capillarité sont liés à l'apparition d'un ménisque à l'interface entre la pointe et la surface. Lorsque la distance pointe-surface ainsi que le rayon du ménisque formé sont petits devant le rayon de courbure de la pointe, supposée localement hémisphérique, l'expression de la force capillaire est donnée par [28, §15 p.332] :

$$\mathcal{F}_{capillarité} = -4\pi R\gamma_L \cos(\vartheta), \quad (\text{I.4.17})$$

où γ_L représente la tension de surface du liquide, R le rayon de courbure géométrique du ménisque formé – dans cette expression assimilé au rayon de courbure de la pointe –, et ϑ l'angle de mouillage défini, de façon générale pour une interface 1 – 3 – 2, par la relation de Young-Dupré : $\gamma_{102} + \gamma_{203} \cos(\vartheta) = \gamma_{103}$.

Ces forces s'exercent lorsque la pointe, après que son extrémité eut été mouillée, s'éloigne de la surface sur une distance liée à la rupture du ménisque. Pour l'eau, $\gamma_L = 0,072 \text{ J.m}^{-2}$ et si la pointe présente un rayon de courbure de 20 nm , la force maximale pour le décollement sera de $4\pi \times 0,072 \times 20 \cdot 10^{-9} \simeq 18 \text{ nN}$.

A la contribution des forces de capillarité, il faut maintenant ajouter la force adhésive introduite précédemment qui va traduire l'adhésion des corps à l'intérieur du ménisque capillaire définissant une interface pointe-liquide-surface. Le travail d'adhésion associé est noté W_{1L2} , de sorte que la *force d'adhésion* s'écrit sous la forme de la contribution de la force adhésive et de la force de capillarité sous la forme :

$$\mathcal{F}_{adhésion} = -4\pi R\gamma_L \cos(\vartheta) - 2\pi W_{1L2} R^* \quad (\text{I.4.18})$$

Notons que dès qu'il existe des effets capillaires, les forces associées deviennent plus importantes que les forces adhésives qui sont réduites par l'introduction du milieu intermédiaire à l'origine de la capillarité [28, §15 p.332]. Pour une pointe de 20 nm de rayon en interaction avec une surface qui présenterait une pellicule d'eau avec une constante de Hamaker de l'interface de l'ordre de $5 \cdot 10^{-20} \text{ J}$, nous avons vu précédemment que la contribution au contact de la force adhésive est de 6 nN , soit une contribution trois fois plus faible que la force de capillarité. La force d'adhésion de l'interface devient : $18 + 6 = 24 \text{ nN}$.

Pour comparer cette force à celles auxquelles le microscope de force est sensible, introduisons les ordres de grandeur des leviers du mode contact et du mode dynamique (cf. annexe A). Les raideurs des leviers du mode contact sont généralement plus faibles, bien que variant dans une gamme assez large, que celles du mode dynamique. Pour simplifier le propos, prenons deux décades de différence, donc typiquement $0,1 \text{ N.m}^{-1}$ contre 10 N.m^{-1} respectivement pour un levier de mode contact et un levier du mode dynamique. Dans le premier cas la pointe décolle¹⁴ pour une force de 25 nN , soit un déplacement vertical de 250 nm . En mode dynamique, pour une amplitude d'oscillation de 10 nm , la force de rappel est de l'ordre de $k_{levier} A \simeq 100 \text{ nN}$, ce qui préserve la pointe du problème de capillarité pour les plus grandes amplitudes d'oscillation. Toutefois, cette force variant

¹⁴ Dans cette description, la déformation élastique de l'interface n'est pas envisagée. Cette hypothèse suppose que la raideur du matériau soit toujours très grande devant la raideur du levier de façon à ce que la pointe n'indente pas la surface.

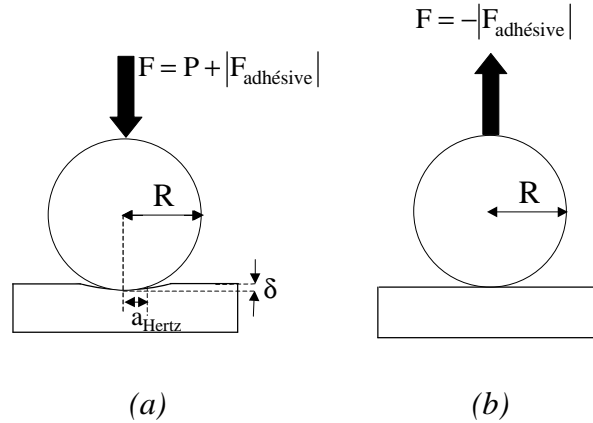


FIGURE I.5: Géométrie d'un contact élastique dans les domaines répulsif (a) et adhésif (b). (a)- Dans le domaine répulsif, la charge F appliquée par la pointe sur la surface est la contribution de la charge effective appliquée, P , et de la force adhésive. (b)- Domaine adhésif dans le cadre d'un contact Hertzien. Le rayon de contact et l'indentation tendent vers zéro lorsque les corps se séparent.

linéairement avec l'amplitude, ici pour $3nm$, la pointe risque de se retrouver piégée par la surface.

Ainsi, de l'eau éventuellement présente sur les surfaces des échantillons que nous serons amenés à analyser sera considérée comme une pollution dont il faudra s'affranchir dans la mesure du possible.

I.4.c Contact élastique entre corps solides

Ce paragraphe introduit le contact élastique entre corps solides censé décrire les forces répulsives entre la pointe du microscope et la surface d'un échantillon. Compte tenu des difficultés énoncées précédemment pour les interactions attractives de Van der Waals, la pointe est supposée hémisphérique. Le type de contact décrit ci-après est donc de type sphère-sphère ou de type sphère-plan¹⁵.

Nous commençons par introduire quelques éléments de la théorie de l'élasticité comme les raideurs de contact, les modules d'Young, ou modules élastiques et modules de cisaillement équivalents. Nous présentons ensuite deux des principales théories¹⁶ qui permettent de décrire le contact élastique entre deux corps considérés comme des milieux continus : la théorie de H. Hertz [58] et la théorie de B.V. Derjaguin, V.M. Muller, Y.P. Toporov, ou théorie DMT [59]. Elles se différencient dans leur façon de prendre en compte la force adhésive au contact (cf. figure I.5).

¹⁵ La description du contact dans le cas d'une géométrie sphère-plan est déduite de la géométrie sphère-sphère dans la limite $R_{i=1 \text{ ou } 2} \rightarrow +\infty$, de manière analogue au cas des forces attractives.

¹⁶ Pour une étude systématique, nous renvoyons aux références [54, 55]. Pour la description du contact élastique entre corps solides, il faut également citer les théories de K.L. Johnson, K. Kendall, A.D. Roberts (ou théorie JKR) [56] et celle de Maugis [57]. Cette dernière décrit un mécanisme de transition entre la théorie JKR et la théorie DMT.

I.4.c-i Raideurs de contact

Les éléments de la théorie de l'élasticité introduits ici peuvent être retrouvés par exemple en référence [60, §9 p.45]. Considérons le contact de deux sphères de rayons $R_{i=1,2}$, constituées de matériaux de modules élastiques et de cisaillement¹⁷, respectivement $E_{i=1,2}$ et $G_{i=1,2}$, et de coefficients de Poisson $\sigma_{i=1,2}$. Les modules d'élasticité E^* et de cisaillement G^* équivalents sont définis respectivement par :

$$\frac{1}{E^*} = \sum_{i=1,2} \frac{1 - \sigma_i^2}{E_i} \quad \frac{1}{G^*} = \sum_{i=1,2} \frac{2 - \sigma_i}{G_i} \quad (\text{I.4.19})$$

Le contact et la déformation élastique des sphères induit un plan de contact et par la suite une aire de contact, A . Elle est égale à πa^2 , a étant le rayon de contact. Les raideurs normale k_N et latérale k_L du contact sont respectivement égales à¹⁸ :

$$k_N = 2E^*a \text{ et } k_L = 8G^*a \quad (\text{I.4.20})$$

I.4.c-ii Théorie de Hertz

H. Hertz, en 1882, fut le premier à proposer une théorie décrivant la géométrie d'un contact élastique [55, 58] entre deux sphères macroscopiques. Ses hypothèses de travail sont les suivantes : les solides sont soumis à de petites contraintes, dans les limites de leur réponse élastique linéaire, les surfaces sont lisses et non conformes, la force s'applique perpendiculairement au plan de contact des objets. Il n'y a ni adhésion, ni frottement.

Pour une force normale P exercée par l'une des sphères sur l'autre, le rayon de contact a_{Hertz} ainsi que la déformation élastique δ_{Hertz} sont respectivement donnés, pour $R_1, R_2 \gg a_{Hertz}$, par les relations :

$$a_{Hertz} = \sqrt[3]{\frac{3PR^*}{4E^*}} \quad (\text{I.4.21})$$

$$\delta_{Hertz} = \frac{a_{Hertz}^2}{R^*} = \sqrt[3]{\frac{9}{16} \frac{P^2}{R^*E^{*2}}} \quad (\text{I.4.22})$$

La déformation élastique δ_{Hertz} est définie comme le rapprochement du centre des sphères sous l'action de la charge. En microscopie à force atomique, le module élastique de la pointe étant toujours supposé grand devant celui de la surface, la déformation élastique est celle de l'échantillon. Dans ce cas, on parle d'*indentation* de la pointe dans la surface.

La relation I.4.20 impose que l'expression de la force normale en fonction de l'indentation est donnée par :

$$P = \frac{2}{3}k_N (\delta_{Hertz}) \delta_{Hertz}, \text{ avec } k_N (\delta_{Hertz}) = 2\sqrt{R^*\delta_{Hertz}}E^* \quad (\text{I.4.23})$$

¹⁷ Les modules de cisaillement sont reliés au module d'élasticité par la relation : $G_i = E_i / [2(1 + \sigma_i)]$

¹⁸ Ces relations ne sont plus valables pour un contact élastique de type JKR.

Dans un contact hertzien, l'intensité de la force répulsive est liée d'une part à la déformation élastique δ_{Hertz} avec une dépendance en puissance 3/2 et d'autre part au module élastique de la surface. La rupture du contact n'est pas brutale mais progressive puisque le rayon du contact tend continûment vers zéro lorsque la charge diminue jusqu'à devenir nulle. A ce moment, les sphères se séparent.

Pour appliquer la théorie de Hertz au microscope de force, considérons une pointe de module élastique infiniment grand et d'apex hémisphérique, de rayon R . Cela suppose que ses déformations sont négligeables devant celles de l'échantillon. Dans la limite $R_i \rightarrow +\infty$, la description du contact hertzien entre une pointe de rayon R et une surface plane de module élastique E est donnée par la relation :

$$P = \frac{2}{3}k_N(\delta_{Hertz})\delta_{Hertz}, \text{ avec } k_N(\delta_{Hertz}) = 2\sqrt{R\delta_{Hertz}}\frac{E}{1-\sigma^2} \quad (\text{I.4.24})$$

L'expression I.4.24 est celle qui est utilisée dans les simulations numériques du mode dynamique introduit au chapitre II.

I.4.c-iii Théorie Derjaguin-Muller-Toporov (D.M.T.)

La théorie DMT prend en considération les forces adhésives des corps au contact [55,59]. Les auteurs affirment qu'elles sont incapables de déformer les surfaces et donc de modifier la géométrie du contact qui reste de type hertzien. La charge P de l'équation I.4.21 devient une charge équivalente définie maintenant comme la charge effective appliquée et la force adhésive de l'interface déduite d'une approche similaire à celle développée précédemment par Johnson *et al.* [56] et dont l'expression est identique à celle de Derjaguin (relation I.4.16) :

$$P \rightarrow P_{DMT} = P - \mathcal{F}_{adhésive}^{DMT} = P + 2\pi W_{132}R^*, \quad (\text{I.4.25})$$

où W_{132} est le travail d'adhésion de l'interface 1-3-2 introduit au paragraphe I.4.b-ii. Dans cette écriture, la contribution de la force adhésive à la charge P va dans le sens de la déformation élastique de l'interface. Les sphères restent donc en contact jusqu'à ce que la charge atteigne une valeur critique $P = \mathcal{F}_{adhésive}^{DMT} = -2\pi W_{132}R^*$, pour laquelle les sphères se séparent. Comme dans la théorie de Hertz, la rupture du contact est progressive.

C'est cette approche qui est retenue pour la plupart des aspects numériques développés dans ce travail.

Pour synthétiser les différents contributions, la figure I.6 présente un profil de force obtenu entre une sphère de rayon $20nm$ et une surface plane de module élastique $1GPa$ à partir d'un contact élastique de type DMT. La constante de Hamaker est de $10^{-19}J$. Au contact, $D = d_c = 0,165nm$, la force adhésive assure la continuité de la force entre la zone de non-contact et le contact et vaut $-12nN$. Pour les distances plus faibles, c'est-à-dire pour les indentations plus importantes, la pointe s'enfonce élastiquement dans la surface et le contact élastique de type DMT présente une variation non linéaire de la force avec l'indentation. Pour deux nanomètres d'adhésion, la force répulsive est de l'ordre de $17nN$.

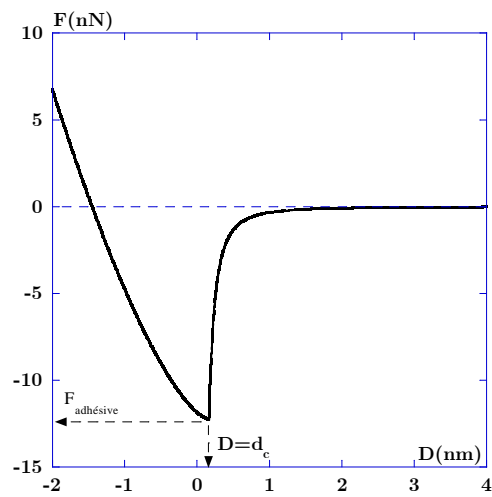


FIGURE I.6: Evolution de la force entre une pointe hémisphérique de rayon de courbure 20nm et une surface en fonction de la distance dans le cadre d'un modèle de contact élastique de type DMT. La constante de Hamaker de l'interface est de $10^{-19} J$ et le module élastique de la surface de 1GPa.

Synthèse

Ce chapitre avait pour vocation d'introduire un certain nombre d'éléments formels, mais néanmoins nécessaires à l'exploitation des expériences en microscopie à force atomique. Il s'agissait d'une part de décrire les deux principaux modes dynamiques de fonctionnement du microscope et d'autre part de détailler les forces en jeu à l'échelle de la pointe ainsi que leurs ordres de grandeur. Le choix fait ici est de se placer dans une approche de milieux continus.

Concernant le microscope, nous avons souligné l'importance de certains points expérimentaux incontournables comme la pointe et sa qualité, tant en termes de taille que de propreté vis à vis d'éventuelles pollutions, et les courbes d'approche-retrait. Elles constituent la signature de la pointe oscillante en interaction avec la surface et sont donc à ce titre fondamentales. Elles permettront en particulier de simplifier l'interprétation du contraste des images.

Les expériences sont ainsi conduites de façon à contrôler au mieux, selon les situations identifiées, ces éléments.

Dans le cadre de la théorie de Hamaker, il est possible d'évaluer l'interaction entre une pointe et une surface en faisant une sommation des potentiels d'interaction par paires d'atomes sur les volumes en regard. La portée des forces attractives de Van der Waals entre objets mésoscopiques – nous considérons ici une pointe de rayon de courbure de quelques dizaines de nanomètres et une surface plane – est de l'ordre d'un nanomètre pour des valeurs typiques de la constante de Hamaker de l'interface. Ces forces varient dans un intervalle de quelques nanonewtons.

Les forces adhésives entre corps sont de l'ordre d'une dizaine de nanonewtons. Les forces capillaires constituent un obstacle plus important et peuvent induire des effets de piégeage de la pointe sur la surface, en particulier sur les plus petites amplitudes d'oscillation de la pointe en mode dynamique. L'eau existant à la surface des échantillons est ainsi envisagée comme une pollution susceptible d'être préjudiciable à la qualité des mesures. Le travail en atmosphère contrôlée peut limiter, selon l'échantillon, ces effets capillaires.

Les différents modèles de contact élastique permettent de décrire le contact entre la pointe et la surface à partir des propriétés mécaniques de la surface. L'intensité de la force répulsive est contrôlée par le module élastique de la surface et l'indentation de la pointe. Toutefois, les expressions peu simples, notamment en fonction de l'indentation, les rendent difficiles à utiliser dans les développements analytiques. La pertinence de tel ou tel modèle dans le cas spécifique du mode dynamique est discutée à partir de simulations numériques.

Chapitre II

Microscopie de force dynamique

Chapitre II

Microscopie de force dynamique

Le chapitre précédent a introduit les modes dynamiques de Tapping et NC-AFM et précisé la pertinence du Tapping pour l'étude des matériaux mous en limitant les forces de cisaillement induites à l'interface entre la pointe et la surface lors du balayage. Mais si ce mode s'avère capable d'imager des matériaux fragiles, l'interprétation du contraste des images obtenues est à faire dans le cadre de la modélisation de la surface et de la dynamique du système pointe-levier. Concernant le NC-AFM, l'évolution spectaculaire du contraste des images en fonction de la distance, observée par certaines équipes [61], laisse également penser que la description des non-linéarités induites par l'interaction entre la pointe et la surface est nécessaire pour une interprétation plus quantitative des résultats.

Nous nous proposons maintenant de détailler la modélisation qui est faite des modes dynamiques dans les différentes situations susceptibles d'être testées par la pointe, c'est-à-dire dans les situations de contact intermittent et de non-contact. La modélisation et l'analyse sont faites à partir des courbes d'approche-retrait.

Nous avons vu que le grand nombre d'atomes impliqués dans l'interaction entre la pointe et la surface supposait que la pointe mesure une réponse moyenne sur un grand nombre de particules et sur des échelles de temps qui n'ont rien à voir avec les processus quantiques. Cette remarque permet un traitement du problème dans le cadre de la mécanique classique.

Pour montrer cela, introduisons un ordre de grandeur de l'action de la pointe oscillante au voisinage de la surface, S , et montrons que les contributions quantiques sont négligeables, donc typiquement $S \gg \hbar$ [62].

S peut être évaluée à partir du produit de l'énergie mécanique moyenne de l'oscillateur par un temps caractéristique, par exemple sa période d'oscillation :

$$S \simeq \langle E_m \rangle \times T,$$

avec $\langle E_m \rangle = 2 \langle T \rangle = k_z A^2$ (théorème du Viriel), si k_z est la raideur de l'oscillateur et A l'amplitude des oscillations. Pour les leviers de dynamique, $k_z \simeq 40 \text{ N.m}^{-1}$, $T \simeq 3.10^{-6} \text{ s}$ et

les amplitudes caractéristiques sont de quelques dizaines de nanomètres, soit $A \simeq 40\text{nm}$. La relation précédente donne $S \simeq 2.10^{-19} J.s$, valeur qui est bien grande devant \hbar .

Ce chapitre est articulé autour de trois points. Le premier concerne une présentation des observables expérimentales et donne quelques résultats caractéristiques comme base à la modélisation. Le deuxième, développé sur les trois parties suivantes, concerne la modélisation du comportement de l'oscillateur au voisinage de la surface, que cela soit en non-contact ou en contact intermittent. Le troisième point concerne l'exploitation expérimentale des éléments théoriques.

II.1 Données expérimentales

L'objectif de cette partie est d'introduire de façon qualitative la base de la modélisation de la dynamique non-linéaire du système oscillant au voisinage de la surface. Il s'agit des courbes d'approche-retrait. Le chapitre précédent a indiqué leur pertinence pour une meilleure compréhension du fonctionnement de la machine.

En mode dynamique, elles donnent accès aux propriétés de l'oscillateur en fonction de la distance entre la pointe et la surface.

Un certain nombre de prérequis systématiquement utilisés expérimentalement ou exploités ultérieurement sont également introduits. Certains de ces éléments, seront approfondis dans les parties à venir.

II.1.a Signaux de mesure

En mode Tapping, la mesure porte sur l'amplitude et la phase de l'oscillateur. Leur évolution en fonction de la position verticale de la céramique piézoélectrique constitue une courbe d'approche-retrait.

En NC-AFM, la seule observable que nous retiendrons sera la fréquence à la résonance de l'oscillateur libre en fonction de la position verticale de la céramique piézoélectrique. Cette caractéristique, toujours basée sur les déplacements de la céramique, sera également appelée courbe d'approche-retrait.

La figure II.1 présente par exemple une courbe d'approche-retrait obtenue en mode Tapping en amplitude (*a*) et en phase (*b*) sur une surface de silice. L'amplitude des oscillations est présentée en nanomètres et les déplacements verticaux de la céramique piézoélectrique également.

Cela suppose de calibrer en fonction de l'excitation fournie au levier. L'objet du paragraphe suivant est d'introduire cela et de discuter du choix des surfaces de silice comme échantillons de référence pour effectuer la calibration.

La variation d'amplitude (*a*) présente deux bifurcations et consécutivement un cycle d'hystérésis. Lorsque la surface est loin (partie droite de la courbe), l'amplitude est constante et égale à l'amplitude libre des oscillations définies par les conditions

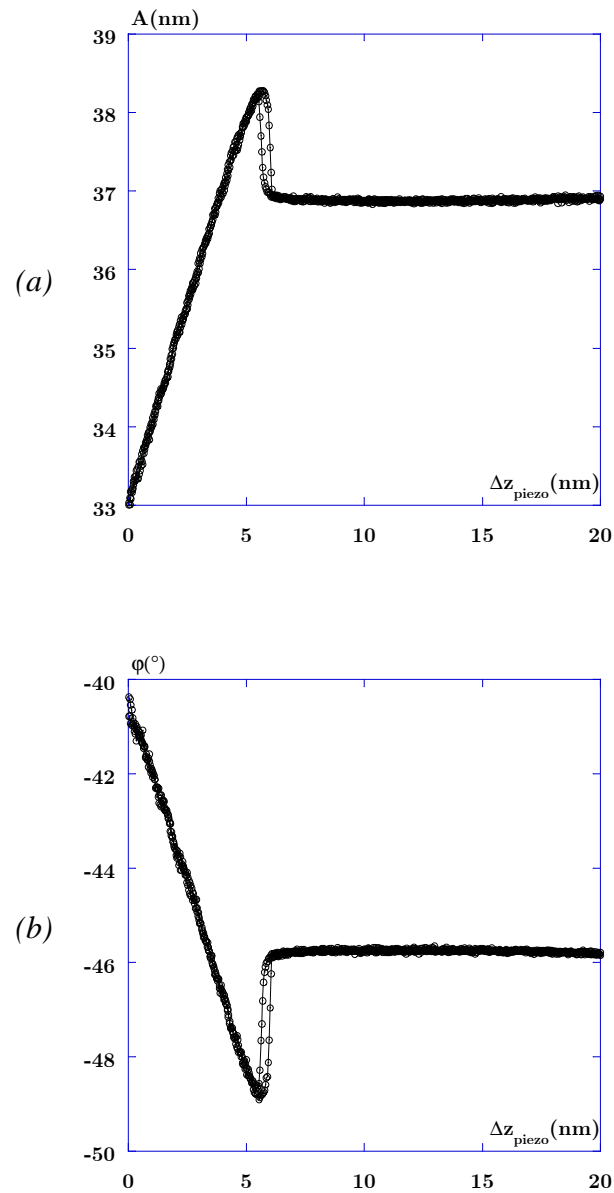


FIGURE II.1: Courbe d'approche-retrait expérimentale obtenue sur une surface de silice. Les conditions expérimentales d'excitation du levier sont : amplitude libre des oscillations $A_l = 37\text{nm}$, fréquence d'excitation $\nu = 153,131\text{kHz}$. La phase libre associée est de -46° .

d'excitation : amplitude et fréquence. Ce n'est qu'au voisinage de la surface que les contributions non-linéaires se font sentir et conduisent aux variations observées. L'approche de la céramique conduit à une première bifurcation, caractérisée par la brusque augmentation d'amplitude. Elle est ensuite réduite, puis au moment du retrait, augmente avant d'atteindre une valeur supérieure à celle pour laquelle elle avait initialement bifurqué. La fin du retrait fait apparaître une nouvelle bifurcation et conduit l'amplitude à retrouver une valeur égale à sa valeur libre lorsque la surface est suffisamment éloignée. La courbe de phase (b) est similaire à celle de l'amplitude (bifurcation et cycle d'hystérésis).

Ces variations sont ainsi caractéristiques de la dynamique non-linéaire de l'oscillateur en interaction avec la surface. Elles vont donc fortement dépendre des conditions d'excitation. La modélisation, dans le cadre d'hypothèses simplificatrices, doit permettre de mieux les appréhender.

II.1.b Prérequis

II.1.b-i Choix du substrat de référence

La comparaison relative des résultats expérimentaux requiert un échantillon de référence dont la réponse est connue. La référence retenue est une surface de silice. La silice est obtenue à partir d'un substrat de silicium oxydé [63], nettoyé puis traité et dont l'oxydation est contrôlée en vue de faire croître une couche fraîche d'oxyde sur une épaisseur caractéristique de quelques nanomètres [64, 65].

Il est ainsi possible d'obtenir des substrats de silice avec une faible rugosité, de l'ordre de $0,3nm$, sur de grandes surfaces. Ces échantillons constituent donc des substrats de choix pour la microscopie à force atomique.

Si la silice constitue indéniablement un échantillon de référence intéressant, elle n'est pas néanmoins exempte de défauts. L'adsorption de molécules d'eau sur les sites hydroxyl est l'une des caractéristiques bien connue de ces surfaces (cf. chapitre IV). Or nous considérons que l'eau, par les effets capillaires qu'elle peut introduire, est une pollution de la surface. La cinétique d'adsorption dépend des paramètres extérieurs tels que le degré d'hygrométrie et la température. L'annexe C présente une étude de la cinétique d'adsorption d'eau sur une surface de silice fraîche. Ces résultats indiquent que la pointe devient sensible à une modification de l'état de surface en quelques heures, vraisemblablement liée à l'adsorption d'eau sur la surface.

Les résultats expérimentaux sur les surfaces de silice présentés dans ce chapitre ont été obtenus à partir d'échantillons introduits dans la boîte à gant après leur traitement, donc sur lesquels la présence d'eau était limitée. Le cas échéant, nous discutons d'une éventuelle contamination de la surface.

II.1.b-ii Calibration de l'amplitude des oscillations

Le caractère dur de la silice permet de normer les déflexions du levier en mode contact [5,64], mais également les amplitudes d'oscillations de l'oscillateur en contact intermittent [14].

La figure II.1 indique des amplitudes d'oscillation calibrées en nanomètres. La conversion volts photodiodes-nanomètres de l'amplitude des oscillations est obtenue en réalisant des courbes d'approche-retrait pour différentes amplitudes sur une surface de silice.

La méthode de conversion consiste, depuis une courbe d'approche-retrait obtenue pour une grande amplitude¹, à mesurer la pente de réduction de l'amplitude en fonction du déplacement vertical de la céramique piézoélectrique. Dans les situations de contact intermittent sur la silice, cette pente doit être égale à 1. Les déplacements verticaux de la céramique étant calibrés en z , les volts détectés par les photodiodes sont convertis en nanomètres. Dans le domaine de linéarité de la réponse des photodiodes, il est ainsi possible d'obtenir la valeur en nanomètres de l'amplitude libre des oscillations A_l .

La précision de la mesure de la calibration est contrôlée par la mesure de la pente du contact intermittent. Nous estimons que l'erreur introduite sur la mesure est de 5% en moyenne. La calibration est réalisée avec une amplitude suffisamment grande pour limiter la contribution de l'interaction attractive entre la pointe et la surface.

Une fois A_l connue, l'amplitude à la résonance peut être déduite des conditions d'oscillation (amplitude et fréquence d'excitation, fréquence à la résonance et facteur de qualité de l'oscillateur), si le comportement de l'oscillateur est harmonique, ou évaluée durant la courbe d'approche-retrait en variant la fréquence d'excitation. Les deux mesures doivent conduire à une même évaluation de A_0 .

La phase est également une signature non ambiguë de la qualité des réglages et de la mesure de la fréquence à la résonance pour laquelle elle est alors égale à -90° . Les courbes d'approche-retrait permettent donc également une évaluation de l'harmonicité de l'oscillateur. Ces vérifications expérimentales sont nécessaires pour évaluer l'anharmonicité des oscillations.

Il apparaît donc déjà qu'une exploitation des résultats expérimentaux, en vue d'une analyse plus quantitative que qualitative, suppose de disposer de systèmes pointe-levier oscillants dont le comportement soit proche de l'oscillateur harmonique.

II.1.c Système pointe-levier : un oscillateur harmonique

La mécanique du système pointe-levier telle qu'elle est décrite en annexe A présente toutes les caractéristiques de celles d'un oscillateur. La valeur de la raideur normale de cet oscillateur est fonction du matériau constitutif du levier et de sa géométrie. Pour des

¹ Des amplitudes caractéristiques sont de l'ordre de plusieurs dizaines de nanomètres.

leviers de section rectangulaire tels que ceux utilisés en mode dynamique, cette raideur s'écrit :

$$k_z = \frac{E l e^3}{4 L^3}, \quad (\text{II.1.1})$$

où E , l , e et L sont respectivement le module élastique, la largeur, l'épaisseur et la longueur du levier.

En lui appliquant une force périodique à sa base, une oscillation en flexion du levier est obtenue. Plusieurs modes d'oscillations sont *a priori* possibles correspondant à des périodes spatiales d'oscillations qui sont des fractions de sa longueur. Pour le mode fondamental (période spatiale de l'ordre de $4L$), la masse effective du levier est obtenue à partir de l'équation de la déformée dynamique d'une poutre équivalente et vaut environ le quart de la masse du levier. En introduisant la contribution de la masse de la pointe, la masse effective du système pointe-levier vaut : $m^* = m_{\text{pointe}} + 0,24m_{\text{levier}}$ [3]. En négligeant la masse de la pointe², la résonance propre du système est donnée par :

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{k_z}{0,24m_{\text{levier}}}} \quad (\text{II.1.2})$$

Durant les expériences, l'oscillateur vibre dans un milieu qui présente une certaine viscosité qui va donc dissiper l'énergie de l'oscillateur. Les expériences de Tapping indiquées ici sont réalisées en atmosphère contrôlée à la pression atmosphérique. La résistance au mouvement due à la viscosité de l'air ($\eta_{\text{air}} = 2.10^{-5} Pa.s$) résulte de l'établissement d'un gradient de vitesse d'écoulement du gaz autour du levier induit par l'oscillation. La force visqueuse est proportionnelle au gradient de vitesse le long de l'axe perpendiculaire à l'axe de l'oscillation. Pour un levier de largeur l , on peut montrer que le pic s'élargit de $\Delta\nu \approx 4\pi\eta l/m^*$. Pour un levier en silicium ($\rho_{\text{Si}} = 2,33g.cm^{-3}$) de dimensions caractéristiques $L \times l \times e = 125 \times 30 \times 4\mu m^3$, nous obtenons une masse $m^* \approx 8.10^{-12}kg$ et $\Delta\nu \approx 940Hz$. La fréquence de résonance de ces leviers est de l'ordre de $320kHz$. Les facteurs de qualité attendus sont donc de l'ordre de 340, en bon accord avec ceux mesurés expérimentalement qui varient dans un intervalle caractéristique de 300 à 500.

La figure II.2 présente une courbe de résonance expérimentale d'un levier enregistrée loin de la surface et un schéma de l'excitation du système mécanique pointe-levier. Ce résultat montre que le système oscillant pointe-levier est correctement décrit par le modèle de l'oscillateur harmonique linéaire.

La partie suivante rappelle les caractéristiques de comportement d'un tel oscillateur [66, §5 p.101] et introduit les principales notations utilisées.

² Les caractéristiques de la pointe et du levier pour le mode dynamique sont généralement les suivantes :

Pointe : cône d'angle au sommet 20° et de hauteur $10\mu m$. Pour un matériau de masse volumique ρ : $m_{\text{pointe}} = \rho V = \rho \pi h^3 \tan(20) / 3 = \rho \times 1,38.10^{-16}m^3$

Levier : Prenons un levier de longueur (cf. annexe A) $125\mu m$, de $4\mu m$ d'épaisseur et de largeur $30\mu m$. Pour un matériau de même masse volumique : $m^* = 0,24m_{\text{levier}} = \rho \times 3,6.10^{-15}$, d'où un rapport de l'ordre de 4% de la contribution de la masse de la pointe à la masse effective du levier, ce qui rend sa contribution négligeable devant celle du levier.

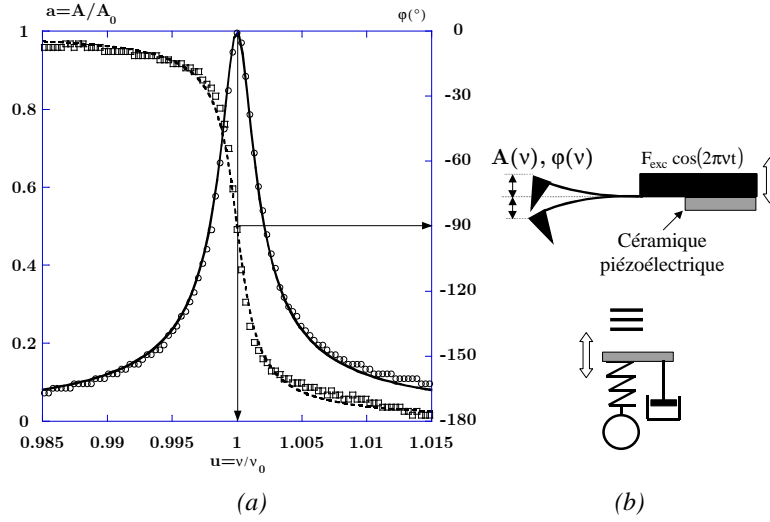


FIGURE II.2: (a)- Courbe de résonance expérimentale en amplitude (cercles vides) et en phase (carrés vides) enregistrée loin de la surface et leurs ajustements (traits continus ou tirets) à partir des équations normées II.1.8 et II.1.9 de l'oscillateur harmonique. La surface est à une distance de l'ordre de 200nm. L'amplitude et la fréquence sont normées respectivement à l'amplitude et à la fréquence de résonance de l'oscillateur libre. Les conditions expérimentales sont $A_0 = 46\text{nm}$ et $\nu_0 = 153,908\text{kHz}$. Le facteur de qualité ajusté est $Q = 413$. (b)- Schéma d'excitation du système pointe-levier oscillant et schéma équivalent d'un oscillateur amorti en régime forcé. Les dimensions ne sont pas respectées. La céramique piézoélectrique excitatrice est située à la base du support de levier.

II.1.c-i Equations du mouvement

Le système mécanique pointe-levier mis en excitation est analogue à un oscillateur amorti en régime forcé qui aurait un seul degré de liberté selon son axe de vibration (z). Lorsque la surface est à des distances supérieures à quelques nanomètres de la pointe, le système oscillant pointe-levier se comporte, pour certains d'entre eux, comme un oscillateur harmonique effectuant de petites oscillations³.

Il faut toutefois noter que seuls quelques leviers ont un comportement harmonique, environ 7%. Les autres présentent en général plusieurs pics qui sont caractéristiques de couplages entre modes de vibrations. Ces problèmes sont discutés en annexe B.

Le comportement harmonique du système oscillant est pourtant un prérequis indispensable pour une modélisation correcte de la dynamique de l'oscillateur en interaction avec la surface et une possible exploitation quantitative des résultats. Cela conduit expérimentalement à ne retenir que les leviers dont les courbes de résonance sont susceptibles d'être ajustées correctement par les équations de l'oscillateur harmonique.

L'équation du mouvement d'un oscillateur amorti soumis à une excitation périodique d'intensité \mathcal{F}_{exc} à la fréquence ν s'écrit :

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m} \cos(2\pi\nu t) \quad (\text{II.1.3})$$

³ Les amplitudes maximales envisagées sont de 100nm pour une longueur caractéristique des leviers de dynamique de l'ordre de 100 μm , soit une déflexion, au plus, de 0,1% de la longueur du levier.

m est la masse de l'oscillateur, k sa raideur, reliée à la fréquence du mode propre, ν_0 , par la relation $\omega_0 = 2\pi\nu_0 = \sqrt{k/m}$. $\gamma = 2\beta_0 m$ est le coefficient de frottement du milieu dans lequel l'énergie de l'oscillateur se dissipe.

L'oscillateur est dit linéaire parce que la force de rappel présente une dépendance linéaire en fonction de l'écart à la position d'équilibre. La réponse de l'oscillateur est proportionnelle à l'amplitude ou, de façon équivalente, à la force d'excitation qui lui est appliquée.

Aux temps longs, $t \gg \beta_0^{-1}$, l'oscillateur est dans son état stationnaire :

$$z(t) = A(\omega) \cos(\omega t + \varphi(\omega)) \quad (\text{II.1.4})$$

Pour une excitation à la pulsation ω , il présente une amplitude d'oscillation $A(\omega)$ avec un retard de phase $\varphi(\omega)$. Leurs expressions sont déduites de la résolution de l'équation différentielle et données par les relations :

$$A(\omega) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m\sqrt{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + 4\beta_0^2\omega^2}} \text{ et } \varphi(\omega) = \arctan\left(\frac{2\beta_0\omega}{\omega^2 - \omega_0^2}\right) \quad (\text{II.1.5})$$

Pour $A = A_0/\sqrt{2}$, la largeur de la courbe de résonance vaut $\Delta\nu = 2\beta_0$. Si $\nu_0 \gg 2\beta_0$, ce qui est toujours le cas avec les leviers de dynamique à l'air comme nous l'avons vu, les relations précédentes se simplifient.

On utilise souvent un rapport appelé *facteur de qualité*, Q , pour caractériser l'oscillateur. Q est défini comme 2π fois l'énergie moyenne stockée par l'oscillateur divisée par l'énergie qu'il dissipe sur une oscillation. Pour les grands facteurs de qualité et pour des fréquences proches de la résonance, cette expression peut être simplifiée et conduit à la relation généralement utilisée pour déterminer le facteur de qualité d'un oscillateur :

$$Q = \frac{\omega^2 + \omega_0^2}{4\beta_0\omega} \simeq \frac{\omega_0}{2\beta_0} = \frac{\nu_0}{\Delta\nu} \quad (\text{II.1.6})$$

ν_0 est alors identique à la fréquence de résonance de l'oscillateur et $\Delta\nu$ est la largeur en fréquence du pic de résonance à $A_0/\sqrt{2}$. Pour les leviers de dynamique, les facteurs de qualité varient dans un intervalle caractéristique de 350 à 500 pour des fréquences de 150kHz à 300kHz, ce qui justifie l'approximation.

Expérimentalement, l'évaluation du facteur de qualité de l'oscillateur peut se faire de deux façons :

- ▶ Soit en mesurant la largeur du pic de résonance à $A_0/\sqrt{2}$ lorsque l'oscillateur est situé loin de la surface, c'est-à-dire à des distances supérieures à la portée des interactions. Pour les interactions de Van der Waals et en l'absence de charges permanentes, cela suppose des distances supérieures à quelques nanomètres. Q est ensuite donné par la relation II.1.6.
- ▶ Soit en ajustant le pic de résonance par les relations II.1.8 et II.1.9. C'est la méthode retenue pour évaluer Q sur la figure II.2(a). La première méthode présente toutefois l'avantage de donner une évaluation rapide de Q .

Pour $\omega = \omega_0$, l'amplitude à la résonance de l'oscillateur, A_0 , est égale à l'amplitude maximale des oscillations et est donnée par :

$$A(\omega = \omega_0) = A_0 = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{2m\beta_0\omega_0} \quad (\text{II.1.7})$$

La phase de l'oscillateur vaut alors -90° . Les relations précédentes sont utiles pour réécrire les relations II.1.5 sous une forme adimensionnelle : l'amplitude est normée à $A_0 = Q\mathcal{F}_{exc}/k = QA_{exc}$ et la fréquence à ν_0 :

$$a\left(u = \frac{\nu}{\nu_0}\right) = \frac{A(u)}{A_0} = \frac{1}{\sqrt{Q^2(1-u^2)^2 + u^2}} \quad (\text{II.1.8})$$

$$\varphi(u) = \arctan\left\{\frac{u}{Q(u^2-1)}\right\} \quad (\text{II.1.9})$$

La figure II.2(a), présente une courbe de résonance expérimentale d'un levier et la variation de phase associée enregistrées loin de la surface ainsi que leurs ajustements à partir des relations II.1.8 et II.1.9.

Cette représentation est pratique pour montrer que, si le comportement de l'oscillateur est linéaire, la forme de la courbe de résonance est indépendante de l'amplitude ou de la force d'excitation, et donc de A_0 . Cette spécificité, caractéristique des systèmes linéaires, n'est plus vraie si la réponse de l'oscillateur devient non-linéaire. La forme de la courbe de résonance dépend alors de A_0 qui devient un paramètre pertinent pour l'analyse du comportement dynamique de l'oscillateur.

II.1.c-ii Aspects expérimentaux

► *Critère d'adiabaticité :*

Le facteur de qualité de l'oscillateur contrôle le temps caractéristique que met l'oscillateur pour atteindre son état stationnaire. La contribution de l'exponentielle décroissante du transitoire indique qu'au bout d'un temps $t \simeq 3\tau = 3\beta_0^{-1}$, l'oscillateur est dans son état stationnaire. Pour des facteurs de qualité des leviers de dynamique, de l'ordre de 350 à la pression atmosphérique avec des fréquences de résonance de $300kHz$, les temps caractéristiques sont de l'ordre de $\tau = 2Q/\nu_0 \simeq 2ms$. Pour toute perturbation de l'oscillateur sur un intervalle de temps de l'ordre ou inférieur à la milliseconde, l'oscillateur n'est plus dans son état stationnaire et il ne reconverge vers cet état qu'après un temps de l'ordre de 3τ . Le *critère d'adiabaticité* pour que l'oscillateur soit à chaque instant dans son état stationnaire sur un intervalle de temps de l'expérience Δt_{exp} est donc :

$$\Delta t_{exp} \gtrsim N\tau \text{ avec } N \simeq 3 \quad (\text{II.1.10})$$

Cette contrainte suppose de contrôler tous les temps des expériences : vitesse de balayage dans le plan pour la formation d'une image et en z pour une courbe d'approche-retrait.

L'oscillateur doit en effet se trouver, pour chaque point de mesure, dans son état stationnaire, sans mélange avec son état transitoire.

L'ordre de grandeur caractéristique des temps des expériences est de quelques secondes pour le balayage d'une ligne selon l'axe x ou lors d'une courbe d'approche-retrait, typiquement 2 ou 3. Pour 512 points de mesure, $\Delta t_{\text{exp}}/512 \simeq 6\text{ms}$. Ainsi, ce critère d'adiabaticité est vérifié et l'oscillateur oscille toujours dans son état stationnaire.

La contrainte est d'autant plus marquée que le facteur de qualité est élevé. Réaliser des expériences de Tapping dans des conditions de vide, pour lesquelles les facteurs de qualité des mêmes oscillateurs sont de l'ordre de 5000 à 50000, devient extrêmement délicat. Les temps des expériences doivent être allongés de façon conséquente.

Par exemple, le temps caractéristique d'un oscillateur qui présente un facteur de qualité de 35000 est de 200ms . Le critère d'adiabaticité prévoit donc des temps d'expériences de l'ordre de plusieurs minutes ($3\tau \times 512 \simeq 5\text{min}$). Une image de 512 lignes prendrait $512 \times 5\text{min} \simeq 43\text{h}$!

► *Mesure des conditions d'oscillations libres :*

Le régime libre de l'oscillateur défini jusque-là, ne correspond pas exactement à celui du système oscillant expérimental. On constate en effet expérimentalement que la forme du pic de résonance de l'oscillateur évolue avec la diminution de la distance de la pointe à la surface depuis les grandes distances ($> 50\mu\text{m}$) jusqu'à une distance de l'ordre du micron. Cet effet peut être décrit à partir de l'évolution de l'épaisseur de la couche d'air environnant le levier avec la diminution de la distance du levier à la surface [67].

D. Michel a montré [14] que les décalages obtenus variaient dans un intervalle de quelques centaines de hertz entre 500 et $1\mu\text{m}$. Les facteurs de qualité associés sont diminués de 20%.

De $1\mu\text{m}$ jusqu'à quelques nanomètres de la surface, nous n'avons pas observé de modification notable de la forme du pic de résonance, ni en termes de fréquence de résonance, ni en termes de facteur de qualité. Cela permet de fixer des conditions d'oscillations stables de l'oscillateur libre. Les courbes de résonance expérimentales présentées dans ce travail ont été obtenues pour des leviers à des distances de la surface caractéristiques de quelques centaines de nanomètres⁴.

⁴ Mode "bugs" du NANOSCOPE III, après l'engagement de la pointe. La distance typique retenue pour la mesure de la courbe de résonance est environ de 200nm .

II.2 Différentes approches pour la modélisation

Les équations précédentes décrivent le comportement d'un oscillateur soumis à une seule excitation sinusoïdale. La question est maintenant de comprendre comment l'introduction de l'interaction entre la pointe et la surface peut modifier la dynamique de l'oscillateur et d'en quantifier les conséquences sur ses éléments caractéristiques : amplitude et fréquence de résonance.

Pour décrire les effets non-linéaires, nous proposons une approche analytique et numérique.

Analytiquement, deux méthodes de résolution de la dynamique de l'oscillateur sont possibles. La première est une approche perturbative qui suppose un développement en série de la force d'interaction. La résolution de l'équation différentielle pour les premiers ordres du développement permet de comprendre qualitativement la non-linéarité de la dynamique. La seconde est une approche non perturbative, basée sur le principe de moindre action. Elle est plus complète que la précédente en permettant notamment de prendre en compte l'expression exacte de la force non-linéaire dans l'équation.

Enfin, intégrer numériquement les équations du mouvement de l'oscillateur en interaction avec la surface permet de valider les hypothèses prises en compte dans l'approche non perturbative et d'évaluer la contribution d'autres éléments pour lesquels des solutions analytiques simples ne sont pas envisageables.

Par souci de clarté, nous considérons dans ce paragraphe la seule contribution des forces attractives de Van der Waals en supposant que la pointe ne touche à aucun moment la surface. En première approximation, nous retenons une interaction dispersive calculée dans une géométrie sphère-plan. La force de rappel de l'oscillateur libre est modifiée par la contribution non-linéaire de la force dispersive de la pointe avec la surface : $\mathcal{F}(z) = -k_z z + \mathcal{F}_{int}(z)$, avec $\mathcal{F}_{int}(z) > 0$ pour une interaction attractive. Pour une pointe de rayon R et une constante de Hamaker de l'interface pointe-surface H , la force dispersive s'écrit (relation I.4.11) :

$$\mathcal{F}_{int}(z) = -\mathcal{F}_{VdW}^{sp}(z) = \frac{HR}{6[D - z(t)]^2}, \quad (\text{II.2.1})$$

où D est définie comme la distance entre la surface et la position d'équilibre du levier au repos (cf. figure II.3). L'équation II.1.3 devient alors :

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0 \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) + \frac{\mathcal{F}_{int}(z)}{m^*} \quad (\text{II.2.2})$$

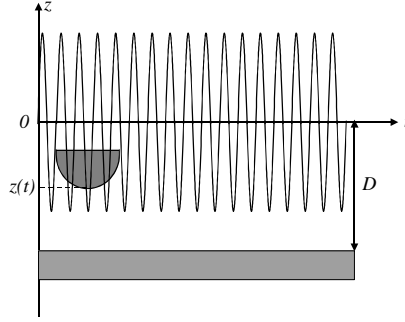


FIGURE II.3: Géométrie de l'oscillation. D est définie comme la distance entre la surface et la position d'équilibre du levier au repos. $z(t)$ est la position instantanée de l'apex de la pointe pendant l'oscillation.

II.2.a Approche perturbative

II.2.a-i Position du problème

L'approche perturbative suppose un couplage suffisamment faible pour pouvoir développer en séries de Taylor l'expression de la force d'interaction par rapport à la variable d'intérêt. En écrivant l'expression II.2.1 sous une forme légèrement différente :

$$\mathcal{F}_{int}(z) = \frac{HR}{6D^2} \frac{1}{[1 - z(t)/D]^2}, \quad (\text{II.2.3})$$

et en considérant de petites oscillations, c'est-à-dire $z(t) \ll D$, l'équation différentielle s'écrit :

$$\begin{aligned} \ddot{z}(t) + 2\beta_0 \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) &= \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) + \frac{1}{m^*} \sum_{n=0}^{+\infty} \left(\frac{z - z_0}{D} \right)^n \frac{\partial_z^n \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}}{n!} \\ &= \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) + \frac{HR}{6m^* D^2} \left\{ 2 \frac{z(t)}{D} + 3 \left[\frac{z(t)}{D} \right]^2 + 4 \left[\frac{z(t)}{D} \right]^3 + \dots \right\} \end{aligned} \quad (\text{II.2.4})$$

Dans cette expression, l'origine des coordonnées est prise à la position d'équilibre du levier, $z_0 = 0$, et le terme d'ordre zéro est négligé⁵.

II.2.a-ii Approche linéaire : Le gradient de force

Pour les plus petites amplitudes d'oscillation ($z(t) \ll D$), il est possible de ne conserver que le terme de premier ordre du développement. En regroupant les termes linéaires en $z(t)$ dans l'équation II.2.4, on obtient :

⁵ L'ordre zéro correspond à une force statique que voit l'oscillateur, censée défléchir sa position à l'équilibre. Pour l'interaction dispersive, $H = 5.10^{-20} \text{J}$, $R = 20 \text{nm}$, et $D = 1 \text{nm}$, $\mathcal{F}_{vdW}^{sp}(z_0 = 0) = -HR/(6D^2) \simeq -1,6.10^{-1} \text{nN}$. Pour un levier de raideur 30N.m^{-1} , le déplacement de la position d'équilibre est de $5,5.10^{-3} \text{nm}$. Ces contributions sont donc négligeables devant l'ordre de grandeur des amplitudes libres d'oscillation qui varient dans l'intervalle de 3 à 100nm .

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0\dot{z}(t) + \frac{k_z - \partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}}{m^*} z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t), \quad (\text{II.2.5})$$

avec :

$$\partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0} = \frac{HR}{3D^3} \quad (\text{II.2.6})$$

Le gradient de la force associée à l'interaction pointe-surface déplace la fréquence de résonance de l'oscillateur vers les plus faibles fréquences et conduit à une dépendance de la fréquence en fonction de la distance de la pointe à la surface à travers le terme $\partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}$. La fréquence de résonance "linéaire" (indice "l") équivalente s'écrit :

$$\nu_0^l(D) \equiv \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k^l}{m^*}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k_z - \partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}}{m^*}} \quad (\text{II.2.7})$$

Dans la limite⁶ $k_z \gg \partial_z \mathcal{F}_{VdW}^{sp}(z)|_{z_0}$, cette relation peut être de nouveau simplifiée. De plus, en normant à la fréquence de résonance de l'oscillateur libre, c'est-à-dire lorsque la pointe oscille loin de la surface, l'expression du décalage en fréquence dans le cadre de l'approche en gradient de force est donnée par :

$$u_0^l(D) = \frac{\nu_0^l(D)}{\nu_0} \simeq 1 - \frac{\partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}}{2k_z} = 1 - \frac{HR}{6k_z D^3} \quad (\text{II.2.8})$$

La courbe de résonance est décalée vers les plus faibles fréquences d'une quantité égale à $HR/(6k_z D^3)$.

Pour une pointe de quelques dizaines de nanomètres de rayon, l'ordre de grandeur du décalage en fréquence dans le cadre de cette approche est de $-HR/(6k_z D^3) \simeq -10^{-5}$ par rapport à la fréquence de résonance de l'oscillateur libre : $u_0^l(D) - 1 \simeq -0,99999$. Pour une fréquence de résonance de $320kHz$, le décalage induit est donc environ de $3Hz$.

L'amplitude à la résonance, normée à l'amplitude à la résonance de l'oscillateur libre, est modifiée par cette nouvelle valeur de la fréquence. La relation II.1.7 devient⁷ :

$$a_0^l = \frac{A_0^l}{A_0} = \frac{Q\mathcal{F}_{exc}}{A_0 k^l} \simeq 1 + \frac{\partial_z \mathcal{F}_{int}(z)|_{z_0}}{k_z} = 1 + \frac{HR}{3k_z D^3} \quad (\text{II.2.9})$$

L'amplitude est augmentée d'un facteur équivalent à celui de la fréquence de résonance, de l'ordre de $2 \cdot 10^{-5} A_0$. Rigoureusement, la normalisation de l'amplitude des oscillations à A_0 dans la courbe de résonance doit conduire à une amplitude à la résonance normée supérieure à 1, à $2 \cdot 10^{-5}$ près. Pour 10 nanomètres, l'augmentation d'amplitude est de 0,2 picomètre. Cette augmentation reste donc négligeable à l'échelle des amplitudes utilisées en Tapping, de quelques nanomètres jusqu'à plusieurs dizaines, et non pertinente avec la sensibilité de l'appareil.

⁶ Avec les valeurs déjà utilisées, $\partial_z \mathcal{F}_{VdW}^{sp}(z)|_{z_0} = HR/(3D^3) \simeq 3,3 \cdot 10^{-4} N \cdot m^{-1}$, valeur très faible devant les raideurs typiques des leviers de Tapping, de l'ordre de $30 N \cdot m^{-1}$.

⁷ L'hypothèse faite ici est de considérer une force d'excitation constante qui ne soit pas affectée par l'interaction. C'est le cas en mode Tapping pour lequel l'excitation est toujours identique.

L'approche linéaire, si elle est intéressante pour introduire la contribution de l'interaction pointe-surface n'est toutefois pas suffisante pour décrire des situations de plus grandes amplitudes d'oscillations, ou pour lesquelles la pointe est à des distances plus proches de la surface.

II.2.a-iii L'oscillateur de Duffing

L'étape suivante consiste à prendre en compte dans le développement de la force le terme d'ordre 2. Il est cependant possible de montrer que la contribution de ce terme est négligeable [66, §5 p.136] (et cf. ci-après).

Le premier terme d'importance est donc le terme d'ordre 3. L'équation différentielle ainsi décrite définit *l'oscillateur de Duffing* [68].

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) - \varepsilon\omega_0^2 z(t)^3 = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) \quad (\text{II.2.10})$$

Pour simplifier la discussion, nous n'avons pas encore inclu le terme d'ordre 1 dont on vient de voir à l'instant que l'effet est équivalent à introduire une fréquence à la résonance équivalente du système. Nous le prendrons en compte à la fin de cette discussion.

L'équation contient les termes de force usuels, plus le terme en $z(t)^3$ qui traduit la non-linéarité de la force de rappel : $\mathcal{F}(z) = -k_z z + \mathcal{F}_{int}(z) = -k_z z + k_z \varepsilon z^3$. ε est un paramètre qui traduit l'écart au comportement harmonique ($\varepsilon = 0$). $\varepsilon > 0$ correspond à une interaction attractive (la force de rappel et la force attractive sont de signes opposés) et $\varepsilon < 0$ à une interaction répulsive. Pour l'interaction dispersive :

$$\varepsilon = \frac{2HR}{3k_z D^5} \quad (\text{II.2.11})$$

Pour résoudre cette équation, nous supposons que la solution a une forme harmonique et que l'amplitude et la phase dont elle dépend présentent une dépendance explicite en ε , soit $z(t) = A(\omega, \varepsilon) \cos[\omega t + \varphi(\omega, \varepsilon)]$. Cette solution impose que les harmoniques d'ordres supérieurs ($2\omega, 3\omega, \dots$) ont une incidence négligeable sur la structure complète de la solution. C'est la raison pour laquelle le terme d'ordre 2 n'intervient pas dans la solution puisque la linéarisation de $z(t)^2 \propto \cos(\omega t)^2$ ne conduit pas à de terme résonnant à ω .

De façon générale, cette approche permet de dire que ce sont les termes harmoniques des puissances de $z(t) = A(\omega, \varepsilon) \cos[\omega t + \varphi(\omega, \varepsilon)]$ qui vont faire apparaître l'effet non-linéaire. La linéarisation du terme en $\cos(\omega t)^3$ va notamment introduire des corrections au terme de premier ordre qui correspond au gradient de la force attractive (voir par exemple [66]). Les termes d'ordres supérieurs, résonnant à ω apporteront d'autres corrections.

L'hypothèse de la seule contribution à ω , si elle est difficile à évaluer dans ce cas, est discutée dans le cadre de l'approche présentée au paragraphe II.2.b.

En substituant $z(t)$ dans l'équation II.2.10, les expressions de l'amplitude et de la phase en fonction de la fréquence et du paramètre ε peuvent être obtenues⁸. Pour une

⁸ En notant que $\cos(x)^3 = 3/4 \cos(x) + 1/4 \cos(3x)$, et en négligeant les termes non harmoniques, le calcul est direct (cf. également [66]).

comparaison plus systématique avec les équations précédentes (relations II.1.8 et II.1.9), les expressions de l'amplitude et de la fréquence sont normées à la résonance de l'oscillateur libre, $A_0 = QA_{exc}$, et $u = \nu/\nu_0$.

$$a(u, \varepsilon) = \frac{A(u, \varepsilon)}{A_0} = \frac{1}{\sqrt{Q^2 \left[1 - u^2 - \frac{3}{4}\varepsilon A_0^2 a(u, \varepsilon)^2\right]^2 + u^2}} \quad (\text{II.2.12})$$

$$\varphi(u, \varepsilon) = \arctan \left\{ \frac{u}{Q \left[u^2 - 1 + \frac{3}{4}\varepsilon A_0^2 a(u, \varepsilon)^2\right]} \right\} \quad (\text{II.2.13})$$

L'amplitude d'excitation, via A_0 , devient un paramètre susceptible de modifier la réponse de l'oscillateur si $\varepsilon \neq 0$. Pour $\varepsilon = 0$, on vérifie que l'on retrouve les relations II.1.8 et II.1.9 de l'oscillateur linéaire.

La relation II.2.12 permet d'exprimer la fréquence en fonction de a et de ε , puis de représenter graphiquement $a = f^{-1}(u, \varepsilon)$. En inversant la relation II.2.12 en fonction de u , nous obtenons de façon exacte :

$$u_{\pm}^D(a, \varepsilon) = \sqrt{1 - \frac{\frac{1}{2Q} + \frac{3}{4}Q\varepsilon A_0^2 a^2}{Q}} \left[1 \mp \sqrt{1 - \frac{\left(\frac{3}{4}Q\varepsilon A_0^2 a^2\right)^2 + 1 - \frac{1}{a^2}}{\left(\frac{1}{2Q} + \frac{3}{4}Q\varepsilon A_0^2 a^2\right)^2}} \right] \quad (\text{II.2.14})$$

La solution de l'amplitude en fonction de la fréquence présente deux branches de variations⁹. La première, u_-^D , l'indice "D" étant référencé à "Duffing", correspond aux valeurs de la fréquence inférieures à la fréquence de résonance libre et la seconde, u_+^D , aux valeurs supérieures. Le pic de résonance ne subit plus une simple translation vers les plus faibles ou les plus grandes fréquences selon le signe de ε comme c'était le cas dans l'approche en gradient de force. Sa forme se distord de plus en plus avec la réduction de la distance et selon la valeur du paramètre $Q\varepsilon A_0^2$ (cf. figure II.4).

La fréquence et l'amplitude deviennent ainsi fonctions, de façon non triviale, de l'excitation, via la dépendance en $A_0 = QA_{exc}$, ce qui n'était pas le cas dans l'approche linéaire. Pour un oscillateur et une excitation donnés, cette dépendance est d'autant plus forte que ε est grand. La normalisation à A_0 n'est plus dans ce cas pertinente et la forme de la courbe dépend de sa valeur.

La relation II.2.14 indique que le coefficient non-linéaire a une influence négligeable sur la forme de la courbe de résonance si la condition suivante est réalisée :

$$Q\varepsilon A_0^2 \ll 1 \quad (\text{II.2.15})$$

⁹ A ces branches sont associées deux branches de variation de phase en fonction de la fréquence et des paramètres du couplage, mais ces variations ne sont pas discutées ici afin de ne pas surcharger la présentation. La discussion qualitative et quantitative de la distorsion de la courbe de phase avec le couplage est faite au paragraphe II.2.b.

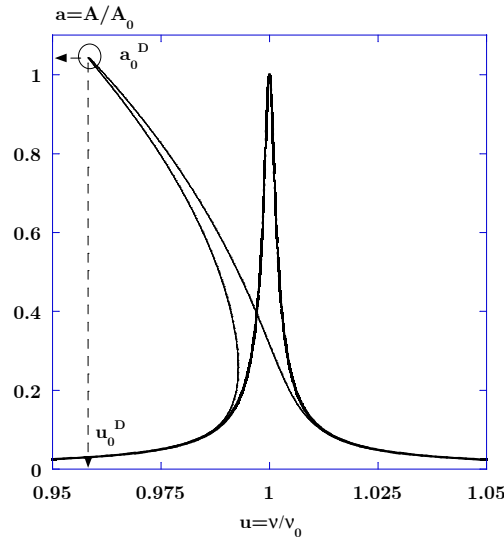


FIGURE II.4: *Distorsion du pic de résonance de l'équation de Duffing (traits fins, équivalent à être proche de la surface) et comparaison avec l'oscillateur harmonique (traits épais, loin de la surface). Le pic de résonance de Duffing est calculé à partir de la relation II.2.14 et les paramètres sont $Q = 400$, $\varepsilon = 0,001$ et $A_0 = 10\text{nm}$. La fréquence et l'amplitude à la résonance non-linéaire, données respectivement par les relations II.2.16 et II.2.17, valent $a_0^D = 1,0435$ et $u_0^D = 0,9583$.*

En plus de ε qui est une constante du couplage non-linéaire, les valeurs de A_0 et de Q interviennent explicitement dans la non-linéarité et permettent de modifier les conditions de bifurcation. Les effets non-linéaires sont donc liés à l'excitation, à l'interaction de la pointe avec la surface et aux caractéristiques de l'oscillateur avec la dépendance en Q . Cela conduit à un diagramme des domaines de bifurcations accessibles à l'oscillateur selon les valeurs de εA_0^2 en fonction de Q . Nous reprendrons ces idées au paragraphe II.3.c-iii.

Les résultats précédents donnent un certain nombre d'éléments de comparaison avec l'approche en gradient de force. Déterminons dans un premier temps les expressions de l'amplitude et de la fréquence à la résonance. L'annexe D montre que la fréquence de résonance non-linéaire, u_0^D , est donnée par la relation : $u_+^D = u_-^D$. La relation II.2.12 conduit donc à :

$$u_0^D = \sqrt{1 - \frac{3}{4}\varepsilon A_0^2 a_0^{D2}}, \quad (\text{II.2.16})$$

où a_0^D est l'amplitude à la résonance de l'oscillateur non-linéaire normée à A_0 . Cette approche est plus riche que celle en gradient de force, mais on y retrouve toutefois quelques éléments déjà évoqués :

- si $\varepsilon > 0$, ce qui est caractéristique d'un couplage attractif, le décalage de la fréquence de résonance se fait vers les plus faibles fréquences mais la courbe de résonance construite à partir de chacune des branches de solutions se distord. Les solutions analytiques donnent toutes les branches susceptibles d'être suivies par l'oscillateur. Elles ne correspondent pas toutes à des solutions physiques effectivement suivies par l'oscillateur (cf. paragraphe II.3.b-iii).

	Amplitude et phase normées		Amplitude à la résonance normée	Fréquence à la résonance normée
	a	$\tan(\varphi)$		
Oscillateur libre	$\frac{1}{\sqrt{Q^2(1-u^2)^2+u^2}}$	$\frac{u}{Q(u^2-1)}$	1	1
Gradient de force	Identiques à l'oscillateur libre mais centrées sur la nouvelle résonance		$1 + \frac{HR}{3k_z D^3}$	$1 - \frac{HR}{6k_z D^3}$
Oscillateur de Duffing	relation II.2.14	relation II.2.13	$\sqrt{\frac{2}{3\varepsilon A_0^2} \left(1 - \sqrt{1 - 3\varepsilon A_0^2}\right)}$	$\sqrt{1 - \frac{3}{4}\varepsilon A_0^2 a_0^{D^2}}$

TABLEAU II.1: Expressions de l'amplitude et de la fréquence à la résonance de l'oscillateur libre et dans le cadre des approches en gradient de force et perturbative.

- si $\varepsilon < 0$, ce qui est caractéristique d'une interaction répulsive, le comportement est similaire, avec une distorsion de la courbe par rapport à la fréquence de résonance de l'oscillateur libre, mais vers les plus hautes fréquences.

L'amplitude à la résonance associée peut être calculée à partir de la relation II.2.12 en résolvant une équation bicarrée et en ne conservant que les solutions physiques ($a_0^D > 0$):

$$a_0^D = \sqrt{\frac{2}{3\varepsilon A_0^2} \left(1 - \sqrt{1 - 3\varepsilon A_0^2}\right)} \quad (\text{II.2.17})$$

Cette expression conduit à une valeur de l'amplitude à la résonance non-linéaire supérieure à 1, de façon analogue à l'approche en gradient de force, mais l'ordre de grandeur reste faible. En prenant l'expression II.2.11 de ε pour $H = 10^{-20} J$, $R = 10 nm$, $k_z = 30 N.m^{-1}$, $D = 10,5 nm$ et $A_0 = 10 nm$ on obtient $a_0^D \simeq 1,0000006$. Pour ces conditions la contribution non-linéaire à l'augmentation de l'amplitude à la résonance est négligeable.

Le tableau II.1 synthétise les résultats issus de l'approche perturbative pour l'interaction attractive dispersive considérée.

Pour conserver l'analyticité des calculs, ce traitement reste approché. En effet, l'arrêt de la série au terme cubique suppose toujours la condition $z(t)/D \ll 1$. Pour des amplitudes d'oscillations plus importantes, ou des distances entre la pointe et la surface plus faibles, l'importance relative des termes d'ordres supérieurs augmente et ils ne peuvent plus être négligés.

L'interprétation de la distorsion de la courbe de résonance peut donc se faire en discutant de la contribution des termes d'ordres de plus en plus élevés. Le gradient de force déplace le pic vers les plus basses fréquences si la nature de la force d'interaction est attractive sans modifier la forme de la courbe de résonance. Le terme d'ordre 3 commence à déformer le sommet du pic et la contribution des termes d'ordres supérieurs termine de le déplacer mais également de le distordre. La contribution de chaque terme est difficile à évaluer, d'autant qu'elle peut être modifiée par d'autres paramètres, dont le facteur de qualité. Mais l'effet global est de déformer la courbure du pic après que le barycentre moyen du pic eut été décalé de sa valeur à la résonance libre (cf. figure II.5).

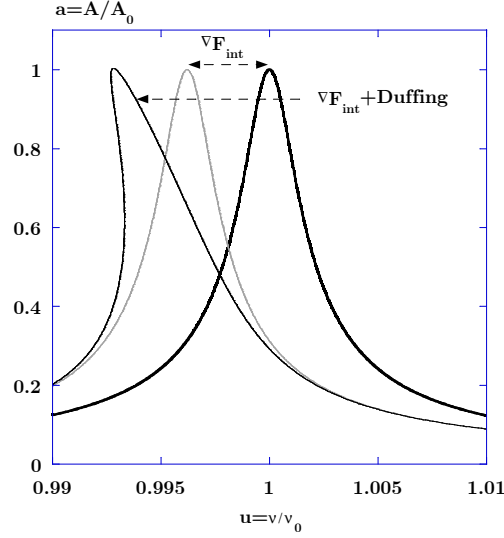


FIGURE II.5: Comparaison entre *i*)-le pic de résonance calculé dans le cadre de l'approche perturbative en considérant les termes d'ordre 1 et 3, i.e. respectivement le gradient de la force attractive et le terme de Duffing équivalent (traits fins) *ii*)-le terme en gradient de force seul (traits fins clairs). Les paramètres sont $HR = 0,5 \cdot 10^{-18} \text{ J.nm}$, $k_z = 10 \text{ N.m}^{-1}$, $Q = 400$, $A_0 = 1 \text{ nm}$ et $D = 1.3 \text{ nm}$ donc $\varepsilon \simeq 9 \cdot 10^{-3}$. Le gradient de la force attractive déplace le barycentre du pic de l'oscillateur harmonique (traits épais) mais le terme d'ordre trois distord la structure du pic de façon analogue à l'approche de Duffing. Ainsi le décalage de la fréquence de résonance prédit par l'approche non-linéaire est plus important que celui de l'approche linéaire.

Un traitement plus approprié supposerait de prendre en compte tous les termes de la série, ce qui, dans le cadre de cette approche, ne conduit pas à une expression analytique de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance et des paramètres du couplage non-linéaire.

II.2.b Approche non perturbative

Nous nous proposons maintenant de détailler une technique non perturbative de résolution de la dynamique de l'oscillateur qui constitue une alternative à l'approche perturbative. Ce travail a été développé dans les références [14, 69–72].

Expérimentalement, la mesure de l'amplitude et de la phase ou de la fréquence de l'oscillateur en fonction de la distance se fait à partir des courbes d'approche-retrait, quel que soit le mode dynamique retenu : Tapping ou NC-AFM. Les calculs sont donc conduits de façon à présenter une dépendance explicite de l'amplitude et de la phase ou de la fréquence de l'oscillateur en fonction de cette distance. Les relations obtenues sont ainsi présentées sous la forme $A, \varphi = f(D)$ à ν fixée pour la description du Tapping ou sous la forme $\nu = f(D)$ à amplitude fixée pour les situations de NC-AFM.

Ces variables constituent les observables de la dynamique non-linéaire de l'oscillateur en interaction avec la surface. Selon le mode dynamique retenu, ces variables sont couplées dans les relations. Des couples d'observables caractéristiques sont (A, ν, D) et (φ, ν, D) ,

qui donnent à la fois l'évolution de l'amplitude et de la phase avec la fréquence en fonction de la distance.

Le calcul exploite une méthode variationnelle basée sur le principe de moindre action. Cette approche permet de conserver l'expression de la force d'interaction dans l'équation différentielle. Elle permet ainsi d'obtenir des expressions analytiques de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur dans les différentes situations de non-contact et de contact intermittent. Les calculs détaillés relatifs à ces différentes parties sont renvoyés en annexe D. Nous discutons ici des arguments physiques sous-jacents à leur conduite et les résultats sur le comportement dynamique de l'oscillateur.

II.2.b-i Principe de moindre action

Le système sur lequel nous nous focalisons est le système pointe-levier oscillant au voisinage de la surface. Les forces d'interaction invoquées sont les seules forces de Van der Waals dispersives et les forces de contact entre la pointe et la surface lorsque les situations de contact intermittent sont envisagées.

Le Lagrangien de ce système peut s'écrire sous la forme des deux contributions classiques : l'énergie cinétique et l'énergie potentielle, elle-même dépendante de plusieurs contributions. Il inclut en outre un terme moins classique¹⁰, \mathcal{W} , qui est l'énergie de dissipation de l'oscillateur dans le milieu dans lequel il est situé. Ce terme, non conservatif, suppose un traitement spécifique qui est explicité ci-après :

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(z, \dot{z}, t) &= \mathcal{T} - \mathcal{V} + \mathcal{W} \\ &= \frac{1}{2}m^*\dot{z}(t)^2 - \left[\frac{1}{2}k_z z(t)^2 - z(t) \mathcal{F}_{exc} \cos(\omega t) + V_{int} \right] - 2m^*\beta_0 z(t) \underline{\dot{z}(t)}, \end{aligned} \quad (\text{II.2.18})$$

expression pour laquelle le terme non conservatif de dissipation est évalué le long de la trajectoire physique, ce qui suppose que l'amplitude et la phase contenues dans le terme $\underline{\dot{z}(t)}$, ne soient pas variées dans les calculs [73].

Le principe de moindre action spécifie que l'action de l'oscillateur, S , définie entre deux instants t_i et t_f est extrémale sur cet intervalle de temps [66], soit :

$$\delta S = \delta \left\{ \int_{t_i}^{t_f} L(z, \dot{z}, t) dt \right\} = 0, \quad (\text{II.2.19})$$

qui permet de retrouver, via les équations de Lagrange, l'équation différentielle de l'oscillateur à un degré de liberté. L'idée développée par la suite consiste à rechercher une solution approchée à l'équation II.2.19.

¹⁰ Concernant le terme dissipatif, la relation II.2.18 n'est pas univoque. Elle est une forme possible d'écriture du Lagrangien du système oscillant en interaction avec la surface. D'autres écritures sont possibles. En annexe D par exemple, nous exploitons une écriture différente mais qui conduit aux mêmes relations :

$$\mathcal{L} = e^{2\beta_0 t} [\mathcal{T} - \mathcal{V}]$$

Cette écriture présente l'avantage de ne pas à avoir à utiliser des variables non variées (cf. texte).

II.2.b-ii Méthode variationnelle

Pour résoudre l'équation II.2.19, nous choisissons la fonction d'essai la mieux adaptée compte tenu des observations expérimentales, à savoir une fonction harmonique, soit :

$$z(t) = A \cos(\omega t + \varphi) \quad (\text{II.2.20})$$

A et φ sont respectivement l'amplitude et la phase des oscillations pour une excitation à la pulsation ω , supposées varier lentement dans le temps par rapport à $z(t)$ sur l'intervalle de temps $[t_i; t_f]$. Cette hypothèse impose qu'elles soient constantes sur l'intervalle de temps $[t_i; t_f]$ et extraites des intégrales temporelles dans les calculs. Le terme $\dot{z}(t) = -\underline{A}\omega \sin(\omega t + \underline{\varphi})$ est évalué le long de la trajectoire physique, les variables non variées pendant le calcul sont donc \underline{A} et $\underline{\varphi}$.

Une fois encore, le comportement harmonique postulé *a priori* pour la solution impose de sélectionner expérimentalement les leviers dont le comportement est en accord avec le postulat. C'est pour ces seuls systèmes qu'une exploitation quantitative des résultats, à partir des développements analytiques, est envisageable.

L'intervalle de temps pour l'évaluation de S est arbitrairement fixé à une période d'oscillation. L'action devient une fonction des deux observables A et φ . Elle donne une évaluation de l'interaction moyenne sur une période entre la pointe et la surface. La condition $\delta S = 0$ va donc supposer de rendre l'action extrémale par rapport à A et φ et ainsi conduire à un système d'équations aux dérivées partielles :

$$\delta \{S(A, \varphi)\} = \delta \left\{ \int_0^{1/\nu=T} \mathcal{L}(z, \dot{z}, t) dt \right\} = 0 \implies \begin{cases} \partial_A S = 0 \\ \partial_\varphi S = 0 \end{cases} \quad (\text{II.2.21})$$

Résoudre ce système d'équations, conduit aux équations du mouvement des états stationnaires de l'oscillateur en amplitude et en phase en fonction de la distance entre la pointe et la surface, des conditions d'oscillations et des paramètres du couplage non-linéaire.

II.2.c Approche numérique

Avant les développements analytiques, de nombreux travaux avaient déjà traité des simulations numériques du Tapping [13, 74–76], et plus récemment [14, 77, 78]. Nous avons toutefois souhaité utiliser le numérique pour valider l'approche non perturbative et développer de nouveaux éléments qu'il est difficile de prendre en compte analytiquement.

Les premières simulations numériques ont donc été développées pour reproduire le plus fidèlement possible une courbe d'approche-retrait expérimentale. Le programme simule en particulier une détection synchrone et, dans notre cas, filtre la première harmonique. Le critère d'adiabaticité est également respecté. Mais pour des raisons de rapidité des calculs, les facteurs de qualité utilisés pour les calculs numériques sont en général plus faibles que ceux des leviers expérimentaux (cf. annexe E). Le détail des programmes et des éléments techniques sont donnés en annexe E.

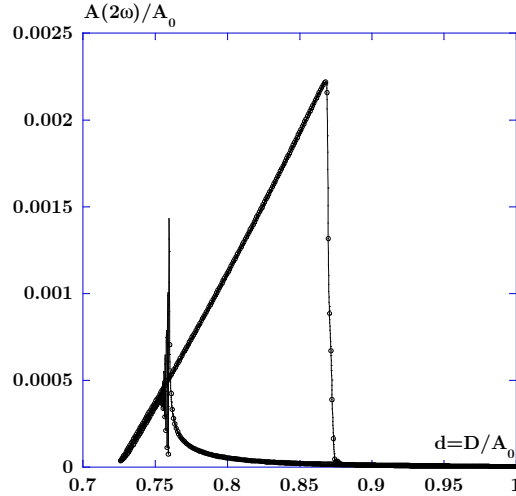


FIGURE II.6: Simulation numérique d'une courbe d'approche-retrait en amplitude avec la détection synchrone filtrant la seconde harmonique. Les paramètres de la simulation sont : $A_0 = 20\text{nm}$, $u = 0,99005$, $Q = 50$, $H = 10^{-19}\text{J}$, $R = 10\text{nm}$ $k_z = 3,55\text{N.m}^{-1}$ donc $\kappa_a = 3,52.10^{-5}$. L'amplitude libre associée introduit une contribution de près de 0,05% sur l'amplitude libre associée à la première harmonique.

Concernant l'interaction dispersive, le programme intègre l'équation différentielle de l'oscillateur :

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) + \frac{HR}{6m^* [D - z(t)]^2} \quad (\text{II.2.22})$$

La position $z(t)$ est obtenue à chaque instant à partir de l'algorithme de Runge-Kutta d'ordre 4 [79, §16 p.710]. L'amplitude et la phase sont moyennées sur un intervalle de temps caractéristique des temps de l'expérience de plusieurs dizaines de périodes d'oscillations. La racine carrée de l'amplitude carrée moyenne et le déphasage par rapport à l'excitation sont calculés sur cet intervalle de temps. La détection est susceptible de filtrer n'importe quelle harmonique de l'oscillateur.

Comme nous le verrons (cf. par exemple figures II.7 et II.8), la très bonne correspondance obtenue entre l'approche analytique et l'approche numérique incite fortement à penser que l'approximation de l'harmonicité de la fonction d'essai pour l'approche non perturbative est très correcte pour le type de non-linéarités rencontrées.

Pour conforter tout à fait cette idée, nous avons effectué une simulation en filtrant la seconde harmonique des oscillations. Le résultat est présenté¹¹ sur la figure II.6. La contribution de cette harmonique n'est que de quelques dixièmes de % à la première, indiquant qu'elle est négligeable et dans tous les cas inférieure à notre précision expérimentale.

¹¹ La courbe d'approche-retrait présentée en figure II.6 correspond en fait à une situation de contact intermittent et non à une situation de non-contact, mais la contribution de la seconde harmonique à la première est similaire et la discussion qualitativement identique.

II.3 Situations de non-contact

C'est le point de départ de la modélisation qui correspond à la situation la plus simple pour décrire le comportement de l'oscillateur dans le cadre de l'approche non perturbative.

Nous envisageons dans un premier temps que la pointe reste dans le régime attractif. Les situations décrites sont celles de non-contact de la pointe et de la surface dans le cadre des courbes d'approche-retrait du Tapping et du NC-AFM.

Le potentiel d'interaction retenu à inclure dans l'expression II.2.18 du Lagrangien est le potentiel de type Van der Waals dispersif dans une géométrie sphère-plan (relation I.4.11):

$$V_{int}(z) = V_{VdW}^{sp}(z) = -\frac{HR}{6[D - z(t)]} \quad (\text{II.3.1})$$

II.3.a Système d'équations

Le détail des calculs est donné en annexe D. La minimisation de l'action par rapport à A et φ conduit à l'expression de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance de la surface à la position d'équilibre du levier.

Pour présenter ces résultats, l'amplitude et la distance sont normées à l'amplitude à la résonance de l'oscillateur libre, A_0 , comme précédemment : $a = A/A_0$, $d = D/A_0$ et la fréquence à la résonance de l'oscillateur libre, $u = \nu/\nu_0$. Le système d'équations aux dérivées partielles obtenu est le suivant [72] :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_A) = Qa(1 - u^2) - \frac{aQ\kappa_a}{3(d_A^2 - a^2)^{3/2}} \\ \sin(\varphi_A) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.3.2})$$

L'équation en cosinus contient les termes de l'oscillateur harmonique sans dissipation, ce qui conduit à la contribution en $Qa(1 - u^2)$ et le terme caractéristique de l'interaction en $aQ\kappa_a/3(d_A^2 - a^2)^{3/2}$. Le signe “-” est caractéristique d'une interaction attractive. Le sinus ne contient qu'un seul terme lié à la dissipation de l'oscillateur dans le milieu issu de la dépendance en vitesse du Lagrangien.

Quelle que soit la variable retenue (amplitude ou fréquence), la résolution de ce système peut se faire en éliminant la phase ce qui conduit dans la plupart des cas à deux branches de solutions. La stabilité de ces branches est discutée au paragraphe II.3.b-i.

L'écriture II.3.2 présente l'avantage d'être assez lisible pour la phase de l'oscillateur. Le sinus, toujours négatif puisque u et $a > 0$, correspond à une phase variant entre -180 et 0° et le signe du cosinus traduit sa position par rapport à -90° .

A chaque valeur du signe du cosinus correspond une branche de variation de l'amplitude et de la phase en fonction de la fréquence et de la distance. La stabilité des branches de solutions peut être discutée par rapport au signe du cosinus de la phase.

II.3.b Courbe d'approche-retrait en Tapping

Les expressions analytiques de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance¹², des conditions d'oscillations et des paramètres caractéristiques de l'interaction peuvent maintenant être obtenues. En résolvant le système comme précisé ci-dessus, les équations du mouvement de l'oscillateur dans le champ attractif sont :

$$d_{A_{\pm}} = \sqrt{a^2 + \left[\frac{Q\kappa_a}{3 \left\{ Q(1-u^2) \mp \sqrt{\frac{1}{a^2} - u^2} \right\}} \right]^{2/3}} \quad (\text{II.3.3})$$

$$\varphi_{A_{\pm}} = \arctan \left\{ \frac{u}{Q(u^2 - 1) + \frac{Q\kappa_a}{3(d_{A_{\pm}}^2 - a^2)^{3/2}}} \right\} \quad (\text{II.3.4})$$

Les deux branches (solutions “+” et “-”) correspondent aux deux solutions issues de l'élimination de la phase dans la relation II.3.2. κ_a est le paramètre caractéristique de la non-linéarité, homologue du paramètre ε de l'approche de Duffing, mais dont la dépendance en A_0 est explicite. Il est donné par :

$$\kappa_a = \frac{HR}{k_z A_0^3} \quad (\text{II.3.5})$$

De façon analogue à ε , κ_a est caractéristique de l'intensité de l'interaction. La dépendance en A_0 de κ_a est également explicite. La dépendance en A_0^{-3} est par contre moins immédiate, mais elle est liée à la forme du potentiel d'interaction. Mais plus que le seul paramètre κ_a , c'est le produit $Q\kappa_a$ qui contrôle la non-linéarité. Ce critère est similaire à celui de Duffing en Q , ε et A_0 (cf. relation II.2.15).

κ_a est sans dimension. En termes d'équation aux dimensions, HR/A_0^3 a la dimension d'une raideur. κ_a apparaît donc, pour une amplitude A_0 fixée, comme le quotient d'une raideur attractive effective testée par la pointe par la raideur du levier. Pour $H = 5 \cdot 10^{-20} \text{ J}$, $R = 20 \text{ nm}$, $A_0 = 10 \text{ nm}$ et $k_z = 30 \text{ N.m}^{-1}$ on trouve $\kappa_a \simeq 3 \cdot 10^{-5}$.

Le choix expérimental de A_0 permet de varier l'intensité attractive équivalente testée par la pointe. Les grandes amplitudes conduiront ainsi à une interaction attractive effective faible, favorisant les situations de contact intermittent, alors que les plus faibles amplitudes conduiront à une interaction attractive plus importante, favorisant les situations de non-contact.

Il est assez intuitif de comprendre cet effet. Pour les grandes amplitudes, la pointe passe, sur sa période d'oscillation, peu de temps au voisinage de la surface. Sur cet intervalle de temps, l'interaction attractive moyenne est plus faible que pour une plus

¹² Nous utilisons la même idée que précédemment. Il est possible d'obtenir $d = f(a)$, il suffit ensuite de représenter graphiquement $a = f^{-1}(d)$.

petite amplitude. Ce comportement est également gouverné par la taille de la pointe et la valeur de la constante de Hamaker de l'interface.

II.3.b-i Etude en amplitude

Les figures II.7(a), (b) et II.8(a), (b) présentent une comparaison entre des courbes d'approche-retrait analytiques et numériques en amplitude et en phase obtenues pour une fréquence d'excitation inférieure à la fréquence de résonance et pour deux amplitudes d'excitation différentes. Le très bon accord entre les approches analytique et numérique valide encore l'hypothèse harmonique retenue.

Les relations II.3.3 et II.3.4 présentent chacune deux branches de solutions. Considérons d'abord le cas des plus grandes amplitudes d'excitation et la figure II.7. La courbe de phase (b) est similaire à celle de l'amplitude (a) (bifurcation et cycle d'hystérésis), aussi nous ne décrivons que la seule structure de la courbe en amplitude.

Loin de la surface (point K sur la figure), l'amplitude (phase) est constante et égale à celle fixée par les conditions d'oscillations libres, c'est-à-dire l'amplitude et la fréquence d'excitation. L'amplitude et la phase sont dites libres. Nous les noterons A_l et φ_l , respectivement.

Au voisinage de la surface (point L), l'augmentation de l'interaction attractive entre la pointe et la surface conduit à une brusque augmentation d'amplitude (diminution de phase) liée à une instabilité dynamique de l'oscillateur qui ne peut plus suivre sa branche de solutions d_{A_+} (φ_{A_+}). Il bifurque vers sa branche supérieure (inférieure) d_{A_-} (φ_{A_-}). Les tirets sur les figures correspondent à des branches instables¹³. Cette bifurcation a lieu lorsque la tangente de variation de l'amplitude en fonction de la distance devient infinie.

A l'issue de la bifurcation (M), la surface continue de s'approcher et corrélativement, l'intensité de l'interaction attractive d'augmenter. Mais au lieu d'augmenter, l'amplitude de l'oscillateur diminue avec la réduction de la distance (N). Ce comportement est lié à l'évolution de la phase de l'oscillateur qui est définie à ce moment au-delà de la valeur de -90° (cf. figure II.7(b)) [69]. L'interaction attractive agit alors comme une interaction répulsive, mais en non-contact. Pour cette raison, nous appellerons cette branche de solutions *branche pseudo-répulsive*.

Au retrait de la surface, l'oscillateur suit la branche jusqu'à atteindre la valeur en amplitude de la résonance non-linéaire, a_0^{nl} (normée à A_0), de l'ordre de 1. Une nouvelle instabilité le fait bifurquer vers la branche d_{A_+} (φ_{A_+}). L'ensemble présente donc un cycle d'hystérésis (O, P, puis K), conformément aux observations expérimentales initiales (cf. figure II.1). La distance moyenne de la pointe à la surface est également plus importante que dans la situation de grande amplitude.

La largeur du cycle dépend fortement de l'amplitude d'excitation à travers la dépendance en A_0^{-3} . Envisageons maintenant le cas des plus faibles amplitudes (cf. figure II.8). Pour une grande valeur de κ_a , le cycle d'hystérésis a disparu et la variation d'une branche à l'autre de solution se fait continûment. En particulier, la phase traverse la

¹³ Ils seront ainsi utilisés de façon symbolique dans les figures à venir, soit pour indiquer une branche de solution instable, soit pour marquer les positions de la surface.

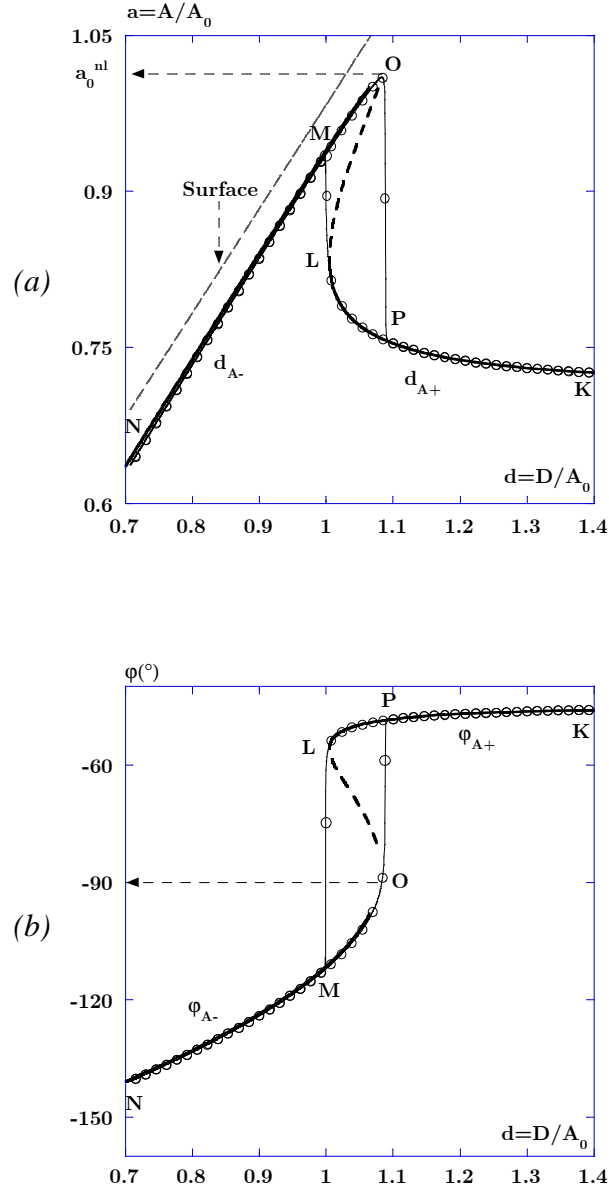


FIGURE II.7: Courbe d'approche-retrait analytique (traits continus épais et tirets sur la zone de branche instable d_{A_+} , ou φ_{A_+} : cf. texte) et numérique (cercles vides et traits fins sur les zones d'instabilité) pour une interaction purement attractive. Les paramètres utilisés sont : $A_0 = 10\text{nm}$, $u = 0,99005$, $Q = 50$, $k_z = 4,935\text{N.m}^{-1}$, $H = 8,1675 \cdot 10^{-19}\text{J}$, $R = 20\text{nm}$. La valeur correspondante de κ_a est $3,31 \cdot 10^{-3}$. L'amplitude et la phase libres des oscillations sont respectivement $A_1/A_0 \simeq 0,714$ et -45° . La distance pointe-surface est normée à A_0 . L'équation $d = a$ (tirets fins) correspond à la première bissectrice du quadrant et donne la position de la surface. Le cycle d'hystérésis est indiqué par le cycle LMOP. (a)- Amplitude normée à A_0 . L'amplitude maximale atteinte au moment de retrait de la surface, qui correspond à l'amplitude à la résonance non-linéaire A_0^{nl} , est strictement supérieure à A_0 . (b)- Phase. Le saut de phase conduit à une phase de l'oscillateur de non-contact au-dessous de la valeur de -90° .

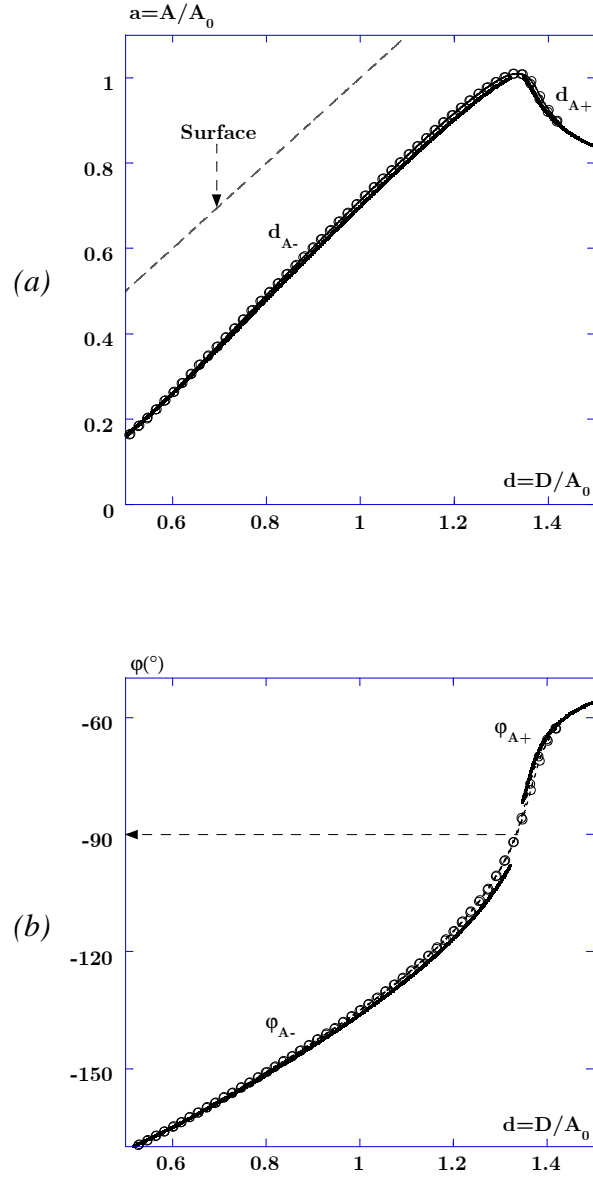


FIGURE II.8: Courbe d'approche-retrait analytique (traits continus épais) et numérique (cercles vides) pour une interaction purement attractive. Les paramètres utilisés sont : $A_0 = 6\text{nm}$, $Q = 50$, $u = 0,999005$, $k_z = 0,247\text{N.m}^{-1}$, $H = 10^{-19}\text{J}$, $R = 20\text{nm}$. La valeur correspondante de κ_a est $3,75 \cdot 10^{-2}$. La structure bistable et donc le cycle d'hystérésis ont disparu. (a)- Amplitude normée à A_0 . (b)- Phase. La phase traverse la valeur de -90° de façon continue. Pour cette valeur de κ_a , la surface est située plus loin de la pointe. La valeur de κ_a contrôle la position de la pointe par rapport à la surface.

valeur de -90° sans instabilité et les branches de solutions sont identiques à l'approche et au retrait de la surface. La zone instable de la branche d_{A_+} qui apparaissait pour les plus grandes amplitudes n'existe plus [72].

II.3.b-ii Etude en fréquence

Les variations de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance de la pointe à la surface sont un moyen très indirect d'appréhender les non-linéarités de la dynamique. En d'autres termes, une courbe d'approche-retrait est une façon non intuitive d'observer le comportement de l'oscillateur.

Pour mieux les comprendre, puisque que nous allons continuer de les utiliser de façon intensive, il est préférable d'examiner l'évolution de la courbe de résonance de l'oscillateur¹⁴ en fonction de la distance.

En inversant la relation II.3.3 par rapport à u [72], on obtient :

$$u_{\pm} = \sqrt{\frac{1}{a^2} - \frac{1}{4Q^2} \left(1 \mp \sqrt{1 - 4Q^2 \left(1 - \frac{1}{a^2} - \frac{\kappa_a}{3(d^2 - a^2)^{3/2}} \right)} \right)^2} \quad (\text{II.3.6})$$

La figure II.9 présente l'évolution de la courbe de résonance ainsi obtenue pour trois valeurs de d (*a*) ainsi que la courbe d'approche-retrait en phase qui lui est associée (*b*).

Notons tout de suite, en guise de comparaison, que le pic se distord vers les plus faibles fréquences de façon analogue à l'approche de Duffing pour un $\varepsilon > 0$, mais la forme de la distorsion est cette fois caractéristique de l'interaction dispersive.

Avec $A_0 = 10nm$, pour $d = 1, 2$, c'est-à-dire quand la surface est encore loin, le pic n'est pas distordu. L'amplitude libre est égale à celle définie par les conditions d'oscillations libres (point K sur la figure), $a_l = 0,91$ pour $u_d = 0,9992$. Pour $d = 1,05$, le pic se distord vers les plus faibles fréquences et présente une tangente infinie. Cette zone devient instable (cf. paragraphe II.3.c-iii) de sorte que l'amplitude bifurque vers la branche supérieure (point L). Aux plus petites distances (point M), $d = 1,02$, la distorsion conduit bien à une réduction d'amplitude.

Au moment du retrait de la surface, l'oscillateur reste piégé sur la branche pseudo-répulsive jusqu'à ce que la distorsion du pic avec l'augmentation de la distance conduise à une nouvelle instabilité qui le fasse bifurquer vers sa branche initiale. L'ensemble décrit un cycle d'hystérésis, cycle similaire à celui proposé par P. Gleyzes [13]. L'amplitude alors atteinte est supérieure à celle de la résonance de l'oscillateur libre, de façon similaire à l'approche de Duffing ou à celle en gradient de force. L'amplitude remonte théoriquement à sa valeur à la résonance non-linéaire $a_0^{nl} = A_0^{nl}/A_0$, c'est-à-dire au-delà de la valeur de 1. La contribution de la non-linéarité à l'augmentation de A_0 est toutefois faible, $a_0^{nl} \simeq 1,0001$. Les expressions analytiques, déjà délicates à exploiter, ne donnent pas d'expressions simples de A_0^{nl} , ni de la valeur de la fréquence à la résonance non-linéaire associée.

¹⁴ La courbe de résonance en amplitude est donnée par la relation II.3.6 et la courbe de résonance en phase par la relation II.3.4 pour laquelle la fréquence associée est celle de la relation II.3.6 pour une même valeur de d .

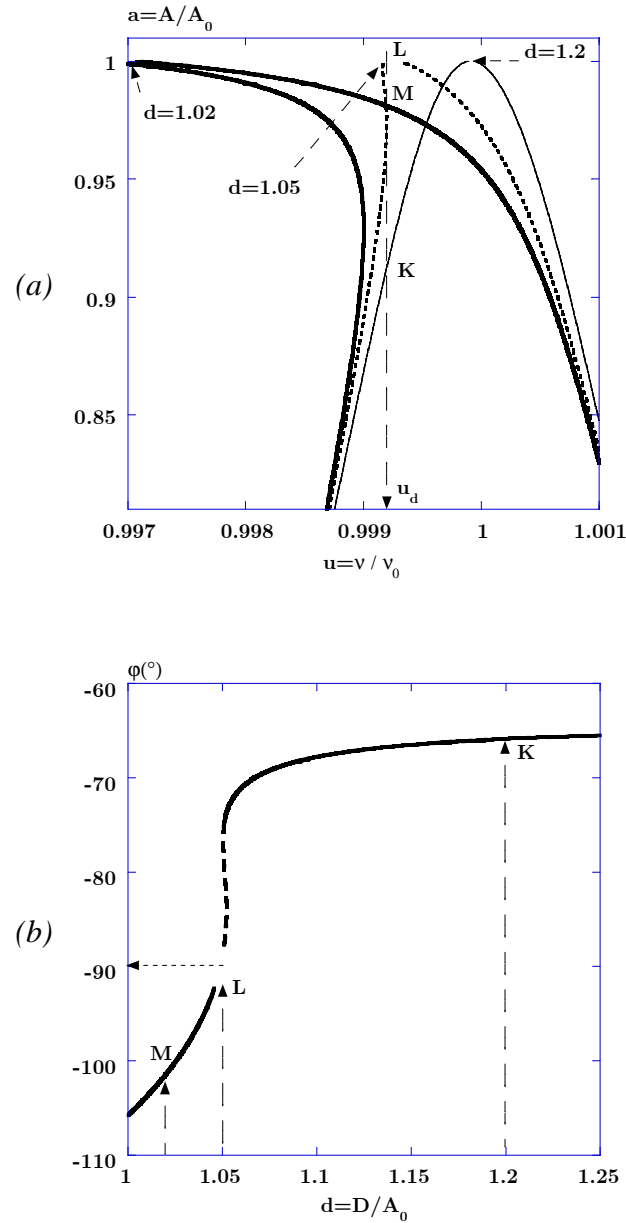


FIGURE II.9: (a)- Distorsion du pic de résonance de l'oscillateur sous l'action de l'interaction attractive pour trois valeurs de la distance pointe-surface. Les paramètres sont : $A_0 = 15\text{nm}$, $Q = 300$, et $\kappa_a = 1,48 \cdot 10^{-4}$. (b)- Courbe d'approche-retrait analytique en phase calculée à partir des mêmes paramètres. Elle montre l'évolution de la phase de l'oscillateur pour les différentes valeurs de la distances indiquées en (a), soulignant ainsi les liens qui existent entre la dynamique non-linéaire de l'oscillateur et les courbes d'approche-retrait.

En Tapping, la fréquence d'excitation est fixée. Nous avons retenu sur cet exemple, $u_d = 0,9992$. La figure II.9(b) est la courbe d'approche-retrait en phase associée à la distorsion du pic à cette fréquence. Pour $d = 1, 2$, la phase est égale à sa valeur libre, associée à a_l , $\varphi_l = -65^\circ$ (point K). Au moment de la bifurcation en amplitude, la phase bifurque sur sa branche inférieure au-dessous de -90° (point L) et continue de diminuer avec la réduction de la distance (point M).

Cette comparaison met en avant le lien qui existe entre la dynamique non-linéaire de l'oscillateur et son comportement observé à travers les courbes d'approche-retrait.

La structure des courbes d'approche-retrait présentées en figures II.7 et II.8 est obtenue pour des fréquences d'excitation inférieures à la résonance. C'est en effet sur cette branche que les situations de bifurcations sont rencontrées dans le cas d'interactions attractives. L'intérêt de travailler expérimentalement à des fréquences inférieures à la résonance est que la position de l'instabilité permet d'évaluer la position de la surface. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

Cela dit, le modèle analytique prévoit le comportement de l'oscillateur pour n'importe quelle fréquence d'excitation par rapport à la résonance. Nous illustrons cet effet en choisissant deux fréquences d'excitation : la première à la résonance de l'oscillateur libre et la seconde légèrement au-dessus de la résonance et montrons que l'interprétation des courbes peut également se faire dans le cadre de l'analyse de la déformation de la courbe de résonance.

La figure II.10 présente les courbes d'approche-retrait analytiques et leur comparaison avec les données numériques respectivement pour une fréquence d'excitation à la résonance et supérieure.

A la résonance (cf. figure II.10(a)), la courbe présente une structure plus simple que celle obtenue pour une fréquence inférieure. L'amplitude et la phase suivent la distorsion du pic sur la branche pseudo-répulsive stable d_{A-} . L'amplitude est réduite, mais la courbe ne présente pas de cycle puisque la branche est stable et ce, quelle que soit l'intensité de l'interaction. La courbe en phase, dans ce cas toujours définie au-dessous de -90° , présente un comportement sensiblement identique quelle que soit la valeur de la fréquence retenue.

On s'attend donc à ce que les pentes de variation des courbes de phase en non-contact après la bifurcation, quelles que soient les amplitudes et les valeurs de la fréquence d'excitation, soient sensiblement identiques.

II.3.b-iii Stabilité des branches de solutions

Nous présentons ici une étude analytique de la stabilité des branches du pic de résonance de l'oscillateur de Duffing. L'équation de Duffing a été retenue parce qu'elle est permet de conserver l'analyticité des calculs et met en évidence les principaux effets non-linéaires. Ce cas est transposable de façon évidente à celui de l'interaction dispersive considérée jusque-là, mais il est plus immédiat au niveau des calculs.

Il est donc possible d'obtenir un critère de stabilité de chacune des branches de solutions de l'équation II.2.14 [80]. Les calculs sont renvoyés en annexe D.

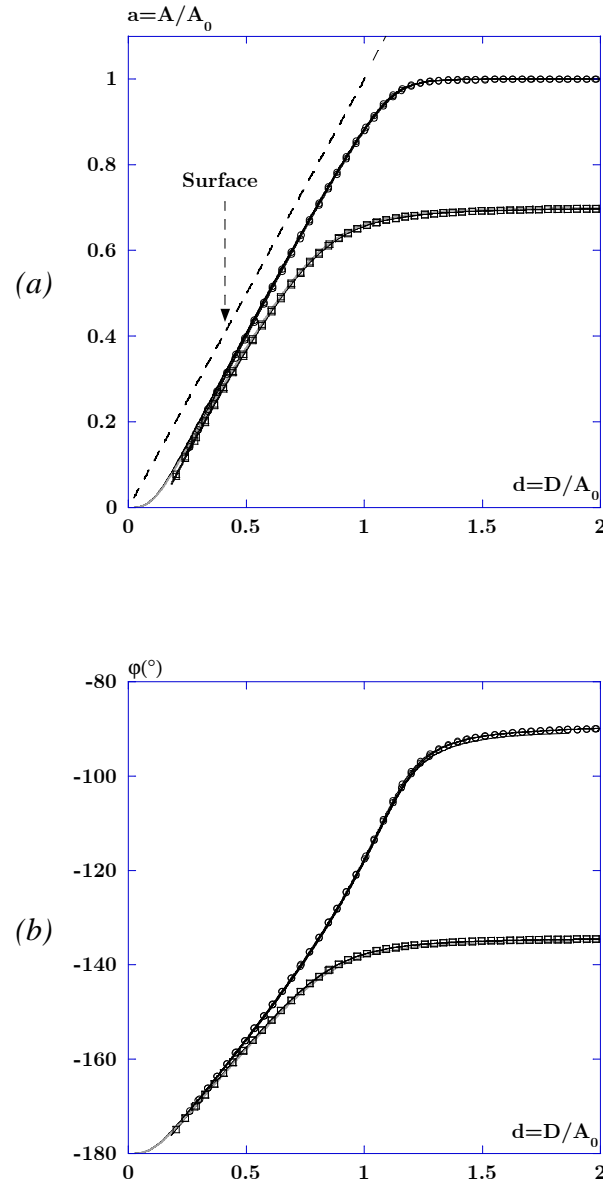


FIGURE II.10: Courbes d'approche-retrait analytiques (traits continus) et numériques (cercles et carrés vides) pour une fréquence d'excitation égale et supérieure à la résonance. Les paramètres globaux sont identiques à ceux de la figure II.7 : $A_0 = 10\text{nm}$, $Q = 50$, $H = 8,1675 \cdot 10^{-19}\text{J}$, $R = 20\text{nm}$, $k_z = 4,935\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$ donc $\kappa_a = 3,31 \cdot 10^{-3}$. (a)- Amplitude normée. Les cercles vides correspondent à la simulation numérique pour une fréquence d'excitation égale à la fréquence de résonance $u = 1$, l'amplitude libre associée est donc égale à l'amplitude à la résonance, et les carrés vides à $u = 1,00995$, l'amplitude libre associée vaut 0,704. Les données analytiques associées sont représentées avec des traits continus. La position de la surface est indiquée par les tirets. (b)- Variation de phase associée.

En appliquant le formalisme de l'approche non perturbative à l'équation de Duffing, le système d'équations obtenu est le suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi) = Q [a(1 - u^2) - \frac{3}{4}\varepsilon A_0^2 a^3] \\ \sin(\varphi) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.3.7})$$

Résoudre de façon exacte ce système par rapport à u conduit à la relation II.2.14. Pour discuter des arguments de stabilité, il n'est pas nécessaire d'utiliser cette relation explicitement. Faisons quelques approximations qui simplifient les calculs.

Les fréquences de travail de l'oscillateur sont situées à quelques centaines de hertz autour de la résonance située typiquement à $300kHz$. Soit $u \simeq (300000 - 100)/300000 \simeq 0,9999$. Prenons ici $u = 1$, donc $1 - u^2 \simeq 2(1 - u)$ et posons $\alpha = 3\varepsilon A_0^2/4$. En considérant ces approximations et en résolvant le système II.3.7 en u , selon que le cosinus est positif ou négatif, les calculs donnent :

$$u_{\pm}^D = 1 + \frac{1}{2} \left(-\alpha a^2 \pm \frac{1}{Q} \sqrt{\frac{1}{a^2} - 1} \right) \quad (\text{II.3.8})$$

Le critère de stabilité est obtenu à partir de la détermination des équations du mouvement des écarts, au premier ordre, aux solutions stationnaires. La stabilité des branches est donnée par deux conditions, dont une dépend de la valeur de l'amplitude. Pour u_+^D , le critère est le suivant :

$$u_+^D > u_+^{crit} = 1 - \frac{1 + 3Q\alpha a^2 \sqrt{1/a^2 - 1}}{2 \left(1 + Q\sqrt{1/a^2 - 1} \right)} \quad (\text{II.3.9})$$

Pour u_-^D , le critère dépend également de la valeur de l'amplitude de sorte que la seule connaissance de la position de u_-^D par rapport à u_-^{crit} n'est pas suffisante pour décrire la stabilité de la branche.

$$\begin{cases} u_-^D > u_-^{crit} \text{ si } a > (1 + Q^{-2})^{-1/2} \\ u_-^D < u_-^{crit} \text{ si } a < (1 + Q^{-2})^{-1/2} \end{cases} \text{ et } u_-^{crit} = 1 - \frac{1 - 3Q\alpha a^2 \sqrt{1/a^2 - 1}}{2 \left(1 - Q\sqrt{1/a^2 - 1} \right)} \quad (\text{II.3.10})$$

Le calcul exact de l'amplitude à partir de laquelle la stabilité évolue n'étant pas complètement analytique, le critère est obtenu à partir d'une approximation. Ce critère reste toutefois pratique pour mettre en évidence les différentes zones de stabilité sur cette branche. Cette discussion est détaillée dans l'annexe D.

La figure II.11 présente la distorsion du pic de résonance et l'interprétation de la stabilité des branches en reportant les variations des u_{\pm}^{crit} et de u_{\pm}^D .

Les solutions prévoient que, pour un couplage attractif, u_+^D est toujours stable car toujours située au-dessus de sa branche critique. La branche u_-^D présente quant à elle, trois zones de stabilité selon la distorsion du pic, c'est-à-dire selon la distance pointe-surface, et la valeur de l'amplitude. Sa branche critique la recoupe en deux points qui

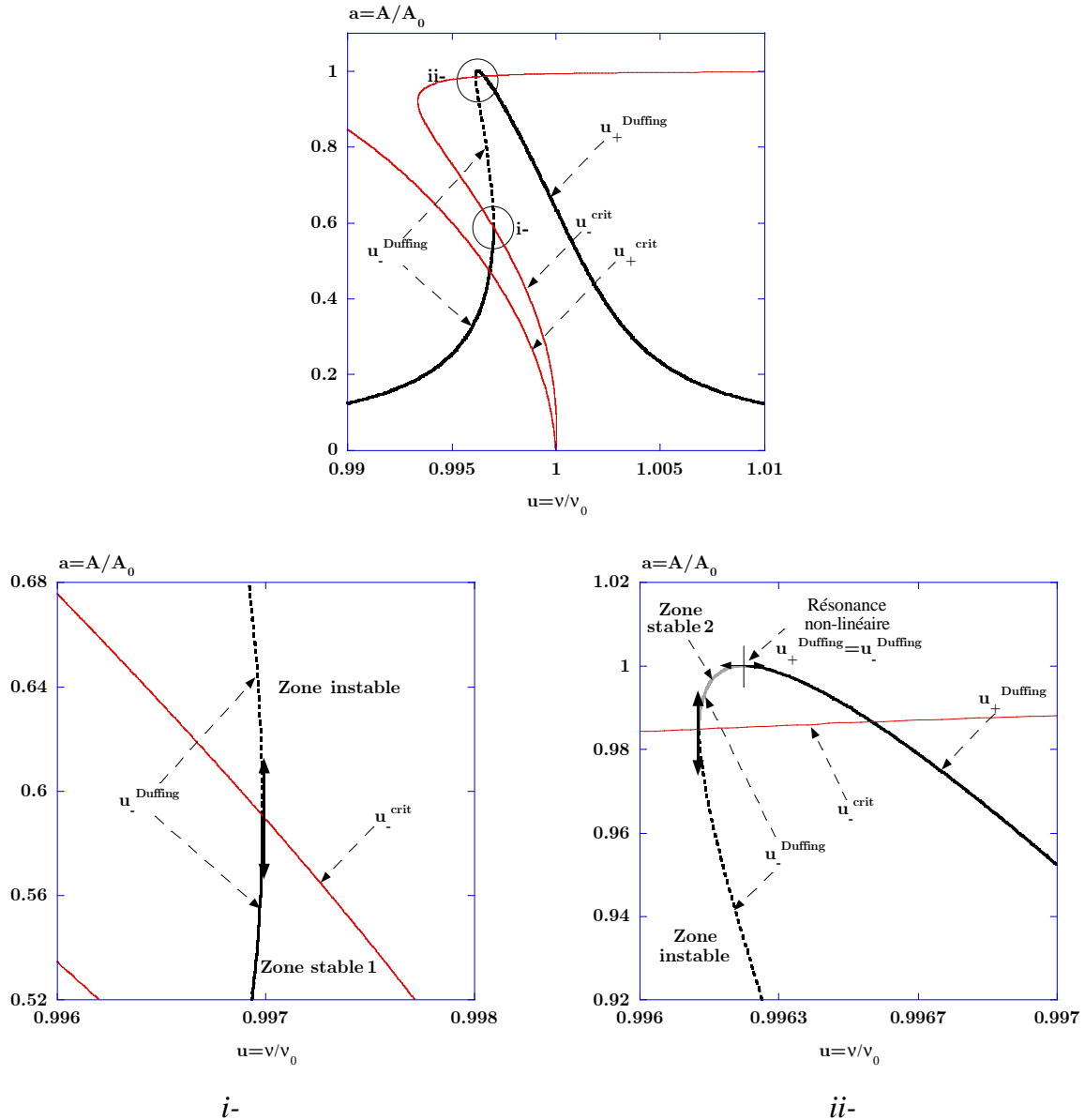


FIGURE II.11: *Distorsion de la courbe de résonance de l'oscillateur de Duffing et stabilité des branches de solutions. Les paramètres sont $A_0 = 10\text{nm}$, $Q = 400$, $\varepsilon = 10^{-4}$. La distorsion est suffisante pour faire apparaître plusieurs zones de stabilités sur les différentes branches. La branche u_+ est toujours stable puisque toujours située au-dessus de u_+^{crit} . La branche u_- présente trois zones de stabilité, dont deux stables et une instable. u_-^{crit} recoupe u_- en deux endroits qui correspondent aux points de tangente infinie. Selon le critère de stabilité, la zone de u_- située au-dessous de u_-^{crit} est stable (zone stable 1), et la zone supérieure instable pour les valeurs de l'amplitude inférieures à l'amplitude critique $a_{crit} = (1 + Q^{-2})^{-1/2}$ (tirets épais). La zone stable 2 (traits épais continus clairs sur l'encadré) apparaît pour une amplitude $a_{crit} \simeq 0,996$, qui n'est pas la valeur prédite par le critère $a_{crit} = (1 + Q^{-2})^{-1/2} \simeq 0,999$.*

indiquent les positions des points d'inflexion de la courbe et donc positionnent les zones de stabilité de part et d'autre de la zone centrale instable.

Notons toutefois que la zone stable 2 apparaît pour une amplitude $a \simeq 0,996$, qui n'est pas la valeur prédite par le critère $a = (1 + Q^{-2})^{-1/2} \simeq 0,999$. La différence est liée à l'évaluation du critère de stabilité qui n'est pas strictement correcte puisque calculée dans le cadre d'une approximation. Les conditions de stabilité sont en effet obtenues à partir de l'approximation $u = 1$. L'expression analytique de la fréquence critique de stabilité, qui correspond à la fréquence d'apparition de la tangente infinie, n'est donc pas rigoureusement juste. Les effets sont toutefois qualitativement bons.

Dans le cas de l'interaction dispersive sphère-plan, la distorsion est différente mais l'effet reste qualitativement identique.

II.3.b-iv Pente de la réduction d'amplitude avec la distance

La pente de réduction de l'amplitude avec la distance, $p(a) = \delta a / \delta d$, est un élément fondamental d'une courbe d'approche-retrait puisqu'elle fixe la position verticale de la céramique piézoélectrique avant d'initier le balayage dans le plan $(x; y)$ pour la formation d'une image. L'existence d'une branche pseudo-répulsive dans une courbe d'approche-retrait de non-contact permet l'asservissement en amplitude comme dans le cas du contact intermittent. Il est ainsi possible d'imager une surface en non-contact à condition d'assurer un couplage attractif suffisamment fort ($Q\kappa_a$ grand). La résolution verticale¹⁵ est fournie par la pente de la branche pseudo-répulsive¹⁶ d_{A_-} , $r = p(a)^{-1}$.

En dérivant la relation d_{A_-} par rapport à a et en inversant cette relation, l'expression analytique de la pente du non-contact en Tapping peut être obtenue :

$$p(a) = \frac{d_{A_-}(a)}{a + \frac{(Q\kappa_a)^{2/3}}{\{3[Q(1-u^2) + \sqrt{1/a^2 - u^2}]\}^{5/3} \sqrt{1/a^2 - u^2} a^3}} \quad (\text{II.3.11})$$

L'étude de la pente envisagée est la suivante : $p = f(a)$ à u et Q fixés, soit a_l fixée, et κ_a variable. Les résultats sont reportés sur la figure II.12.

Ces variations mettent en évidence deux résultats importants :

- Le premier est que la pente du non-contact en Tapping est toujours de l'ordre ou supérieure à 1. Ce résultat est intuitif puisque dans le cas contraire, le contact de la pointe avec la surface aurait été favorisé. En outre, plus l'amplitude est réduite, plus la pointe passe de temps au voisinage de la surface, ce qui a pour conséquence d'augmenter la contribution de l'interaction et consécutivement de réduire plus vite l'amplitude. r est donc toujours de l'ordre de 1, voire légèrement inférieure. Pour quelques angströms de variation de l'amplitude, qui est un ordre de grandeur de la sensibilité de la détection du microscope, la résolution verticale attendue est

¹⁵ La notion de résolution évoquée ici correspond au déplacement vertical de la céramique piézoélectrique associé à la variation minimale détectable de la variable sur laquelle l'asservissement est envisagé. Elle correspond donc à l'inverse la pente : $r = p^{-1}$. Cette expression suppose que si p est faible, la résolution n'est pas grande pour autant. Au contraire, puisque cela signifie que la distance verticale minimale susceptible d'être résolue par la machine est grande également. La limite $p = 0$ suppose que la machine ne peut rien résoudre verticalement.

¹⁶ C'est en effet pour cette branche de solutions que la réduction d'amplitude est obtenue.

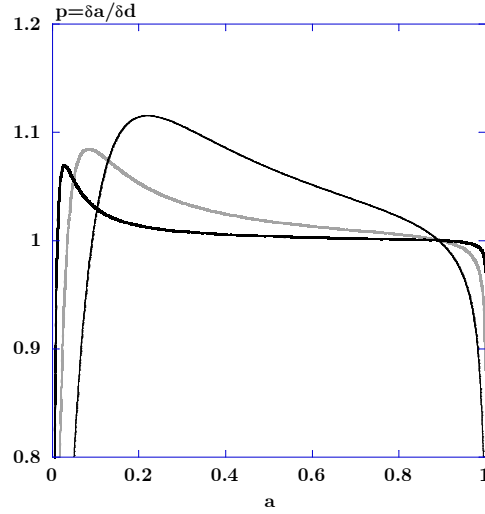


FIGURE II.12: Evolution de la pente du non-contact en Tapping en fonction de a pour trois valeurs de κ_a . Les paramètres sont $Q = 400$ et $u = 0,9985$ définissant une amplitude libre $a_l = 0,64$. Les valeurs de κ_a sont $6,25 \cdot 10^{-6}$ (traits sombres épais), $6,25 \cdot 10^{-5}$ (traits clairs épais) et $6,25 \cdot 10^{-4}$ (traits fins). L'augmentation de l'attractif conduit à une perte de la sensibilité verticale (cf. texte).

sensiblement identique. Ce résultat est la meilleure des situations envisageables puisque, dans les situations de contact intermittent, la pente vaut, au plus, 1 (cf. partie II.4.a). En NC-AFM par contre, la variation très importante du signal sur lequel l'asservissement est fait, en l'occurrence la fréquence de résonance de l'oscillateur libre, assure une sensibilité bien plus importante, à l'origine de contrastes verticaux de l'ordre de quelques dizaines de picomètres (cf. partie II.3.c).

- Le second élément est que plus la contribution de κ_a est importante, plus la pente augmente. Une conséquence négative de cet effet est une moins bonne résolution latérale.

II.3.c Courbe d'approche-retrait en NC-AFM

En NC-AFM, l'amplitude d'excitation de l'oscillateur est ajustée par une boucle électronique de contrôle automatique de gain de façon à toujours conserver l'amplitude à la résonance de l'oscillateur constante. Or, la description analytique présentée plus haut prévoit une augmentation de cette amplitude de l'ordre du décalage de la fréquence de résonance non-linéaire, 10^{-4} , en valeur relative.

Pour simplifier la discussion, compte tenu de cette faible différence entre a_0^{nl} et 1, une approximation valable du NC-AFM consiste à utiliser les relations précédentes pour des conditions de couplage fixées et d'y remplacer $a = 1$, bien que, strictement, cette hypothèse ne soit pas celle qui corresponde aux expériences [70, 71].

Nous nous contenterons ici de présenter d'un point de vue théorique le fonctionnement de ce mode dynamique et renvoyons aux références [25, 26] pour plus d'éléments.

II.3.c-i Décalage de la fréquence de résonance non-linéaire

Lors d'une courbe d'approche-retrait en NC-AFM, la mesure se fait sur le décalage de la fréquence de résonance par rapport à la fréquence à la résonance de l'oscillateur libre. Pour un couplage attractif, le décalage a lieu vers les plus faibles fréquences. Il suffit ensuite de choisir la branche en fréquence u_+ ou u_- pour déterminer l'expression du décalage. S'il s'agissait de suivre le décalage de la fréquence de résonance non-linéaire en fonction de la distance et des paramètres du couplage, choisir u_+ ou u_- conduirait strictement à la même évolution puisque la condition d'obtention de l'expression de la fréquence non-linéaire est justement $u_+ = u_-$.

Cependant, comme nous avons choisi de retenir $a = 1$, le décalage prédit par l'une ou par l'autre des branches pour cette valeur de l'amplitude n'est pas strictement identique. Il est toutefois facile de vérifier que la différence introduite sur la valeur du décalage est faible selon que l'on considère une branche ou l'autre, et qu'elle l'est d'autant plus que le facteur de qualité de l'oscillateur est grand.

La branche u_- est arbitrairement retenue pour exprimer le décalage¹⁷, soit :

$$\frac{\nu - \nu_0}{\nu_0} = u_- - 1 < 0$$

Pour l'interaction de Van der Waals dispersive sphère-plan, l'expression du décalage de la résonance non-linéaire en fonction de la distance peut être obtenue à partir de la relation II.3.6 ou encore II.3.3, et pour $a = 1$:

$$u_-(d) - 1 = \sqrt{1 - \left[\frac{1}{2Q} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{4}{3} \frac{Q^2 \kappa_a}{(d^2 - 1)^{3/2}}} \right) \right]^2} - 1 \quad (\text{II.3.12})$$

La figure II.13 présente une courbe d'approche-retrait associée à la relation II.3.12.

Pour des distances grandes, la fréquence à la résonance n'est pas modifiée par l'interaction. Le comportement de l'oscillateur est harmonique. Pour des distances plus faibles, $d \simeq 1,05$ sur la figure, le décalage se produit et la variation de la fréquence en fonction de la distance devient très importante pour des distances de l'ordre de quelques angströms. Pour les conditions de non-linéarité de la figure, la pente locale peut être évaluée (cf. texte de la figure) à $3,3 \cdot 10^{-2}$. Pour une fréquence de résonance de l'ordre de 300 kHz et une amplitude $A_0 = 20 \text{ nm}$, le décalage théorique de la résonance est de l'ordre de $490 \text{ Hz} \cdot \text{nm}^{-1}$ et la résolution verticale de $2 \text{ pm} \cdot \text{Hz}^{-1}$.

Ces résultats indiquent que, si l'électronique de détection de la machine peut détecter un hertz de variation, et cet ordre de grandeur est raisonnable¹⁸, alors le contraste vertical de la céramique susceptible d'être résolu est de 2 pm , soit près de $1/50^{\text{ème}}$ de fois les dimensions atomiques. Ce domaine de sensibilités est en très bon accord avec celui des résultats expérimentaux obtenus en ultra-vide [25, 26].

¹⁷ Il est en effet envisageable que pour $a = 1$, donc dans le proche voisinage de la résonance, même non-linéaire, u_- reste une branche stable selon la discussion sur la stabilité faite au paragraphe II.3.b-iii. En outre, l'utilisation de u_- permet une discussion qualitative sur la forme des instabilités susceptibles d'être rencontrées si le mode de fonctionnement ne suit pas strictement la résonance non-linéaire (cf. discussion dans cette partie).

¹⁸ L'électronique de détection doit pouvoir mesurer 1 Hz de variation à une fréquence de 300 kHz , soit une sensibilité de l'ordre de $3 \cdot 10^{-6}$. Cette mesure est possible avec le système de détection OMICRON [81].

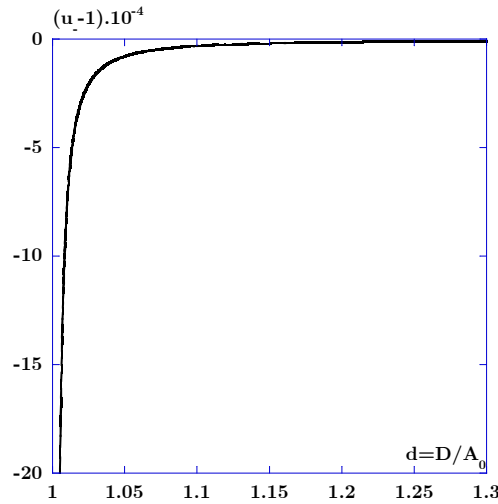


FIGURE II.13: Courbe d'approche-retrait en NC-AFM associée à la relation II.3.12. Les paramètres sont $A_0 = 20\text{nm}$, $Q = 400$, $HR/k_z = 0,1$ donc $\kappa_a = 8,795 \cdot 10^{-4}$. La pente de variation de la fréquence avec la distance peut être évaluée dans l'intervalle $\Delta\nu/\nu_0 = [-0,000368; -0,000155]$, correspondant à un intervalle en distance $d = [1,00825; 1,03]$, conduisant à une pente locale de l'ordre de $3,3 \cdot 10^{-2}$. Pour des distances plus faibles, il faut envisager le contact de la pointe avec la surface en $d_c = 0,165\text{nm}$, i.e. avec cette amplitude $d_c/A_0 = 0,00825$, d'où la valeur inférieure de la borne retenue.

Pour des distances inférieures, il faut envisager le contact de la pointe avec la surface. Cette pente $\delta u/\delta d$ très importante est liée à la distorsion du pic aux plus faibles distances entre la pointe et la surface. Si l'oscillateur ne peut pas suivre la distorsion continue de la branche avec d en amplitude à u_- constant (mode Tapping), il peut ici suivre u_- avec d à a constant. Dans ce mode en effet, la branche sur laquelle évolue la fréquence est rendue stable par le mode de fonctionnement retenu et le problème des bifurcations inhérent au Tapping est contourné.

Calculons la pente de variation de la fréquence de résonance avec la distance. Pour cela, il est pratique de faire quelques approximations qui rendent l'équation II.3.12 plus simple à exploiter. Considérons donc la condition :

$$Q \gg \frac{1}{\sqrt{1-u^2}}, \quad (\text{II.3.13})$$

qui indique que la largeur en fréquence de la courbe de résonance est faible devant le décalage en fréquence induit par le couplage [71]. Prenons quelques ordres de grandeur pour s'en assurer. Dans les conditions de vide, $Q \simeq 1000$ et les décalages envisagés sont de l'ordre de $u_-(d) - 1 \simeq -10^{-4}$, soit:

$$1000^2 \gg \frac{1}{1-u^2} \simeq \frac{1}{2(1-u)} \simeq 5 \cdot 10^3$$

La relation II.3.3 conduit ainsi, à l'ordre 0, à :

$$u_-(d) - 1 \simeq \sqrt{1 - \frac{\kappa_a}{3(d^2 - 1)^{3/2}}} - 1 \quad (\text{II.3.14})$$

Et pour de grandes amplitudes, $A_0 \gg 1$:

$$u_-(d) - 1 \simeq -\frac{\kappa_a}{6(d^2 - 1)^{3/2}} \quad (\text{II.3.15})$$

L'équation II.3.15 indique qu'un très grand décalage peut être obtenu pour des valeurs de d proches de 1, c'est-à-dire dans les situations les plus proches du contact de la pointe avec la surface.

II.3.c-ii Comparaison avec l'approche en gradient de force

Pour comparer l'effet du décalage de la fréquence de résonance de l'oscillateur entre l'approche en gradient de force et l'approche développée ici, nous reprenons l'expression II.2.8 de la résonance modifiée par le gradient de la force dispersive.

Avec les notations introduites, le décalage de la fréquence de résonance dans le cadre du gradient de la force attractive devient :

$$u_0^l(d) - 1 = -\frac{\kappa_a}{6d^3}, \quad (\text{II.3.16})$$

à comparer aux relations II.3.12 ou II.3.15. Notons déjà que la théorie linéaire ne prévoit pas de divergence en $d = 1$. On s'attend donc à ce que le décalage soit continu et moins rapide que celui prédit par l'approche non-linéaire au voisinage de la surface. La figure II.14 présente la comparaison entre les deux approches.

Avec l'échelle verticale retenue sur la figure, l'approche linéaire ne présente pas de décalage significatif de la fréquence avec la diminution d'amplitude. L'approche non-linéaire par contre, en raison de la dépendance en $d^2 - 1$ et de la loi de puissance, présente une évolution plus rapide et pour des distances plus importantes. Pour $d = 1,05$, le décalage prédit par l'approche linéaire est de $4,9 \cdot 10^{-5}$ alors qu'il est de $1,7 \cdot 10^{-3}$ avec l'approche non-linéaire. Pour $\nu_0 = 300 \text{kHz}$, les décalages sont donc de 14Hz et 510Hz respectivement. Les décalages expérimentaux plus caractéristiques sont de quelques dizaines de hertz. La pointe est alors à quelques angströms de la surface.

Notons enfin que l'équation II.3.15 donne un résultat similaire à celui d'une approche perturbative qui ne considère pas de dissipation développée par F.J. Geissibl [82] en 1997. L'équation 13 de cette référence prédit une variation du décalage en $A_0^{-3/2}$, loi de puissance qui peut être déduite de la relation II.3.15 dans la limite des grandes valeurs de A_0 et $d \simeq 1$. En écrivant $(d^2 - 1)^{3/2} = A_0^{-3} (D^2 - A_0^2)^{-3/2}$ pour $D = A_0 + \varepsilon$ avec $\varepsilon \ll A_0$, alors $u_-(d) - 1 \propto A_0^{-3/2} \varepsilon^{-3/2}$.

La comparaison avec des résultats expérimentaux prouve toutefois les limites de la description perturbative [71]. La relation II.3.15 permet d'ajuster de façon très précise [70] des résultats issus d'une simulation numérique de l'expérience [83] et les résultats expérimentaux obtenus par différents groupes [11, 21], dont les nôtres [84].

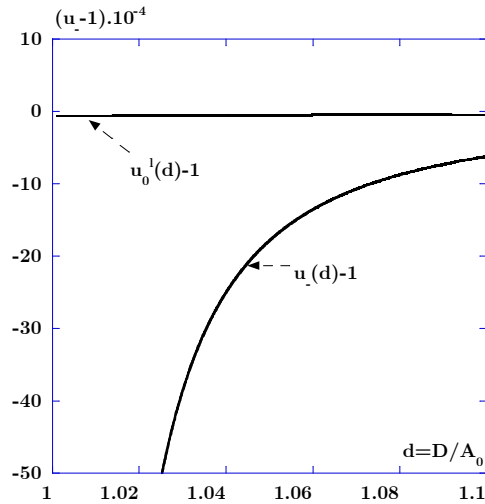


FIGURE II.14: Comparaison entre le décalage de la fréquence de résonance prédit par l'approche linéaire et celui de l'approche non-linéaire. Les paramètres sont $Q = 535$, $\kappa_a = 3,4 \cdot 10^{-4}$. Pour $d = 1,05$ le décalage prédit par l'approche linéaire est de $-4,9 \cdot 10^{-5}$ alors qu'il est de $-1,7 \cdot 10^{-3}$ avec l'approche non-linéaire. Près de la surface, l'approche linéaire ne prédit pas de divergence et par là, de variation rapide du décalage.

II.3.c-iii Diagramme de bifurcation

Nous cherchons à déterminer la relation entre κ_a , Q et la distance critique pour laquelle la courbe de résonance présente un tangente infinie qui va conduire aux bifurcations – en amplitude et en phase – du Tapping et au décalage de la fréquence de résonance du NC-AFM.

Il s'agit de résoudre, depuis la relation II.3.6 :

$$\frac{da}{du_-} \rightarrow +\infty \Leftrightarrow \frac{du_-}{da} = 0 \quad (\text{II.3.17})$$

La branche u_- est retenue puisque c'est la branche instable qui subit la distorsion pour les interactions attractives (décalage vers les basses fréquences) et qui fait apparaître la tangente infinie. On peut alors montrer [71] que :

$$\kappa_a^{d_{crit}} \simeq \frac{\sqrt[3]{3} (d^2 - 1)^{13/6}}{Q^{2/3}} \quad (\text{II.3.18})$$

La courbe $\kappa_a^{d_{crit}} = f(d)$ (cf. figure II.15) détermine la frontière entre deux domaines : celui pour lequel le pic de résonance est légèrement déformé par le couplage mais conserve une forme proche de sa structure Lorentzienne et celui pour lequel le pic a commencé à se distordre (équation II.3.12). Dans le premier domaine, le pic se déforme continûment avec la réduction de distance mais ne présente pas encore de tangente infinie. La frontière correspond à l'apparition de la tangente.

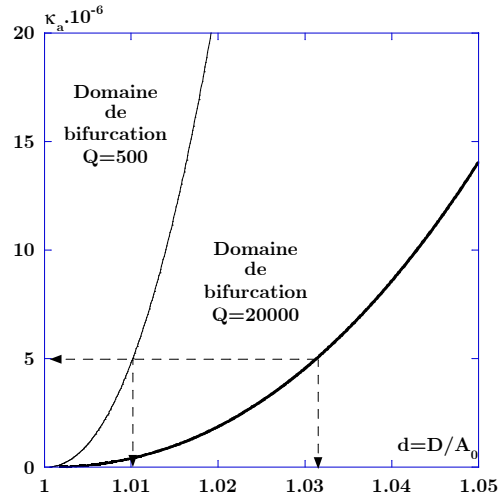


FIGURE II.15: Domaines de bifurcation de l'oscillateur pour deux valeurs du facteur de qualité $Q = 500$ (traits continus fins) et $Q = 20000$ (traits continus épais). Le domaine de bifurcation de l'oscillateur est réduit avec les plus faibles valeurs du facteur de qualité. Pour $Q = 20000$, la distorsion apparaît pour $d \simeq 1,032$ et pour $Q = 500$, $d \simeq 1,01$.

Pour les faibles valeurs de Q , le domaine de bifurcation est réduit de façon significative. Ce résultat illustre un principe général indiquant que les domaines de bifurcation des systèmes non-linéaires et leurs transitions vers des comportements chaotiques sont lissés par les effets de dissipation [68, 85].

Dès que Q est suffisamment grand, le domaine de bifurcation est traversé par l'oscillateur alors que la surface est encore "loin". Pour $Q = 20000$, la distorsion apparaît pour $d \simeq 1,032$ alors que pour $Q = 500$, il faut attendre $d \simeq 1,01$. Cela signifie que pour les grands facteurs de qualité, le déplacement du barycentre du pic (forme Lorentzienne) sous l'action du gradient de la force d'interaction et des premiers termes du développement de l'approche perturbative est négligeable devant la distorsion du pic qui apparaît très tôt. Les effets non-linéaires dominent donc le comportement dynamique du levier.

Ainsi, si les conditions de vide permettent de travailler avec des pointes très propres sur des échantillons très propres, les grands facteurs de qualité induits par ces conditions, sont aussi à l'origine de la très grande sensibilité du NC-AFM.

La dépendance en $\kappa_a = HR / (k_z A_0^3)$ permet également de retrouver quelques éléments concernant la sensibilité de l'oscillateur.

- Pour une interaction donnée, le même décalage est attendu pour un produit $k_z A_0^3$ constant. Par exemple, pour un levier 8 fois moins raide, l'amplitude pour un même décalage et une même distance réduite doit être deux fois plus importante. Cela suppose que la même sensibilité peut être obtenue pour une distance $(D - A_0)$ deux fois plus importante.
- La raideur de l'oscillateur à A_0 constant peut être également variée. La figure II.16 présente la distorsion du pic de résonance de deux leviers pour une même distance réduite et une même amplitude. Le levier le plus raide présente un décalage plus faible que l'autre.

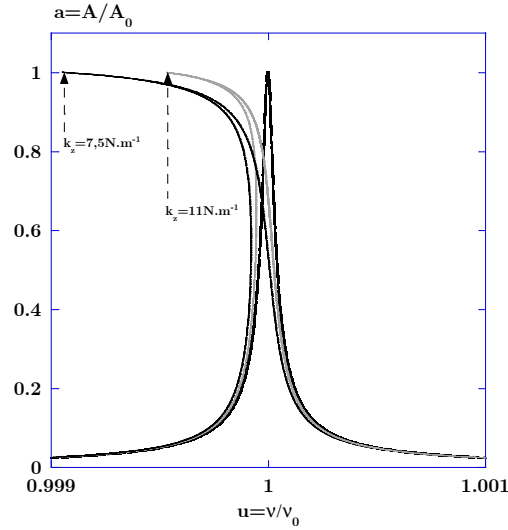


FIGURE II.16: *Effet de la raideur du levier sur la distorsion du pic de résonance. Les paramètres sont $A_0 = 10nm$ et $Q = 20000$. $k_z = 11N.m^{-1}$ et $d = 2$ (traits continus épais); $d = 1,05$ (traits continus fins et clairs). $k_z = 7,5N.m^{-1}$ et $d = 1,05$ (traits continus fins). Des leviers de raideurs plus faibles peuvent conduire à un décalage plus important que des leviers de raideurs élevées.*

II.3.c-iv Rayon effectif des pointes

Les relations précédentes ont été calculées dans le cadre d'une pointe d'apex hémisphérique. Les rayons caractéristiques des pointes des leviers de dynamique sont de $20nm$. Qu'advient-il si le rayon de la pointe est beaucoup plus petit, de l'ordre de 1 ou $2nm$?

La limite de l'interaction sphère-plan est l'interaction molécule-plan introduite au chapitre I.4 avec la relation I.4.7. La dépendance en distance est plus rapide, la pointe ne devient donc sensible à l'interaction que pour des distances plus faibles.

Le potentiel d'interaction de Van der Waals entre une molécule et un plan s'écrit :

$$V_{int}(z) = V_{VdW}^{mp}(z) = -\frac{\pi C_{VdW}\rho}{6[D-z(t)]^3} \quad (\text{II.3.19})$$

Les calculs conduisent au système d'équations couplées :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_A) = Qa(1-u^2) - \frac{5Q\kappa_a^{mp}}{6} \frac{a^3}{(d_A^2 - a^2)^{7/2}} \\ \sin(\varphi_A) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.3.20})$$

avec :

$$\kappa_a^{mp} = \frac{\pi C_{VdW}\rho}{k_z A_0^5}, \quad (\text{II.3.21})$$

équivalent du paramètre κ_a de l'approche sphère-plan. κ_a^{mp} est également adimensionnel. Pour $C_{VdW}\rho \simeq 5.10^{-78} \times 10^{29} = 10^{-49} J.m^3$, $k_z = 30N.m^{-1}$ et $A_0 = 10nm$, $\kappa_a^{mp} \simeq 5.10^{-10}$.

L'ordre de grandeur de κ_a^{mp} , beaucoup plus faible que celui de κ_a^{sp} de l'interaction sphère-plan, va donc supposer que les effets non-linéaires apparaissent à des distances plus courtes, mais que la variation associée soit d'autant plus rapide.

En résolvant le système II.3.20, les relations de l'évolution de l'amplitude et de la phase en fonction de la distance deviennent :

$$d_{A_{\pm}} = \sqrt{a^2 + \left[\frac{5Q\kappa_a^{mp}}{6} \frac{a^2}{Q(1-u^2) \mp \sqrt{\frac{1}{a^2} - u^2}} \right]^{2/7}} \quad (\text{II.3.22})$$

$$\varphi_{A_{\pm}} = \arctan \left\{ \frac{u}{Q(u^2 - 1) + \frac{5Q\kappa_a^{mp}}{6} \frac{a^2}{(d_{A_{\pm}}^2 - a^2)^{7/2}}} \right\} \quad (\text{II.3.23})$$

La discussion sur la forme et la stabilité des branches de solutions reste identique. La différence essentielle avec les relations obtenues pour une interaction sphère-plan réside dans la loi de puissance, plus rapide, en $(d^2 - a^2)^{7/2}$. L'interaction molécule-plan conduira à une instabilité pour une distance de la surface plus proche que celle de l'interaction sphère-plan. La contribution attractive à plus longue portée de l'interaction sphère-plan est responsable de cet effet.

En inversant les relations précédentes, l'expression de la courbe de résonance est donnée par la relation :

$$u_{\pm} = \sqrt{\frac{1}{a^2} - \frac{1}{4Q^2} \left(1 \mp \sqrt{1 - 4Q^2 \left(1 - \frac{1}{a^2} - \frac{5\kappa_a^{mp} a^2}{6(d^2 - a^2)^{7/2}} \right)} \right)^2}, \quad (\text{II.3.24})$$

et consécutivement, le décalage de la fréquence de résonance par :

$$u_-(d) - 1 = \sqrt{1 - \frac{1}{4Q^2} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{10}{3} \frac{Q^2 \kappa_a^{mp}}{(d^2 - 1)^{7/2}}} \right)^2} - 1 \quad (\text{II.3.25})$$

Les comparaisons de l'effet de l'interaction sur la distorsion de la résonance et sur le décalage de la fréquence de la résonance à A_0 fixée ne sont pas présentées mais sont déductibles des équations précédentes et les discussions identiques.

► *Remarque : Loi de puissance du potentiel d'interaction :*

L'annexe D montre qu'il est possible d'obtenir a priori le système d'équations en cosinus et sinus pour n'importe quelle loi de puissance du potentiel attractif.

Les effets de lois de puissance de l'interaction montrent une dépendance différente de la non-linéarité avec la distance de la pointe à la surface. Les situations envisagées présentent une pointe idéale, de symétrie sphérique parfaite. Cette approximation devient évidemment grossière dès lors que l'on contrôle la distance pointe-surface pour une valeur de l'ordre de $0,5nm$ ou inférieure. Par exemple, les expériences en ultra-vide et basse température ($10K$) mesurent un bruit de $2pm$ pour des distances pointe-surface se situant très vraisemblablement à des valeurs inférieures à $0,5nm$ [24].

Ces éléments supposent que la contribution "longue portée" de l'interaction dispersive serait de type sphère-plan, mais que dans le très proche voisinage de la surface, l'interaction serait essentiellement contrôlée par la terminaison de la pointe et la nature de l'interaction serait alors de type molécule-plan.

Il est donc envisageable que, selon la rugosité de la pointe et sa distance à la surface, la pointe présente un rayon effectif d'interaction qui contrôle la loi de puissance de l'interaction et susceptible de varier avec la distance. Les courbes d'approche-retrait de Tapping ou de NC-AFM, ou de façon équivalente le pic de résonance de l'oscillateur, deviennent des compositions de ces diverses contributions. Des résultats expérimentaux ont montré un contraste de l'image obtenue sur une structure de $Si(111)\sqrt{3} \times \sqrt{3} - Ag$ qui dépendait de la distance entre la pointe et la surface [61]. La figure II.17 illustre cette discussion.

Le facteur de qualité de l'oscillateur, selon sa valeur, accentue cet effet. Le décalage de la résonance variant en $(d^2 - 1)^{5/2}$ (résultat déduit de la relation II.3.15), ne conduit à un décalage important qu'à proximité immédiate de la surface. A cette distance, l'interaction entre la pointe et la surface n'est liée qu'à la partie terminale de l'apex de la pointe. L'interaction est donc plutôt de type molécule-plan. Pour les plus faibles facteurs de qualité par contre, l'approximation $Q \gg (1 - u^2)^{-1/2}$ n'est plus vraie, le décalage apparaît pour une distance plus importante et est moins rapide. L'interaction implique un plus grand nombre d'atomes; elle est plutôt de type sphère-plan. Cette hypothèse suggère que le facteur de qualité de l'oscillateur filtre la taille caractéristique de la pointe sensible à l'interaction.

II.3.d Résultats expérimentaux et discussion

II.3.d-i Résultats expérimentaux

La figure II.18 présente des courbes d'approche-retrait expérimentales en amplitude ($a_{i,ii}$) et en phase ($b_{i,ii}$) enregistrées sur une surface de silice avec une même pointe et leur comparaison avec des courbes d'approche-retrait analytiques.

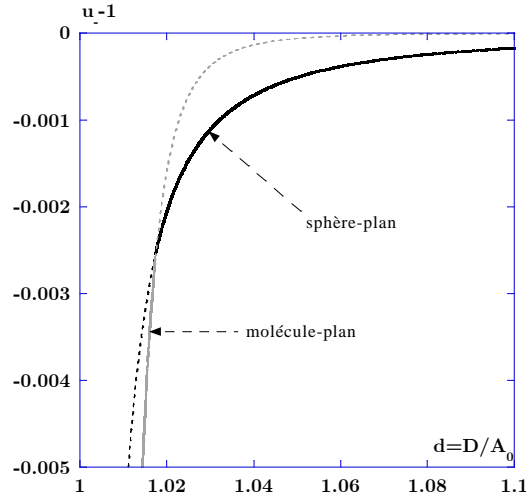


FIGURE II.17: *Effet de la loi de puissance de l'interaction attractive entre la pointe et la surface sur le rayon effectif de la pointe sur une courbe d'approche-retrait en NC-AFM. Loin de la surface, le rayon effectif est semblable à celui de la pointe et l'interaction est de type sphère-plan (traits continus épais noirs). Les paramètres sont $A_0 = 10\text{nm}$, $Q = 20000$, $HR/k_z = 0,1\text{nm}^3$ donc $\kappa_a^{sp} = 10^{-4}$. Plus près de la surface, le rayon effectif de la pointe qui contribue à l'interaction n'est plus que la terminaison de l'apex et l'interaction est plutôt de type molécule-plan (traits continus épais clairs). Pour cette courbe les paramètres sont $\kappa_a^{mp} = 5.10^{-8}$.*

L'amplitude et les déplacements verticaux de la céramique sont normés à l'amplitude à la résonance de l'oscillateur libre, A_0 , de façon similaire aux résultats analytiques. Cependant, dans la mesure où la position de la surface n'est pas connue absolument, le calage horizontal est arbitraire et adapté de façon à présenter les résultats sur une même échelle de variations. A cet effet, l'abscisse des résultats expérimentaux sera notée $\Delta z_{piézo}/A_0$ et celle des calculs $d = D/A_0$.

Les courbes d'approche-retrait expérimentales sont qualitativement similaires à celles des courbes calculées. En particulier, la variation de phase au-dessous de la valeur caractéristique du régime attractif de -90° est nette.

Nous introduisons ici la notion de régime en vue de distinguer les situations de pur non-contact et, ci-après, de contact intermittent, étant donné que la contribution de l'attractif dans les situations expérimentales de contact intermittent ne peut pas être éliminée. En outre, d'autres éléments expérimentaux comme les processus de dissipation, non décrits jusqu'ici, sont susceptibles de modifier les courbes.

L'augmentation de κ_a associée à la diminution de l'amplitude modifie la forme des courbes expérimentales jusqu'à faire disparaître le cycle d'hystérésis. Ce comportement est cohérent avec les résultats analytiques.

Nous remarquons également que l'évolution de la phase du régime attractif est sensiblement identique une fois que l'oscillateur a bifurqué, de façon assez indépendante de A_0 . Ce résultat avait été prédit théoriquement. Cette variation est liée à la faible pente de la branche de phase φ_{A_-} dans le cadre de ce couplage.

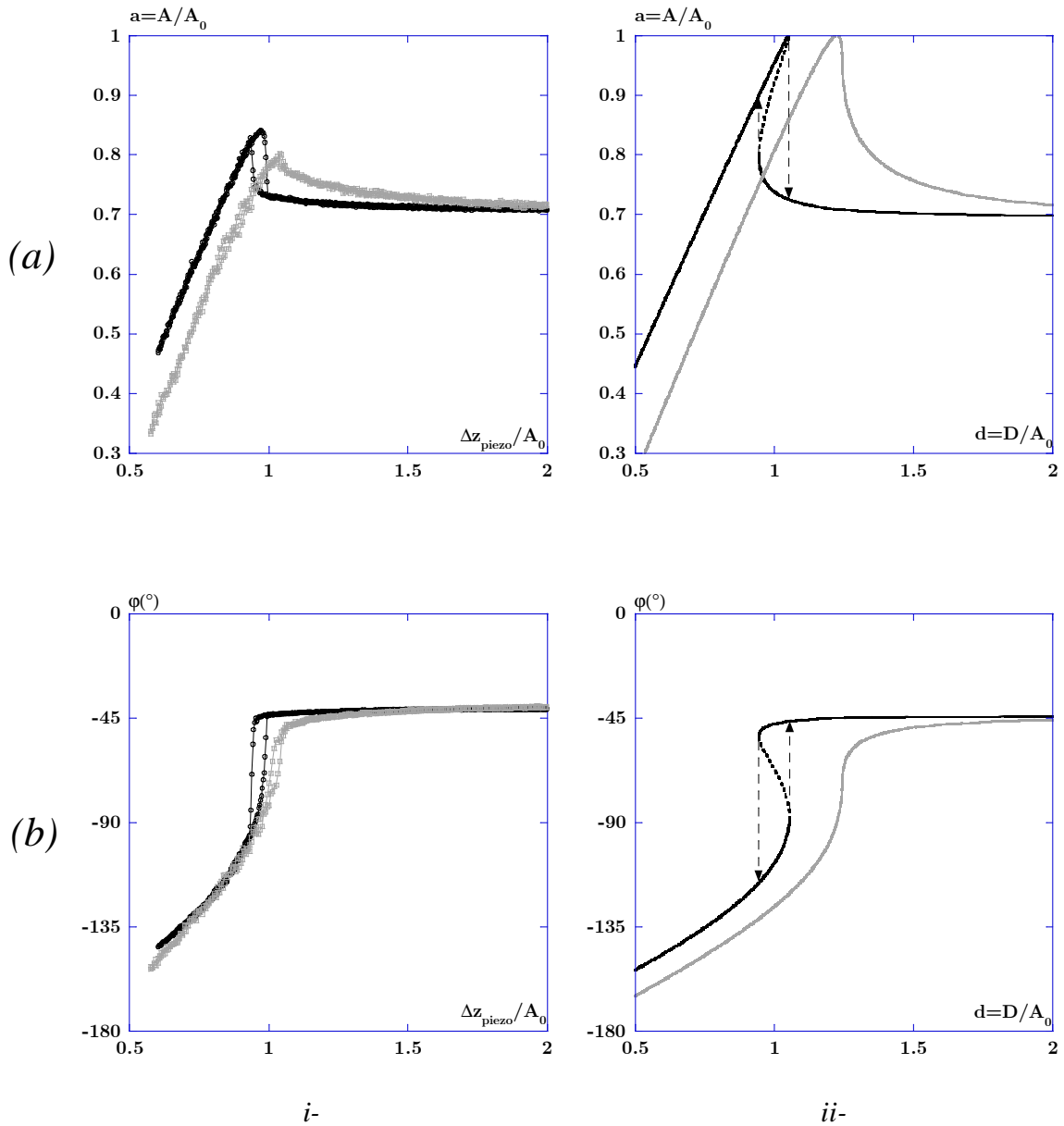


FIGURE II.18: Courbes d'approche-retrait expérimentales sur une surface de silice (indice *i*), et comparaison qualitative avec des courbes d'approche-retrait analytiques (indice *ii*) illustrant les situations de non-contact. Les paramètres expérimentaux et analytiques globaux sont $Q = 469$, $u = 0,9989$ et $\nu_0 = 185,130\text{kHz}$ définissant une amplitude et une phase libres respectivement égales à $a_l = 0,696$ et $\varphi_l = -44^\circ$. ($a_{i,ii}$)- Amplitude normée : $A_0 = 13\text{nm}$ (cercles vides et ligne continue noire respectivement pour les résultats expérimentaux et les courbes analytiques) et $A_0 = 6\text{nm}$ (carrés vides et ligne continue claire). Les courbes analytiques sont calculées pour $HR/k_z = 0,5\text{nm}^3$ définissant des κ_a égaux respectivement à $2,27 \cdot 10^{-4}$ et $2,31 \cdot 10^{-3}$. ($b_{i,ii}$)- Phase. La courbe de phase, située au-dessous de la valeur de -90° est caractéristique du régime attractif. La position expérimentale de la surface n'étant pas connue, le calage en d des courbes d'approche-retrait expérimentales est arbitraire (cf. texte).

II.3.d-ii Discussion

La normalisation à A_0 montre qu'expérimentalement l'amplitude des oscillations ne remonte jamais à 1 au moment du retrait, contrairement à ce qui est prévu théoriquement.

Il est en effet prédit que l'amplitude doit remonter à sa valeur à la résonance non-linéaire A_0^{nl} , strictement supérieure à A_0 en raison du couplage attractif. Dans le même temps, la bifurcation en phase ne se fait pas strictement à -90° mais à des valeurs régulièrement plus importantes, de l'ordre de -75° . Cette valeur n'est pas non plus caractéristique de la résonance non-linéaire. Le corollaire à cette observation est que la taille des cycles d'hystérésis en amplitude ou en phase est toujours plus faible que celle prédite par les résultats théoriques [69]. Ce résultat a été systématique pour toutes les pointes et surfaces que nous avons utilisées.

L'idée première pour expliquer ce comportement a été d'évoquer la stabilité des branches suivies par l'oscillateur. Selon les conditions, et en particulier dans les situations pour lesquelles le couplage est fort (κ_a petit), les branches attractives d_{A_+} et d_{A_-} de la relation II.3.3 sont très proches l'une de l'autre. Si des fluctuations thermiques, ou mécaniques, étaient suffisantes pour faire bifurquer l'oscillateur sur la branche d_{A_+} , instable, avant que l'oscillateur ait atteint A_0^{nl} , la bifurcation apparaîtrait pour une valeur de l'amplitude inférieure à 1 et la taille du cycle serait réduite.

La diminution de la taille du cycle expérimentale observée est pourtant systématiquement plus importante, de l'ordre de 20% en dessous de la valeur de A_0 . L'une des possibilités pour expliquer cette différence serait une erreur sur la normalisation des données expérimentales. S'il est indéniable qu'une incertitude est à prendre en compte pour l'évaluation de l'amplitude des oscillations, nous avons vu qu'elle était au plus, de l'ordre de 5%. Une incertitude de l'ordre de 20% est donc improbable.

II.3.e Processus de dissipation en non-contact

Des développements récents montrent que l'introduction de la dissipation de l'énergie de l'oscillateur dans la surface, alors qu'il est en non-contact, conduit à un meilleur accord avec les observations expérimentales. L'interaction attractive envisagée est toujours supposée d'origine dispersive.

Ces calculs permettent de souligner le rôle important que jouent les processus dissipatifs dans les courbes d'approche-retrait en décrivant en particulier la diminution de l'amplitude à la résonance non-linéaire en même temps qu'une valeur de la phase associée supérieure à -90° .

La mise en évidence de la contribution des processus de dissipation à la dynamique de l'oscillateur en microscopie de force dynamique a été accélérée par le NC-AFM, dont le principe suppose de maintenir l'amplitude à la résonance de l'oscillateur constante. L'observation expérimentale de l'augmentation de l'énergie à fournir pour conserver cette amplitude constante ("*damping factor*") en approchant la pointe de la surface a incité beaucoup d'équipes à se pencher sur le sujet [23, 84, 86–89]. Diverses origines ont été envisagées :

- ▶ B. Gotsmann *et al.* [86] présentent une étude détaillée de la boucle électronique d'asservissement qui conserve l'amplitude à la résonance constante pendant l'expérience. Ce point est important pour savoir si la déformation du pic de résonance peut induire une diminution d'amplitude.
- ▶ M. Gauthier et M. Tsukada [87] décrivent l'origine de la dissipation comme résultant d'un mouvement brownien sur la surface.
- ▶ L. Dorofeyev *et al.* [88] suggèrent un effet joule entre les matériaux conducteurs et la pointe conductrice qu'ils utilisent pour leurs expériences. Une dépendance de la distance Δ entre la pointe et la surface à la dissipation en Δ^{-4} est obtenue.
- ▶ Enfin la nôtre [84, 90] considère que la contribution principale à la dissipation est liée à la déformation locale de l'échantillon sous l'action de la pointe oscillante. La comparaison entre les résultats de NC-AFM sur une surface de graphite et les prédictions théoriques sont en très bon accord.

La description de la réponse mécanique locale de la surface est délicate. D'abord en raison du caractère local de la réponse. Dans la plupart des cas, des calculs numériques *ab initio* sont nécessaires [42, 43]. Ensuite pour la description de l'action de la pointe oscillante au-dessus de la surface. Une description analytique exacte de la force qu'exerce la pointe sur la surface requiert un développement en séries de Fourier et un traitement mathématique plus compliqué.

Une traduction analytique plus simple du problème revient à décrire deux régimes asymptotiques contrôlés par les temps caractéristiques de relaxation de l'échantillon par rapport à ceux de l'oscillateur, dont le temps de résidence de la pointe au voisinage de la surface, τ_{res} . Il dépend de l'amplitude des oscillations et de la distance de la pointe à la surface. Les situations envisagées ici étant celles de non-contact, il faut définir une distance de coupure caractéristique, $D_{cp} \lesssim 1nm$ (cf. figure II.19). Le temps de résidence peut ainsi s'écrire :

$$\tau_{res} = \frac{\arccos [(D - D_{cp})/A]}{\pi\nu} \stackrel{D-D_{cp} \simeq A}{\simeq} \frac{\sqrt{2\Delta/A}}{\pi\nu} \quad (\text{II.3.26})$$

$\Delta = (D - D_{cp}) - A$, s'apparente ici à une distance moyenne entre la pointe et la surface caractéristique de l'interaction.

Pour des temps de relaxation grands devant la période d'oscillation (de l'ordre de quelques micro-secondes), l'action de la pointe peut être réduite au terme de fréquence nul du développement de Fourier. Cette approximation est adaptée pour des matériaux particulièrement visqueux comme les polymères caoutchoutiques. La référence [91] décrit ainsi la force agissant sur la surface comme une fonction rectangulaire périodique. La variation d'amplitude obtenue est interprétée en termes de croissance d'une nanoprotubérance sur la surface sous l'action de la pointe oscillante et permet d'ajuster les résultats expérimentaux.

Par contre, la dissipation observée sur la surface de graphite en NC-AFM [84] correspond à des temps de relaxation plus courts que ceux de l'oscillation, caractéristiques de l'échelle moléculaire. Dans ce cas, il est possible de montrer que l'action de la pointe peut être correctement décrite par un pulse. En utilisant la transformée de Fourier du

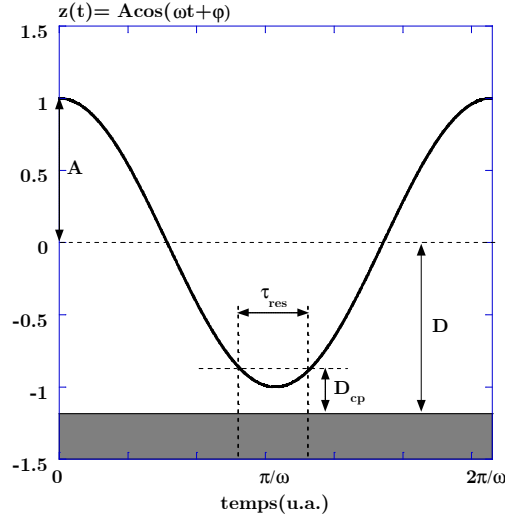


FIGURE II.19: Définition du temps de résidence de la pointe au voisinage de la surface.

pulse, une expression analytique est obtenue qui est à même de décrire la dissipation comme une conséquence directe de la réponse mécanique locale de la surface. La référence [84] décrit ces aspects techniques.

Dans le modèle, les surfaces sont représentées par un ressort de raideur k_s en parallèle avec un coefficient d'amortissement γ_s . Pour simplifier le propos, on suppose que l'échantillon ainsi décrit est couplé au milieu environnant, de masse M , mais qu'il ne présente qu'un seul temps caractéristique de relaxation $\tau = \beta^{-1} = M/\gamma_s$. Ainsi le paramètre qui caractérise l'un ou l'autre des deux régimes est la valeur de γ_s/k_s par rapport à τ_{res} .

Si le temps de relaxation est grand devant τ_{res} , $\tau_{res}k_s/\gamma_s \ll 1$, l'énergie moyenne dissipée par l'oscillateur dans la surface sur une période d'oscillation peut s'écrire [90] :

$$\langle E_{Dissip} \rangle_T \simeq \frac{(HR)^2}{36\pi\nu\Delta^{7/2}A^{1/2}} \frac{\sqrt{2}}{\gamma_s} \quad (\text{II.3.27})$$

Cette expression indique que les processus de dissipation vont être essentiellement contrôlés par le caractère visqueux de l'échantillon (dépendance en γ_s^{-1}).

Si les temps de relaxation envisagés sont beaucoup plus courts, $\tau_{res}k_s/\gamma_s \gg 1$, l'expression de l'énergie dissipée devient :

$$\langle E_{Dissip} \rangle_T \simeq \frac{(HR)^2}{36\Delta^4} \frac{1}{k_s} \quad (\text{II.3.28})$$

Cette expression indique que c'est la raideur locale qui contrôle la dissipation (dépendance en k_s^{-1}).

Le coefficient de frottement associé est déduit de la relation II.3.28 :

$$\beta_{eff}(\Delta, A) \simeq \frac{\nu_0}{k_z} \frac{(HR)^2}{18k_s \Delta^4 A^2} \quad (\text{II.3.29})$$

L'introduction de cette contribution supplémentaire à la dissipation de l'oscillateur dans l'air suppose un nouveau traitement variationnel. Le Lagrangien modifié conduit finalement au couple d'équations en non-contact :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_A) = Qa(1 - u^2) - \frac{aQ\kappa_a}{3(d_A^2 - a^2)^{3/2}} \\ \sin(\varphi_A) = -ua \left[1 + \frac{\beta_{eff}(\Delta, A)}{\beta_0} \right] \end{cases} \quad (\text{II.3.30})$$

En insérant l'expression de $\beta_{eff}(\Delta, A)$ dans l'expression du sinus et en éliminant la phase du système d'équations, on obtient un équation polynômiale complexe qui ne conduit pas à une relation analytique entre D et A . Cette équation ne peut donc être résolue que numériquement (le logiciel MapleVr4© permet de faire cela de façon directe).

La figure II.20 reporte la courbe d'approche-retrait calculée avec et sans dissipation de la surface. En l'absence de dissipation, on obtient une courbe d'approche-retrait usuelle de non-contact. Au retrait, l'amplitude atteint sa valeur à la résonance non-linéaire. L'effet le plus net de la contribution de la dissipation est la réduction de la taille du cycle d'hystérésis. Cela est en accord avec le résultat connu que la dissipation réduit l'influence des non-linéarités [71].

Lorsque l'oscillateur approche la surface, les amplitudes sont similaires. La différence principale apparaît au moment de la bifurcation où le saut d'amplitude est frustré. Sur la variation de phase, la dissipation réduit l'effet de l'interaction entre la pointe et la surface, donc la distorsion du pic de résonance, de sorte que l'instabilité est plus faible et le décalage réduit au-dessous de -90° . Pour des valeurs de la dissipation plus importantes, le saut de phase peut même disparaître.

La comparaison avec les résultats expérimentaux est donnée dans le chapitre IV décrivant le traitement des surfaces pour les dépôts d'ADN.

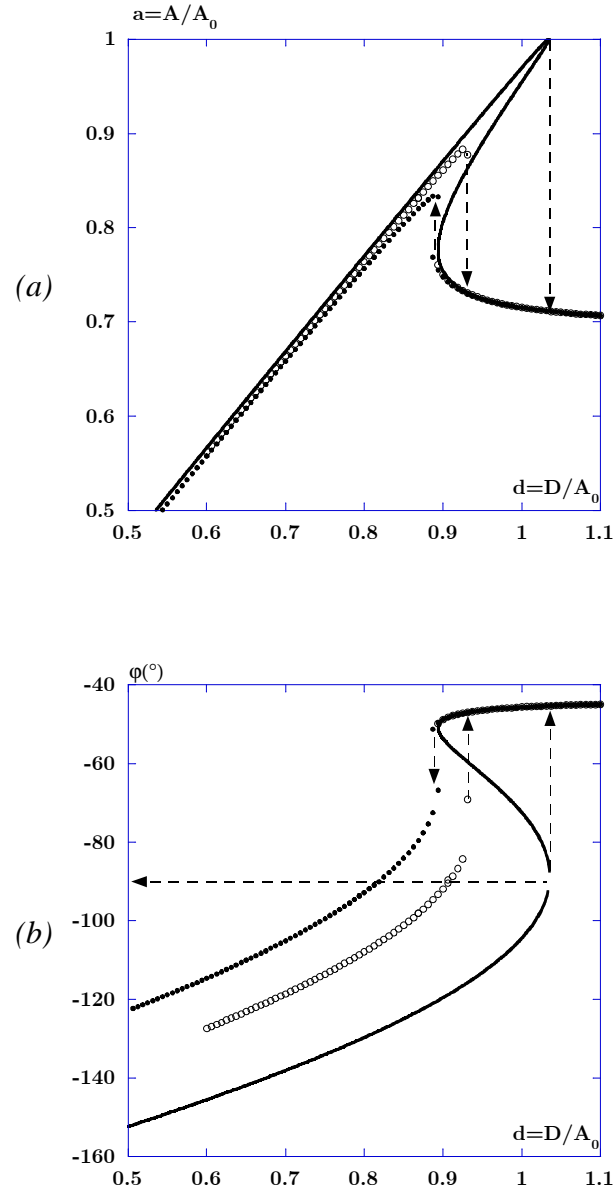


FIGURE II.20: Courbes d'approche-retrait de non-contact calculées à partir des relations II.3.30 illustrant la contribution de la dissipation en non-contact. Les paramètres sont: $HR = 5.10^{-27} \text{ J.m}$, $u = 0,9989$, $Q = 470$, $k_z = 40 \text{ N.m}^{-1}$, $A_0 = 16 \text{ nm}$, définissant une amplitude et une phase libres respectivement égales à $a_l = 0,7$ et $\varphi_l = -45^\circ$. Les flèches indiquent la taille du cycle d'hystérésis. La ligne continue est calculée sans dissipation. Les deux autres courbes sont calculées en résolvant les équations II.3.30 à partir d'une routine Maple avec une raideur locale $k_s = 1,2 \text{ N.m}^{-1}$ (cercles vides) et $k_s = 0,6 \text{ N.m}^{-1}$ (cercles pleins). Lorsque la dissipation augmente, le cycle d'hystérésis diminue et disparaît même complètement pour les plus fortes valeurs de la dissipation. Dans le même temps, le saut d'amplitude est réduit.

II.4 Situations de contact intermittent

Les situations envisagées jusque-là ont été celles pour lesquelles la pointe ne venait pas au contact de la surface pendant sa période d'oscillation. Nous envisageons maintenant qu'elle puisse le faire. La description des situations de contact intermittent est plus délicate que celle des situations de non-contact puisqu'il s'agit de décrire à la fois l'interaction attractive testée par la pointe sur l'intervalle de temps pendant lequel elle est au-dessus de la surface sans la toucher et l'interaction répulsive au contact. Par ailleurs, le contact intermittent conduisant à une réduction de l'amplitude des oscillations, il n'est susceptible d'être décrit que dans le mode Tapping.

Pour simplifier la présentation, nous considérons successivement la situation pour laquelle l'interaction attractive peut être négligée sur la période d'oscillation, conduisant à une interaction purement répulsive de la pointe avec la surface, puis celle pour laquelle les interactions attractive et répulsive sont considérées. Nous terminons en donnant des exemples expérimentaux en les comparant aux résultats analytiques.

Les hypothèses faites pour la description des situations de contact intermittent et les systèmes d'équations associés sont d'abord présentés.

Le premier élément à considérer est la forme du potentiel répulsif entre la pointe et la surface. Intégrer le potentiel de Van der Waals en r^{-6} atome-atome entre la pointe (sphérique) et un massif semi-infini conduit à une interaction proportionnelle à D^{-1} , si D est la distance entre la pointe et la surface. En intégrant sur les 2×3 dimensions des objets en regard, le potentiel perd donc 5 puissances. Le potentiel répulsif atome-atome en r^{-12} doit donc conduire, en le sommant de façon analogue à l'approche attractive, à un potentiel en r^{-7} . Dans ces conditions, les intégrales rencontrées dans les calculs conduisent à des relations difficilement exploitables.

En vue de simplifier la description, le potentiel répulsif envisagé sur l'intervalle de temps du contact de la pointe dans la surface obéit à la loi de Hook [60]. Le terme à inclure dans le Lagrangien de la relation II.2.18 est donc de la forme :

$$V_{int}(z) = \frac{k_s}{2} [z(t) - D]^2, \quad (\text{II.4.1})$$

avec $z(t) = A \cos(\omega t + \varphi)$ et $A > D$ puisque la pointe est au contact. $z(t) - D$, pour $z(t) \geq D$, définit l'indentation de la pointe dans la surface. k_s est la raideur de contact de la pointe dans la surface définie comme $k_s = E_s \phi$, si E_s est le module d'Young de la surface et ϕ le diamètre de l'aire de contact de la pointe dans la surface (cf. chapitre I, relation I.4.20). Dans le modèle, nous supposons ϕ constant et égal à la valeur de l'aire de contact entre la pointe et la surface au moment de leur contact : $z(t) - D = d_c$.

Dans ce modèle, la variation de la force entre la pointe et la surface est donc similaire à celle de la figure I.6 du chapitre I.4, excepté le modèle élastique. Il est plus simple que celui de type Hertzien qui y est représenté, la force variant ici linéairement avec l'indentation de la pointe.

La figure II.21 présente l'oscillation de la pointe au voisinage de la surface sur une période. Si D est la distance entre la position d'équilibre du levier et de la surface et

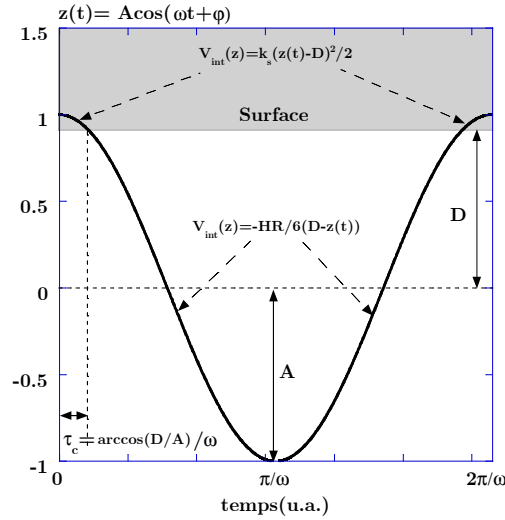


FIGURE II.21: Représentation schématique d'une oscillation de la pointe en contact intermittent avec la surface. Les unités de l'axe vertical sont arbitraires. La phase de l'oscillateur a ici été choisie nulle pour discuter de la contribution du temps de contact. Entre 0 et $2\tau_c$, la pointe est au contact. Elle est sensible sur cet intervalle à l'interaction répulsive de la surface modélisée dans ce cas par une force de rappel de raideur k_s . Elle est en non-contact sur l'intervalle de temps $T - 2\tau_c$ et est sensible à l'interaction de Van der Waals dispersive.

A l'amplitude de l'oscillation, l'intervalle de temps que passe la pointe au contact de la surface dure $2\tau_c = 2 \arccos(D/A)/\omega$. Pour $A = 10nm$, $D = 9,5nm$, définissant une indentation de la pointe dans la surface de 5\AA , et une période de $3\mu s$, $2\tau_c \simeq 0,3\mu s$. L'intervalle de temps de la pointe au contact est donc typiquement d'une dizaine de pourcentage de la période d'oscillation. Le potentiel répulsif est à prendre en compte sur cet intervalle et le potentiel attractif sur le reste de la période d'oscillation. Le potentiel à introduire dans le Lagrangien est, par symétrie, de la forme :

$$\begin{cases} V_{int}(z) = \frac{k_s}{2} [z(t) - D]^2 - \frac{HR}{6d_c}, \forall t \in]0; \tau_c] \\ V_{int}(z) = -\frac{HR}{6[D-z(t)]}, \forall t \in]\tau_c; T/2] \end{cases} \quad (\text{II.4.2})$$

Le terme en $HR/(6d_c)$ assure la continuité du potentiel lorsque la pointe passe du non-contact ($t \in]\tau_c; T/2]$) au contact ($t \in]0; \tau_c]$). d_c est la distance de contact définie précédemment $d_c = 0,165nm$.

II.4.a Interaction purement répulsive

Considérons d'abord le cas le plus simple pour lequel l'interaction attractive peut être négligée, c'est-à-dire $H = 0$. Dans ce cas, la pointe teste, sur chaque période d'oscillation, l'interaction purement répulsive liée à la surface. Ces situations peuvent être obtenues expérimentalement en travaillant avec de grandes amplitudes d'oscillations qui tendent à minimiser κ_a . Les situations de contact intermittent sont ainsi favorisées. D'autres situations expérimentales qui favorisent le contact en limitant la contribution de

l'interaction attractive sont celles des petites pointes qui restent en contact intermittent jusqu'à de faibles valeurs de A_0 , quelques nanomètres pour les plus fines.

Le détail des calculs est donné en annexe D. L'action associée à l'interaction répulsive est définie de 0 à τ_c . Pour conserver l'analyticité des calculs, nous faisons en outre l'approximation de faibles indentations de la pointe dans la surface, typiquement $(A - D)/A \ll 1$. Le principe variationnel donne le couple d'équations suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_R) = Qa(1 - u^2) + \frac{4\sqrt{2}}{3\pi} Q\kappa_s a \left(1 - \frac{d}{a}\right)^{3/2} \\ \sin(\varphi_R) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.4.3})$$

Les diverses grandeurs sont normées comme précédemment. Les solutions ne sont définies que pour $a > d$.

κ_s est un paramètre sans dimension défini comme le rapport entre la raideur de contact de la pointe dans la surface et la raideur du levier. κ_s est l'homologue de κ_a , en ce sens qu'il est un quotient de raideurs, mais cette fois-ci caractéristique de l'interaction répulsive :

$$\kappa_s = \frac{k_s}{k_z} \quad (\text{II.4.4})$$

La structure des équations est similaire à celle des situations de non-contact avec les termes caractéristiques de la cinétique de l'oscillateur (premier terme dans le cosinus et expression du sinus) et le terme d'interaction avec des préfacteurs numériques. La loi de puissance de d avec a est différente. Le signe "+" est caractéristique de l'interaction répulsive.

Résoudre le système d'équations II.4.3 conduit à la description de l'évolution de l'amplitude de l'oscillateur en fonction de la distance à la surface et des paramètres de l'interaction :

$$d_R = a \left\{ 1 - \left[\frac{3\pi}{4\sqrt{2}} \frac{Q(u^2 - 1) + \sqrt{1/a^2 - u^2}}{Q\kappa_s} \right]^{2/3} \right\} \quad (\text{II.4.5})$$

$$\varphi_R = \arctan \left\{ \frac{u}{Q(u^2 - 1) - \frac{4\sqrt{2}}{3\pi} Q\kappa_s \left(1 - \frac{d_R}{a}\right)^{3/2}} \right\} \quad (\text{II.4.6})$$

Des deux solutions obtenues lors des situations de non-contact, il ne reste dans ce cas qu'une seule branche de solutions (cf. annexe D). Le paramètre clef est maintenant $Q\kappa_s$ à la place de $Q\kappa_a$.

La pente de variation de l'amplitude avec d , $p(a) = \delta a / \delta d$, lors de la courbe d'approche-retrait est un élément fondamental. En Tapping, le paragraphe II.3.b-iv a montré que les situations de non-contact conduisent à des pentes égales ou légèrement supérieures à 1. Les situations de contact intermittent ne sont pas plus favorables pour augmenter la sensibilité verticale puisque la condition $A \geq D$ suppose que, au plus $A = D$, auquel cas

$p = 1$. Par contre, la pente du contact intermittent contient l'information de la réponse mécanique de la surface, via κ_s .

Selon la valeur de la pente du contact intermittent, différentes propriétés de la surface sont accessibles. Une pente à 1 conduit à une mesure de la topographie de la surface puisque dans ce cas, les réductions d'amplitude sont égales aux déplacements de la surface. Si la pente est plus faible que 1, les réductions d'amplitude ne sont plus égales aux déplacements verticaux. Elles signent l'indentation de la pointe dans la surface et sont alors caractéristiques de la réponse mécanique, donc du module élastique, de la surface [14].

En dérivant l'expression II.4.5 par rapport à a , il est possible d'obtenir l'expression de la pente de variation de l'amplitude en fonction de la distance lors d'une courbe d'approche-retrait :

$$p(a) = \frac{1}{1 + \frac{\beta(a)}{(Q\kappa_s)^{2/3}}}, \quad (\text{II.4.7})$$

où β est une fonction assez complexe de l'amplitude, de la fréquence réduite et de l'amplitude libre de l'oscillateur. La valeur maximale de β est de l'ordre de 5 et est atteinte pour une valeur de l'amplitude proche de l'amplitude libre (cf. en annexe D). Notons encore que la dépendance explicite de β avec a marque la dépendance non-linéaire de la réduction d'amplitude avec la distance.

Considérons un intervalle d'amplitudes compris entre une réduction d'amplitude donnée¹⁹ et l'amplitude libre sur lequel β puisse être considérée comme constante, et de l'ordre de sa valeur maximale, donc $\beta(a) \approx 5$. Pour $Q\kappa_s \gg \beta(a)^{3/2} \approx 10$, l'expression II.4.7 indique que la pente est égale à 1. Cette condition permet de donner une évaluation de la raideur de contact et donc du module maximal du matériau susceptible d'être testé par la pointe au-delà duquel la réponse de l'oscillateur sera donnée par une pente à 1. Au-dessous de cette valeur, la pente sera inférieure à 1 et la réponse mécanique du matériau accessible.

Les facteurs de qualité usuels à la pression atmosphérique sont de l'ordre de 400. Pour des raideurs des mêmes leviers de $30N.m^{-1}$, la condition précédente conduit à une raideur de contact $k_s \gg 10k_z/Q \approx 0,75N.m^{-1}$ et avec un diamètre de l'aire de contact caractéristique $\phi \approx 1nm$, la valeur du module pour lequel le matériau apparaît dur est $E_s \gg 0,75GPa$.

Ce critère explique également dans une certaine mesure pourquoi il est possible de faire du Tapping sur des matériaux mous, au-delà de l'argumentation sur les effets de limitation des forces de cisaillement. Le facteur de qualité définit en fait une raideur effective de la surface, $Q\kappa_s$. En mode contact, il n'est pas possible d'imager des surfaces de matériaux très mous car la contribution adhésive est trop importante et la pointe s'indente d'elle-même dans le matériau. Dans le cas du Tapping, la raideur effective – Q fois plus importante pour une pointe équivalente – évite à l'oscillateur de trop s'indenter et par la suite d'imager la surface.

¹⁹ La réduction d'amplitude envisagée ne doit pas être trop importante puisque les relations précédentes obtenues l'ont été dans le cadre de l'hypothèse de faibles indentations de la pointe dans la surface.

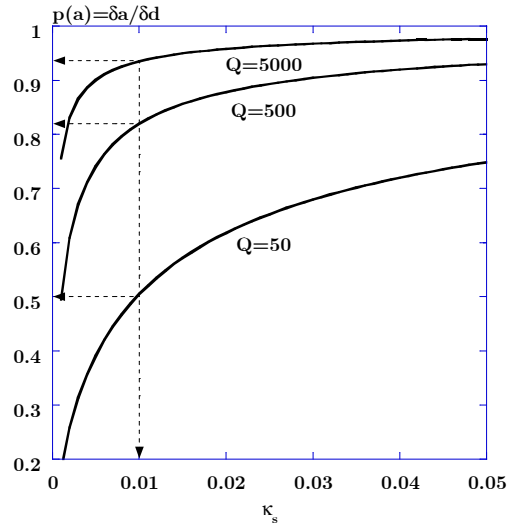


FIGURE II.22: *Effet du facteur de qualité de l'oscillateur sur la pente de réduction de l'amplitude avec la distance en fonction de κ_s . Plus le facteur de qualité est important, plus la pente tend vers 1. Pour $\kappa_s = 0,01$, $Q = 50, 500, 5000$ conduit respectivement à une pente égale à 0,5, 0,82 et 0,94. Pour de très grands facteurs de qualité, la réponse mécanique du matériau n'est plus accessible, seule la topographie de la surface est imagée (cf. texte).*

Pour illustrer l'influence de Q , la variation de la pente en fonction de κ_s pour trois valeurs de Q est représentée sur la figure II.22.

Ces résultats indiquent que la pente de la courbe d'approche-retrait augmente avec Q à κ_s constant. Plus Q est grand, plus la pente à 1 est atteinte rapidement.

Prenons par exemple des facteurs de qualité compris entre 20000 et 40000. Dans ce cas, les surfaces apparaissent dures même avec des modules compris entre 15MPa et $7,5\text{MPa}$, caractéristiques de matériaux très mous comme des élastomères. Imagés dans ces conditions, l'oscillateur ne serait sensible qu'à la topographie de la surface des échantillons et pas à leur réponse mécanique.

La figure II.23 présente une comparaison entre une courbe d'approche-retrait analytique obtenue à partir des expressions II.4.5, II.4.6 en amplitude et en phase et une simulation numérique pour une fréquence d'excitation inférieure à la fréquence de résonance. La simulation est obtenue à partir d'un algorithme similaire à celui précédemment introduit. Ces éléments sont détaillés en annexe E. L'équation de non-contact est remplacée par une équation au contact de la forme :

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) - \frac{k_s}{m^*} [z(t) - D] \quad (\text{II.4.8})$$

Les résultats numériques valident l'approximation des faibles indentations puisque l'accord entre les deux approches est bon jusqu'à des indentations de la pointe dans la surface de l'ordre de $0,3A_0$, c'est-à-dire de 6nm avec la valeur de A_0 de 20nm (cf. figure II.23(a)). Avec $\kappa_s = 0,0239$ et $Q = 50$, une pente de 0,22 est calculée alors qu'avec $Q = 5000$ et la même valeur de κ_s , la pente est de 0,93.

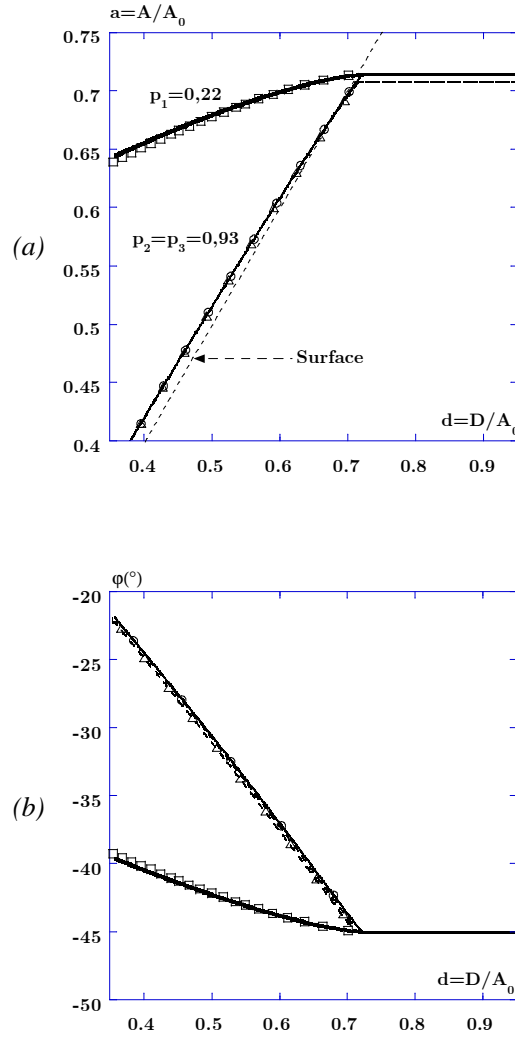


FIGURE II.23: Comparaison entre des courbes d'approche-retrait analytiques et les simulations numériques associées dans les situations de contact intermittent pour une interaction purement répulsive. Les paramètres globaux sont $A_0 = 20\text{nm}$, $k_z = 3,55\text{N.m}^{-1}$, $H = 0\text{J}$, $R = 5\text{nm}$. La position de la surface est donnée par les tirets fins. Les résultats numériques et les courbes analytiques calculées à partir de la relation II.4.5 ont été obtenus à partir de trois jeux de paramètres : i)- $Q = 50$, $u = 0,99005$, et $k_s = 0,085\text{N.m}^{-1}$ ($\kappa_s = 0,0239$, et $Q\kappa_s = 1,195$) : courbe analytique (ligne continue épaisse) et simulation numérique (carrés vides). La pente moyenne calculée à partir d'une régression linéaire a été évaluée sur cet intervalle de réduction d'amplitude à $0,22$. Même pour une faible valeur de κ_s , la comparaison entre les résultats numériques et analytiques donne une bonne correspondance jusqu'à une valeur de l'amplitude $a = 0,4$. Les conditions d'oscillations libres sont $a_l = 0,714$ et $\varphi_l = -45^\circ$. ii)- Mêmes paramètres que i, excepté $k_s = 0,85\text{N.m}^{-1}$ ($\kappa_s = 0,239$ et $Q\kappa_s = 11,95$) : courbe analytique (ligne continue fine), simulation numérique (cercles vides). Les conditions d'oscillations libres sont identiques à i. iii)- $Q = 5000$, $u = 0,99990$, et $k_s = 0,085\text{N.m}^{-1}$ ($\kappa_s = 0,0239$, et $Q\kappa_s = 119,5$) : courbe analytique (tirets fins dont la variation est confondue avec celle de ii) et simulation numérique (triangles vides). Pour ces deux derniers jeux de paramètres, des variations identiques sont obtenues sur le domaine de réduction d'amplitude envisagé avec des pentes $p_2 = p_3 = 0,93$. (a)- Amplitude normée. Ces résultats permettent d'évaluer l'approximation des faibles indentations faite pour conduire les calculs. (b)- Phase. La variation de phase est définie au-dessus de -90° et augmente à partir du contact de la pointe dans la surface.

Pour une fréquence d'excitation inférieure à la fréquence de résonance, la variation de phase est située au-dessus de -90° et augmente depuis sa valeur libre dès que la pointe rentre en contact avec la surface durant toute la courbe d'approche-retrait. Cela signifie que le cosinus de la phase est toujours positif (relation II.4.3). La branche suivie par l'oscillateur sur le pic de résonance est donc la branche u_- , rendue stable par la distorsion du pic vers les plus grandes fréquences en raison du signe de l'interaction considérée, par symétrie avec les situations de non-contact. Pour cette branche de fréquences d'excitation et en l'absence d'interaction attractive, les courbes ne présentent pas de cycle d'hystérésis.

L'augmentation de la phase et la réduction d'amplitude obtenues et observées (cf. paragraphe II.4.d) sont donc caractéristiques d'une *vraie* branche répulsive de solutions, par opposition à la branche pseudo-répulsive caractéristique de l'interaction attractive pour l'oscillateur déphasé de plus de -90° par rapport à l'excitation. A l'inverse, la branche u_+ présente des zones stables et instables.

En l'absence de dissipation en non-contact, ce résultat différencie de façon nette les situations de non-contact de celles de contact intermittent. Si les variations d'amplitude sont similaires (réduction d'amplitude), la phase de l'oscillateur est, par contre, caractéristique du régime attractif, ou répulsif qu'il teste. En d'autres termes, c'est le signe du cosinus de la phase de l'oscillateur, ou de façon équivalente la position de la phase par rapport à -90° , qui spécifie la contribution d'un régime par rapport à l'autre :

$$\begin{aligned} \cos(\varphi) > 0 &\iff -90^\circ < \varphi \leq 0^\circ \Rightarrow \text{Régime répulsif dominant} \\ \cos(\varphi) < 0 &\iff -180^\circ < \varphi \leq -90^\circ \Rightarrow \text{Régime attractif dominant} \end{aligned}$$

Les diverses situations expérimentales de non-contact ou de contact intermittent présentées ci-après sont décrites en termes de contribution dominante d'un régime par rapport à l'autre. Par extension, les courbes d'approche-retrait calculées seront également décrites en termes de régime attractif ou de régime répulsif dominant.

II.4.b Interactions répulsive et attractive

Une description plus réaliste des situations de contact intermittent, en particulier plus acceptable pour la description des situations d'amplitudes intermédiaires, est de considérer la contribution de l'interaction dispersive sur l'intervalle de temps pendant lequel la pointe n'est pas au contact de la surface durant sa période d'oscillation. La situation envisagée sur une demi-période (par symétrie) est donc que la pointe teste le potentiel répulsif sur l'intervalle de temps $[0; \tau_c]$ et l'interaction dispersive sur $[\tau_c; T/2]$ (cf. figure II.21).

En menant le calcul de façon directe, les intégrales ne sont pas analytiques. La difficulté majeure est liée à la divergence de l'attractif en $d = a$ et à la discontinuité des situations de non-contact/contact intermittent, inhérente à la façon dont le problème est étudié. Ces éléments sont discutés en annexe D.

Pour obtenir des solutions analytiques, l'hypothèse consiste à considérer l'interaction attractive sur toute la période d'oscillation, τ_c étant une partie faible de la période. Pour pallier cette difficulté et introduire à nouveau cette contribution dans l'équation au contact, la distance entre la pointe et la surface est posée égale à $d = a + \tilde{d}_c$, c'est-à-dire à la distance la plus proche de la surface. \tilde{d}_c est définie comme la distance de contact introduite au paragraphe I.4, $d_c = 0,165nm$, normée à l'amplitude à la résonance, $\tilde{d}_c = d_c/A_0$.

L'interaction attractive est donc évaluée sur toute la période d'oscillation de la pointe et à la distance la plus proche de la surface. Le système d'équations obtenu dans ces conditions est le suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_{AR}) = Qa(1 - u^2) + \frac{4\sqrt{2}}{3\pi}Q\kappa_s a \left(1 - \frac{d}{a}\right)^{3/2} - \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}\tilde{d}_c^{3/2}\sqrt{a}} \\ \sin(\varphi_{AR}) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.4.9})$$

Le terme répulsif est identique au cas de pur répulsif et l'introduction de la contribution attractive ajoute un terme au cosinus avec le signe “-” et une nouvelle dépendance en κ_a . Le sinus est inchangé puisqu'il n'a pas été introduit de dépendance en fonction de la vitesse.

La validité de l'hypothèse précédente est discutée au paragraphe II.4.c-ii à partir de la comparaison des résultats analytiques avec des simulations numériques qui ne font *a priori* aucune hypothèse sur la contribution de l'attractif sur la période d'oscillation en calculant exactement le comportement de la pointe oscillante selon sa position à la surface.

En résolvant le système II.4.9, l'expression de l'amplitude et de la phase en fonction de la distance dans le cadre de l'interaction attractive et répulsive est donnée par :

$$d_{AR} = a \left\{ 1 - \left[\frac{3\pi}{4\sqrt{2}} \frac{Q(u^2 - 1) + \sqrt{1/a^2 - u^2} + \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}(\tilde{d}_c a)^{3/2}}}{Q\kappa_s} \right]^{2/3} \right\} \quad (\text{II.4.10})$$

$$\varphi_{AR} = \arctan \left\{ \frac{u}{Q(u^2 - 1) - \frac{4\sqrt{2}}{3\pi}Q\kappa_s \left(1 - \frac{d}{a}\right)^{3/2} + \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}(\tilde{d}_c a)^{3/2}}} \right\} \quad (\text{II.4.11})$$

Là encore, une seule branche de solutions est obtenue (cf. annexe D). Comme dans le cas du pur répulsif, l'équation II.4.10 prédit une loi de puissance qui varie en $(Q\kappa_s)^{2/3}$, mais l'importance relative de cette contribution est maintenant modifiée par le terme attractif $Q\kappa_a$.

Une courbe d'approche-retrait en amplitude²⁰ complète requiert la combinaison de la branche de solutions donnée par la relation II.4.10 avec celles obtenues en pur attractif (relation II.3.3). La position de la surface “géométrique” est théoriquement située en $d = a$. L'introduction de la distance de contact $d = a + \tilde{d}_c$ évite la divergence de

²⁰ La discussion sur la courbe d'approche-retrait en phase est évidemment similaire.

l'interaction attractive et définit une surface "physique", par distinction de la surface géométrique, qui permet d'évaluer l'attractif. La conséquence de ce décalage de la position de la surface est que les branches de solutions d_{A+} , d_{A-} obtenues pour le non-contact et définies strictement pour $d > a$, pourraient en fait l'être en deçà de cette limite : $a < d_{A+}$, $d_{A-} < a + \tilde{d}_c$. Dans ce cas, elles ne sont plus des branches physiques.

La figure II.24 présente les variations de l'amplitude et de la phase pour une fréquence d'excitation inférieure à la fréquence de résonance.

Pour de faibles valeurs de κ_a , au point de bifurcation (point L), la branche de solution d_{A-} (φ_{A-}) est définie au-dessus de la surface physique $d = a + \tilde{d}_c$. Cela suppose que la pointe saute vers sa branche supérieure de contact intermittent d_{AR} (φ_{AR}) (point M). Avec la suite de l'approche de la surface, l'amplitude (phase) diminue (augmente) (point N). Au moment du retrait, l'oscillateur suit cette branche jusqu'à atteindre la valeur maximale en amplitude et en phase, solution de l'équation $d_{AR} = d_{A+}$ ($\varphi_{AR} = \varphi_{A+}$) (point O), ou de façon équivalente $d_{AR} = a + \tilde{d}_c$. A ce point, l'amplitude est plus grande que l'amplitude libre mais plus petite que l'amplitude à la résonance définie sur la courbe en $a = 1$. La phase est également inférieure à sa valeur libre mais définie au-dessus de la valeur caractéristique du non-contact de -90° . La variation de la phase est donc à nouveau caractéristique du régime répulsif testé par la pointe. La contribution attractive est augmentée par rapport aux situations de pur répulsif, mais n'est pas suffisante pour conduire à une situation de non-contact. La contribution du régime répulsif, pour lequel la phase est au-dessus de -90° , est encore dominante.

L'introduction de l'interaction attractive décale la branche de contact intermittent dans la surface. La courbe présente alors un cycle d'hystérésis qui n'existait pas dans le cas du pur répulsif dans les mêmes conditions d'excitation.

En continuant d'augmenter la contribution de l'attractif (des κ_a intermédiaires vers les plus grands), des structures plus complexes sont susceptibles d'être obtenues qui conduisent à un mélange de situations de contact intermittent et de pur non-contact. Ces éléments sont détaillés dans le paragraphe II.4.d où des résultats expérimentaux sont également présentés. L'effet de l'augmentation de l'attractif continue de décaler la branche de contact intermittent à l'intérieur de la surface jusqu'à une valeur seuil de κ_a qui correspond à la transition vers les situations de non-contact.

II.4.c Validation des équations

II.4.c-i Contribution de l'adhésion

L'une des difficultés de la description analytique des situations de contact intermittent est la discontinuité en $d = a$ déjà évoquée. La distance de contact a été introduite pour évaluer la contribution moyenne de l'attractif sur la période d'oscillation de la pointe au voisinage de la surface et donc contourner la difficulté.

La contribution de la force adhésive entre la pointe et la surface présentée au chapitre I.4 et qui correspond à la saturation de la force attractive à d_c , $\mathcal{F}_{adhésive} = -HR^*/(6d_c^2)$

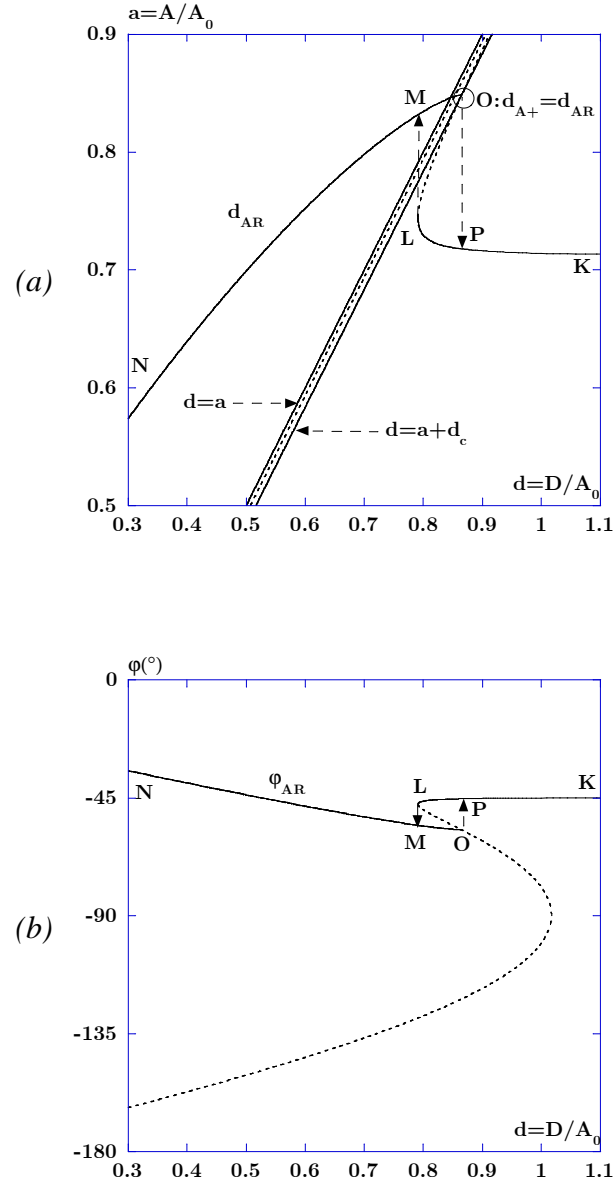


FIGURE II.24: Courbe d'approche-retrait analytique construite à partir des relations II.4.10 du contact intermittent et II.3.3 du non-contact (respectivement II.4.11 et II.3.4 pour la phase). Les paramètres sont $A_0 = 10\text{nm}$, $Q = 50$, $u = 0,9990$, $\kappa_a = 10^{-4}$, $\kappa_s = 0,1$. (a)- Amplitude normée. Les branches d_{A+} (ligne continue sur sa zone stable et tirets sur sa zone instable) et d_{A-} (toujours instable, en tirets) sont définies entre la position de la surface physique, $d = a + \tilde{d}_c$, et celle de la surface géométrique $d = a$, et donc situées au contact. Au point d'instabilité (L), la pointe bifurque vers sa branche de contact intermittent (cf. texte). La structure de la courbe exhibe un cycle d'hystérésis caractéristique de l'interaction attractive sur la période d'oscillation de la pointe au voisinage de la surface. (b)- Phase. La phase de l'oscillateur est définie au-dessus de -90° et indique que le régime répulsif est toujours dominant, malgré la contribution attractive. A titre de rappel la courbe du pur attractif est reportée en tirets. La structure qualitative de la courbe d'amplitude est identique à celles présentées jusque-là, mais la signature de phase est par contre caractéristique du contact intermittent.

(relation I.4.16) n'a toutefois pas été prise en compte. Cette contribution peut être introduite dans les calculs. Elle est évaluée dans l'action au même titre que la contribution répulsive puisqu'elle n'est envisagée qu'au contact. L'attractif est, par ailleurs, évalué de la même façon que précédemment. Les calculs conduisent au système d'équations couplées suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_{AR}) = Qa(1 - u^2) - \frac{\sqrt{2}}{3\pi} \frac{Q\kappa_a}{\tilde{d}_c^2} \sqrt{1 - \frac{d}{a}} + \frac{4\sqrt{2}}{3\pi} Q\kappa_s a \left(1 - \frac{d}{a}\right)^{3/2} - \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}\tilde{d}_c^{3/2}\sqrt{a}} \\ \sin(\varphi_{AR}) = -ua \end{cases} \quad (\text{II.4.12})$$

La contribution adhésive attractive intervient avec une dépendance en d . Le calcul de a en fonction de d reste analytique, mais il s'agit maintenant de résoudre une équation cubique complète dont la solution n'est pas aisément exploitable. Certains éléments relatifs aux calculs et à certaines approximations sont détaillés en annexe D. Le paragraphe suivant propose une évaluation numérique des hypothèses faites pour la conduite des calculs analytiques. L'introduction de l'adhésion sous cette forme est notamment discutée.

Des calculs récents considèrent une dépendance de la force adhésive avec l'indentation de la pointe dans la surface [92].

II.4.c-ii Evaluation des hypothèses à partir des simulations numériques

Les expressions analytiques de l'amplitude et de la phase ont été obtenues en faisant l'approximation du calcul de l'interaction attractive sur toute la période d'oscillation. Ce faisant, elle est surévaluée par rapport à sa contribution effective puisque elle est normalement saturée par la valeur de l'adhésion au moment du contact.

Ce paragraphe a pour objet d'évaluer la validité de cette hypothèse en comparant les résultats analytiques obtenus en présence d'adhésion à des simulations numériques qui calculent exactement chaque contribution. Les résultats sont présentés sur la figure II.25.

Les branches analytiques sont bien décalées à l'intérieur de la surface et indiquent que la contribution attractive au contact est surévaluée. Par contre, l'erreur commise dans les calculs est faible et répercutée à peu près linéairement avec la variation d'amplitude. Les calculs analytiques donnent donc une bonne évaluation de la contribution de l'interaction attractive dans les situations de contact intermittent.

La contribution de l'adhésion introduite sous cette forme est également en bon accord avec le calcul numérique. Qualitativement, ce terme attractif supplémentaire augmente la durée du contact de la pointe avec la surface et par conséquent la taille du cycle d'hystérésis de la courbe.

II.4.c-iii Pertinence du modèle élastique

Il reste encore à évaluer la validité d'un modèle élastique de contact purement harmonique. Une approche plus réaliste est introduite en utilisant un modèle élastique de contact Hertzien qui donne une dépendance non-linéaire entre l'indentation de la pointe

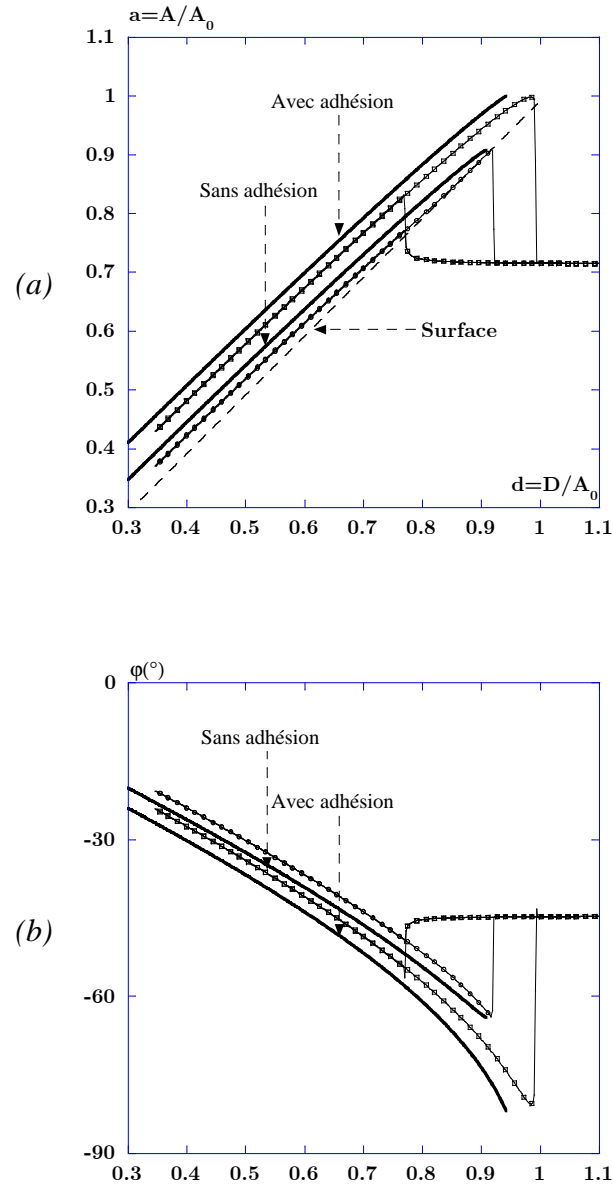


FIGURE II.25: *Evaluation des hypothèses nécessaires à la conduite des calculs analytiques concernant la contribution de l'interaction attractive (relation II.4.10) et de l'adhésion (relation II.4.12) au contact à partir des simulations numériques. Les paramètres analytiques et numériques globaux sont $A_0 = 20\text{nm}$, $Q = 50$, $u = 0,9900$ et $\nu_0 = 150\text{kHz}$. $HR/k_z = 10^{-19} \times 20 \cdot 10^{-9} / 4,44$ définissant une valeur de $\kappa_a = 5,6 \cdot 10^{-5}$. Sans contribution de l'adhésion : simulation numérique (cercles vides) et courbe analytique associée. Avec contribution du terme d'adhésion : simulation numérique (carrés vides) et courbe analytique associée. (a)- Amplitude normée. (b)- Phase.*

	Hertz		Hook		Equation II.4.10	
κ_s	[0, 707; 0, 55]	[0, 65; 0, 55]	[0, 707; 0, 55]	[0, 65; 0, 55]	[0, 707; 0, 55]	[0, 65; 0, 55]
18,99	0,99	0,99	0,98	0,98	0,975	0,98
4,08	0,95	0,96	0,935	0,95	0,93	0,95
0,87	0,87	0,89	0,83	0,86	0,84	0,86
0,19	0,69	0,73	0,65	0,69	0,65	0,70
Exposant α	0,81	0,77	0,71	0,68	0,67	0,66

TABLEAU II.2: Comparaison entre les résultats obtenus avec deux simulations numériques et la courbe analytique. Variations de la pente du contact intermittent en fonction de κ_s . Deux domaines de variations de l'amplitude réduite, a , ont été retenus et ajustés avec une régression linéaire : de l'amplitude libre, 0,707, à 0,55 et de 0,65 à 0,55. La fonction utilisée pour extraire l'exposant α est $p = 1/(1 + C/\kappa_s^\alpha)$.

dans la surface et la force élastique. L'introduction dans les calculs de ce modèle ne conduit pas à des solutions analytiques.

L'approche numérique permet par contre de dire que les résultats présentés jusque-là restent qualitativement corrects en termes de contribution du potentiel répulsif à la structure des courbes d'amplitude et de phase. La différence principale introduite concerne la variation de la pente du contact intermittent en fonction de la raideur de contact. En ajustant les variations d'amplitude des courbes d'approche-retrait analytiques (équation II.4.10) et numériques (non représentées) avec une régression de la forme $1/(1 + C/\kappa_s^\alpha)$, les exposants obtenus sont légèrement supérieurs à ceux de l'approximation harmonique (cf. tableau II.2 et figure II.26).

Pour des valeurs raisonnables de κ_a , sur l'intervalle de réduction d'amplitude considéré, les résultats numériques et analytiques donnent une loi de puissance proche de $2/3$. Une analyse simple de la relation II.4.10 indique qu'avec les grandes amplitudes, l'influence de l'attractif est réduite puisque κ_a tend asymptotiquement vers 0. La branche de solutions tend vers celle du pur répulsif obtenue à partir de la relation II.4.5.

Donc avec une grande amplitude d'oscillation, il devient plus simple d'avoir accès quantitativement aux propriétés mécaniques locales de la surface. Cette discussion est toutefois à modérer selon la valeur du facteur de qualité qui peut limiter l'accès à cette réponse.

II.4.c-iv Processus de dissipation en contact intermittent

L'une des limitations importante du modèle est la description des processus de dissipation de la pointe au contact de l'échantillon, qui n'est évoquée à aucun moment. La dissipation de l'énergie de l'oscillateur dans la surface peut être envisagée sous la forme d'un frottement visqueux de la pointe dans la surface et, selon le processus de dissipation, à une loi de puissance du coefficient de frottement de l'échantillon. Dans les simulations numériques, des résultats préliminaires nous permettent de déduire de grandes tendances de comportements en considérant ce modèle simple. Ces résultats préliminaires seront utilisés pour l'étude des séquences d'ADN dans le dernier chapitre.

Des calculs récents ont été réalisés en considérant diverses descriptions des processus de dissipation : dissipation constante, dissipation en surface et en volume... Nous ne détaillons pas ces éléments ici et renvoyons en référence [93].

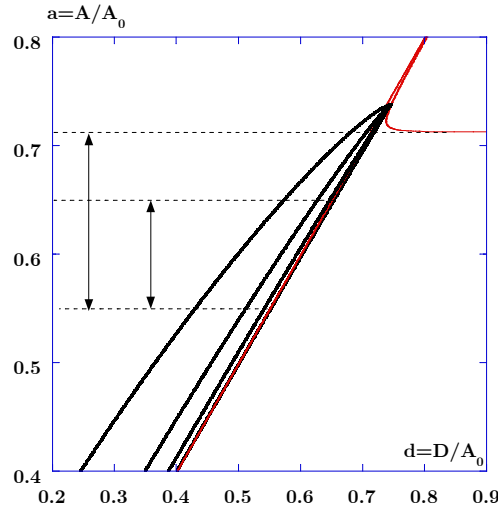


FIGURE II.26: Courbes d'approche-retrait analytiques calculées à partir de la relation II.4.10. Les paramètres analytiques et numériques sont $A_0 = 20nm$, $Q = 50$, $u = 0,99$ et $\kappa_a = 5,7 \cdot 10^{-6}$. Les modules d'Young sont 100, 10, 1 et 0,1GPa définissant des κ_s respectivement égaux à 18,99, 4,08, 0,87 et 0,19. Les flèches indiquent les domaines de variation de l'amplitude retenus qui sont ajustés par une régression linéaire.

Pour des matériaux durs tels que ceux envisagés jusqu'à présent (surfaces de silice ou de silice greffée), l'introduction de la dissipation au contact sous cette forme ne semble pas pertinente puisque l'indentation de la pointe dans la surface est faible. En conséquence, il est raisonnable de penser que la contribution de la dissipation au contact de la pointe dans la surface est négligeable.

En l'absence de signatures expérimentales nettes, nous envisageons que les processus de dissipation en contact intermittent sur les matériaux durs sont négligeables devant ceux liés au non-contact.

II.4.d Résultats expérimentaux et discussion

II.4.d-i Résultats expérimentaux

La figure II.27 présente une évolution de la structure de courbes d'approche-retrait expérimentales enregistrées sur une surface de silice comparées à celle de courbes calculées en diminuant la valeur de A_0 . Puisque nous avons vu que la phase de l'oscillateur était caractéristique du régime testé par la pointe, seules les variations de phase sont reportées.

Pour de faibles valeurs de κ_a ($3,5 \cdot 10^{-6}$ et $0,82 \cdot 10^{-6}$ sur la figure II.27(a_{ii})), associées à des valeurs de A_0 grandes (20 et 7nm, respectivement), la courbe d'approche-retrait est celle de la figure II.24. Le régime répulsif est dominant et la courbe présente un cycle d'hystérésis (cycle B_1 , C_1 , E_1 , F_1). Pour les plus grandes amplitudes, on tend asymptotiquement vers les situations de pur répulsif.

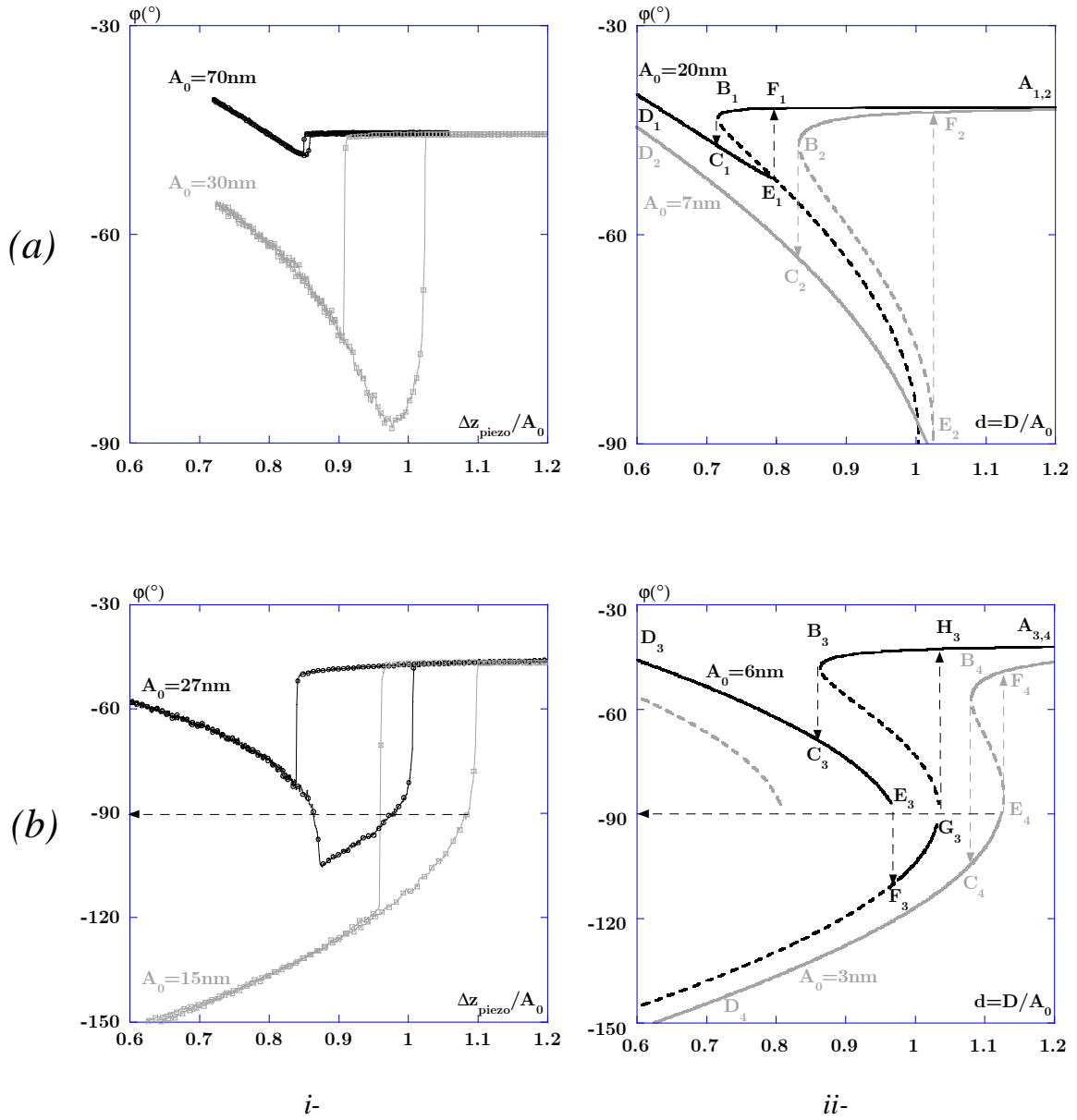


FIGURE II.27: Comparaison de différentes courbes d'approche-retrait expérimentales en phase (indice *i*) enregistrées sur une surface de silice et analytiques (indice *ii*) obtenues à partir de la relation II.4.11. Les courbes d'approche-retrait expérimentales ont été enregistrées avec différentes pointes de sorte que nous ne précisons pour chacune de ces données que les valeurs de A_0 . Pour la cohérence de la présentation, les conditions d'oscillations libres sont similaires, conduisant à une phase libre de l'ordre de -45° . Les paramètres globaux des courbes analytiques sont $Q = 400$, $u = 0,9986$, $HR/k_z = 0,028\text{nm}^3$ et $\kappa_s = 0,1$. Les courbes analytiques en tirets ne peuvent pas être atteintes par l'oscillateur. (a_i)- Résultats expérimentaux. Le régime répulsif est encore dominant. (a_{ii})- Courbes analytiques. (b_i)- Résultats expérimentaux. Une structure de bifurcation similaire à celle de la courbe analytique est observée. Pour les plus faibles valeurs d'amplitude, le régime attractif est dominant conduisant à une situation de pur non-contact. La branche de contact intermittent ne peut pas être atteinte. (b_{ii})- Structures analytiques de bifurcations plus complexes en continuant d'augmenter la contribution de l'attractif.

Pour une valeur plus importante de κ_a , les branches φ_{A_+} et φ_{AR} se rejoignent au plus en -90° , mais cette situation est encore caractéristique d'une situation de contact intermittent. Les résultats expérimentaux obtenus sont en bon accord avec cette tendance. En particulier l'augmentation de la taille du cycle d'hystérésis normée est nette.

Lorsque κ_a est encore augmenté (cf. figure II.27($b_{i,ii}$)), l'oscillateur bifurque à l'approche vers sa branche de contact intermittent. Mais au moment du retrait, la branche φ_{AR} , décalée vers l'intérieur de la surface en raison de l'augmentation de l'interaction attractive, atteint la valeur de -90° avant d'avoir rencontré φ_{A_+} (point E_3). L'oscillateur bifurque alors vers φ_{A_-} (point F_3). Cette situation conduit à un second comportement bistable de l'oscillateur avec une situation intermédiaire de pur non-contact (branche F_3 , G_3). La fin du retrait de la surface se fait comme pour une courbe classique de non-contact et conduit donc à une troisième instabilité (point H_3). Ce comportement "tristable" a également été obtenu numériquement.

Pour les plus grandes valeurs de κ_a , la branche de solutions φ_{AR} est définie trop loin dans la surface pour être atteinte au moment de l'instabilité à l'approche. L'oscillateur bifurque vers sa branche stable de non-contact et suit la structure usuelle de la courbe de non-contact. Les résultats analytiques sont encore en très bon accord avec les mesures expérimentales.

Si les courbes de pur non-contact ne sont pas difficiles à obtenir expérimentalement, probablement parce que les pointes présentent dans leur grande majorité des rayons suffisamment importants, les situations de multi-instabilités sont plus difficiles à observer. Ce résultat est lié à la proximité des branches de contact intermittent et de non-contact. L'attractif variant en A_0^{-3} , le domaine de sensibilité en amplitude est très restreint. Expérimentalement, il faut parfois varier l'excitation au dixième de volt près avant de trouver la situation recherchée.

II.4.d-ii Discussion

La normalisation de l'amplitude à A_0 permet de mettre en évidence l'effet de l'augmentation de l'attractif en augmentant la taille du cycle d'hystérésis. Pour les situations de contact intermittent, la normalisation conduit à une augmentation continue de la taille du cycle avec la réduction de l'amplitude.

La mesure de l'évolution de la phase en diminuant la valeur de A_0 permet également de mettre en évidence l'augmentation de la contribution attractive. La taille du cycle augmente tant que le régime répulsif reste dominant, puis dès que le régime attractif devient dominant, la phase bifurque au-dessous de -90° .

Dès que le non-contact apparaît, la taille du cycle d'hystérésis diminue avec la réduction de l'amplitude. Nous avons vu que ce résultat a vraisemblablement pour origine – puisqu'il semble difficile de l'imputer à la proximité de la branche stable et instable – la dissipation de l'énergie de l'oscillateur dans la surface en non-contact. Nous évaluons ci-après la contribution de la dissipation de l'oscillateur pendant l'intervalle de temps de non-contact de l'oscillation sur les courbes d'approche-retrait du contact intermittent.

L'évolution typique de la taille du cycle d'hystérésis des courbes d'approche-retrait normées à A_0 en diminuant l'amplitude des oscillations est donc d'abord une augmentation – caractéristique de l'augmentation de l'interaction attractive au contact –, puis une diminution – caractéristique des processus de dissipation en non-contact –. La figure II.28 présente une succession de courbes d'approche-retrait expérimentales normées obtenues sur une surface de silice. Pour les situations de non-contact, on retrouve que la phase varie lentement et que sa variation est quasiment indépendante de la valeur de A_0 .

II.4.e Processus de dissipation en non-contact

De façon similaire aux situations de non-contact, l'équation II.4.9 peut être remplacée par $\sin(\varphi) = -ua(1 + \beta_{eff}(\Delta, A)/\beta_0)$.

Pour une surface dure, pour laquelle la pente du contact intermittent est égale à 1, l'expression de $\beta_{eff}(D, A)$ peut être simplifiée. Dans cette situation, l'indentation de la pointe dans la surface devient négligeable, de l'ordre de la distance de contact, d_c . Nous considérons alors une distance pointe-surface effective $\bar{\Delta}$ au-dessous de laquelle l'action de la pointe devient significative, typiquement $\bar{\Delta} \simeq 0,5nm$. Il ne reste donc dans l'expression de β_{eff} qu'une dépendance explicite en fonction de l'amplitude :

$$\beta_{eff}(A) \simeq \frac{\nu_0 (HR)^2}{k_c} \frac{1}{18k_s} \frac{1}{\bar{\Delta}^4} \frac{1}{A^2} \quad (\text{II.4.13})$$

La relation $d = f(a)$ peut maintenant être obtenue en remplaçant dans les équations II.4.10 et II.4.9 le produit au par $au(1 + \beta_{eff}(A)/\beta_0)$:

$$d_{AR} = a \left\{ 1 - \left[\frac{3\pi}{4\sqrt{2}} \frac{Qa(u^2 - 1) + \sqrt{1 - \left[au \left(1 + \frac{\beta_{eff}}{\beta_0} \right) \right]^2} + \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}\bar{d}_c^{3/2}\sqrt{a}}}{Q\kappa_s a} \right]^{2/3} \right\} \quad (\text{II.4.14})$$

$$\sin(\varphi) = -au \left(1 + \frac{Q}{\pi k_c} \frac{(HR)^2}{18k_s} \frac{1}{\bar{\Delta}^4} \frac{1}{A^2} \right) \quad (\text{II.4.15})$$

Les équations précédentes donnent le couple d'équations susceptible de décrire les résultats expérimentaux dans les situations de contact intermittent. La figure II.29 reporte les courbes de phase théoriques pour différentes valeurs de k_s .

Une comparaison avec des résultats expérimentaux permet de montrer l'apport pratique des équations décrivant l'influence de la dissipation en non-contact. (cf. figure II.30). Nous renvoyons par ailleurs à la référence [90] pour plus d'exemples d'illustrations.

Par ailleurs, l'analyse qualitative des relations précédentes indique un élément important. Dès que la pente est égale à 1, c'est-à-dire pour $Q\kappa_s \gg 10$, les variations d'amplitude deviennent insensibles à l'intensité de l'interaction attractive ou à l'augmentation de la dissipation.

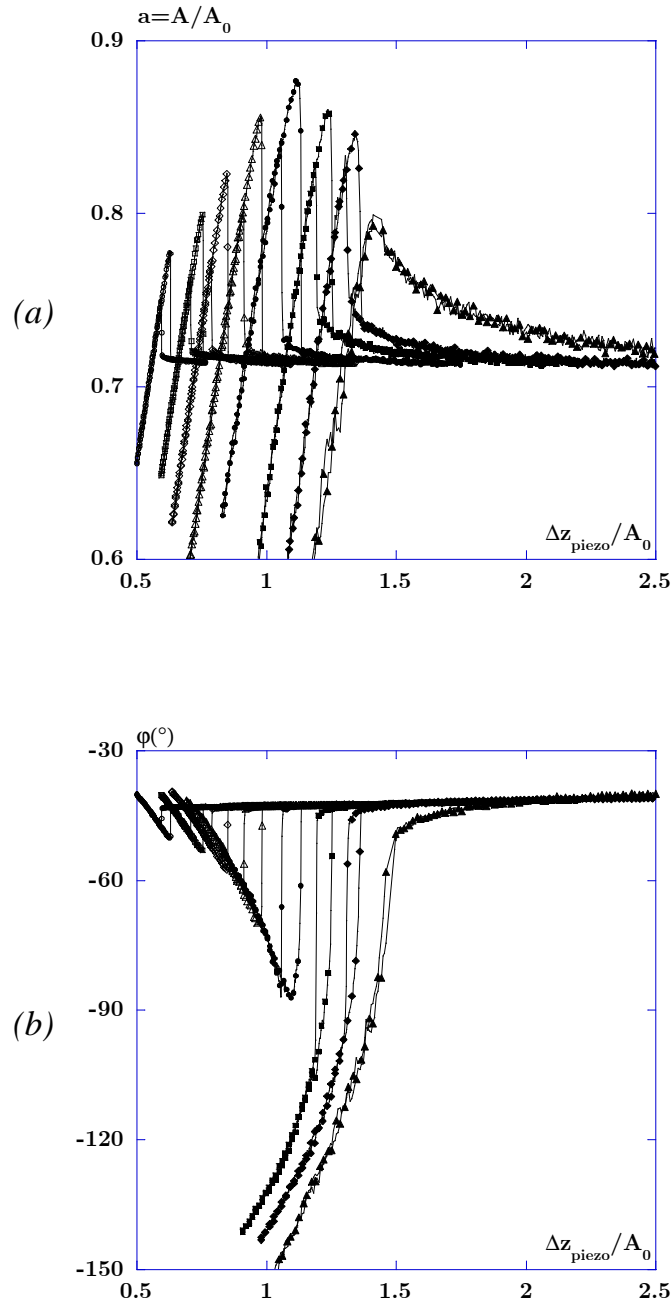


FIGURE II.28: Evolution de la taille du cycle d'hystérésis des courbes d'approche-retrait expérimentales en amplitude et en phase enregistrées sur une surface de silice. Les paramètres expérimentaux sont $Q = 469$ et $u = 0,9989$ et $\nu_0 = 185,130\text{kHz}$, définissant une amplitude et une phase libres respectivement égales à $a_l = 0.696$ et $\varphi_l = -44^\circ$. Les positions verticales ont été arbitrairement décalées les unes par rapport aux autres de façon à montrer l'évolution complète. (a)- Amplitude normée. $A_0 = 76$ (cercles vides), 57 (carrés vides), 44 (losanges vides), 32 (triangles vides), 22 (cercles pleins), 16 (carrés pleins), 13 (losanges pleins), et 6nm (triangles pleins). (b)- Phase.

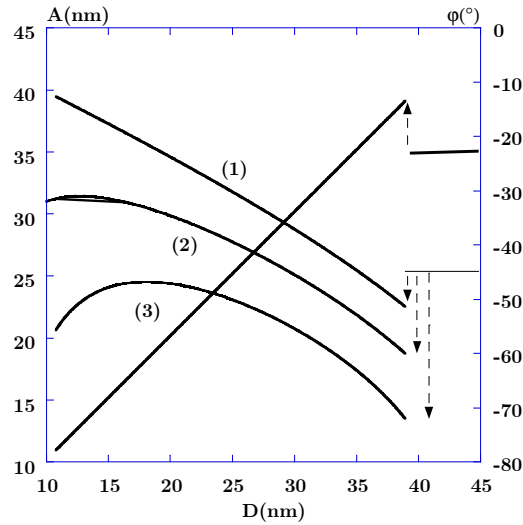


FIGURE II.29: Courbes d'approche-retrait théoriques en amplitude et en phase illustrant la contribution de la dissipation en non-contact dans les situations de contact intermittent. Les paramètres sont identiques à ceux utilisés dans la figure II.20, exceptée la valeur de $A_0 = 50\text{nm}$ et consécutivement $A_l = 35\text{nm}$. La courbe de phase (1) est calculée avec l'équation II.4.11 sans dissipation. Les courbes de phase (2), $k_s = 1,2\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$, et (3), $k_s = 0,6\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$, le sont avec l'équation II.4.15. Contrairement aux situations de non-contact, le saut de phase augmente lorsque la dissipation augmente.

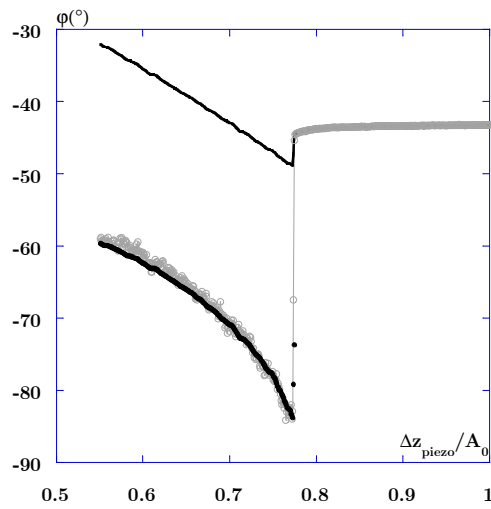


FIGURE II.30: Exemple d'ajustement de données expérimentales en phase illustrant la contribution de la dissipation en non-contact pour les situations de contact intermittent. La ligne continue sombre est obtenue en calculant la phase à partir de la relation II.4.11. Les cercles pleins sont les ajustements déduits à partir de la relation II.4.15. Les données expérimentales (cercles vides clairs) ont été obtenus sur une surface de silice greffée avec des molécules de silanes comme celles que nous utiliserons au chapitre IV. Ici $A_0 = 44\text{nm}$ et $Q = 410$, les autres paramètres expérimentaux y seront explicités. Les paramètres numériques pour calculer l'ajustement sont : $k_z = 40\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$, $HR = 11,5 \cdot 10^{-27}\text{J}\cdot\text{m}$, $k_s = 0,6\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$, $\bar{\Delta} = 0,5\text{nm}$.

C'est une conséquence directe du fait qu'une pente à 1 ne distingue pas un substrat infiniment dur intrinsèquement d'une surface pour laquelle la raideur locale vérifie $Q\kappa_s \gg 10$. En d'autres termes, les courbes en amplitude ne sont utiles que pour extraire des données quantitatives de la raideur de contact de matériaux suffisamment mous pour conduire à des pentes du contact intermittent inférieures à 1. Donc concernant les matériaux durs, ce sont les variations de phase qui contiendront le plus d'informations.

II.5 Exploitation expérimentale du modèle analytique

En raison du comportement non-linéaire de l'oscillateur et du mélange des situations de contact intermittent et de non-contact, nous avons vu que des situations complexes de bifurcations peuvent survenir comme celle présentée en figure II.27. Mais si ces structures sont difficiles à observer expérimentalement en raison de la proximité des zones de bifurcation du contact intermittent vers le non-contact puis vers la branche libre de l'oscillateur, d'autres situations, non prévues par le modèle peuvent être observées.

Dans cette partie, nous présentons quelques résultats expérimentaux caractéristiques et montrons comment il est possible d'exploiter le modèle pour décrire qualitativement la réponse de l'oscillateur.

II.5.a Evaluation de la taille et de la pollution de la pointe

Les résultats expérimentaux présentés en figure II.31(a), (b) sont des courbes d'approche-retrait expérimentales dont on ne reporte que la variation de phase. Elles ont été obtenues sur des surfaces de silice avec deux pointes différentes.

L'importance relative du paramètre $Q\kappa_a$, peut être mise en évidence en variant l'amplitude d'excitation, donc A_0 , ou en utilisant une grosse pointe. L'origine de sa taille importante pourrait être, par exemple, qu'elle ait été cassée. Les résultats de la figure II.31 ayant été obtenus sur des surfaces de silice avec des pointes constituées du même matériau, la constante de Hamaker de l'interface est la même. La variation de comportement observée, pour des conditions d'oscillations similaires, est ainsi imputable à la taille de la pointe.

Avec la première pointe (cf. figure II.31(a)), la figure montre que le régime attractif pur, indiqué de façon non ambiguë par la variation de phase, apparaît dès $A_0 = 23nm$.

Avec la seconde, le régime attractif pur n'apparaît que pour les faibles valeurs de A_0 , environ $4nm$. On déduit de ce résultat que la pointe est plus petite que la précédente et dans ce cas particulier, le rayon est probablement très faible. Pour un tel rayon de pointe, la bifurcation est plus difficile à observer et la phase traverse la valeur de -90° continûment.

Pour avoir une évaluation relative des rayons de pointe, il faut reprendre l'expression du cosinus de l'équation II.4.9 qui décrivait les situations de contact intermittent en présence

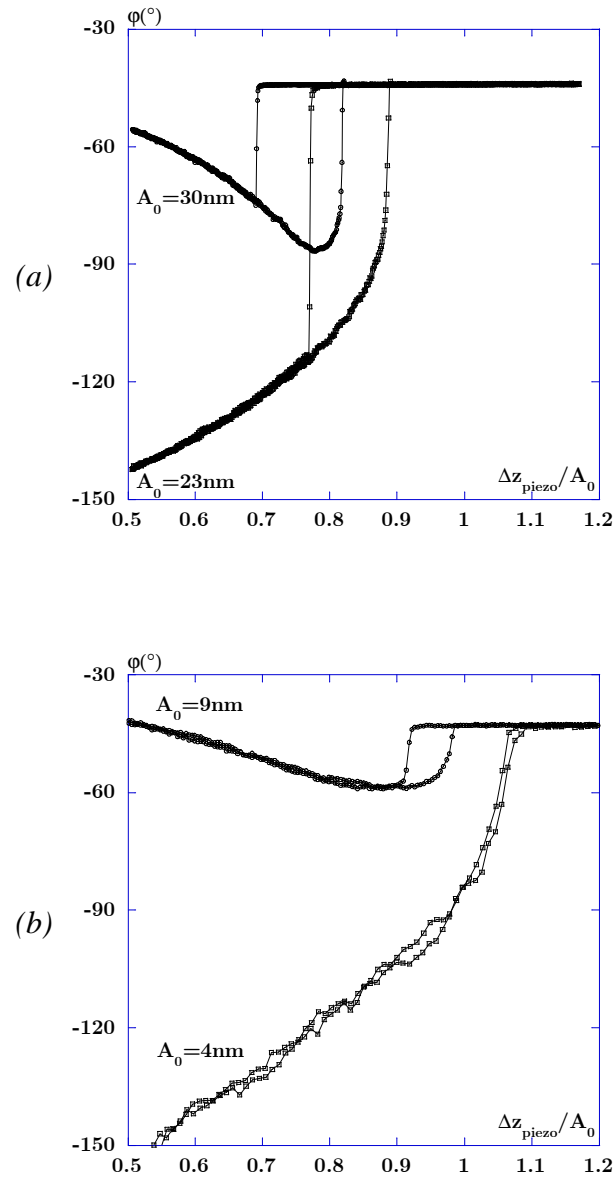


FIGURE II.31: Variation de phase de courbes d'approche-retrait expérimentales obtenues sur une surface de silice avec deux pointes différentes. (a)- Les paramètres expérimentaux sont $Q = 510$, $u = 0,99899$ et $\nu_0 = 185,130\text{kHz}$. La phase libre associée est donc $\varphi_l = -44^\circ$. $A_0 = 30\text{nm}$ (cercles vides) et 23nm (carrés vides). Le non-contact apparaît dès $A_0 = 23\text{nm}$ ce qui suggère que le rayon de la pointe est important (cf. texte). (b)- Les paramètres expérimentaux sont $Q = 450$, $u = 0,99880$ et $\nu_0 = 278,809\text{kHz}$. La phase libre associée est donc $\varphi_l = -43^\circ$. $A_0 = 9\text{nm}$ (cercles vides) et 4nm (carrés vides). Pour $A_0 = 9\text{nm}$, le régime répulsif reste dominant et le non-contact n'apparaît que pour $A_0 = 4\text{nm}$. Dans ce cas, le rayon de la pointe est probablement très faible. Pour cette valeur de l'amplitude, le cycle d'hystérésis a disparu – résultat attendu –, mais du bruit est introduit. Elle est une valeur limite de l'amplitude des oscillations mesurable.

d'attractif. S'il est supposé que pour chaque pointe les conditions d'oscillations sont identiques et que les leviers présentent une même raideur, la constante de Hamaker de l'interface étant la même, l'apparition des situations de non-contact se fait pour des valeurs identiques des termes attractifs, $\kappa_a/\tilde{d}_c^{3/2}$, soit: $(\kappa_a/\tilde{d}_c^{3/2})_2 \simeq (\kappa_a/\tilde{d}_c^{3/2})_1 \implies R_1/R_2 \simeq (A_{0_1}/A_{0_2})^{3/2}$. Il existe donc un facteur $(23/4)^{3/2} \simeq 14$ de différence de taille entre les deux rayons. Si le rayon de la pointe la plus fine est fixé à $5nm$, celui de la plus importante vaut $70nm$.

II.5.b Evaluation de la pollution de la surface

Le second exemple concerne la mise en évidence de la pollution de la surface. Le modèle théorique prédit des structures de bifurcation de la branche de contact intermittent vers la branche de non-contact, mais pas l'inverse. Il est pourtant assez fréquent d'observer de telles transitions. La figure II.32 présente une courbe d'approche-retrait expérimentale obtenue sur une surface de mica.

Pour une grande amplitude, $A_0 = 41nm$, les variations caractéristiques de contact intermittent sont obtenues. Pour une amplitude plus faible, $A_0 = 32nm$, l'oscillateur bifurque initialement sur sa branche de non-contact. Dans ces conditions, la branche de contact intermittent ne doit pas être atteinte. Pourtant pour une réduction d'amplitude donnée, $a \simeq 0,6$ sur la figure, une brusque transition vers la branche de contact intermittent est observée. Ce comportement est non ambigu à la lecture de la variation de phase. Corrélativement, un saut en amplitude est observé.

Pour expliquer la transition de la situation de non-contact vers celle de contact intermittent, l'hypothèse la plus raisonnable est la présence d'une pollution sur la pointe et/ou sur la surface. Ce comportement peut être expliqué par le fait que la force attractive moyenne sur une période d'oscillation varie en $1/\sqrt{A}$ [91]. Ainsi lorsque l'amplitude est réduite, la force attractive augmente et les molécules de surface peuvent être pompées de la pointe vers la surface, ou inversement et conduire à une situation de contact intermittent. Cela est d'autant favorisé que l'interaction attractive est forte, en particulier pour les grosses pointes. Cette situation est identique à celle de la croissance de nanoprotubérances sous l'action de la force attractive entre la pointe et la surface. Cela avait déjà été observé sur des films de polystyrène de faibles poids moléculaires [14, 91].

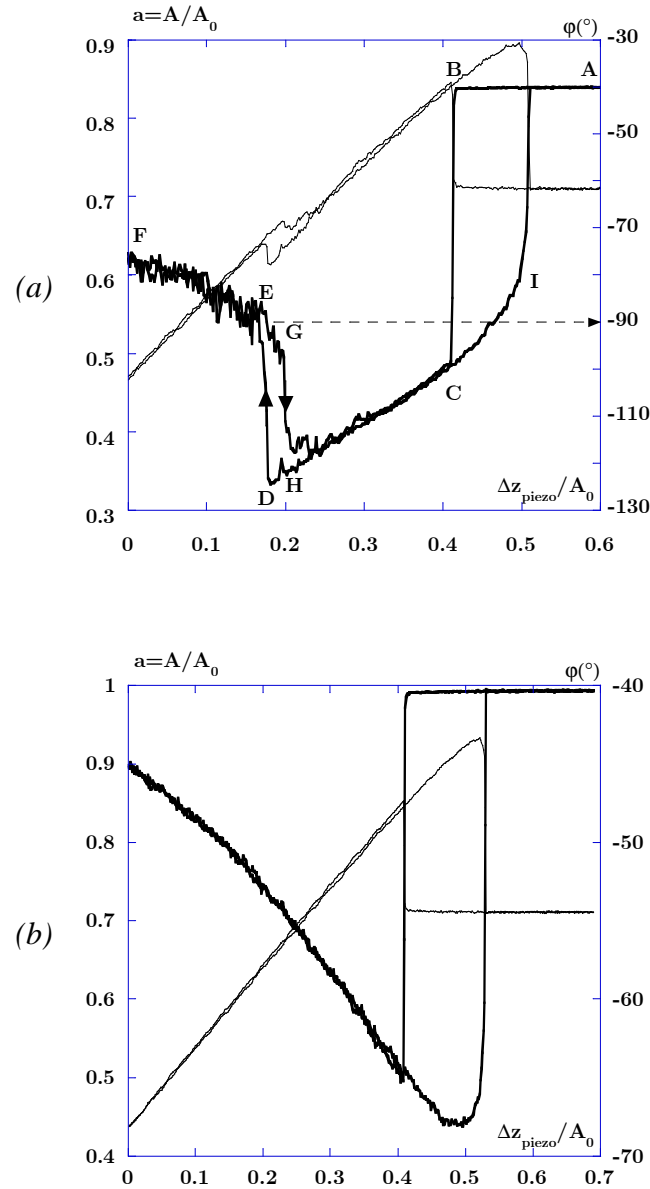


FIGURE II.32: Mise en évidence des effets de pollution de la surface. Courbe d'approche-retrait expérimentale en amplitude et en phase obtenues pour deux amplitudes différentes sur une surface de mica. Les paramètres expérimentaux sont $Q = 350$, $u = 0,9986$ et $\nu_0 = 234,987\text{kHz}$. (a)- $A_0 = 32\text{nm}$: l'oscillateur bifurque en non-contact, mais une instabilité apparaît et la branche de contact intermittent est atteinte. Une telle structure de bifurcation n'est pas prédite par le modèle. Cette structure est liée à une pollution de la surface et/ou de la pointe. (b)- $A_0 = 41\text{nm}$: à plus grande amplitude, la phase indique un régime de contact intermittent.

Synthèse

Le but de ce chapitre était d'obtenir des expressions exploitables pour décrire le comportement d'un système oscillant pointe-levier au voisinage d'une surface, à la fois dans les situations de non-contact sous l'action des forces dispersives de Van der Waals et dans les situations de contact intermittent.

Selon le mode considéré, les expressions de la fréquence, de l'amplitude et de la phase sont obtenues en fonction de la distance de la pointe à la surface. Ce sont les courbes d'approche-retrait.

Ainsi les modes Tapping et NC-AFM sont révélateurs de la même interaction de la pointe avec la surface et donc du même comportement de l'oscillateur. Seule la mesure diffère. Il s'agit de l'amplitude et de la phase à fréquence fixée pour le Tapping et de la fréquence à la résonance pour une amplitude d'excitation fixée en NC-AFM (cf. figure II.33).

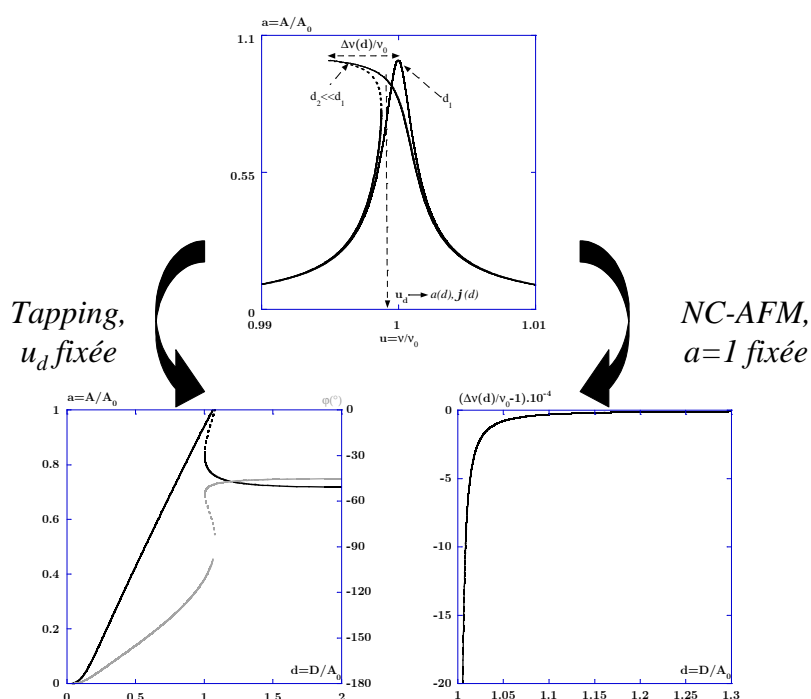


FIGURE II.33: Schéma de synthèse des fonctionnements dynamiques Tapping et NC-AFM.

Trois situations ont été envisagées : une interaction purement attractive, une interaction purement répulsive et un mélange des deux. Les solutions analytiques donnent les variations de l'amplitude ou de la fréquence et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance. Les évolutions théoriques présentées sont en général en bon accord avec les variations observées expérimentalement.

Pour les situations de non-contact, les solutions analytiques permettent de décrire l'évolution de l'amplitude et de la phase de l'oscillateur, ou de façon équivalente celle du pic de résonance, en fonction de la distance de la surface à la position d'équilibre au repos de l'oscillateur et d'un paramètre de couplage, κ_a , proportionnel à A_0^{-3} .

En Tapping, la non-linéarité de la dynamique de l'oscillateur conduit à des structures de bifurcations et des cycles d'hystérésis qui dépendent des conditions d'excitation ainsi que de la force d'interaction entre la pointe et la surface. La stabilité des branches de solutions peut être démontrée et les mesures expérimentales sont cohérentes avec les résultats analytiques. L'approche linéaire, qui correspond à la limite de l'approche non-linéaire pour les plus faibles amplitudes d'excitation et donc les plus grands κ_a , ne décrit pas de structures de bifurcations. La phase de l'oscillateur associée à la branche de non-contact est toujours définie au-dessous de la valeur de -90° . Cette valeur de la phase est caractéristique des transitions de régime de contact intermittent vers le régime de non-contact en l'absence de dissipation en non-contact.

En NC-AFM, le comportement non-linéaire de l'oscillateur assure une pente de variation très importante de l'évolution de la fréquence de résonance en fonction de la distance ce qui permet d'expliquer la grande sensibilité de la mesure, sans qu'il soit nécessaire d'avoir recours à des interactions à très courte portée [25]. L'approche linéaire correspondante, qui consiste à décrire le décalage de la fréquence de résonance comme étant lié au gradient de la force d'interaction de la pointe avec la surface, ne prédit pas une variation de pente aussi importante et n'est donc pas capable de rendre compte des contrastes observés. Le modèle apporte également des éléments de réponse sur la façon dont l'oscillateur bifurque. Pour les grands facteurs de qualité, tels que ceux obtenus dans les conditions de vide du NC-AFM, l'oscillateur présente toujours une distorsion importante de son pic de résonance, de sorte que le paramètre pertinent pour la description des situations de non-contact est le produit $Q\kappa_a$.

La réponse mécanique locale de l'échantillon, sollicité par la pointe oscillante, peut introduire une dissipation de l'énergie de l'oscillateur. La conséquence qualitative de cela est une diminution de l'amplitude durant la courbe d'approche-retrait au moment du retrait de la surface, de l'ordre de 20% au-dessous de la valeur de l'amplitude à la résonance non-linéaire. Dans le même temps, la phase ne bifurque plus à -90° mais pour des valeurs plus importantes, de l'ordre de -75° . La modélisation de ce comportement, en considérant des régimes asymptotiques, conduit à des relations analytiques exploitables qui rendent compte des principaux effets et permettent d'ajuster les variations expérimentales.

Les situations de contact intermittent ne sont susceptibles d'être décrites que dans le mode de fonctionnement dynamique de Tapping. Le potentiel répulsif retenu a une forme arbitrairement simple de potentiel harmonique pour conserver l'analyticité des calculs. La force répulsive associée est une force de rappel dépendant de l'aire de contact entre la pointe et la surface. En l'absence de dissipation, la contribution du régime répulsif a pour conséquence de définir la phase de l'oscillateur au-dessus de la valeur de -90° . La position de la phase par rapport à la valeur de -90° est ainsi une signature du régime d'interaction entre la surface et la pointe sur sa période d'oscillation.

La mesure de la réduction de l'amplitude avec la distance définit la pente du contact intermittent qui donne accès à la réponse mécanique du matériau. La pente vaut au

plus, 1. Elle est caractéristique dans ce cas d'un matériau dur alors qu'une pente plus faible indique que la pointe s'indente dans la surface et donne accès à sa réponse mécanique via l'évaluation de son module élastique. Les équations exhibent un paramètre caractéristique de cette réponse, κ_s , défini comme le rapport de k_s , raideur du contact, avec k_z , raideur de l'oscillateur. κ_s est l'homologue de κ_a , caractéristique de l'interaction attractive, pour les situations de contact intermittent.

Le paramètre qui assure la sensibilité de l'oscillateur à la mesure de la réponse mécanique de l'échantillon est en fait, là encore, le produit $Q\kappa_s$. Ainsi le facteur de qualité de l'oscillateur joue un rôle important. Pour le modèle élastique envisagé, c'est-à-dire à κ_s constant, les plus grands facteurs de qualité conduisent l'oscillateur à n'être sensible qu'à la topographie de la surface. Dans ce cas la pente du contact intermittent est toujours égale à 1. Dans la limite des facteurs de qualité très grands, un matériau de très faible module élastique se comporterait quand même, du point de vue de l'oscillateur, comme un matériau dur.

La contribution de l'interaction attractive sur l'intervalle de temps de la période d'oscillation pendant lequel la pointe n'est pas au contact de la surface a pour conséquence de décaler la branche de solutions du contact intermittent à l'intérieur de la surface. En diminuant A_0 , l'attractif est augmenté ce qui peut conduire à des structures de courbes d'approche-retrait plus complexes en mélangeant à la fois des situations de contact intermittent et de non-contact.

La contribution de la dissipation en non-contact dans les situations de contact intermittent conduit qualitativement à augmenter l'instabilité en phase. L'analyse montre que, concernant les matériaux durs tels que la silice ou les surfaces de silice greffées avec des molécules de silanes courtes comme les APTES, la variation d'amplitude de la courbe d'approche-retrait présentera tout le temps une pente égale à 1, empêchant l'extraction de données quantitatives. Il faudra alors exploiter la variation de phase.

Ainsi la dissipation a pour conséquence de déplacer les positions des instabilités en lissant les contributions non-linéaires à la dynamique du levier. Cela rend parfois délicate l'identification des situations de non-contact par rapport à celles de contact intermittent. Plus que de "vraies" situations de non-contact ou de contact intermittent, la notion de régime attractif ou répulsif permet de contourner la difficulté et d'évoquer plutôt la contribution dominante d'un régime par rapport à l'autre.

L'exploitation expérimentale du modèle permet en outre d'évaluer la taille du rayon d'apex de la pointe et la contribution de l'interaction attractive sur la courbe observée. Il permet une analyse qualitative des situations expérimentales comme la mise en évidence de la pollution de la surface.

Finalement, pour le mode Tapping, les comportements de dynamique non-linéaire et les propriétés physiques de la surface accessibles peuvent être résumés dans un schéma présenté en figure II.25. Il indique les différents régimes accessibles à l'oscillateur selon l'excitation et son facteur de qualité. Le régime attractif, dont on a vu qu'il pouvait apparaître pour différentes valeurs de A_0 selon Q , donne accès à la mesure de l'interaction attractive entre la pointe et la surface et aux processus de dissipation en non-contact. En régime répulsif pur, les informations accessibles sont la réponse mécanique, l'adhésion

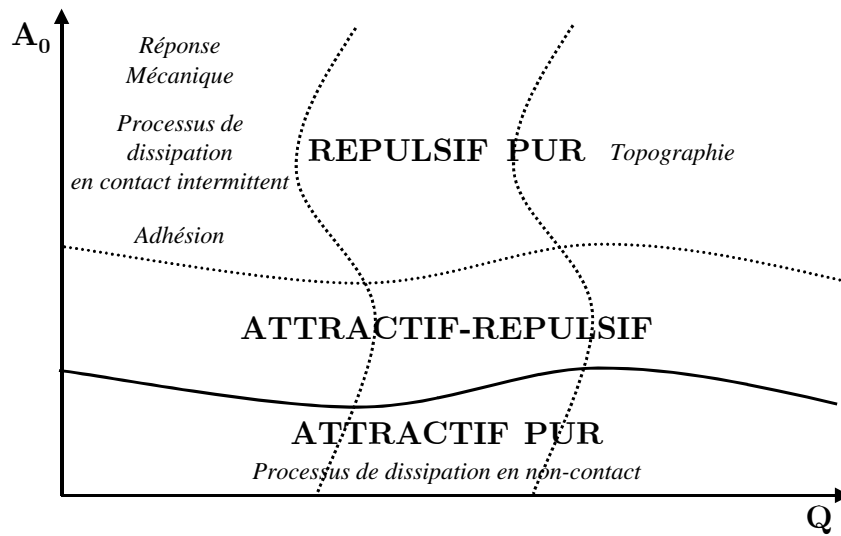


FIGURE II.34: Schéma de synthèse des régimes susceptibles d'être testés par l'oscillateur et des propriétés de la surface accessibles en Tapping.

et les processus de dissipation en contact intermittent, ces résultats étant valides dans le cadre des modélisations présentées.

Chapitre III

L'A.D.N.

Chapitre III

L'A.D.N.

Les chapitres précédents ont introduit les éléments théoriques et expérimentaux nécessaires à l'utilisation du microscope de force en mode dynamique. Nous disposons ainsi d'outils dont l'exploitation expérimentale va permettre d'extraire des informations liées aux interactions entre la pointe et la surface ou à un objet déposé sur cette surface.

L'étude de séquences d'ADN en MFA est l'objet de ce mémoire. Avant de détailler lors des deux prochains chapitres la préparation des échantillons, puis leur étude, nous nous intéressons à présent à la physico-chimie de la molécule.

Ce chapitre présente la molécule d'ADN et ses différentes structures. Les éléments donnés ici sont détaillés dans les ouvrages de référence [94, 95].

III.1 Introduction et intérêt de l'A.D.N. comme système d'étude

L'Acide DésoxyriboNucléique a été découvert en 1869 par le biochimiste suisse, F. Miescher. Appelé alors "nucléine", le terme générique "d'acides nucléiques" n'apparaîtra qu'en 1889. A cette époque, la caractéristique principale de la molécule comme support de l'hérédité n'est pas suspectée. Ce n'est qu'en 1944 que le bactériologiste O.T. Avery montrera que les caractères héréditaires sont transmissibles d'une bactérie à une autre par des molécules d'ADN purifiées.

Il restera aux biochimistes à déterminer la structure de la molécule susceptible de constituer un code et permettant d'envisager un mécanisme pour la réplication conforme du matériel génétique. Le modèle de la double hélice de J.D. Watson et F. Crick en 1953, déduit des résultats du biochimiste E. Chargaff¹ en 1950, correspondra parfaitement à cette attente.

¹ E. Chargaff avait étudié l'ADN par chromatographie. En 1950, il montrait que le contenu en (Adénine+Guanine) était égal à celui de (Cytosine+Thymine), quel que soit l'organisme étudié et que les fractions molaires des bases vérifiaient toujours :

$$\frac{A}{T} = \frac{G}{C} = 1$$

Depuis 1953, un travail colossal a été réalisé sur l'ADN. Les biochimistes savent aujourd'hui synthétiser, séquencer, fonctionnaliser de l'ADN. A ces résultats expérimentaux, il faut ajouter un grand nombre de travaux fondamentaux, théoriques et numériques, concernant l'étude des conformations des molécules d'ADN. Ces progrès importants assurent un contrôle de la préparation et une connaissance fondamentale des molécules, de sorte que les différentes communautés scientifiques se retrouvent et interagissent dans l'intérêt qu'elles peuvent leur porter.

Dans ce cadre, les physiciens ont un intérêt particulier à travailler sur l'ADN. C'est en effet une macromolécule longue². Sa structure en double hélice, consécutive à l'agencement des quatre molécules élémentaires qui la constituent, la rend plus rigide que d'autres polymères, dont les polymères synthétiques³. Son comportement est proche de celui d'une *chaîne idéale*, essentiellement dominé par son entropie et les interactions de volume exclu sont en général limitées du fait de cette rigidité⁴. Avec les techniques de biochimie actuelles en outre, un ADN est susceptible d'être synthétisé identique à lui-même de façon parfaitement monodisperse avec des spécificités dans l'arrangement des paires de bases ou des terminaisons de la double hélice. Si l'ADN est extrait d'une souche particulière (virus, bactérie), l'agencement des paires de bases est également identique d'une molécule à l'autre à la paire de bases près. Ces éléments favorisent la reproductibilité des expériences.

L'ADN constitue donc un polymère modèle. Des exemples récents du choix de ces molécules sont les expériences de micro-manipulations de chaîne unique [96–100].

III.2 Structure primaire

L'ADN est la conséquence d'un assemblage moléculaire à partir de sous-unités qui constituent sa structure primaire.

III.2.a Les bases

Les quatre bases élémentaires de l'ADN, l'**Adénine**, la **Thymine**, la **Cytosine** et la **Guanine**, sont issues de deux grandes familles de composés chimiques : les bases puriques, qui dérivent du noyau hétérocyclique purine et les bases pyrimidiques, qui dérivent du noyau pyrimidine. La figure III.1 représente la purine et la pyrimidine ainsi que la numérotation des atomes des cycles qui est importante pour l'orientation de la chaîne d'ADN.

Les bases puriques que l'on retrouve dans l'ADN sont la 6-aminopurine ou **Adénine** (A), et la 2-amino,6-oxypurine ou **Guanine** (G), mais d'autres composés puriques existent chez les êtres vivants. Les bases pyrimidiques des acides nucléiques sont la 5-méthyluracile

² L'ADN humain contenu dans le noyau de chaque cellule fait de l'ordre de 3 mètres de long.

³ L'ADN est ainsi environ 100 fois plus rigide que le polyéthylène.

⁴ En fait, cela dépend du rapport de la longueur de contour de la chaîne par rapport à sa longueur de persistance.

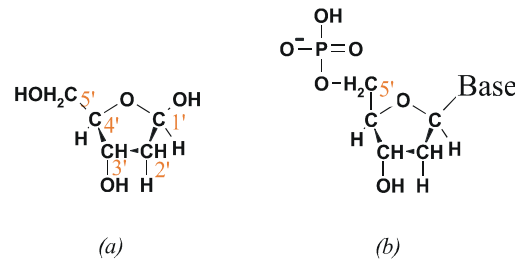


FIGURE III.3: (a)- Désoxyribose. La numérotation des atomes du cycle est importante pour l'orientation de la molécule. (b)- Représentation d'un nucléotide associé à la désoxyribose. Dans l'ADN, les nucléotides sont phosphorylés sur le $C_{5'}$.

la molécule. La figure III.4 donne une représentation d'un enchaînement de nucléotides dans l'ADN.

III.2.d Ionisation des bases et des nucléotides

L'ADN des cellules baigne dans un milieu liquide, dit physiologique. C'est là que les processus de réplication se produisent. Les caractéristiques chimiques du milieu comme le pH ou la présence de sels (force ionique de la solution) vont contrôler la physico-chimie de la molécule.

A $pH < 1$, une seule base est protonée et les phosphates sont neutralisés. Dès que le pH augmente, les premières déprotonations des phosphates apparaissent. Dans les conditions physiologiques en particulier ($pH = 7$), la chaîne sucro-phosphate de la molécule est donc chargée négativement. C'est ce qui confère à la chaîne son caractère polyélectrolytique.

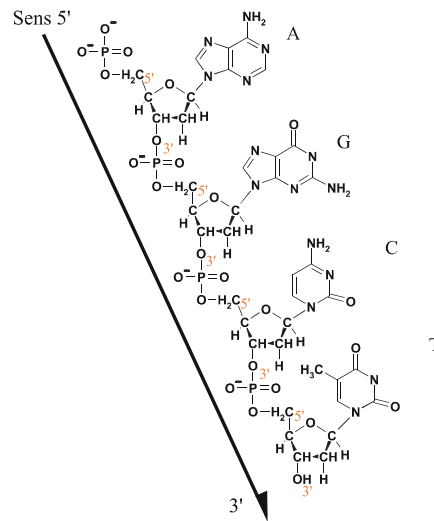
Ce caractère acide va être à l'origine de ses interactions avec les sels et ions du milieu physiologique.

III.3 Structure secondaire

III.3.a Le modèle de la double hélice de Watson et Crick

Cette structure a été identifiée en 1953 par J.D. Watson et F. Crick [101] à partir de l'exploitation de clichés de diffraction X. Crick en avait déduit la structure hélicoïdale de la molécule. Des travaux parallèles de R. Franklin avaient permis de mettre en évidence les résultats suivants :

- ▶ les bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice.
- ▶ elles sont empilées à une distance de $0,34nm$.
- ▶ un tour d'hélice contient 10,4 nucléotides, le pas d'hélice est donc de l'ordre de $3,4nm$.
- ▶ le diamètre de l'hélice est de l'ordre de $2nm$.

FIGURE III.4: *Enchaînement de nucléotides dans l'ADN.*

Compte tenu de la taille d'un nucléotide, le diamètre attendu de la molécule est de $1nm$, d'où l'idée d'une molécule bicaténaire. A partir de ces éléments, Watson et Crick proposent que les bases se situent à l'intérieur d'une double hélice. Les bases n'ayant pas toutes la même taille, ils en déduisent qu'elle s'apparie en couples purines-pyrimidines par les liaisons hydrogène pour respecter un diamètre constant de $2nm$. L'identification des couples A-T, C-G est obtenue à partir des résultats de Chargaff (cf. figure III.5).

Dans ce modèle, l'ADN est formé de deux chaînes de sucre et de phosphates antiparallèles et arrangées de façon hélicoïdale. Les bases sont au centre, appariées deux par deux. Les deux extrémités de la double hélice sont identiques et se terminent en $C_{5'}P$ et $C_{3'}OH$. L'hélice est droite (cf. figure III.6).

La double hélice ressemble à une échelle dont les montants sont des alternances de sucres et de phosphates et les barreaux les paires de bases (pb). Les sites de fixation des barreaux sont dans le plan de la paire de base mais pas dans l'axe du barreau. Donc au lieu d'avoir une structure régulière, la double hélice présente deux dépressions : une large, ou *grand sillon* et une étroite ou *petit sillon*. Leurs profondeurs sont sensiblement équivalentes et leurs largeurs de $1,14$ et $0,6nm$.

C'est l'alternance des paires de bases le long du squelette sucro-phosphate qui forme le code génétique. Lors de la transcription, ce code est lu par une enzyme, l'ARN polymérase, qui forme un ARN messenger lequel génère les protéines correspondant au code de départ.

La taille des molécules est variable selon les organismes. Pour l'homme, il y a environ de quelques dizaines à quelques centaines de millions de paires de bases par chromosome. Chaque cellule humaine dispose de 23 paires de chromosomes. Cela représente une longueur totale de 3 mètres.

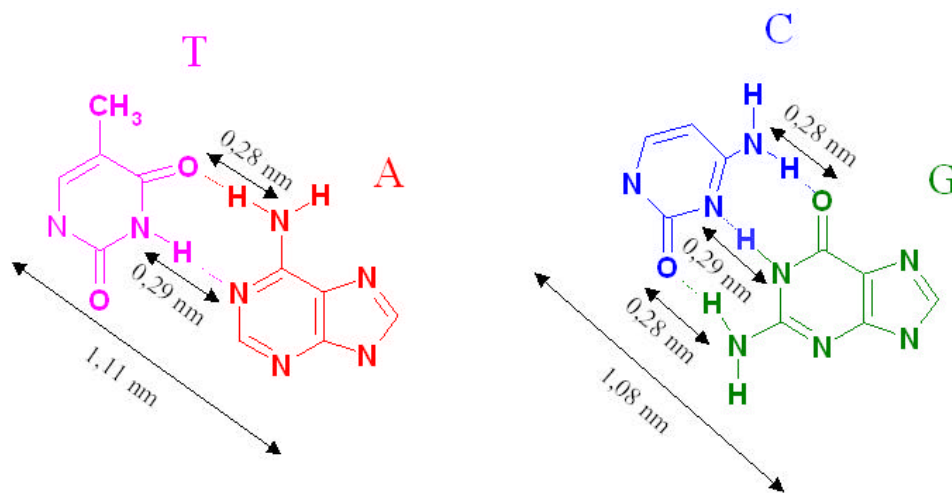


FIGURE III.5: Appariements pyrimidines-purines selon Watson et Crick.

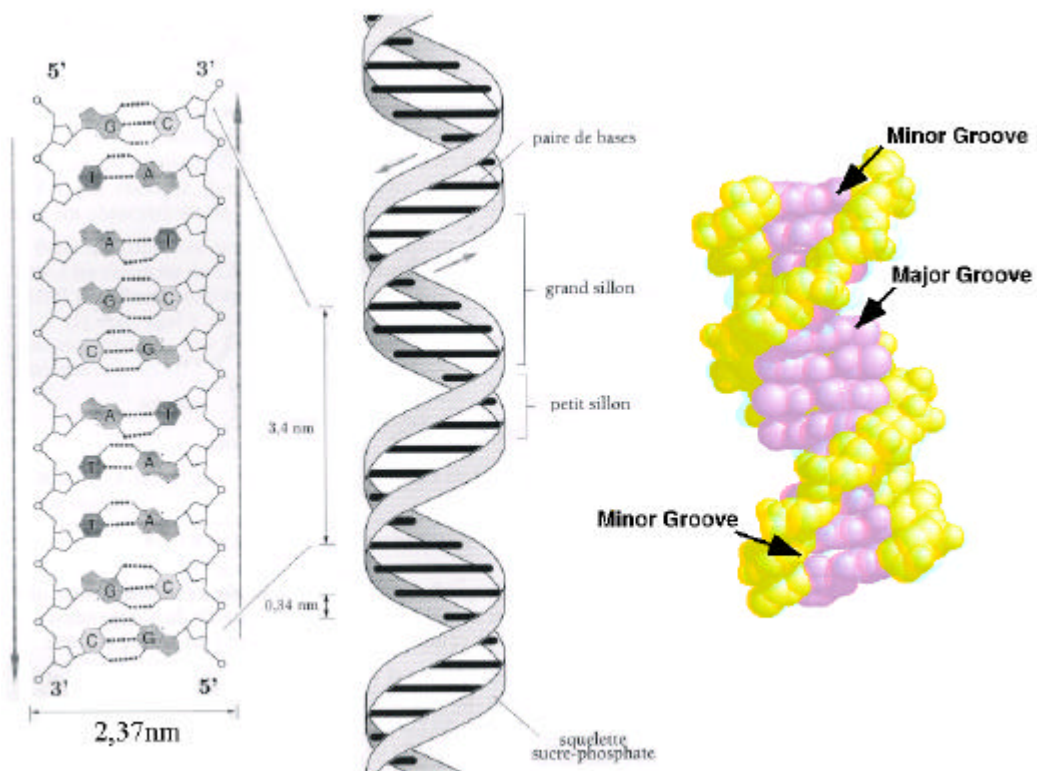


FIGURE III.6: Le modèle en double hélice de Watson et Crick et sa modélisation moléculaire.

III.3.b Les différentes formes d'A.D.N.

Le modèle décrit par Watson et Crick correspond à la structure B de l'ADN. Selon les conditions de force ionique, d'hydratation ou de contraintes mécaniques, d'autres formes caractéristiques de la double hélice peuvent apparaître. La structure B est la forme biologique la plus répandue.

La stabilité de ces hélices résulte des liaisons hydrogène entre bases mais également des interactions hydrophobes entre plateaux de bases auxquelles on donne le nom d'interactions d'empilement ("*stacking*"). Ces dernières sont dues au fait qu'il est énergétiquement favorable aux cycles hydrophobes de se "plaquer" les uns aux autres plutôt que d'être exposés à la solution aqueuse dans laquelle baigne l'ADN.

Si la cohésion de la double hélice associée aux liaisons hydrogène n'est dépendante que de la composition en paires de bases, les couples A-T engageant deux liaisons contre trois pour C-G, les forces d'empilement sont liées, en plus, à la succession des séquences. L'échelle de l'énergie libre d'empilement selon la composition est donnée sur la figure III.7(a).

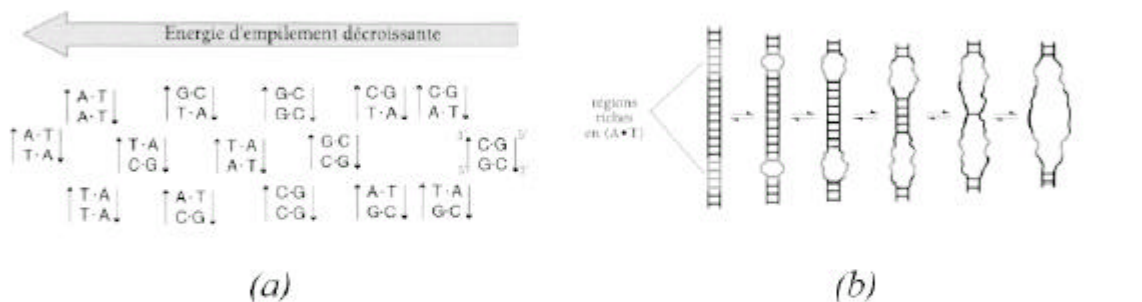


FIGURE III.7: (a)- Énergie libre d'empilement des paires de bases, d'après [102]. Il est à noter que l'orientation de la molécule selon l'axe 5'-3' conduit à une énergie différente pour les couples par exemple 5'A-3'T et 5'T-3'A. (b)- Ouverture de l'ADN lors d'une dénaturation thermique. Les zones les plus riches en groupes A-T s'ouvrent les premières.

III.3.c Dénaturation et renaturation de l'A.D.N.

La structure en double hélice peut être déstabilisée. Chauffer, varier la répulsion électrostatique entre les brins en modifiant le pH ou la force ionique de la solution, ou encore contraindre mécaniquement la double hélice peut conduire à la dénaturation de la molécule, c'est-à-dire à la séparation physique des deux brins. Elle peut être complète et dans ce cas irréversible, ou locale, et alors réversible (renaturation), à l'instar d'une fermeture éclair que l'on ouvrirait puis refermerait.

Les régions riches en A-T s'ouvrent avant les régions riches en G-C puis la dénaturation se propage (cf. figure III.7(b)).

III.4 Sur-enroulement de l'A.D.N. et structures tertiaires

Compacter une molécule d'ADN de plusieurs mètres de long à l'intérieur d'une cellule dont la taille est de quelques dizaines de microns suppose que la chaîne adopte des conformations particulières. L'ordre supérieur de la conformation en double hélice constitue la structure tertiaire de l'ADN.

La structure tertiaire de l'ADN correspond aux formes de *superenroulements*⁶ qu'adopte la chaîne pour se compacter. Par exemple chez les bactéries, il a été montré que le superenroulement contrôlait l'expression des gènes. Dans les cellules eucaryotes, la chromatine, essentiellement constituée par l'ADN et des protéines, est dispersée au hasard à travers le noyau de la cellule. Lors de l'initiation de la division cellulaire, l'ADN dans la chromatine va adopter une série de structures d'ordres supérieurs. Les premières qui constituent sa structure tertiaire étant des *plectonèmes* et des *solénoïdes*.

Bien que la structure des plectonèmes soit différente de celle des solénoïdes, ils peuvent être tous deux adoptés par le même ADN sous-enroulé. La forme plectonémique est plus stable en solution, mais la forme solénoïde peut être stabilisée par des protéines. C'est elle qui est observée dans la chromatine. L'ADN y est associé, de façon très stable, à des protéines basiques appelées *histones* dont le rôle principal est de le compacter en unités structurales appelées *nucléosomes*. Vient ensuite une succession de structures d'ordres supérieurs correspondant à des niveaux hiérarchisés de repliements très organisés qui constituent *in fine* un chromosome compact.

Les taux de sur-enroulement négatifs de l'ADN des cellules eucaryotes sont de l'ordre de 5%. Les taux de compaction de la double hélice peuvent atteindre 10000. La figure III.8 schématise les différents ordres d'organisation de la chromatine.

Le sur-enroulement se décrit topologiquement par trois grandeurs :

- 1- Le nombre de fois qu'un brin passe au-dessus de l'autre définit son nombre de liens topologiques, noté L_k (de l'anglais "*Linking number*"). C'est un entier. Il ne peut être modifié que par la rupture d'un brin d'ADN.
- 2- La torsion axiale de la double hélice définit son "*Twist*" T_w . Pour une molécule d'ADN de N paires de bases dont on connaît le nombre de paires de bases par tour d'hélice, h , T_w est donné par :

$$T_w = N/h \quad (\text{III.4.1})$$

Pour l'ADN B, $h = 10,4$ supposant une valeur non entière de T_w .

- 3- Si la double hélice possédait toujours une structure simple, dite relâchée, les deux paramètres précédents seraient redondants. A chaque rotation de 2π correspondant au pas de l'hélice, les deux brins s'entrelacent une fois: $L_k = T_w = N/h$. Cependant, la chaîne peut se vriller et former des torsades. Si le twist de la molécule augmente ou diminue localement, impliquant respectivement un sur-enroulement positif ou

⁶ Le terme de superenroulement est à ne pas confondre avec ceux de sur-enroulement ou de sous-enroulement de l'ADN. Ceux là correspondent à la conformation adoptée par la molécule lors d'une contrainte en torsion axiale qu'elle stocke sous forme d'énergie élastique jusqu'à ce que le superenroulement apparaisse.

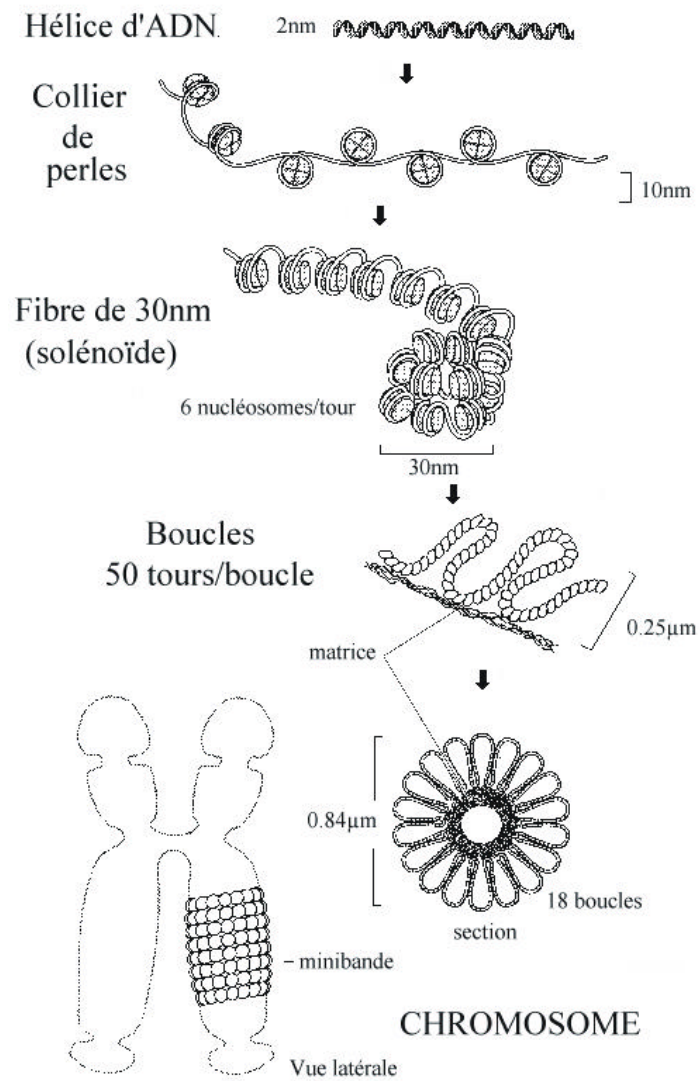


FIGURE III.8: Représentation schématique des différents ordres de la chromatine, d'après [102].

négatif, celui-ci est compensé par un superenroulement de la molécule. Le vrillage ou “*Writhing*” ainsi définit, W_r , conduit à la relation :

$$L_k = T_w + W_r \quad (\text{III.4.2})$$

W_r est positif s'il y a sur-enroulement de la molécule et négatif s'il y a sous-enroulement.

Les modifications topologiques de l'ADN se traduisent donc par des changements géométriques de la molécule comme le superenroulement. Nous nous proposons dans la partie suivante de détailler plus avant ces éléments.

III.5 Quelques aspects des propriétés physico-chimiques de l'A.D.N. en solution

Nous restreindrons cette présentation et notamment l'étude bibliographique, au rôle des contre-ions et aux conditions d'apparition de structures tertiaires. Plus précisément, nous nous intéresserons aux possibles interactions de contre-ions avec la chaîne et aux super-hélices puisque certaines de nos mesures montrent de telles structures (cf. chapitre V).

Après un bref rappel des propriétés d'une chaîne linéaire, avec ou sans charge le long de son squelette et la description des paramètres d'une hélice, nous prendrons appui sur des travaux expérimentaux et théoriques qui montrent, ou prédisent, les conditions dans lesquelles de telles structures sont les plus stables.

L'ADN étant un acide, la chaîne se comporte comme un poly-ions, avec une charge par base à $pH = 7$, aussi la force ionique de la solution joue un rôle prépondérant sur la structure de la chaîne. Une courte synthèse des travaux sur cet aspect sera également présentée.

III.5.a Conformation de l'A.D.N. en solution

La conformation moyenne de la chaîne en solution résulte des déflexions et torsions de l'axe de la double hélice définies par les motifs nucléotidiques et leur répétition.

Des travaux montrent ainsi que, s'ils ont la même orientation, c'est la répétition périodique de motifs nucléotidiques tous les 10, $4pb$, c'est-à-dire en phase avec le pas de l'hélice, qui entraîne une déflexion régulière et plus globale de l'axe de la double hélice [103]. Les relations entre séquences, périodicité des motifs et courbure ont été analysées avec de nombreux oligonucléotides synthétiques [104]. Il a été ainsi montré que les suites de A sont les motifs nucléotidiques les plus impliqués dans la courbure [105–107].

Deux grands types de modèles ont été proposés pour expliquer les déflexions propres à chaque motif nucléotidique. Le premier attribue à chaque paire de bases une déflexion

moyenne. Le second considère que la déflexion est localisée à la jonction d'un motif nucléotidique particulier.

Quel que soit le modèle retenu, la conformation de l'ADN est décrite par sa longueur de persistance. Celle-ci caractérise la rigidité de la chaîne à l'échelle locale. Nous l'introduisons en considérant dans un premier temps le comportement élastique d'une barre de section circulaire. L'énergie de flexion de cette barre dans un état déformé de rayon de courbure R est donnée par [60] :

$$U = \frac{1}{2}EI \int_0^L \left(\frac{1}{R} - \frac{1}{R_0} \right)^2 dz \quad (\text{III.5.1})$$

Avec E le module d'élasticité du matériau, I le moment d'inertie de la section de la barre (pour une section circulaire de rayon r , $I = \pi r^4/4$) et R_0 le rayon de courbure de la barre non déformée. Dans le cas d'un polymère, la raideur de la chaîne a une valeur finie, et son minimum d'énergie correspond à la conformation pour $R_0 \rightarrow \infty$.

Reprenant les notations données en référence [108], l'énergie élastique due aux fluctuations de courbure de la chaîne à température donnée est :

$$\frac{U_{el}}{k_B T} = \frac{1}{2} \int_0^L \lambda_c \left(\frac{\partial^2 \vec{r}}{\partial s^2} \right)^2 ds \quad (\text{III.5.2})$$

$(\partial_s^2 \vec{r})$ est la "vitesse" de rotation de la tangente à la ligne à l'abscisse curviligne s et est inversement proportionnelle au rayon de courbure local R_s . λ_c est la longueur de persistance. Elle donne la longueur de contour de la chaîne pour laquelle une déviation angulaire de l'ordre du radian coûte $k_B T$. Compte tenu des valeurs de λ_c ($50nm$) par rapport au pas de l'hélice ($3,4nm$), le comportement élastique de l'ADN peut être raisonnablement décrit par un cylindre de rayon $r \simeq 1nm$. A l'aide des expressions III.5.1 et III.5.2, cette approximation donne une expression simple du module effectif de l'ADN en fonction de la valeur de sa longueur de persistance :

$$E_{eff} I = \lambda_c k_B T \Rightarrow E_{eff} = 3.10^8 N.m^{-2} \quad (\text{III.5.3})$$

On détermine un module effectif, parce que la longueur de persistance dépend à la fois des propriétés intrinsèques de la chaîne et de sa géométrie (en puissance 4 du rayon), mais également de la force ionique de la solution [109] contrôlant la répulsion entre charges le long de la chaîne. Par exemple, une longueur de persistance de l'ordre de $75nm$ est mesurée dans une solution de faible force ionique [96, 97].

Cette longueur de persistance décrit la difficulté de la chaîne à tourner autour d'un axe perpendiculaire à son axe de symétrie (l'axe élastiquement neutre passant par le centre de la section). De la même façon, on introduit une longueur de persistance, λ_t , décrivant la résistance à la torsion (, en $rad.nm^{-1}$), autour de l'axe de symétrie :

$$\frac{U_{el}}{k_B T} = \frac{1}{2} \int_0^L [\lambda_c (\partial_s^2 \vec{r})^2 + \lambda_t \quad] ds \quad (\text{III.5.4})$$

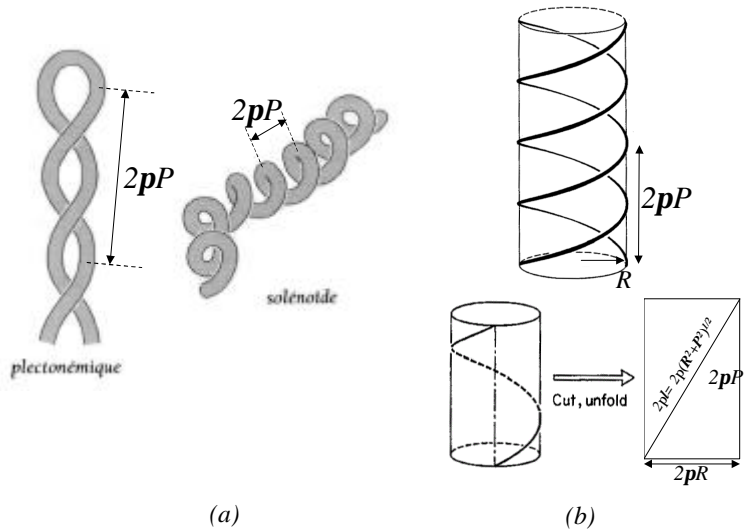


FIGURE III.9: (a)- Périodicité des deux formes de superenroulements : plectonèmes et solénoïdes. (b)- Définition des principales grandeurs utilisées dans le texte. l est définie à partir du rayon et de la périodicité du plectonème : $l = \sqrt{R^2 + P^2}$.

Pour l'ADN, cette longueur est de l'ordre de $\lambda_t = 75nm$.

Nous allons à présent nous intéresser aux différentes structures susceptibles d'être observées sur l'ADN quand une rotation est imposée autour de son axe de symétrie avec les deux extrémités fixées. Pour cela, nous suivons l'approche de Marko et Siggia [108] décrivant la stabilité relative de la chaîne sans sur-structure, d'un solénoïde et d'un plectonème (cf. figure III.9(a)) en fonction du nombre de tours imposés.

La structure d'une hélice peut être décrite par les relations simples (cf. figure III.9(b)), mais également, dans le cas de l'ADN, d'un point de vue topologique en considérant le nombre de fois que les simples brins se croisent.

Ce nombre de croisements, ou nombre de liens, L_{k_0} , a été défini au paragraphe précédent. Pour la molécule relâchée d'ADN B, l'hélice est droite de période $h = 3,4nm$, et de longueur de contour L . Le nombre de liens est donc défini par $L_{k_0} = L/h = \omega_0 L/2\pi$, où ω_0 est la torsion par nanomètre, $0,185rad.nm^{-1}$.

En appliquant un couple dans le sens de l'hélice, on sur-enroule l'hélice. Dans le sens contraire, on la sous-enroule. L'état de torsion de la chaîne de longueur L est donné par la somme des torsions par unité de longueur ainsi créées. Cet état est noté T_w ("twist" en anglais) et pour une ligne continue est donné par [108] :

$$T_w = \frac{1}{2\pi} \int_0^L [\omega_0 + (s)] ds = L_{k_0} + \Delta T_w \quad (\text{III.5.5})$$

L'excès de torsion, ΔT_w , augmente le nombre de liens et peut conduire à un pas d'hélice plus petit avec un nouveau taux de rotation $\omega = \omega_0 + \dots$. Mais la torsion peut aussi induire de nouvelles structures de la chaîne moins coûteuses en énergie. Cette situation a été décrite en introduisant un nouveau paramètre géométrique W_r ("writhe"), introduit au paragraphe III.4 précédent et donné par la relation :

σ	Force (pN)	
	Strick <i>et al.</i>	Marko et Siggia (valeurs déduites de la figure III.10)
0,026	0,1	0,3
0,04	0,2	0,5
0,066	0,8	0,8
0,088	1	1,2

TABLEAU III.1: Forces mesurées expérimentalement (Strick *et al.*) et calculées à partir de la théorie de Marko et Siggia en fonction du taux d'excès de lien.

$$L_k = T_w + W_r \quad (\text{III.5.6})$$

En l'absence de torsion, $L_{k_0} = T_{w_0}$, ainsi l'excès de torsion peut éventuellement se convertir en super-structures décrites par W_r . Un développement détaillé de l'introduction de W_r dans la fonction de partition décrivant l'état de la chaîne est donné dans la référence [108].

Les autres termes pris en compte sont la répulsion électrostatique entre chaînes et le long de la chaîne et la répulsion d'origine entropique.

La répulsion électrostatique est décrite par un potentiel écranté de type Debye Hückel. La répulsion entropique est introduite pour décrire le coût en énergie du confinement de la chaîne.

Les résultats obtenus par Marko et Siggia sont présentés sur la figure III.10. L'abscisse est le taux d'excès de lien, σ , calculé de la façon suivante : soit $L_{k_0} = L/h$, où L est la longueur de contour de la chaîne et h le pas de la structure duplex. L'excès de lien entre les deux brins est donné par $\Delta L_k = L_k - L_{k_0}$ et le taux d'excès par $\sigma = \Delta L_k / L_{k_0}$.

Marko et Siggia rapportent le coût en énergie, le rayon de l'hélice et le nombre de tours n par unité de longueur en fonction de σ . $n = (2\pi l)^{-1}$, avec $2\pi l$ la longueur de contour sur la période du plectonème. La période du plectonème, $H = 2\pi P$ (P le pas de l'hélice), qui est la quantité à laquelle nous avons le plus facilement accès, est donnée par $l = \sqrt{R^2 + P^2}$.

Par exemple, d'après Marko et Siggia, on a pour $\sigma = 0,05$: $0,15k_B T.nm^{-1}$, $n = 0,012 \Rightarrow (l = 13nm)$, $R = 6nm \Rightarrow H = 72nm$.

Notons que pour la structure non super-hélicoïdale, le coût calculé est de $0,32k_B T.nm^{-1}$, alors qu'une simple évaluation à partir de l'équation III.5.2 surestime le coût $1/2\lambda_c/R^2 k_B T.nm^{-1} \simeq 0,69k_B T.nm^{-1}$.

Avant de poursuivre plus avant en tentant de relier ces résultats à nos mesures, il est utile de confronter ces prédictions à des résultats expérimentaux. Cette opportunité nous est donnée par les mesures récentes réalisées par T.R. Strick *et al.* à l'aide d'une bille magnétique permettant à la fois d'étirer une seule chaîne d'ADN et de lui appliquer un couple [97,111]. Ces expériences montrent qu'en fonction de la valeur de σ , des structures du type plectonème apparaissent. Pour comparer avec les prédictions données dans la figure III.10, nous retenons les valeurs des forces mesurées par Strick *et al.* à extension relative de la chaîne nulle en fonction de σ [111] (cf. tableau III.1).

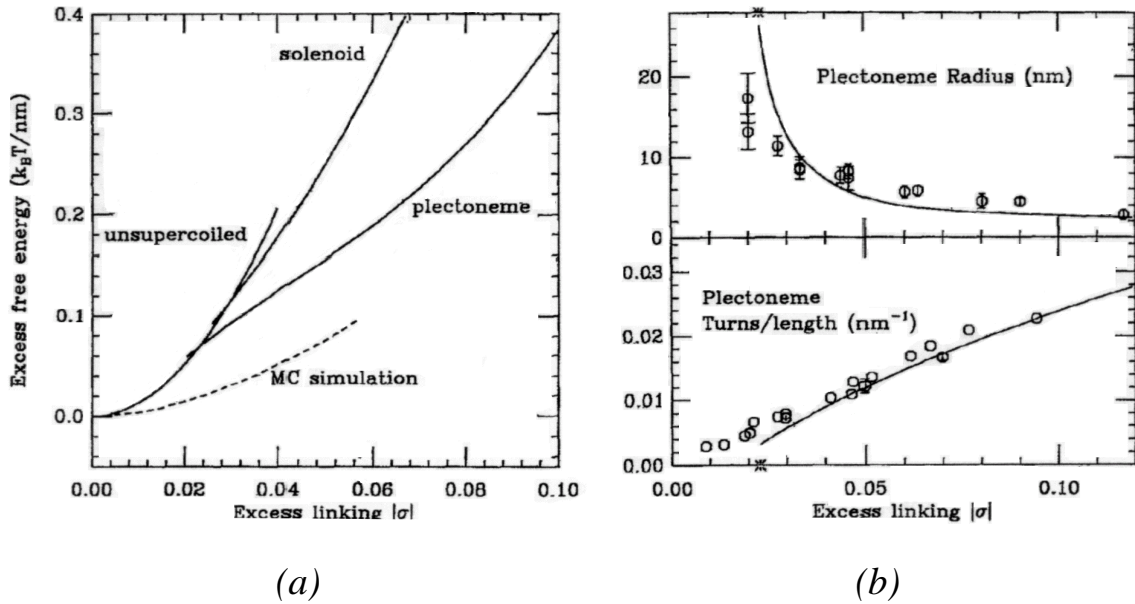


FIGURE III.10: (a)- Diagramme de phase des énergies libres des plectonèmes et solénoïdes comparées à l'état relâché de la chaîne. (b)- Rayon R (en haut) et nombre de supertours par unité de longueur (en bas), $n = (2\pi l)^{-1}$, pour la forme plectonémique. Les lignes continues indiquent le résultat issu de la minimisation de l'énergie libre. Les points indiquent les résultats expérimentaux de T.C. Boles *et al.* [110]. La croix sur l'axe $|\sigma|$ indique la zone pour laquelle le plectonème est le plus stable.

Un bon accord est également obtenu avec les mesures des périodes des plectonèmes mesurées par microscopie électronique [110,112]. J.Boles *et al* [110] mesurent par exemple $H = 86\text{nm}$.

De façon générale, ces valeurs sont élevées au regard de celles que nous mesurerons au chapitre V sur nos propres systèmes. Pour $\sigma = 0,05$, $H = 72\text{nm}$, et pour $\sigma = 0,1$, le rayon est de l'ordre de 4 à 5nm et $n = 0,025$ ($l = 6,35\text{nm}$), ce qui donne $H = 31\text{nm}$ et 25nm respectivement. Nos mesures donnent des valeurs nettement plus faibles, $H \simeq 15\text{nm}$.

Cependant la concentration en sel joue un rôle prépondérant, montrant dans le cas des mesures de cryomicroscopie de J. Bednar *et al.* [112] des structures non résolues, mais beaucoup plus denses. Les mesures de "molécule unique" montrent également un effet en constatant un accroissement de la force à appliquer pour maintenir une extension donnée en fonction de l'ajout de sel. Après un ajout d'ions tri ou tétravalents ($\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ et spermidine 3+), C.G. Baumann *et al.* observent une brusque variation de la force de $5pN$ en utilisant des pinces optiques [100]. Pour des ions de valence plus faible, une valeur très similaire est observée avec un saut de $4pN$ lorsque l'on ajoute 150mM de NaCl ou de $3,5pN$ pour 5mM MgCl_2 [111].

Les expériences de cryomicroscopie consistent à préparer une solution d'ADN et à figer les molécules en refroidissant en quelques centaines de μs la solution. Les molécules sont piégées dans une conformation qui est censée être celle de la molécule en solution, le temps de trempage étant ajusté pour être court devant les temps de diffusion ou de réarrangement des molécules en solution. L'échantillon ainsi obtenu est ensuite imagé en microscopie électronique à transmission. Les résultats de Bednar *et al.* indiquent que

pour des concentrations en sels de $100mM$ ou supérieures, ou de $10mM$ en Mg^{2+} , les doubles-brins de l'ADN dans le plectonème se sont condensés. Ces résultats suggèrent qu'aux très courtes distances, des interactions attractives permettent la condensation des structures plectonémiques.

Marko et Siggia proposent de rajouter au potentiel électrostatique une contribution attractive à courte distance avec une longueur caractéristique égale au rayon de la molécule $r_0 = 1,2nm$. Ils montrent alors qu'une structure plectonémique "condensée" apparaît avec des distances centre à centre des doubles-hélices de l'ordre de $2 \times r_0 \simeq 2,4nm$.

III.5.b. Condensation de l'A.D.N. en solution : le rôle de l'eau et des cations multivalents

L'évaluation de l'influence du sel et de cations multivalents sur la structure d'un poly-ions comme l'ADN est loin d'être immédiate comme en témoigne les nombreux travaux dédiés à cette question [110, 113–115]. La valeur de la *longueur de Bjerrum* – longueur à partir de laquelle l'interaction électrostatique entre charges est égale à $k_B T$ – ($l_b = e^2/(\epsilon_r k_B T) = 0,7nm$ dans l'eau) fait que nombre d'auteurs considèrent que les contre-ions sont délocalisés le long des chaînes, que cela soit pour l'ADN ou pour l'ARN.

Il n'y aurait de fait que peu, ou pas, d'interaction spécifique d'origine ionique qui nécessiterait de considérer des emplacements particuliers avec condensation des contre-ions sur la chaîne avec pour conséquence des modifications locales de conformation.

Néanmoins [116], des études fines de cartographie de densité électronique obtenues à partir d'études par rayons X laissent supposer une répartition non uniforme des charges. De fait, en fonction de la concentration en sel ou de la valence des cations, on observe sans ambiguïté des changements de structure de l'ADN. Au regard de ces observations, les interprétations proposées sont plurielles : sont mises en avant la présence de forces attractives liées à la structure de l'eau dans les sillons de l'ADN, et la présence d'une interaction attractive de type Debye entre les différentes parties de la chaîne due à la présence de dipôles formés par le O^- de la chaîne et le contre-ion.

Une revue de l'influence des contre-ions est donnée par V.A. Bloomfield [117, 118], qui insiste sur le rôle des cations tri ou tétravalents comme des polyamines (spermidines $3+$) ou des cations inorganiques comme le $(CoNH_3)_6^{3+}$.

La condensation de l'ADN requiert des fragments d'une longueur de l'ordre de $400pb$ [119]. Ce résultat montre que l'interaction attractive par paire de base est faible puisque plusieurs centaines de paires de bases au moins doivent interagir, de façon intra ou intermoléculaire pour former une structure condensée stable.

Les expériences de R.W. Wilson et V.A. Bloomfield. [113], ont montré qu'il fallait qu'environ 90% de la charge électrique de la chaîne portée par les groupements phosphate soit neutralisée pour la condensation. Dans son article, Bloomfield [118] présente différentes contributions à la condensation de l'ADN en solution et indique les ordres de grandeur des contributions électrostatiques des contre-ions selon leur charge électrique. Pour se condenser en une particule de taille caractéristique de quelques nanomètres, la chaîne doit présenter une contribution attractive qui doit au moins compenser la répulsion électrostatique. L'énergie libre de la chaîne pour se condenser à partir de sa forme relâchée,

ΔU_{elec} , et compenser ces seules répulsions électrostatiques a été estimée par R. Marquet et C. Houssier [120]. Pour un cation de charge +3, $\Delta U_{elec} \simeq 0,24k_B T.pb^{-1}$ et $0,14k_B T.pb^{-1}$ pour un cation de charge +4.

L'origine de la force attractive est moins claire. Elle a été introduite sous la forme de forces d'hydratation de l'ADN (cf. ci-après). Bloomfield évoque une contribution attractive liée aux interactions entre dipôles. Ce résultat avait été évoqué par F. Oosawa dès 1968 [121, 122]. Cette contribution est de l'ordre de $-0,3k_B T.pb^{-1}$ et se trouve être prédominante devant l'ensemble des autres contributions (élasticité de courbure : $0,3.10^{-2}k_B T.pb^{-1}$, entropie de démixage de la chaîne de son solvant au moment de la condensation : $0,6.10^{-2}k_B T.pb^{-1}$, et électrostatique : $\simeq 0,25k_B T.pb^{-1}$). L'énergie libre totale de la chaîne condensée sous l'action des contre-ions varie ainsi typiquement dans un intervalle de $-0,044$ à $-0,097k_B T.pb^{-1}$ pour des cations trivalents ou plus. Ces résultats sont cohérents avec ceux, plus récents, de D.C. Rau et V.A. Parsegian [123] qui évaluent que l'énergie libre de la forme condensée de l'ADN en présence de $20mM Co(NH_3)_6^{3+}$ et de $25mM NaCl$ est $-0,17k_B T$.

Pour décrire la force stabilisant la condensation des chaînes, le concept de *forces d'hydratation* a été également introduit au milieu des années 80 autour des expériences de mesures de pression osmotique entre deux chaînes parallèles d'ADN en fonction de leur distance centre à centre [124].

Les forces d'hydratation seraient liées à la reconfiguration des molécules d'eau à la surface de la chaîne d'ADN. Elles peuvent être soit attractives, soit répulsives selon la distance entre les chaînes. Elles sont indépendantes de la force ionique et similaires pour beaucoup de systèmes moléculaires. Les mesures indiquent que les contributions électrostatiques disparaissent pour des distances entre chaînes de l'ordre de $0,5 - 1,5nm$ [124]. Ce résultat reste vrai pour la plupart des conditions ioniques testées.

Rau et Parsegian montrent que ces forces peuvent s'étendre sur des distances de l'ordre de $1nm$ et sont de deux ordres de grandeur supérieures aux interactions dispersives de London. Ils calculent une décroissance exponentielle de la force attractive avec une longueur caractéristique de $1,4$ à $1,5\text{\AA}$. La composante répulsive de la force est à courte portée et décroît exponentiellement avec la distance sur une longueur caractéristique de $2,5$ à $3,5\text{\AA}$.

L'origine de ces forces a été décrite en postulant un réarrangement des liaisons entre les molécules d'eau et la surface de la chaîne pour créer des zones hydratées attractives entre les hélices [125]. Avec une forme pour le potentiel attractif du type $4Ae^{-d/\lambda_w}$, Leikin donne une longueur de corrélation effective de l'ordre de $\lambda_w \simeq 1,6$ à $1,8\text{\AA}$, en bon accord avec les observations expérimentales, postérieures, de Rau et Parsegian.

Nous avons considéré jusque-là que les cations se fixent électrostatiquement au voisinage de la surface de l'ADN et conduisent à sa condensation, mais qu'ils n'affectent pas la structure de la chaîne.

V.A. Buckin *et al.* ont étudié plus spécifiquement l'influence de l'ion Mg^{2+} [126]. Ils montrent sur différentes séquences d'oligonucléotides, que la fixation de Mg^{2+} sur l'ADN dépend de la séquence de la chaîne et de son hydratation. Ils en déduisent que le magnésium reconnaît la séquence de la chaîne à travers sa gangue d'hydratation et proposent la formation de deux types de complexes entre Mg^{2+} et la chaîne : un complexe

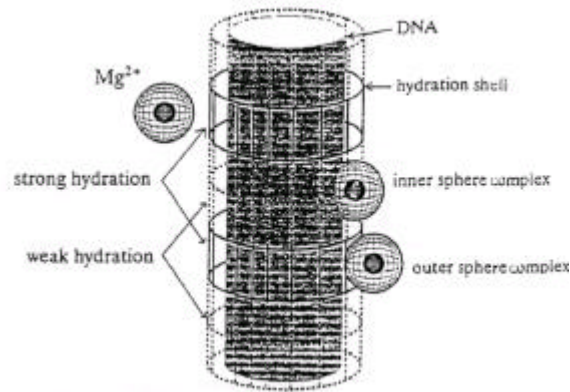


FIGURE III.11: Illustration des types de complexes formés par Mg^{2+} : (i)- Pour les complexes externes, Mg^{2+} ne pénètre pas dans la gaine d'hydratation de la chaîne localement forte (zone riche en séquences A-T). La conséquence en est une faible déshydratation de la molécule. (ii)- Pour les complexes internes, Mg^{2+} pénètre les zones moins hydratées de la chaîne (zones riches en séquences C-G). La déshydratation de la molécule liée à la fixation de l'ion est ici plus importante.

interne, dans les zones riches en C-G, et un complexe plus externe à la chaîne dans les régions riches en A-T. La figure III.11 reporte le schéma qu'ils proposent. Leurs résultats montrent également que les oligonucléotides G-C et ceux formés d'une séquence A sur un seul brin et d'une séquence T sur le brin complémentaire sont stables en présence de Mg^{2+} alors que les séquences alternées ne le sont pas.

L'article de B. Schneider *et al.* de 1998 [127] est assez complémentaire puisqu'il montre que les sites d'hydratation des phosphates de la chaîne sont au nombre de 6 et que leurs positions et leur taille dépend à la fois de la conformation de la chaîne et du nucléotide.

Ces éléments indiquent que, si les modèles continus décrivent bien les aspects généraux des super-structures de l'ADN en solution, le caractère discret de la chaîne et la façon dont les contre-ions se fixent sur la chaîne et réorganisent localement sa structure seront à prendre en considération pour des descriptions plus locales.

Chapitre IV

Préparation de substrats pour le dépôt d'A.D.N.

Chapitre IV

Préparation de substrats pour le dépôt d'A.D.N.

La préparation d'un échantillon pour une étude en MFA est une étape très délicate. La façon dont le dépôt est réalisé conditionne la qualité des expériences. Quel que soit l'échantillon retenu, sa préparation suppose trois contraintes majeures.

La première est liée au substrat sur lequel le dépôt de l'échantillon est fait. Il doit être faiblement rugueux sans quoi l'interaction pointe-surface devient difficile à décrire. Pour des objets d'étude dont la taille caractéristique est le nanomètre, la rugosité du substrat doit être évidemment inférieure à cette dimension caractéristique.

La deuxième est le contrôle de la pureté du dépôt.

La troisième, une fois le dépôt réalisé, est la pureté de l'échantillon à des pollutions extérieures. Les pollutions premières dont il faut s'affranchir sont les effets capillaires liés à un mauvais séchage du substrat après dépôt.

Pour discuter de chacune de ces trois contraintes, nous présentons dans ce chapitre les différentes étapes expérimentales qui nous ont amené à la préparation des échantillons d'ADN telle que nous l'avons rationalisée. Leur étude, sur les substrats retenus, est présentée au chapitre suivant.

L'ADN étant un polyélectrolyte, nous avons vu lors du précédent chapitre que les conditions de force ionique jouent un rôle de premier plan sur la conformation des molécules. Mais il est également clair qu'elles vont influencer sur l'adsorption des molécules au moment du dépôt. Par ailleurs, la physico-chimie de la surface est aussi un élément important susceptible de favoriser ou non l'adsorption.

Pour donner quelques exemples des nombreux travaux déjà réalisés dans le domaine, ce chapitre débute par une revue bibliographique du dépôt de molécules d'ADN observées en microscopie à champ proche. Nous présentons ensuite une étude préliminaire à celle des séquences d'ADN. Il s'agit d'un échantillon biologique modèle pour la MFA : le virus de la mosaïque du tabac (VMT), sur un substrat de mica. Cette étude nous a permis d'orienter la stratégie de dépôt. La dernière partie de ce chapitre présente les substrats retenus pour les études des différentes séquences d'ADN que nous avons réalisées.

IV.1 Revue bibliographique

L'application des microscopies à champ proche à l'étude de molécules biologiques et en particulier de l'ADN a fait l'objet de très nombreux travaux depuis 15 ans. Dans cette revue, par souci de synthèse, nous ne mentionnons que quelques-uns des nombreux travaux concernant l'étude de molécules d'ADN en microscopie à force atomique et des travaux en microscopie à effet tunnel (STM).

Les travaux évoqués traitent spécifiquement de la contribution du substrat et de la préparation de la solution d'ADN déposée. Certains des résultats les plus marquants sont repris et utilisés au chapitre suivant. L'étude des interactions ADN-ligands, ADN-protéines, ont également été réalisées en MFA, mais nous n'en parlerons pas.

Avant la STM et la MFA, la microscopie électronique à transmission (TEM) avait été utilisée pour l'étude de molécules d'ADN déposées sur des surfaces. Beaucoup de résultats utilisés aujourd'hui par les différents auteurs ont hérité de cette technique. Nous reviendrons sur ce point le cas échéant.

IV.1.a Études en S.T.M.

Les premières études d'ADN conduites en microscopie à effet tunnel (STM) ont été réalisées en 1987 par G. Travaglini *et al.*, puis par M. Amrein *et al.*, sur des substrats de graphite, "*Highly Oriented Pyrolytic Graphite*" (HOPG), recouverts ou non d'un dépôt métallique [128–130]. Ces observations ont la plupart du temps été obtenues à l'air, mais parfois en milieu liquide [131] ou en ultra-vide [132].

Certaines de ces observations ont confondu l'ADN avec des dislocations du graphite. Cette confusion posa quelques problèmes aux sondes locales de force dans les années qui suivirent concernant la confiance à accorder au contraste des images.

D'autres substrats comme l'or [133,134] ou le cuivre [135] ont par la suite été testés. Les surfaces d'or présentaient l'avantage de pouvoir être fonctionnalisées avec des groupements thiols assurant un meilleur dépôt des chaînes que sur les surfaces hydrophobes de HOPG [136].

Citons également les résultats spectaculaires de R. Guckenberger *et al.* en 1994 et ultérieurement de M. Heim *et al.* obtenus sur un substrat de mica en utilisant la conductivité d'une seule monocouche d'eau pour créer le courant tunnel et permettre d'imager des molécules d'ADN [137,138].

Pour certains de ces travaux, l'ADN a été déposé en ajoutant à la solution du chlorure de benzylalkylammonium (BAC), souvent utilisé en TEM [139]. D'autres méthodes de préparation des échantillons inspirées de cette technique ont aussi été adaptées pour la STM ou la MFA. La métallisation du substrat, souvent du mica, donc particulièrement des chaînes d'ADN qui y sont présentes, a ainsi été utilisée par certains auteurs. L'objectif initial était d'augmenter le contraste sur les molécules [128,129]. D'autres études encore ont été menées en ayant préalablement immergé la solution d'ADN dans une solution d'acétate d'uranyle [140–142].

IV.1.b Études en M.F.A. : Tapping et Contact

L'avènement de la MFA en 1986 a relancé l'intérêt de l'étude des molécules biologiques en permettant d'une part de travailler sur des substrats non conducteurs, offrant ainsi la possibilité de s'affranchir des agents de dépôts, et d'autre part d'imager les molécules en milieu liquide. La MFA semblait ainsi une technique davantage adaptée à l'étude des matériaux biologiques.

Dans ce cadre, une multitude d'articles, dont certains de revue, ont été publiés : citons parmi ceux-là, A. Edstrom *et al.* [143], A. Engel [144], C. Bustamante *et al.* [145, 146] pour les plus anciens et L.A. Bottomley [147], H.G. Hansma *et al.* [148], E. Delain *et al.* [149], dont cette revue s'inspire, pour les plus récents.

IV.1.b-i Molécules d'A.D.N. en solution

► Contribution des cations mono- et multivalents dans la solution d'A.D.N. :

Dans le milieu physiologique, les molécules d'ADN sont entourées d'une couche d'eau contenant différents cations [150]. Le chapitre précédent a ainsi évoqué, en plus des cations monovalents, la possible contribution des cations multivalents, dont Mg^{2+} dans la neutralisation des charges négatives du squelette sucro-phosphate.

Plusieurs auteurs ont montré que d'autres cations divalents avaient des effets importants et complexes sur la conformation de la chaîne [151–153] et étaient ainsi susceptibles d'interférer en modifiant l'adhésion du substrat avec la structure observée des molécules. Citons ainsi des études sur Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} et Cd^{2+} [154–157] et sur Zn^{2+} [152, 158], dont l'effet majeur est d'induire localement de fortes torsions et des changements conformationnels de la chaîne [153].

► Préparation de la solution d'ADN avant son dépôt :

Parallèlement aux études fondamentales de la contribution des cations et polycations sur l'ADN en solution, les auteurs ont tenté d'exploiter ces résultats en MFA pour la préparation des solutions d'ADN avant le dépôt sur la surface.

L'adsorption d'ADN sur un substrat a été discutée par J.M. Sogo *et al.* dès 1975 [159] pour la TEM en ajustant la concentration en Mg^{2+} de la solution d'ADN de 4 à $8mM$ [160, 161]. Cette technique a, par la suite, été transposée à la MFA et a conduit à des résultats plus probants que le rinçage du substrat avec une solution de $MgCl_2$ (cf. ci-après). Elle a ensuite été utilisée par la majeure partie des auteurs qui utilisaient des dépôts sur le mica [142, 162–175].

D'autres articles donnent des résultats obtenus pour des concentrations de Mg^{2+} inférieures aux concentrations usuelles de 3 à $10mM$. S.J.T. van Noort *et al.* n'utilisent ainsi que $1mM$ de Mg^{2+} dans leur solution d'ADN [176]. Certains auteurs précisent même qu'ils n'utilisent pas de Mg^{2+} [177–179], comme pour les résultats de R. Guckenberger *et al.* en STM [137].

D'autres cations divalents en solution ont aussi été testés : Ca^{2+} [180], Ni^{2+} [165], Zn^{2+} [158]. M.J. Allen *et al.* montrent par exemple que les ions Mg^{2+} ou Ca^{2+} ne conduisent pas à la même fixation des molécules sur le substrat [171].

En 1990, A.L. Weisenhorn *et al.* utilisent un cation trivalent, Al^{3+} , dans la solution pour leurs dépôts [181] et observent une condensation des chaînes¹. En 1998, Y. Fang et J.H. Hoh² utilisent d'autres polycations, mais les fixent sur la surface plutôt que de les utiliser en solution et observent des structures similaires [179] à celles de A.L. Weisenhorn.

Concernant un effet éventuel de la solution tampon, peu d'auteurs ont étudié la question. En 1993, M. Bezanilla précise ainsi que le tampon HEPES est préférable au Tris, pourtant beaucoup plus utilisé [164].

► *Imager l'ADN en solution :*

L'une des grandes préoccupations des expérimentateurs a concerné les conditions dans lesquelles les images de l'ADN sont obtenues, dont les conditions d'hygroscopie de la molécule. Beaucoup d'études de MFA ont ainsi été réalisées en milieu liquide.

Le milieu liquide écrante les interactions entre corps et en particulier les forces d'adhésion, ce qui conduit à une fixation de l'ADN plus faible sur le substrat [184,185] (cf. chapitre I.4). M. Guthold *et al.* en 1994, puis S.J.T. van Noort *et al.* en 1998 rapportent ainsi que certaines molécules peuvent bouger en milieu liquide [167,176]. Y.L. Lyubchenko et L.S. Shlyakhtenko mesurent par exemple des temps de diffusion des chaînes de l'ordre de la dizaine de minutes [186]. Ils en déduisent que les chaînes sont faiblement liées à la surface. À l'air, et dans les mêmes conditions, les auteurs constatent que les formes adoptées par les chaînes sont qualitativement similaires à celles en solution.

Beaucoup d'auteurs ont étudié l'influence de l'hydratation de la chaîne et des forces d'adhésion [173,187,188]. J. Vesenska montre par exemple que la taille apparente de la molécule diminue en augmentant le degré d'humidité [189]. En 1999, Y. Fang *et al.* montrent que les conditions d'hydratation sont susceptibles d'induire des transitions de conformations de la forme B vers la forme A [190].

Citons encore les résultats de K. Rippe *et al.* de 1997 [173] qui mettent en évidence différentes structures d'écroulement des chaînes d'ADN en variant, en milieu liquide, la force ionique.

IV.1.b-ii Types de substrats

Compte tenu des contraintes de planéité du substrat, seules quelques surfaces sont envisageables : les plus couramment utilisées par les auteurs sont des surfaces de mica et de silice, fonctionnalisées ou non.

Plusieurs surfaces dérivées de la silice ont ainsi été utilisées : silice [191], verre [192], silice fonctionnalisée par des agents de couplage de type silanes avec des fonctions terminales plus ou moins réactives [179,193].

De façon moins récurrente, l'utilisation de surfaces d'or, traitées ou non, [194,195] ou d'or fonctionnalisé, à l'instar des surfaces pour la STM a aussi été tentée. Plus récemment encore, le saphir a été testé [196].

¹ Ceci a été observé en TEM par exemple par P.G. Arscott *et al.* [182,183].

² Nous reviendrons régulièrement dans la suite sur leur travail.

Le mica est beaucoup plus répandu et parfois fonctionnalisé avec des silanes. Citons par exemple parmi ces travaux ceux de A.L. Weisenhorn [181] dès 1990, puis ceux de Y.L. Lyubchenko *et al.* [186, 187, 197–201], de T. Thundat *et al.* [202–206] et encore bien d'autres [164, 170–172, 207–209], dont ceux de C. Bustamante *et al.* [145, 146, 184, 185].

A l'état naturel, le mica se retrouve sous une multitude de variétés. La muscovite est par exemple un mica récurrent chez beaucoup d'auteurs, mais les minéralogistes semblent dire qu'elle ne se trouve pas à l'état naturel avec un degré de pureté important et n'est donc pas homogène. La raison première du choix des auteurs est que ce type de mica se clive facilement selon ses plans interatomiques et donne ainsi un substrat plan. L'argument des minéralogistes est précisément de dire que ce comportement est caractéristique de la présence d'impuretés qui s'intercalent entre les plans atomiques de la structure cristalline, favorisant le clivage [149].

Précisons en outre que, une fois clivé, le mica présente en surface une distribution de charges K^+ qui rend la surface sensible à la pollution par tous les contaminants présents dans l'atmosphère immédiate du substrat. Pour pallier cette difficulté supplémentaire, les auteurs précisent régulièrement que le substrat a été "fraîchement" clivé.

Pour déposer de l'ADN sur le substrat, il a été montré que l'utilisation d'ions divalents dans la solution semblait une alternative intéressante. Parallèlement à ces travaux, il a donc été mis au point des techniques de préparation du mica comme des techniques de rinçage dans une solution de $MgCl_2$ [184, 210, 211]. D'autres travaux ont utilisé des cations différents comme le Ba^{2+} [211], ou le Co^{2+} [205]. Ces méthodes de "rinçage" du substrat se sont toutefois révélées moins efficaces pour les dépôts que la maîtrise de la préparation de la solution d'ADN.

Des méthodes dérivées du TEM ont aussi été transposées. Citons notamment la technique du cytochrome³ C exploitée en MFA en 1992 par J. Yang *et al.* [215, 216]. Cependant, dès 1978, les études de J.L. Butour *et al.* [217], puis ultérieurement de M. Joanicot *et al.* [218] et de G. Muzard *et al.* [219] en TEM avaient montré que le cytochrome modifiait la conformation locale des chaînes. En substitut du cytochrome C, d'autres agents de dépôt ont été testés comme le BAC, précédemment cité, [207, 220], le DMP-30 [221] ou l'acétate d'uranyle [142, 180].

Le dépôt sur le substrat de composés polycationiques a été utilisé par plusieurs auteurs: polylysine, spermidine [222], aminopropylsilanes sur le mica [186, 187, 197–199] ou sur la silice [179, 193], ou encore sur des surfaces de verre [223]. L'idée est que les polycations de la surface constituent, un milieu basique susceptible de coller et de bien étaler l'ADN.

IV.1.c Synthèse et discussion

La quantité des travaux publiés sur le dépôt de molécules d'ADN pour des études en MFA est très importante. Au regard de tous ces éléments, les résultats principaux sont que le mica, fonctionnalisé ou non, est le substrat le plus souvent retenu et que les conditions de dépôts standards sont de quelques mM de Mg^{2+} dans la solution d'ADN. Les autres éléments sont en général une solution tampon de type Tris-EDTA à quelques mM et

³ Voir par exemple [212–214] pour la TEM.

du $NaCl$ à quelques dizaines de mM . Ces conditions assurent un pH de la solution de l'ordre de 7 à 7,5. Les concentrations d'ADN en solution sont de quelques $\mu g/ml$. Nous précisons les paramètres que nous avons retenus au chapitre suivant.

Apportons toutefois des éléments de discussion à ces résultats. Sur l'ensemble de ces travaux, le mode Tapping a été utilisé très régulièrement et parfois dans des conditions mal définies, sans plus de précision sur la façon dont sont obtenues les images. Le NC-AFM commence par ailleurs à être exploité [224–226].

Notre approche de la problématique a été la suivante. Il s'agissait de ne pas déposer les molécules en utilisant des agents de dépôt du type de ceux des techniques de TEM puisque il a été montré que ce genre d'agents pouvait affecter les molécules et leurs conformations.

Initialement, les surfaces de mica ont été envisagées, puis abandonnées (cf. ci-après), au profit de surfaces de silice fonctionnalisées. Notre objectif a été de savoir, dans le cadre des approches développées au chapitre précédent, quelles étaient les informations susceptibles d'être obtenues en termes de cartographie d'interactions et de réponse mécanique locale des molécules d'ADN et de les corréler aux images obtenues.

L'atmosphère contrôlée a été retenue au détriment du milieu liquide afin de ne pas écranter les interactions. La sensibilité du microscope de force en mode dynamique étant essentiellement contrôlée par les non-linéarités liées aux interactions entre la pointe et la surface (paramètre $\kappa_a \propto H$ du chapitre II), il s'agissait de ne pas limiter cette sensibilité. En outre, les facteurs de qualité des leviers de dynamique dans l'eau ne sont que de l'ordre de 10. Or, plus que le seul paramètre κ_a , nous avons montré que c'était en fait le produit $Q\kappa_a$ qui contrôlait la non-linéarité de l'oscillateur en interaction avec la surface. L'utilisation du milieu liquide n'est donc pas, à double titre, susceptible de favoriser la sensibilité de la machine.

Avant d'initier les dépôts des molécules d'ADN, le premier objet biologique d'étude a été le virus de la mosaïque du tabac (cf. paragraphe suivant) déposé sur une surface de mica qui, par ses dimensions, semblait plus simple à observer.

Terminons cette partie en citant une phrase de M. Salmeron *et al.* de 1990 [227] qui résume toutes les difficultés rencontrées par les auteurs :

“Perhaps the major practical problem in the current practise of STM applied to biomolecules is the attachment of the molecules to the surface.”

C'est sans retenue aucune que je la transpose au cas de la MFA.

IV.2 Étude préliminaire : le Virus de la Mosaïque du Tabac (V.M.T.)

Cet échantillon modèle a initialement été retenu en raison de ses dimensions et de sa géométrie. Ce virus se présente sous la forme d'un cylindre de $20nm$ de diamètre constitué d'une assemblée de protomères qui s'agencent en hélice le long d'un acide ribonucléique (ARN). Le tout forme un cylindre rigide sur une longueur de plusieurs centaines de nanomètres [228]. La figure IV.1 en donne une représentation.

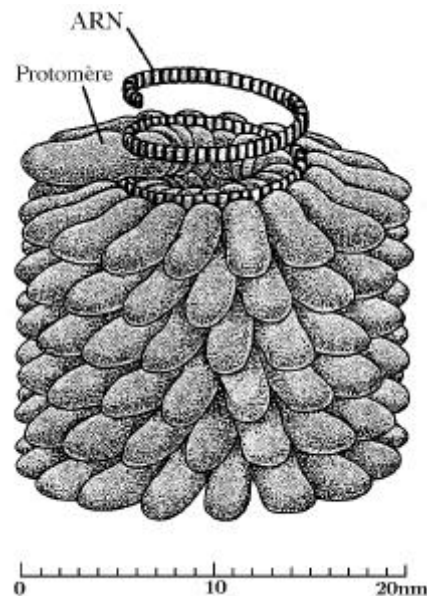


FIGURE IV.1: Représentation du VMT.

L'échantillon est déposé sur une surface de mica "fraîchement" clivé. Nous présentons quelques résultats qualitatifs concernant la mesure de la réponse mécanique du VMT puis évoquons certaines contingences expérimentales liées à la préparation du substrat qui nous ont orienté dans la stratégie de dépôt pour l'ADN.

La figure IV.2 présente la zone à partir de laquelle les mesures ont été réalisées. En réalisant des courbes d'approche-retrait sur le VMT et en les comparant à celles obtenues sur une surface de silice testée avec la même pointe dans les mêmes conditions, les mesures relatives de pente du contact intermittent indiquent que la réponse mécanique du VMT est accessible. Pour $A_0 = 32nm$, qui assure une situation de contact intermittent, les courbes d'approche-retrait obtenues (en amplitude) sont reportées sur la figure IV.3.

La pente de variation de l'amplitude, ajustée avec une régression linéaire, vaut 1 sur la silice et 0,84 sur le VMT.

Ces premières mesures montrent que des informations, au moins relatives, peuvent être obtenues sur le VMT, validant ainsi le protocole expérimental.

Pour une étude plus systématique, le substrat sur lequel est déposé l'objet doit constituer la référence. Compte tenu que, lors d'une expérience, la pointe passe la majeure

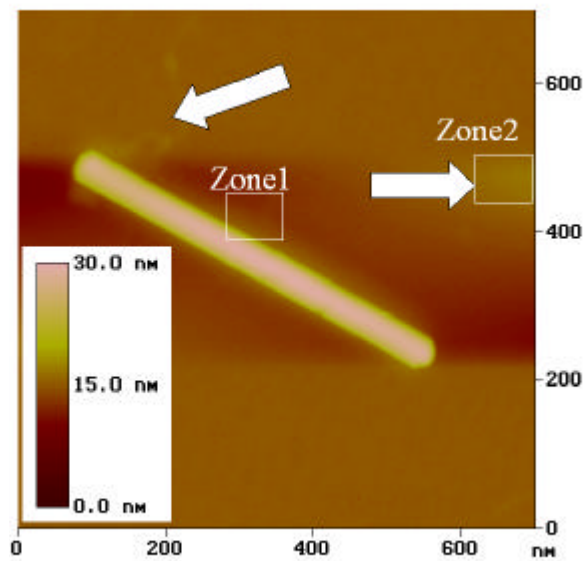


FIGURE IV.2: Image de $700 \times 700 \text{ nm}^2$ en hauteur sur le VMT. Le contraste vertical est de 30 nm . Les conditions d'imagerie sont celles indiquées dans la figure IV.3. Les zones 1 et 2 indiquées sont celles sur lesquelles ont été réalisées les courbes d'approche-retrait présentées en figures IV.4. Les flèches indiquent les zones qui présentent une pollution de la surface nette.

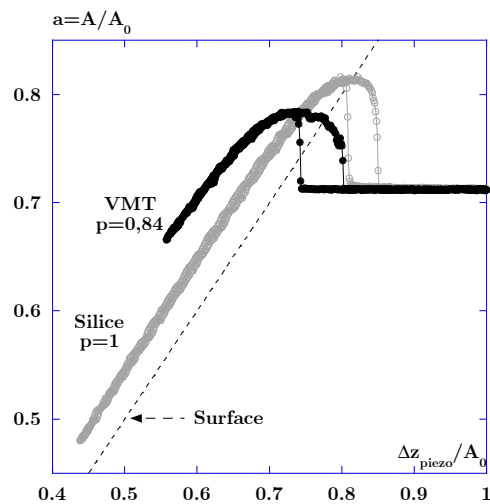


FIGURE IV.3: Comparaisons de courbes d'approche-retrait en amplitude obtenues sur le VMT (cercles pleins noirs) et sur une silice (cercles vides clairs) avec une même pointe dans les mêmes conditions. Les paramètres expérimentaux sont : $A_0 = 32 \text{ nm}$, $\nu_0 = 163,301 \text{ kHz}$, $u = 0,9988$ et $Q = 430$, assurant une amplitude et une phase libres respectivement égales à $0,70$ et -44° .

partie du temps dans le substrat, il se doit d'être propre, ne serait-ce que pour éviter une évolution de la signature de la pointe.

Afin d'évaluer ces éléments, des courbes d'approche-retrait ont été réalisées au voisinage du VMT et sur une zone isolée de mica. Les courbes d'approche-retrait faites sur cette zone (zone 1) et sur le mica (zone 2) sont présentées sur les figures IV.4(a) et (b), respectivement.

La zone 1 indique une pollution importante, similaire à celle présentée au chapitre II ou en annexe C. Pour l'amplitude de $23nm$ utilisée, l'oscillateur bifurque initialement en non-contact avant de récupérer une situation de contact intermittent avec la surface en raison de la croissance d'un col capillaire entre la pointe et la surface résultat de pollutions présentes à l'interface. Cela indique une pollution locale de la surface au voisinage de l'objet. L'origine de cette pollution est délicate à interpréter.

Sur la zone 2, la courbe d'approche-retrait est cette fois caractéristique de la croissance d'une nanoprotubérance sous la pointe et la piège par un processus de croissance, similaire à celui présenté au chapitre II. L'instabilité en non-contact est frustrée, cet effet est net sur la variation de phase qui franchit brusquement la valeur de -90° pour récupérer immédiatement une situation de régime répulsif dominant.

Sur la surface de mica, les effets capillaires sont donc importants et ne semblent pas susceptibles d'être contrôlés facilement. Dans ces conditions, travailler sur des molécules d'ADN dont le diamètre est 10 fois plus faible, risque d'être plus délicat encore. Compte tenu de ces résultats et des éléments décrits dans la revue bibliographique, le mica ne nous paraissait pas une surface adaptée pour initier une étude sur des chaînes d'ADN et a donc été abandonné.

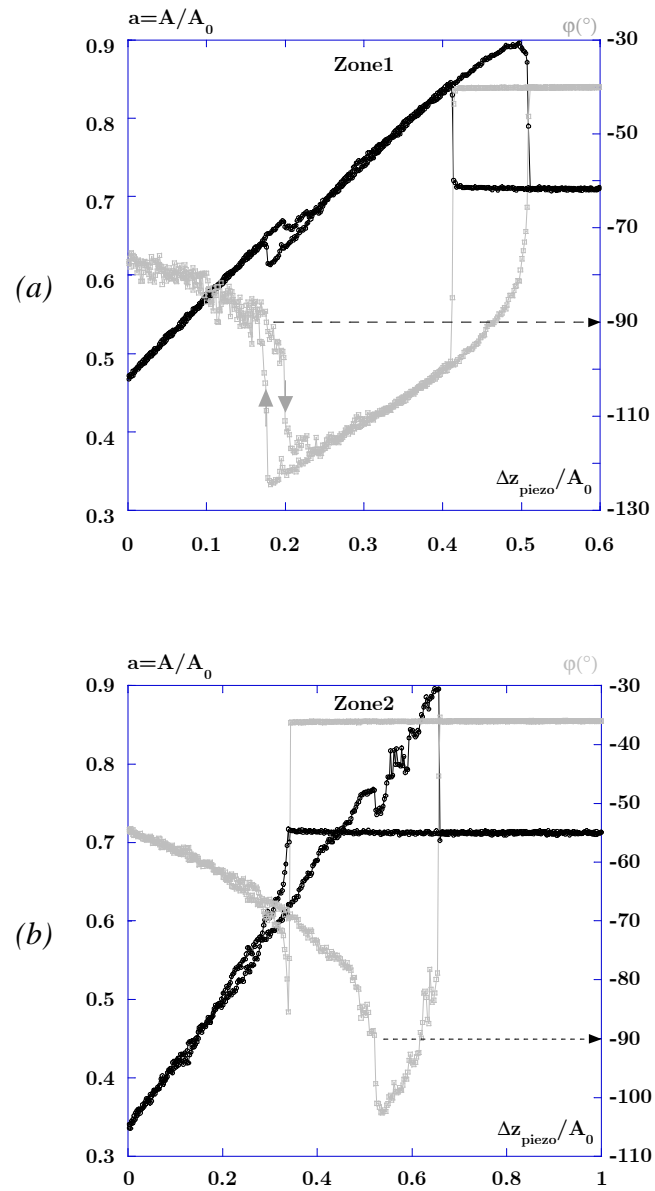


FIGURE IV.4: Courbes d'approche-retrait expérimentales associées aux conditions d'imagerie de la figure IV.2, exceptée $A_0 = 23\text{nm}$. (a)- Sur la zone 1. (b)- Sur la zone 2.

IV.3 Préparation de substrats de silice greffée de silanes

L'alternative retenue pour le dépôt des molécules d'ADN a donc été de fonctionnaliser des surfaces de silicium oxydé avec des molécules de silanes.

Ce type de surfaces présente plusieurs avantages. La silice, formée sur un substrat de silicium, constitue un substrat plan, avec une rugosité inférieure à quelques angströms sur des zones de plusieurs microns carrés. Le protocole expérimental de préparation du substrat avant greffage est rapide et bien maîtrisé. Les techniques de greffage de composés organosiliciés sont bien connues et utilisées par beaucoup d'auteurs. Une couche homogène en surface présenterait une interaction avec la pointe homogène et constituerait une référence fiable. Enfin, si le groupement fonctionnel est correctement choisi, les molécules d'ADN pourraient être déposées, sans adjonction d'agents de dépôts, ou de traitement spécifique.

Dans cette partie, nous présentons un rapide descriptif des substrats de silice pour le greffage de composés organosiliciés ainsi que la réaction dite de *silanisation* des surfaces de silice. Les détails relatifs à la préparation des substrats de silice et à la synthèse des molécules de silanes ainsi qu'aux protocoles expérimentaux de greffage peuvent être trouvés dans les thèses de S. Gauthier [64] et de F. Choplin [229].

IV.3.a Description de la silice

La nature chimique et les propriétés d'adsorption des surfaces de silice sont principalement dues aux fonctions silanols ($Si - OH$) de surface qui peuvent s'engager dans des liaisons hydrogène. La réactivité de la surface va donc être contrôlée par la densité de sites hydroxyles en surface. Il existe trois types de fonctions silanols : les silanols isolés, les silanols géminés et les silanols liés pas liaison hydrogène (cf. figure IV.5).

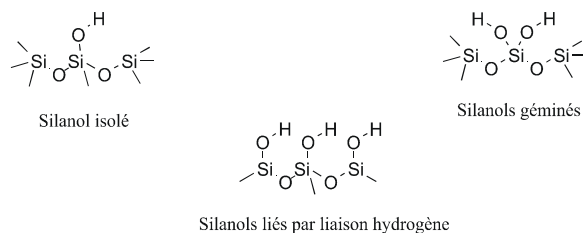


FIGURE IV.5: Représentation des trois types de fonctions silanols.

Les sites hydroxyles favorisent, à température ambiante, l'hydratation de la silice en surface [230–232]. Les groupements hydroxyles liés peuvent être éliminés sous vide primaire vers $450^{\circ}C$. Pour des traitements thermiques au-dessous de $400^{\circ}C$, la réhydratation de la silice est réversible. Au-delà, les processus sont beaucoup plus lents et la réversibilité n'est plus complète. Pour des températures plus élevées, entre 600 et

1200°C, les silanols isolés/géminés disparaissent et il y a formation de ponts siloxanes ($Si - O - Si$) [233–235]. La silice est passivée.

Les auteurs s'accordent à dire que la densité de sites hydroxyles est de l'ordre de $5OH.nm^{-2}$ pour une silice totalement hydroxylée et de $3OH.nm^{-2}$ après dégazage sous vide à 150°C. Après dégazage à 450°C, il ne reste plus sur la surface que des silanols isolés/géminés, à raison de 1,2 à $1,5OH.nm^{-2}$ [236].

La quantité d'eau adsorbée à la surface dépend de son degré d'hydroxylation. C.P. Trip et M.L. Hair montrent qu'ils ont de l'ordre de 2,5 à 4 molécules $H_2O.nm^{-2}$ sur une silice commerciale [232]. D'autres études, en spectroscopie notamment [231], indiquent que la raie d'absorption de l'eau est déplacée vers les plus grandes fréquences lorsque la quantité d'eau adsorbée augmente. Ce déplacement est interprété comme caractéristique de la formation de multicouches d'eau en surface.

Dans leurs travaux de 1980, R.P. Scott et S. Traiman [230], mettent en évidence au moins trois couches d'eau adsorbées à la surface d'un gel de silice conditionné à 23°C dans une atmosphère à 50% d'humidité. La figure IV.6 schématise l'organisation des couches selon ce modèle.

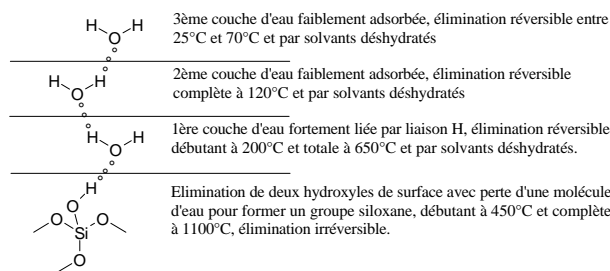


FIGURE IV.6: Représentation schématique des trois monocouches d'eau physisorbées sur la silice.

Ces travaux ont, depuis, été confirmés et complétés. Des mesures récentes dans l'équipe, réalisées en mode contact [53] ou en mode dynamique [237], valident à nouveau cette approche de couches d'eau superficielles liées au substrat qui le sont de plus en plus au fur et à mesure de leur proximité de la surface de silice. A titre d'exemple, l'annexe C présente une mesure de cinétique d'adsorption d'eau sur une silice fraîche, qui venait de subir un traitement thermique.

IV.3.b Réaction de silanisation

La réaction de silanisation a été très étudiée à partir des années 60 pour ses applications en chromatographie [238]. Aujourd'hui, elle est employée dans divers domaines tels que l'électronique [239], les biotechnologies [240, 241], les polymères [242–245] et l'adhésion [246].

Le greffage de ces composés est décrit par J. Sagiv en 1980 [247] qui propose le schéma de greffage de la figure IV.7. Pour se lier à la silice de façon covalente, l'atome de silicium

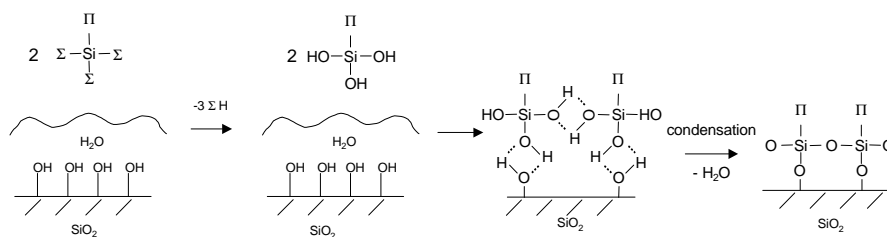


FIGURE IV.7: Réaction de silanisation selon J. Sagiv, [247].

doit posséder au moins un groupement hydrolysable Σ . Par la suite, nous parlerons de façon générique de groupement Σ pour le(s) groupement(s) hydrolysable(s) et de groupement Π pour le groupement fonctionnel réactif.

Les silanes s'adsorbent d'abord sur la surface hydratée de la silice, ce qui provoque l'hydrolyse des groupements Σ de l'atome de silicium puis se lient entre eux à la surface par liaisons hydrogène impliquant les hydroxyles. Enfin, la condensation des silanols provoque la formation d'un réseau bidimensionnel lié à la surface de façon covalente.

Si de l'eau est présente en solution, une réaction de polymérisation des molécules peut se produire, défavorisant la réaction de greffage (cf. figure IV.8).

Les groupements Σ sont des groupements halogènes, en particulier le chlore, ou des alcoxyles. Les plus utilisés sont les groupements halogènes parce que plus réactifs que les alcoxyles dont l'hydrolyse est lente dans les solvants hydrocarbonés [248].

L'atome de silicium peut porter un, deux ou trois groupements Σ . Les composés monofonctionnels ne peuvent conduire qu'au greffage d'une monocouche. Ils sont toutefois peu utilisés car le recouvrement de la silice est faible [64, 249, 250]. Les composés organosiliciés les plus utilisés sont trifonctionnels [251, 252].

Les travaux de C.P. Trip, M.L. Hair montrent que les silanes fonctionnels ne sont pas hydrolysés par les silanols de surface mais par l'eau physisorbée à la surface [232]. D'où la nécessité de ne pas enlever cette eau de surface. H.O. Finklea et al [253] sont d'ailleurs parvenu à greffer des trichlorosilanes sur des surfaces d'or hydratées.

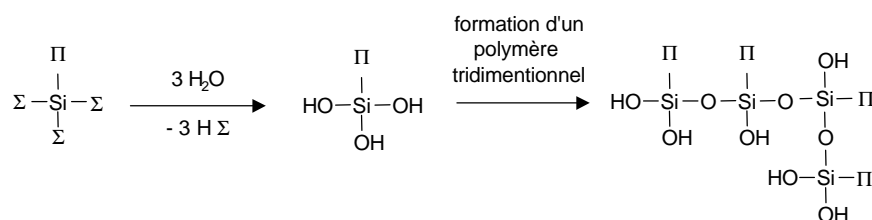


FIGURE IV.8: L'hydrolyse en solution des silanes aboutit à la formation d'oligomères tridimensionnels.

IV.3.c Silanes retenus pour le dépôt de l'A.D.N.

L'objectif premier du traitement des surfaces de silice est de fonctionnaliser la surface avec le groupement II (cf. figure IV.7) des molécules de silanes. Il peut toutefois se trouver que le greffage conduise à une hétérogénéité de la surface greffée. Cela peut résulter d'un mauvais contrôle expérimental du greffage, et/ou d'une réactivité spécifique du groupement II.

Des molécules de silanes auto-assemblées favoriseront un greffage homogène en défavorisant la réactivité du groupement II. L'orientation de nos travaux sur l'ADN nous a amené à envisager des couches auto-assemblées pour le dépôt des chaînes. Ces éléments seront introduits au chapitre VI.

Les substrats de silice avant d'être greffés sont préparés selon un protocole développé par S. Gauthier [64]. Simple et rapide de mise en œuvre, il assure une qualité des substrats de silice obtenus très reproductible. La préparation est faite à partir de trois étapes.

- ▶ Les substrats sont découpés dans un morceau de silicium bipoli et oxydé [63]. Ils subissent ensuite deux fois le cycle suivant : bain de 2 minutes d'acétone, de dichlorométhane et de méthanol bouillants. Cette étape permet d'éliminer la plupart des pollutions organiques présentes en surface. Ils sont ensuite rincés à l'eau ultrapure (18,2M) sous la forme de trois bains successifs de 5 minutes puis séchés sous flux d'azote.
- ▶ Les substrats subissent ensuite un traitement thermique de 30 minutes à 420°C. L'atmosphère du four est ensuite enrichie en O_2 pour favoriser la création des sites hydroxyles en surface. Ce traitement est toujours réalisé à 420°C et pendant une heure. Il a ainsi été montré qu'une couche d'oxyde de l'ordre de 4nm était obtenue.
- ▶ A l'issue du traitement thermique, les surfaces, thermalisées à une centaine de degrés, sont plongées pendant une heure dans une solution d'eau ultrapure bouillante. Cette étape augmente de façon importante la densité de sites hydroxyles [231].

Ce protocole est également celui utilisé pour obtenir les surfaces de silice de référence évoquées jusque-là. Si la silice ne doit pas être greffée, la dernière étape n'est pas réalisée.

La difficulté consistait à déposer des molécules d'ADN sur la surface greffée. Il fallait donc que le composé organosilicié, une fois greffé, assure une surface suffisamment réactive pour autoriser le dépôt des molécules, c'est-à-dire non hydrophobe et portant potentiellement des charges positives ou des groupements chimiques susceptibles d'interagir avec les molécules d'ADN.

Comme nous l'avons vu, l'utilisation d'aminoalkylsilanes semblait une alternative intéressante pour le dépôt d'ADN [179, 193], le groupement amine terminal étant susceptible de se protoner en solution et former un ion ammonium NH_3^+ . Cette hypothèse semble particulièrement plausible compte tenu du fait que le greffage est réalisé en milieu acide ($pH = 3, 5$, [64]) et que le pK_a des amines est situé autour de 9 [193].

Dans notre cas, l'idéal aurait été de disposer d'aminoalkylsilanes avec une chaîne alxyle suffisamment longue, $n > 11$, pour assurer un auto-assemblage efficace des molécules.

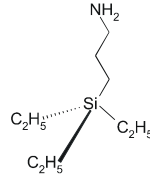


FIGURE IV.9: Molécule de 3-Aminopropyltriéthoxysilane (APTES) retenue pour le dépôt de l'ADN.

Cependant, ces molécules se trouvent commercialement essentiellement sous la forme de 3-Aminopropyltriéthoxysilanes (Σ Alrich), ou APTES, (cf. figure IV.9). Ces mêmes molécules avaient déjà été greffées avec succès sur la silice par S. Gauthier [64].

Cependant, la chaîne alkyle ne présente que trois carbones. Cela semble insuffisant pour créer un auto-assemblage efficace des molécules en surface. On peut donc s'attendre à ce que le greffage se fasse, mais ne constitue pas une monocouche dense et homogène.

IV.3.d Résultats expérimentaux

Pour tester la qualité des substrats obtenus, nous avons réalisé une série de courbes d'approche-retrait en vue d'évaluer la contribution attractive de la surface et une série d'images pour évaluer l'homogénéité de la couche. Ces données ont été comparées à celles obtenues dans les mêmes conditions sur une surface de silice non greffée.

Les expériences ont été réalisées avec une même pointe dans la boîte à gant. Les conditions expérimentales sont : fréquence à la résonance $\nu_0 = 153,319kHz$, fréquence de travail $u = \nu/\nu_0 = 0,9989$, facteur de qualité $Q = 410$. Les conditions d'oscillation libres associées sont $\varphi_l = -45^\circ$ et $a_l = A_l/A_0 = 1/\sqrt{2}$. Pour faire varier la contribution attractive, l'amplitude libre est variée de 75 à 6nm.

Durant les expériences, aucune évolution du comportement de la pointe qui aurait pu résulter d'une éventuelle pollution n'a été observé.

IV.3.d-i Surface de silice

Les substrats obtenus par le précédent protocole sont plans et présentent des rugosités inférieures à quelques angströms sur plusieurs microns carrés. La figure IV.10 présente une image en hauteur d'une zone de $1\mu m^2$. Les conditions d'imagerie sont indiquées dans la légende de la figure. L'amplitude retenue est grande pour limiter la contribution de l'interaction attractive de sorte que, compte tenu des éléments préalablement indiqués concernant le caractère dur de telles surfaces, le contraste de l'image correspond majoritairement à la topographie de la surface. Sur cette zone la rugosité moyenne mesurée vaut 0,2nm.

La figure présente également quelques-unes des courbes d'approche-retrait obtenues. Ces résultats indiquent que la pointe reste en régime répulsif dominant jusqu'à 8nm, sans signature de pollution. Nous sommes donc en présence d'une petite pointe. C'est avec elle que les résultats sur l'ADN présentés au chapitre suivant ont été obtenus. Elle est en effet par sa taille *a priori* adaptée à l'étude envisagée.

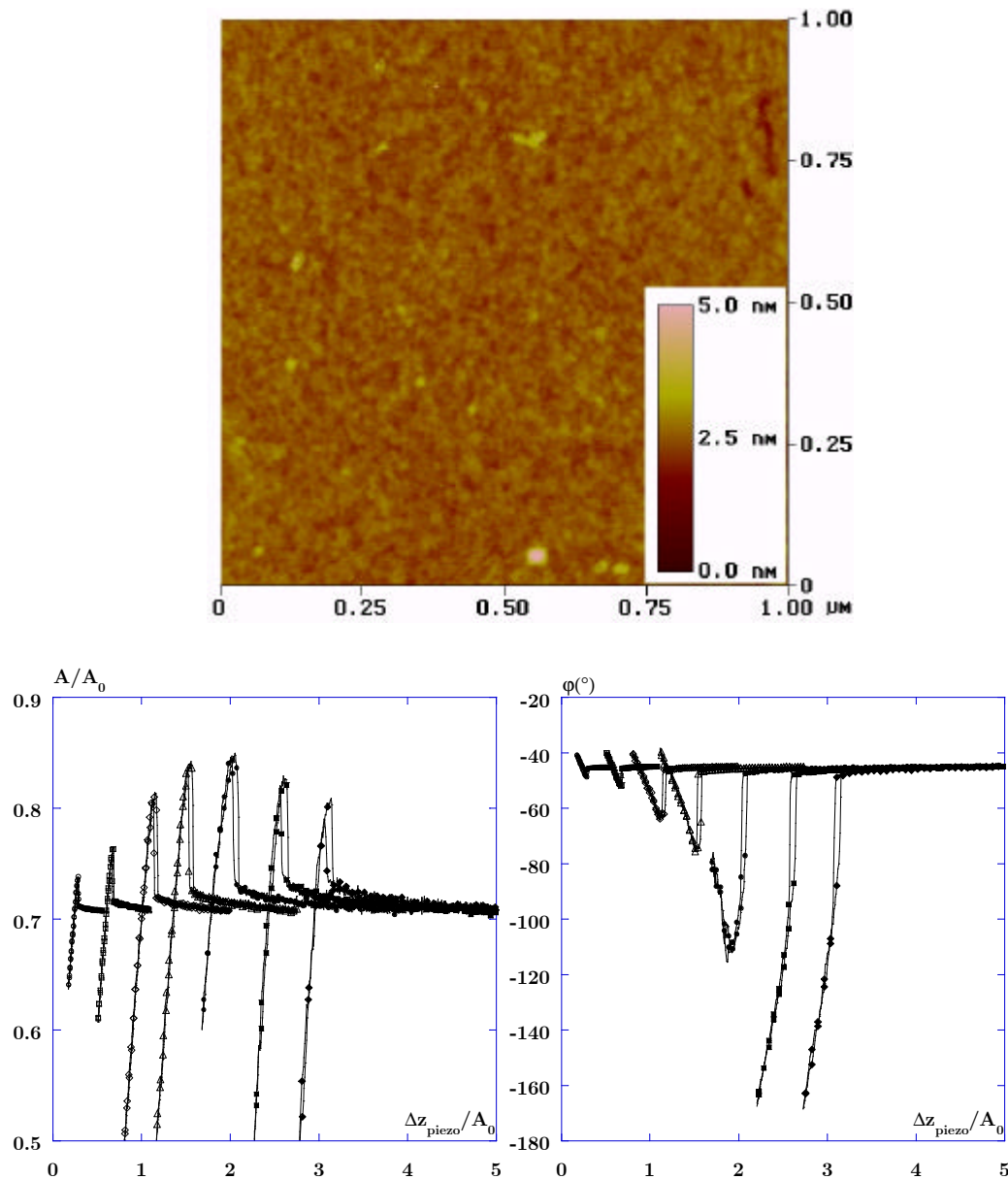


FIGURE IV.10: Image en hauteur de $1\mu\text{m}^2$ et courbes d'approche-retrait sur une zone de silice préparée selon le protocole décrit dans le texte. Pour l'image, l'amplitude retenue est $A_0 = 49\text{nm}$. Les autres conditions sont données dans le texte. Le contraste vertical de l'image est de 5nm . La rugosité de la zone est de $0,2\text{nm}$. Les conditions d'excitation du levier sont similaires à celles indiquées dans le texte. Les courbes ont été décalées horizontalement les unes par rapport aux autres pour montrer l'évolution du comportement et la qualité des signatures. De gauche à droite : $A_0 = 49, 34, 17, 12, 8, 7$ et 6nm . La pointe reste en régime répulsif dominant jusqu'à $A_0 = 8\text{nm}$, attestant de sa petite taille.

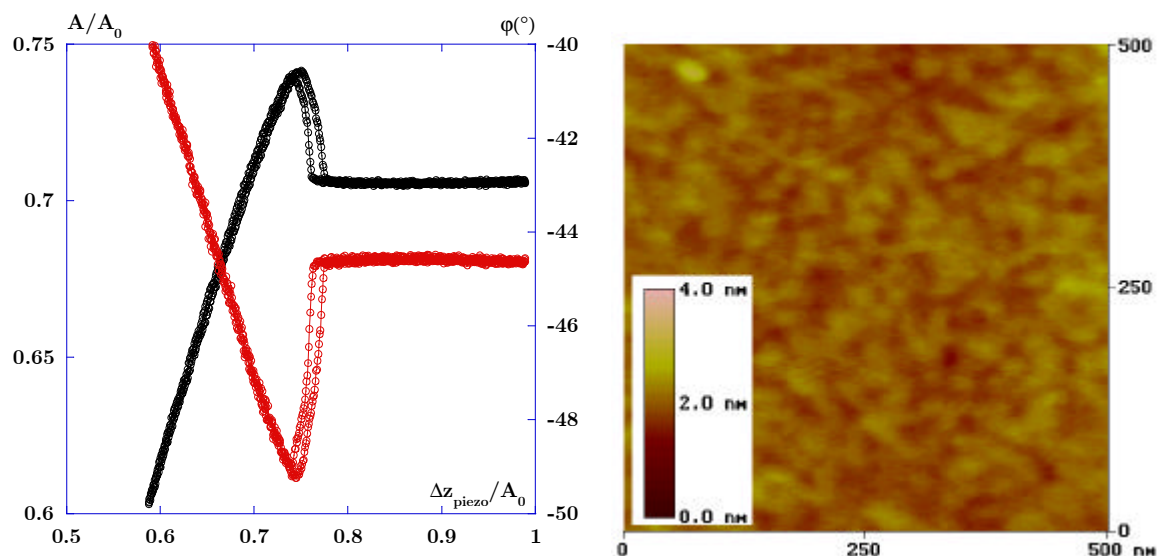


FIGURE IV.11: Courbe d'approche retrait et image de $500 \times 500 \text{ nm}^2$ d'une zone du substrat d'APTES. La courbe d'approche-retrait indique que le régime répulsif est dominant et que la pente du contact intermittent est égale à 1, ne donnant pas accès à la réponse mécanique de la surface. Le contraste vertical de l'image en hauteur est de 4 nm . La rugosité de la zone est de $0,25 \text{ nm}$.

IV.3.d-ii Surface d'aminopropyltriéthoxysilanes

Pour les plus grandes amplitudes, les courbes d'approche-retrait indiquent que la surface greffée se comporte comme un matériau dur ($A_0 = 49 \text{ nm}$, cf. figure IV.11), avec une pente de réduction de l'amplitude égale à 1. Le contraste de l'image obtenue à cette amplitude est donc essentiellement contrôlé par la topographie de la surface. En régime répulsif dominant, la pointe n'est pas sensible à la réponse mécanique de la couche en raison de sa trop faible épaisseur.

Les zones imagées indiquent une rugosité moyenne de l'ordre de $0,25 \text{ nm}$, en bon accord avec celle de la silice seule. Les molécules de silanes induisent une légère modification de la rugosité initiale.

Pour des amplitudes plus faibles, par exemple $A_0 = 16 \text{ nm}$, l'image obtenue sur une zone différente du même échantillon et avec la même pointe est celle de la figure IV.12.

L'hétérogénéité du contraste indique que l'interaction attractive entre la pointe et la surface n'est pas uniforme sur toute la zone. Le greffage n'a donc pas conduit à une organisation des silanes en surface. Certains d'entre eux se sont probablement greffés de façon covalente avec le substrat, alors que d'autres ont soit réagi les uns avec les autres en solution pour former des oligomères, soit ne se sont pas greffés mais se sont physisorbés.

Ces éléments, couplés à la présence d'ions ammonium conduisent à une hétérogénéité apparente de la réponse de la surface en régime attractif. Les zones les plus éclairées peuvent résulter de plusieurs effets, dont la présence d'ions NH_3^+ (cf. figure IV.14).

L'analyse peut être poussée plus loin en exploitant les développements décrits au chapitre II. Sur la figure IV.13 sont reportées deux variations de phase mesurées sur la silice seule et sur la silice greffée.

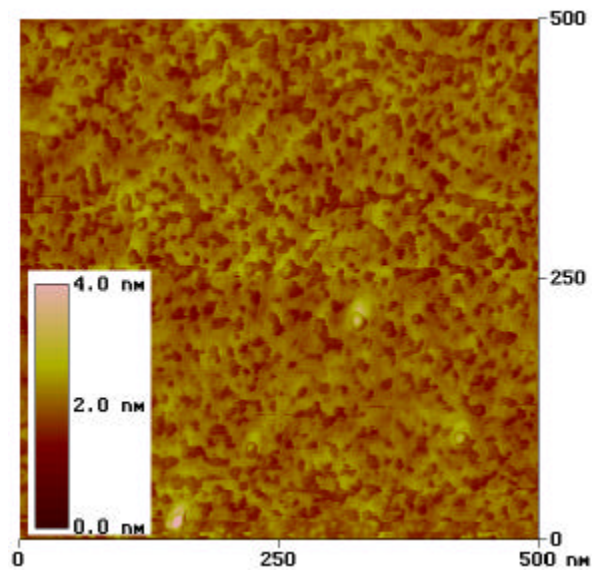


FIGURE IV.12: Image en hauteur de $500 \times 500 \text{ nm}^2$ d'une zone du substrat d'APTES. Le contraste vertical est de 4 nm. L'utilisation d'une amplitude plus faible, $A_0 = 16 \text{ nm}$, révèle une hétérogénéité dans l'interaction attractive de la surface avec la pointe.

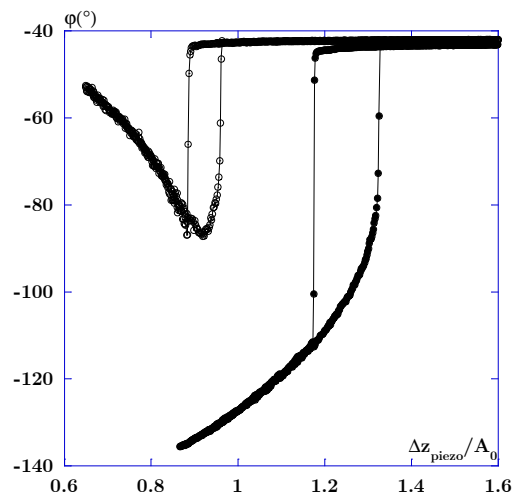


FIGURE IV.13: Courbes d'approche-retrait expérimentales en phase obtenues sur la silice (cercles vides) pour $A_0 = 21 \text{ nm}$ et sur la surface d'APTES (cercles pleins) pour $A_0 = 31 \text{ nm}$. Les autres conditions sont par ailleurs identiques à celles précisées dans le texte. Le fait que le régime attractif soit dominant dès $A_0 = 31 \text{ nm}$ sur l'APTES indique que l'interaction attractive de la surface est plus importante que celle de la silice pour laquelle le régime répulsif reste dominant, même pour une valeur de A_0 beaucoup plus faible.

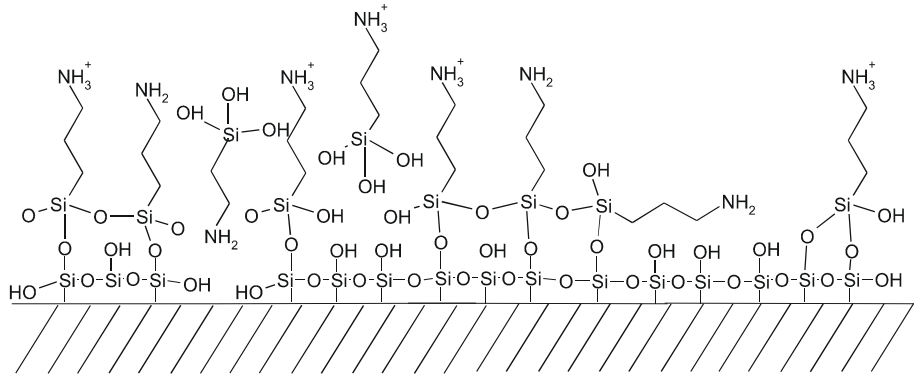


FIGURE IV.14: Représentation schématique de l'hétérogénéité envisagée de la surface de silanes. L'exploitation du régime attractif indique que la densité d'ions ammonium NH_3^+ sur la surface est plus importante que celle de groupements NH_2 .

Malgré le fait que l'amplitude utilisée sur la silice soit plus petite que celle de la silice greffée, la variation de phase indique un régime répulsif dominant alors que celle de la silice greffée indique un régime attractif dominant. Compte tenu que la pointe est identique pour les deux surfaces, ce résultat indique immédiatement que l'interaction pointe-surface en non-contact est plus forte sur la silice greffée que sur la silice seule.

Le rapport des deux interactions peut être évalué de façon plus quantitative en exploitant les équations décrivant le comportement de l'oscillateur en non-contact dans le mode Tapping. La figure II.20 montre que l'énergie dissipée liée à l'interaction attractive entre la pointe et la surface modifie de façon importante le cycle d'hystérésis et agit sur la variation d'amplitude au voisinage de la surface. Cependant, au début de la bifurcation la variation d'amplitude n'est que peu modifiée. Donc l'utilisation de l'équation II.3.3 qui ne prend pas en compte la contribution de la dissipation, permet d'évaluer le produit HR . Nous nous focalisons sur les seules courbes pour lesquelles les situations de non-contact apparaissent.

La figure IV.15 reporte différentes comparaisons entre les courbes expérimentales et les courbes théoriques. En choisissant une raideur du levier $k_c = 40 N.m^{-1}$, les produits HR déduits sont $5.10^{-27} J.m$ et $11,5.10^{-27} J.m$ pour la silice et pour la silice greffée respectivement. L'erreur introduite sur cette évaluation est difficile à estimer; des valeurs de l'ordre de 20% supérieures seraient également possibles.

Par contre, l'ajustement de la courbe avec l'équation II.3.3 permet de situer précisément la position de la surface. L'exemple donné en figure IV.16 donne une position de la pointe au moment de la bifurcation à $1,7 nm$ de la surface puis à $1,3 nm$ après.

Ces courbes d'approche-retrait correspondent à une interaction attractive importante sur la silice greffée en travaillant à $A_0 = 13 nm$. La comparaison avec la courbe théorique incluant la dissipation ne présente pas une différence notable avec la variation d'amplitude expérimentale. La courbe expérimentale présente une pente plus grande que celle qui est prédite théoriquement suggérant que le déplacement vertical de la céramique piézoélectrique ne donne pas la vraie distance entre la pointe et la surface. Une telle situation apparaît si la déformation locale de l'échantillon sous l'action de la pointe devient

suffisamment importante pour modifier de façon notable la distance entre la pointe et la surface et, consécutivement, réduire l'amplitude.

Alors que la déformation de la surface sous l'action de la pointe oscillante est le terme qui contrôle la dissipation, le modèle proposé néglige l'amplitude de cette déformation. Une telle approximation peut devenir très grossière si une interaction attractive importante est envisagée (donc particulièrement aux plus faibles amplitudes) et que le matériau sous la pointe est mou. Cependant, la tendance globale est bien reproduite.

Avant de conclure ce chapitre, notons qu'aucun effet capillaire n'a pu être constaté sur ces surfaces. Le substrat d'APTES constitue donc à ce titre une meilleure référence que le mica qui avait été utilisé pour le VMT.

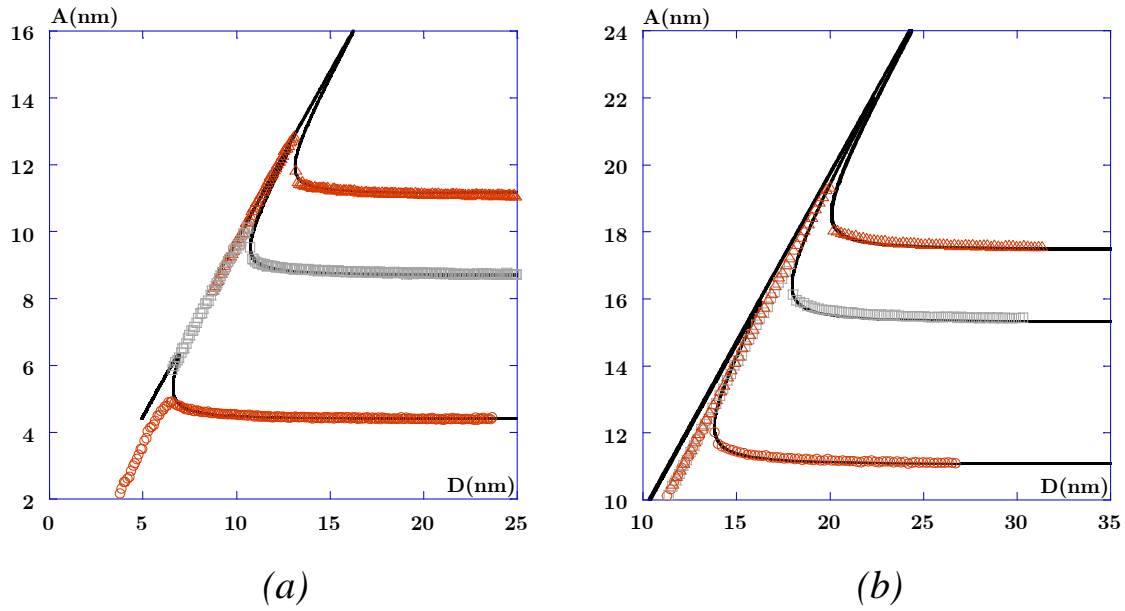


FIGURE IV.15: Exemples de comparaisons entre des courbes d'approche-retrait expérimentales et théoriques calculées sans inclure la dissipation permettant une évaluation de la position de la surface. Les paramètres expérimentaux sont ceux indiqués dans le texte. Les paramètres numériques sont $k_z = 40 \text{ N.m}^{-1}$, $(HR)_{\text{Si}} = 5.10^{-27} \text{ J.m}$ et $(HR)_{\text{APTES}} = 11,5.10^{-27} \text{ J.m}$. (a)- Résultats obtenus sur la surface de silice avec $A_l = 4, 9 \text{ et } 11 \text{ nm}$. Après le saut d'amplitude la distance la plus proche est $0,6 \text{ nm}$. (b)- Résultats obtenus sur la surface d'APTES avec $A_l = 11, 16, \text{ et } 18 \text{ nm}$.

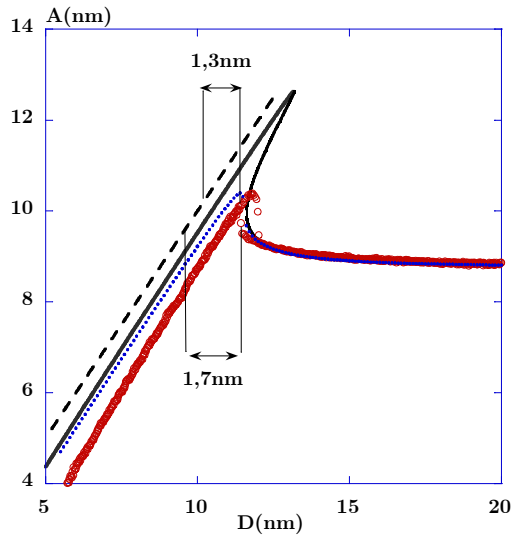


FIGURE IV.16: Comparaison entre une courbe d'approche-retrait expérimentale en amplitude obtenue sur la surface d'APTES (cercles vides) pour $A_l = 9 \text{ nm}$ et la courbe théorique calculée sans dissipation à partir de la relation II.4.11 avec paramètres expérimentaux : $u = 0,9989$, $Q = 410$ et $k_z = 40 \text{ N.m}^{-1}$, $A_0 = 13 \text{ nm}$, $HR = 11,5.10^{-27} \text{ J.m}$ (ligne continue). La courbe incluant la dissipation est en pointillés. Elle a été obtenue avec les mêmes paramètres et $k_s = 1 \text{ N.m}^{-1}$.

Synthèse

L'objectif de ce chapitre était double. Le premier point concernait un état des lieux relatif au dépôt de molécules d'ADN sur des surfaces pour des études en champ proche et en MFA en particulier. Le second point a été de souligner notre position sur le dépôt de molécules en rapport avec notre expérience et nos contraintes sur la qualité des surfaces.

Les auteurs qui se sont intéressés au sujet ont beaucoup utilisé des surfaces de mica pour le dépôt des molécules d'ADN. L'inconvénient de ces surfaces est que leur qualité est souvent mal contrôlée. Le dépôt de la solution d'ADN peut ainsi induire des effets capillaires critiques pour des études fines. C'est le résultat que nous avons obtenu avec le VMT. Certains auteurs ont, semble-t-il consécutivement à des observations semblables, opté pour des surfaces fonctionnalisées, notamment avec des fonctions amines qui rendent la surface basique. L'ADN est ainsi susceptible d'être déposé et étalé.

La préparation des solutions d'ADN semble plus univoque. On retrouve dans la littérature des protocoles de préparation assez similaires chez tous les auteurs. Le magnésium, à raison de quelques dizaines de mM , est ainsi récurrent dans les préparations. Nous avons donc repris ces divers éléments. Par contre, toute adjonction d'agents de dépôt à la solution d'ADN a été éliminée puisque susceptible de perturber les molécules, jusqu'à les dénaturer.

Notre orientation a été d'opter pour une préparation spécifique des substrats en silanisant des surfaces de silice. Les échantillons retenus sont des silices silanisées avec des APTES. L'évaluation du produit HR , deux fois plus important que sur la silice, assure que la couche est bien greffée. La silanisation conduit à un substrat de rugosité similaire à celle de la silice seule. Le régime répulsif indique que la réponse mécanique de la couche n'est pas accessible. Le régime attractif révèle une certaine hétérogénéité de la surface liée à un mauvais auto-assemblage des molécules.

Chapitre V

Étude de séquences d'A.D.N.

Chapitre V

Étude de séquences d'A.D.N.

Ce chapitre présente les études faites de différentes molécules d'ADN déposées sur la surface de silice greffée. L'étude consiste à utiliser le microscope de force en mode dynamique dans différents régimes de façon à mettre en évidence :

- ▶ des informations géométriques sur les conformations des molécules.
- ▶ des informations mécaniques sur les structures identifiées.
- ▶ des informations physico-chimique sur l'origine de ces structures.

V.1 Protocole expérimental

De même que pour les surfaces de silice, les expériences décrites ici ont été réalisées en boîte à gants au p.p.m. d'eau et d'oxygène pour s'assurer d'une plus grande stabilité de comportement de l'oscillateur. La calibration des amplitudes d'oscillation et la sélection de la pointe furent réalisées sur la surface de silice présentée dans la partie précédente. Trois échantillons ont ensuite été analysés, avec la même pointe, dans l'ordre suivant : pSP65, poly(dA)·poly(dT), puis [poly(dA-dT)]₂.

A l'issue de cette série de mesures, la pointe a de nouveau été testée sur la surface de silice afin de s'assurer que sa signature était sensiblement similaire à la première et qu'elle n'avait donc pas été polluée par les échantillons successifs. Ces vérifications *a posteriori* ont également permis de mettre en évidence que les réglages du levier n'avaient pas non plus évolué tout au long de la mesure. Cela assure que tous les résultats sont directement comparables entre eux.

Pour la formation des images, une vitesse de balayage adaptée au facteur de qualité est de 0,3Hz par ligne, ce qui suppose la formation d'une image de 512 lignes en 17 minutes environ. Le balayage de la surface par la céramique se fait à 90° par rapport à la position du levier pour limiter d'éventuels effets d'asymétrie de la pointe (cf. annexe B).

V.2 Molécules d'A.D.N. déposées et conditions de dépôt

Les molécules sur lesquelles nous nous sommes focalisés pour cette étude sont un fragment de 2500 paires de bases (*pb*) de la molécule de pSP65¹ linéarisée, une chaîne de 450*pb* de poly(dA)·poly(dT) et une de [poly(dA-dT)]₂ de même taille. La séquence de pSP65 est donnée en annexe F.

La raison de ce choix est que les trois molécules présentent des propriétés de courbure différentes en raison de leur succession de séquences. Si le pSP65 ne présente pas de période séquentielle, la répétition sur les mono-brins de l'Adénine du poly(dA)·poly(dT) ou l'alternance entre Adénine et Thymines du [poly(dA-dT)]₂ vont leur conférer des propriétés de courbure spécifiques qui devraient être identifiables. Il est en effet attendu que la chaîne de poly(dA)·poly(dT) soit plus rigide que celle de [poly(dA-dT)]₂ (cf. figure III.7). En prenant des séquences simples, on espérait, par comparaison entre les mesures sur les différents systèmes, identifier des séquences particulières sur un objet plus complexe comme le pSP65.

Les échantillons sont préparés à partir d'une solution de tampon Tris-EDTA à 10*mM*, NaCl à 50*mM* et MgCl₂ à 10*mM* assurant un *pH* de la solution de 7,0. La concentration finale de la solution en ADN est de 1*μg.ml*⁻¹. Le dépôt est fait en déposant une goutte de 10*μl* de solution sur la surface.

Au bout de deux minutes, l'échantillon est rincé plusieurs fois à l'eau ultrapure avec des gouttes de 10*μl* (3 ou 4 gouttes). Les gouttes d'eau résiduelles à la surface sont tirées avec un papier filtre. Nous avons par la suite convergé vers l'idée d'éponger complètement l'échantillon avec un buvard.

V.3 Résultats expérimentaux

V.3.a Échantillon de pSP65

Avec la concentration de 1*μg/ml* retenue, une faible densité de molécules d'ADN est observée sur la surface ($\simeq 2$ molécules /5*μm*²). Les chaînes présentent des formes variées. On observe ainsi des molécules allongées qui rappellent les formes observées lors d'expériences de *peignage moléculaire* [99] (cf. figure V.1(a)) et d'autres formes plus spécifiques.

Pour une étude plus détaillée, nous avons retenu la molécule de la figure V.1(c) qui présente une forme particulière. La molécule forme un "H" couché vers la droite. La raison initiale de ce choix est que la molécule est orientée selon les axes *x* et *y* du balayage. Une éventuelle asymétrie de pointe serait ainsi mise en évidence selon l'un de ces axes (cf.

¹ Le pSP65 est initialement un plasmide de 3005*pb*.

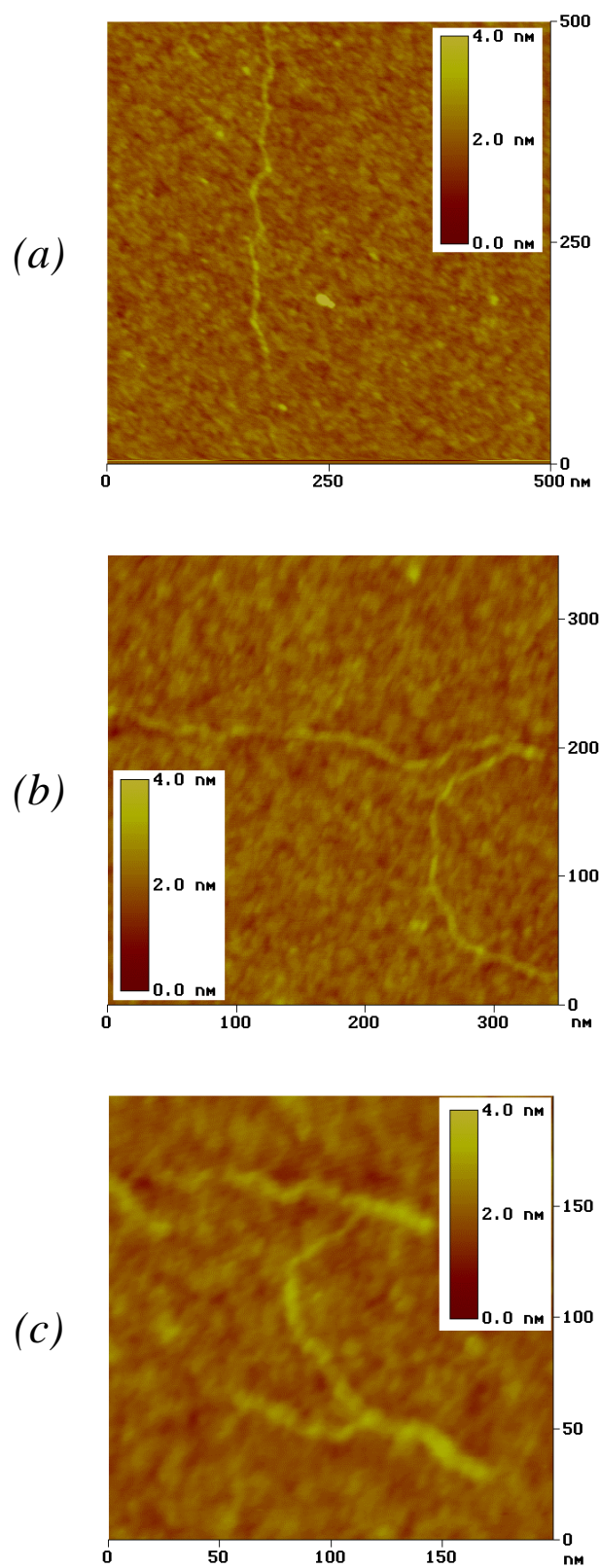


FIGURE V.1: Images en hauteur de différentes zones de la surface d'APTES imagées avec une grande amplitude. Les images présentées sont celles des formes caractéristiques des chaînes de pSP65 observées. Les tailles des zones sont indiquées. Le contraste en hauteur est de 4nm.

annexe A). Compte tenu des résultats à venir, nous rejetons tout de suite l'hypothèse selon laquelle la pointe utilisée aurait présenté une asymétrie marquée. C'est donc sur cette zone que les expériences présentées ci-après ont été effectuées.

► *Régime répulsif :*

La première expérience a été d'analyser la zone en régime répulsif, $A_0 = 49nm$. La courbe d'approche-retrait associée est celle de la figure V.2(a). Elle a été obtenue sur le substrat de silanes. L'amplitude de travail retenue est de $33nm$. Les autres conditions d'imagerie sont précisées sur la figure. L'image de la zone de $200 \times 200nm^2$ est représentée sur la figure V.2(b).

L'objet apparaît au centre de l'image. Le contraste vertical de l'image en hauteur est de $5nm$. L'image en phase est présentée sur une échelle de contraste de 10° .

► *Régime attractif :*

La même zone a, par la suite, été imagée avec une amplitude plus faible, $A_0 = 11nm$. La courbe d'approche-retrait associée est présentée sur la figure V.3(a). Elle a également été faite sur le substrat de silanes. L'amplitude de travail est ici de $7nm$. La raison du choix de ce point de fonctionnement – indiqué par des flèches sur la figure – est expliqué au paragraphe suivant.

L'objet est toujours visible au centre, mais les contrastes sont différents (cf. figure V.3(b)) de ceux observés en régime répulsif. L'échelle de contraste de l'image en hauteur est toujours de $5nm$, mais celle de l'image en phase est maintenant de 180° . Le contraste autour de l'objet a changé. On note une surillumination nette des bords alors que l'objet apparaît au centre avec un contraste plus faible. Par ailleurs, on retrouve l'hétérogénéité assez marquée du substrat de silanes observée sur la surface seule (cf. chapitre précédent), hétérogénéité qui apparaissait moins en imageant la zone en régime répulsif.

Sur la figure V.3(a), la phase plonge au-delà de -90° , mais au lieu d'observer la variation usuelle de déphasage continu vers -180° – caractéristique d'une situation de pur attractif – la variation de la courbe s'inverse et la situation d'attractif dominant devient, avec une faible instabilité à la transition, une situation de répulsif dominant.

Ainsi, en travaillant au voisinage de ce point de fonctionnement une faible variation de la réponse de la surface, ou de la chaîne d'ADN, va induire une transition vers l'une ou l'autre des situations. Ce point de fonctionnement est donc un moyen d'augmenter la sensibilité de l'appareil à toute variation de comportement de la surface vis-à-vis de l'oscillateur.

Le contraste de l'image est à décrire dans le cadre de cette réponse un peu atypique susceptible de révéler de faibles variations de l'interaction pointe-surface, mais dont l'interprétation est moins immédiate.

V.3.a-i Reconstruction d'une section expérimentale à partir des courbes d'approche-retrait

Cette étape permet de mieux comprendre l'origine du contraste de l'image. Des reconstructions de sections d'images à partir des courbes d'approche-retrait ont déjà été réalisées par D. Michel [14] et plus récemment, par S. Marsaudon *et al.* [254]

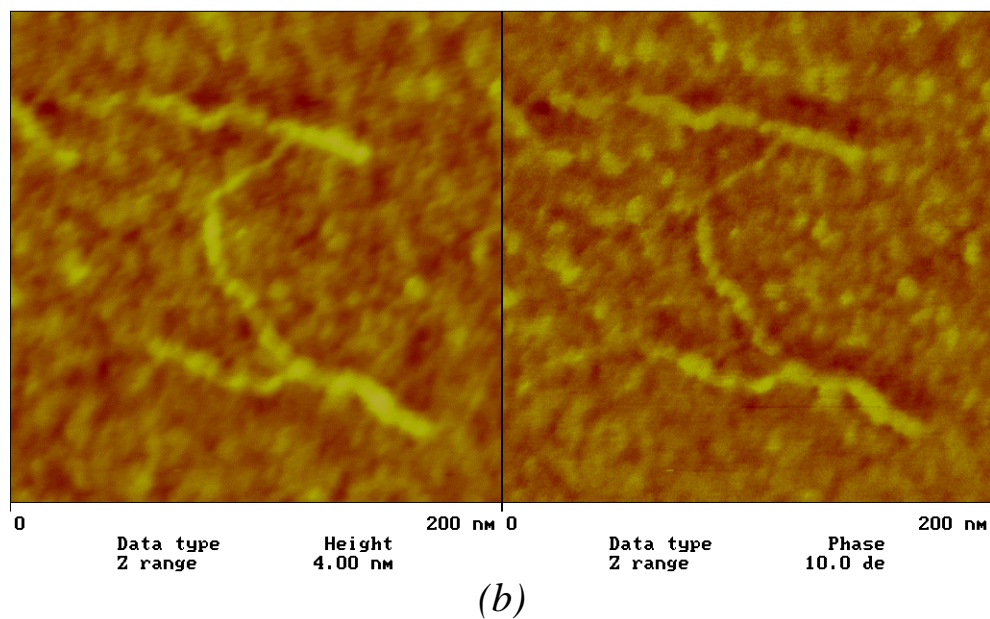
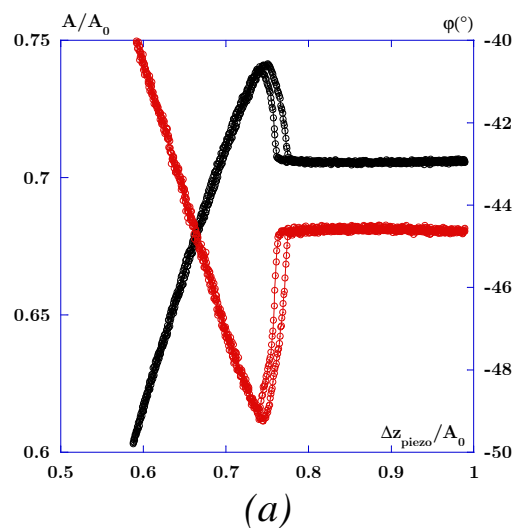


FIGURE V.2: (a)- Courbe d'approche-retrait obtenue sur le substrat de silanes. Les conditions expérimentales sont $A_0 = 49\text{nm}$, définissant ainsi un régime répulsif, $\nu_0 = 153,319\text{kHz}$, $u = 0,9989$, $Q = 410$ définissant des conditions d'oscillations libres $a_l = 0,708$ et $\varphi_l = -45^\circ$. (b)- Image en hauteur (gauche) et en phase (droite) de la zone d'intérêt pour l'étude associée à la courbe d'approche-retrait précédente. Le contraste en hauteur est de 4nm et celui en phase de 10° . L'amplitude du point de fonctionnement retenue pour imager est 33nm ($a \simeq 0,67$).

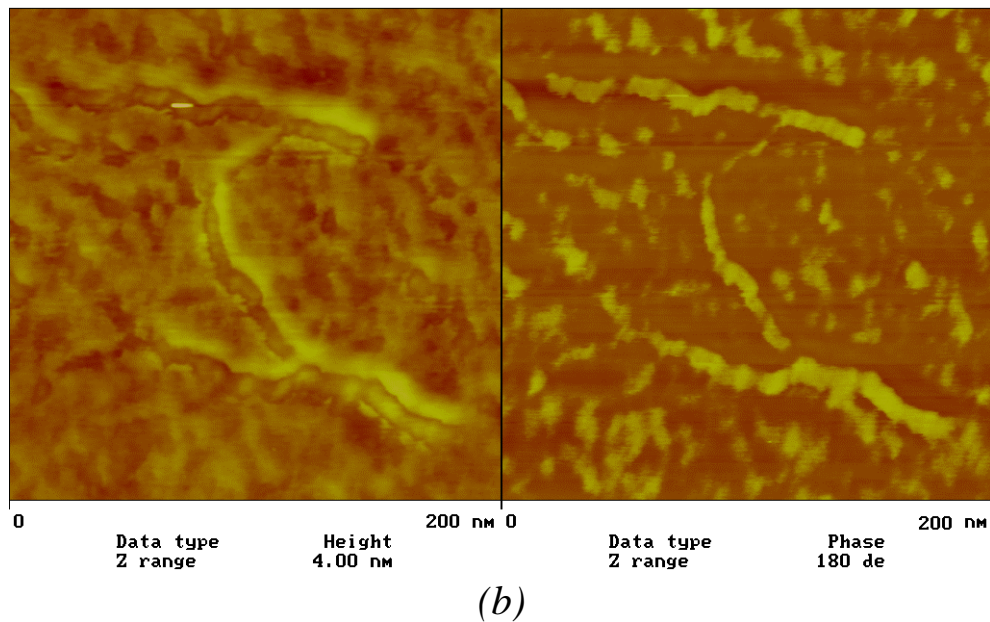
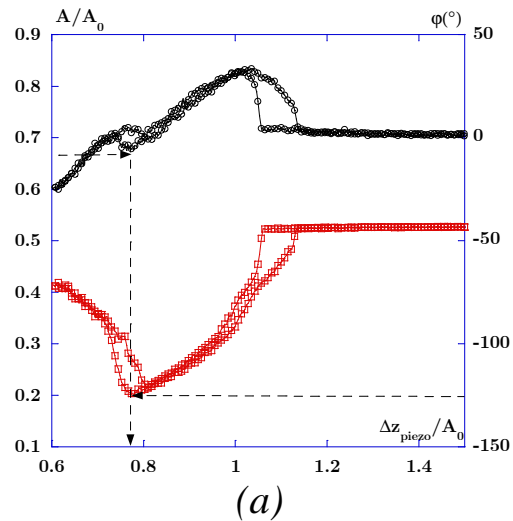


FIGURE V.3: (a)- Courbe d'approche-retrait obtenue sur le substrat de silanes. Les conditions expérimentales sont similaires à celles de la figure V.2, exceptée $A_0 = 11\text{nm}$. La courbe d'approche-retrait avec une signature de phase caractéristique indique que, pour le point de fonctionnement retenu (flèches), la zone sera imagée en régime attractif dominant. (b)- Image en hauteur (gauche) et en phase (droite) de la même zone que la figure V.2. Le contraste en hauteur est de 4nm et celui en phase de 180° . L'amplitude du point de fonctionnement retenu pour imager est de l'ordre de 7nm ($a \simeq 0,67$). Sur l'image en hauteur, on note la nette sur-illumination des bords de la chaîne.

sur des échantillons de copolymères et ont montré comment séparer les contributions topographique et mécanique du contraste d'une image.

Différentes courbes d'approche-retrait étant réalisées le long de la section d'intérêt, il suffit ensuite d'y repérer la position verticale de la céramique associée au point de fonctionnement qui a permis d'enregistrer l'image. La valeur de la phase est déduite directement. Ces deux informations, positions verticales de la céramique et phase, permettent une reconstruction de la section en hauteur et en phase qui doit être en accord avec l'image observée. On aura préalablement pris soin d'évaluer la dérive de la céramique. Ces expériences ne sont en effet réalisables que si la dérive est faible afin de s'assurer de la bonne correspondance de la mesure d'un mode de fonctionnement à l'autre.

Sur la figure V.4, nous présentons une section de la zone centrale (zone 2, cf. ci-après) imagée dans le régime attractif, choisie pour la reconstruction. Comme nous l'avons indiqué dans le chapitre II, la phase permet d'identifier le régime (attractif ou répulsif) testé localement par la pointe².

Autour de l'objet au centre, apparaissent des zones de contraste plus important, véritables "épaulements", dont la hauteur caractéristique par rapport à l'objet est de l'ordre de 5\AA . Chacun s'étale de façon plus ou moins symétrique le long de la chaîne sur une taille caractéristique de $5nm$. La phase indique un contraste plus uniforme avec une augmentation assez marquée sur l'objet. La figure V.5 présente 2 courbes d'approche-retrait réalisées le long de cette section.

La figure montre que les positions verticales associées au point de fonctionnement varient. L'origine de ces variations est due à la fois à l'interaction de la pointe avec la surface, et à la topographie. En relevant les valeurs de la phase correspondantes pour chacune de ces courbes et en les reportant sur la section en phase précédente, nous obtenons la figure V.6.

Les points indiqués sont les valeurs de la phase déduite des courbes d'approche-retrait. L'accord entre la section extraite de l'image et les quelques valeurs de la phase extraites des courbes d'approche-retrait est bon. Ces résultats nous apportent plusieurs éléments.

Le contraste de phase sur 180° et les courbes d'approche-retrait associées indiquent que certaines zones de la section sont obtenues pour une interaction franchement attractive (zone γ) alors que pour d'autres, le régime attractif est moins important (zone β et zone de réponse hétérogène des silanes, à droite). Ainsi, il est clair que certaines des zones du substrat sont imagées en pur non-contact, avec une phase de l'ordre de -120° , mais pour d'autres, il existe un léger contact entre la pointe et la surface indiquant un régime répulsif plus important, avec une phase de l'ordre de -70° .

L'élément important est enfin de mettre en évidence la capacité que nous avons de pouvoir tester la chaîne seule (zone β). La courbe d'approche-retrait réalisée sur la chaîne indique un régime répulsif. Dans le proche voisinage de la chaîne, le régime attractif est

² Pour des raisons de lisibilité de l'image de phase, le logiciel de la machine donne des variations relatives autour de la valeur en phase moyenne associée au point de fonctionnement. L'information intéressante liée à la phase ne peut être obtenue qu'en extrayant une section à partir des données brutes (variation de la phase de 0 à -180°). La section est récupérée avec différents logiciels (Matlab, Image 1,49 ou Intelligent View) traitées ensuite avec un logiciel graphique. Pour la coupe de la figure V.4, le zéro correspond à -123° (cf. figure V.6).

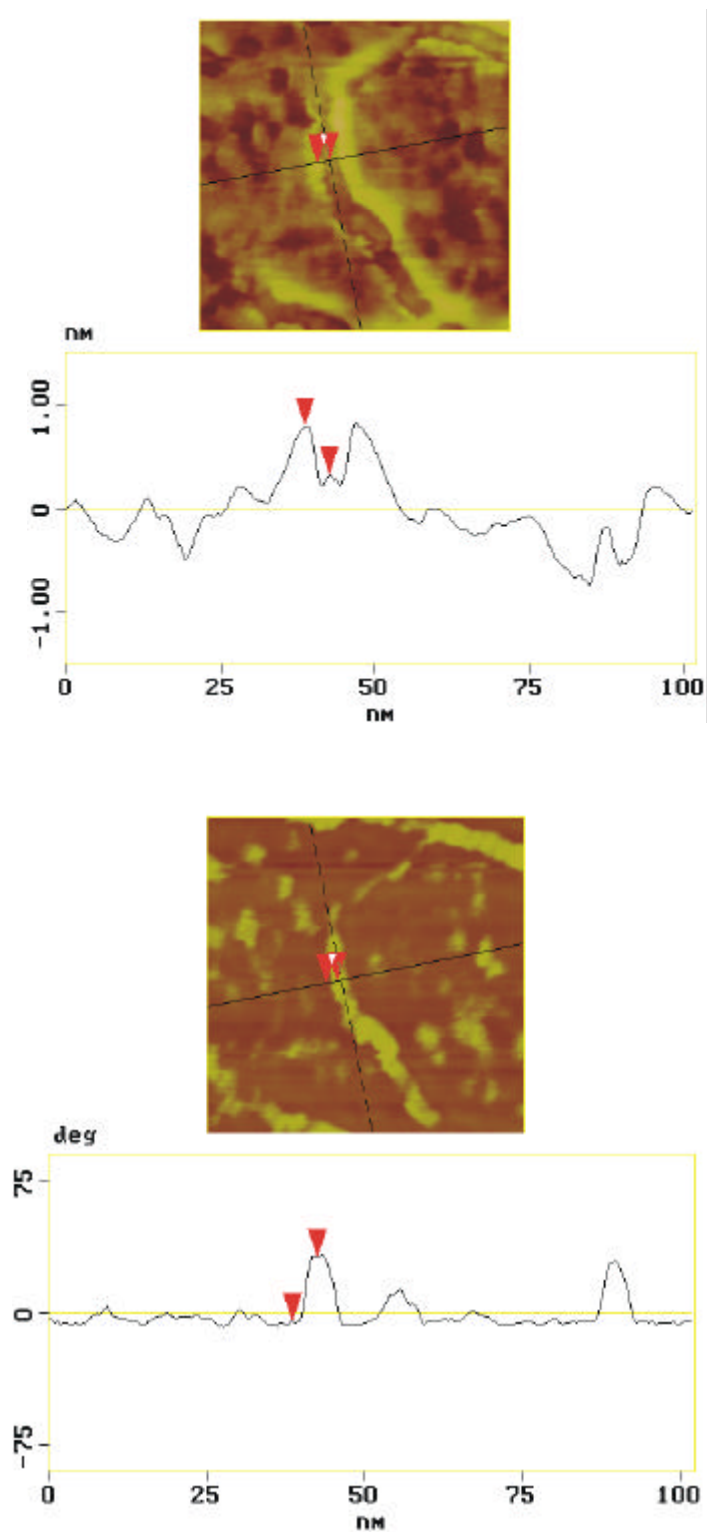


FIGURE V.4: Sections en hauteur (haut) et en phase (bas, la valeur moyenne de la surface, correspond à -123°) de la zone 2 de l'image obtenue en régime attractif. Sur la section en hauteur, l'objet qui apparaît au centre présente deux épaulements importants qui le dominent d'environ 5\AA et s'étendent sur 5nm . Ils témoignent d'une interaction attractive importante. La section de phase indique que le régime répulsif redevient important sur l'objet ce qui indique que l'origine de son contraste s'apparente à celui obtenu avec l'image en régime répulsif.

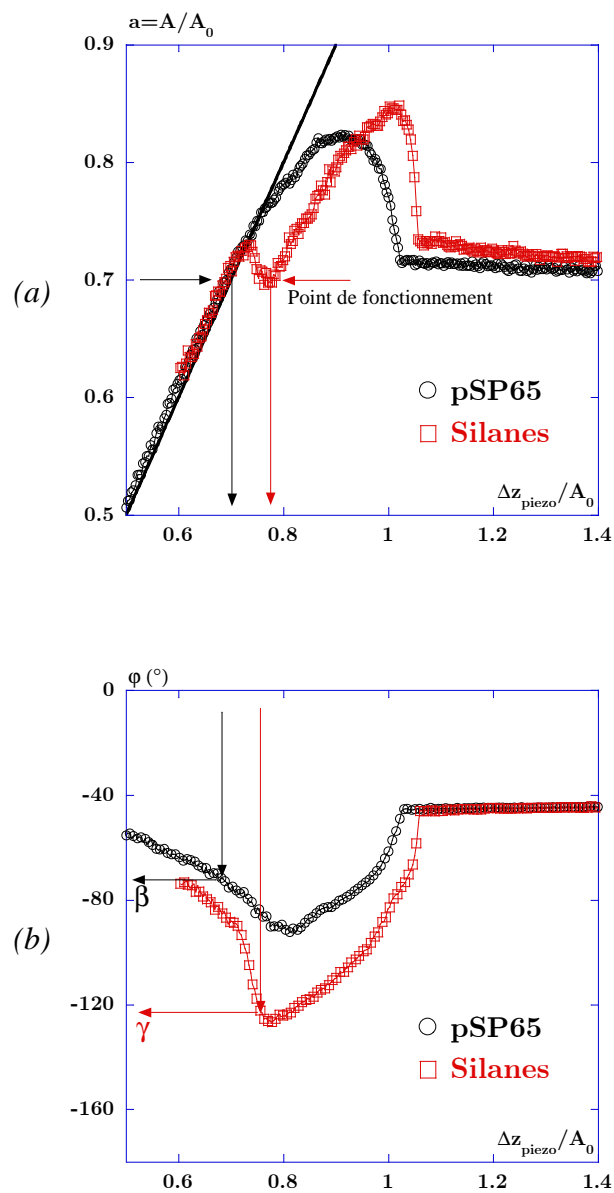


FIGURE V.5: Courbes d'approche-retrait en amplitude (a) et en phase (b) obtenues le long de la section indiquée sur la figure V.4 en régime attractif, i.e. dans les conditions expérimentales de la figure V.3. En particulier, le point de fonctionnement est indiqué par les flèches qui montrent que selon la zone, β ou γ , les positions verticales de la céramique ne sont pas identiques et les valeurs de la phase associées varient.

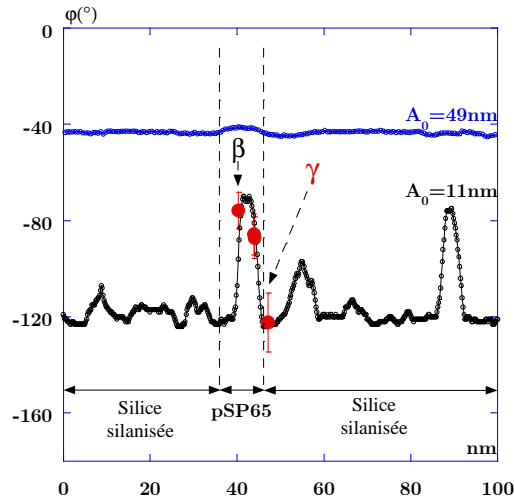


FIGURE V.6: Reconstruction de la section en phase de la section indiquée sur la figure V.4 à partir des valeurs de la phase des courbes d'approche-retrait de la figure V.5 (points). Ainsi la courbe d'approche-retrait réalisée en β a été obtenue sur le pSP65 et γ dans son proche voisinage. Pour $A_0 = 49\text{nm}$ et sur la même section, la valeur de la phase est caractéristique du contact intermittent. Elle est au voisinage de -43° . Le contraste associé est beaucoup plus faible que celui révélé par le régime attractif, aussi l'image associée (figure V.2) est présentée sur 10° .

franchement dominant. Les épaulements précédemment observés en hauteur sont liés à une zone pour laquelle l'interaction attractive de la surface avec la pointe est localement plus importante. En d'autres termes, parce que l'interaction entre la pointe oscillante et la zone proche de l'ADN est plus importante, l'oscillateur ressent la surface à une distance plus grande que lorsque il oscille au-dessus de l'ADN. Il en résulte les épaulements observés.

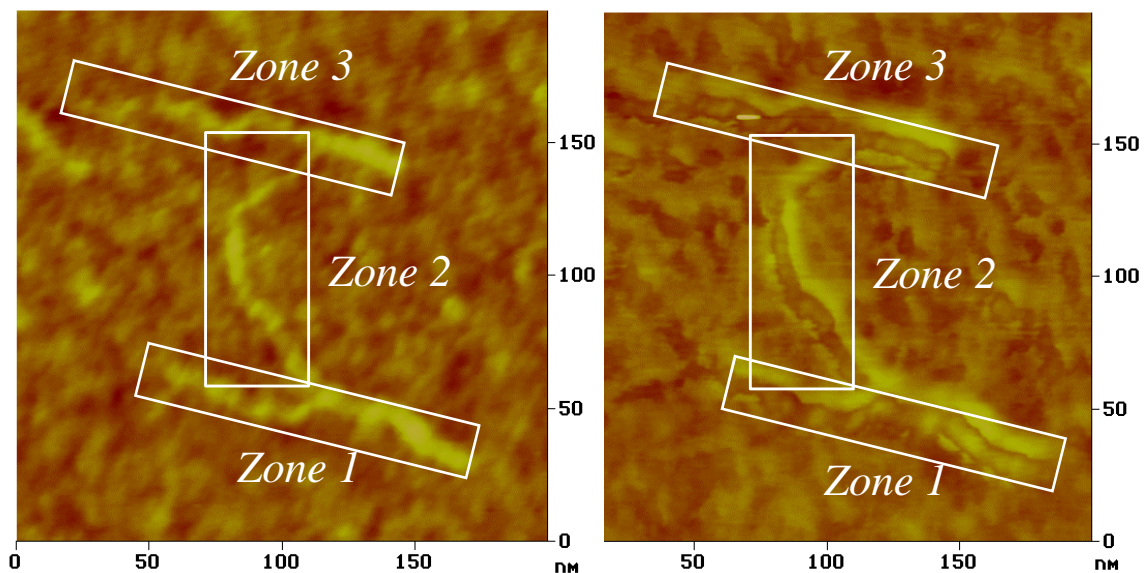
La figure V.6 présente en même temps que la section en phase obtenue en régime attractif celle de la même zone, mais obtenue en régime répulsif. Le contraste associé à la zone de pSP65 est beaucoup plus faible ce qui indique bien que, pour $A_0 = 49\text{nm}$, le régime répulsif est dominant sur toute la zone.

V.3.a-ii Identification de super-structures de la chaîne

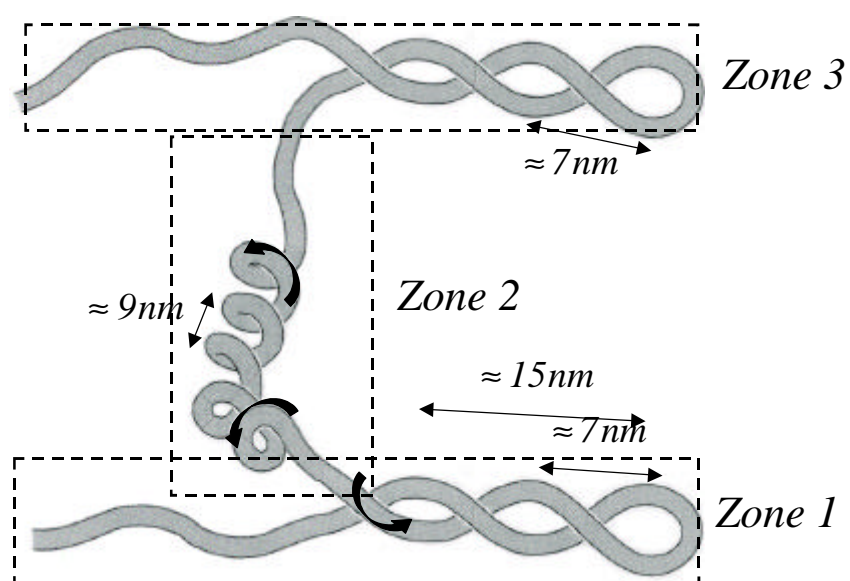
La chaîne de pSP65 présente une forme atypique pour une molécule linéaire. Ce paragraphe a pour but de mettre en évidence que la chaîne a adopté des super-structures au moment de son dépôt. Les origines envisagées des super-structures sont discutées à la fin de ce chapitre.

Nous commençons l'analyse sur l'image en hauteur obtenue en régime répulsif. L'analyse de la courbe d'approche-retrait associée a permis de mettre en évidence que l'origine du contraste sur les silanes était essentiellement d'origine topographique.

Pour mettre en évidence les points importants de l'analyse, l'objet est séparé en trois zones, du bas vers le haut de l'image en hauteur (cf. figure V.7(a)).



(a)



(b)

FIGURE V.7: (a)- Images en hauteur de la zone de pSP65 introduites précédemment en régime répulsif (gauche) et attractif (droite). La chaîne de pSP65 est divisée en trois zones pour la présentation de l'étude. (b)- Structure de la chaîne déduite des observations expérimentales (cf. texte).

1. Première zone :

Elle correspond à la branche inférieure du H. Cette zone peut être divisée en deux. La première s'étend du centre de la branche vers la gauche. En incluant cette zone dans un cylindre, la hauteur moyenne du cylindre mesurée, $\langle h \rangle$, est de l'ordre de $(0,65 \pm 0,1) \text{ nm}$ pour une largeur moyenne à mi-hauteur, $\langle l_{1/2} \rangle$, de $(7,7 \pm 1,3) \text{ nm}$. En réitérant cette opération sur la partie droite de la zone, le cylindre présente maintenant une hauteur et une largeur à mi-hauteur moyennes respectivement égales à $(1 \pm 0,2) \text{ nm}$ et $(10 \pm 2) \text{ nm}$. Sur cette zone, des structures périodiques peuvent être révélées avec une périodicité de l'ordre de 7 nm .

2. Deuxième zone :

Elle peut elle être divisée en trois parties, de bas en haut (cf. figure V.8).

Pour la première partie, $\langle h \rangle = (0,65 \pm 0,1) \text{ nm}$ et $\langle l_{1/2} \rangle = (7,5 \pm 1,2) \text{ nm}$. Des structures périodiques y sont également identifiables. Deux séries de deux arches successives apparaissent de façon assez nette. La période entre deux arches successives est de 9 nm . Le contraste vertical entre la demi-période de la structure et la partie supérieure de l'arche est de $0,35 \text{ nm}$. Pour la première série d'arches, leur hauteur par rapport au substrat est sensiblement identique, de l'ordre de $0,8 \text{ nm}$ pour une largeur à mi-hauteur variant de $7,7$ à $8,5 \text{ nm}$ de l'une à l'autre des structures. La deuxième série d'arches présente des dimensions sensiblement comparables.

La deuxième partie de la zone présente un contraste plus important, mais ne révèle pas de structures facilement identifiables. L'analyse de la zone indique une hauteur moyenne de $0,8 \text{ nm}$ et une largeur à mi-hauteur de 6 nm .

La troisième partie présente un contraste plus faible que le reste de la zone. L'objet apparaît plus petit avec $\langle h \rangle = (0,5 \pm 0,05) \text{ nm}$ et $\langle l_{1/2} \rangle = (3,8 \pm 0,7) \text{ nm}$.

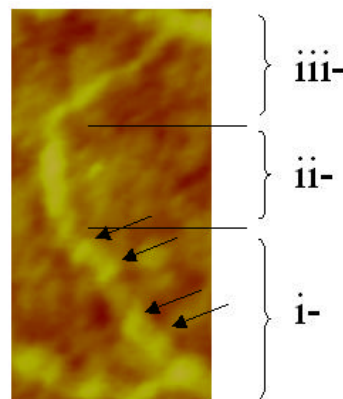


FIGURE V.8: Zone 2. Elle est divisée en trois parties et révèle des structures périodiques sous la forme d'arches de périodicité 9 nm .

3. Troisième zone :

La troisième zone est similaire à la première. De façon analogue à la zone 1, nous distinguons la partie de gauche de celle de droite. Les tailles caractéristiques de la partie de droite rappellent celles de la partie homologue de la zone 1 avec $\langle h \rangle = (1 \pm 0, 2) nm$ et $\langle l_{1/2} \rangle = (7, 5 \pm 1, 2) nm$. Sur cette zone, une certaine périodicité des structures peut également être établie. La période est sensiblement identique à celle précédemment évaluée, entre 6,5 et 7nm.

La distribution des mesures atteste de la diversité des structures adoptées par la chaîne sur la surface. En exploitant de façon similaire l'image à faible amplitude, les tailles caractéristiques mesurées, notamment au niveau de la périodicité des structures, sont comparables. Ces résultats sont en accord avec la réponse de la phase indiquant que, malgré le régime attractif, la partie centrale de l'objet reste imagée en régime répulsif dominant.

Sur la figure V.7(b) sont schématisées les structures identifiées. Sur la partie de droite des zones 1 et 3 nous identifions des structures du type plectonème, sur la partie centrale (zone 2) une structure du type solénoïde.

Notons que cette molécule a initialement été retenue en raison de sa géométrie par rapport aux axes de balayage de la surface. La super-structure adoptée par cette chaîne n'est toutefois pas représentative de toutes les molécules observées. La figure V.1 montre que d'autres chaînes ne se sont pas fixées de la même façon avec la surface. Les chaînes qui y sont présentées ont des zones très torsadées, sans qu'elles aient conduits à la formation de plectonèmes ou de solénoïdes, même si dans le cas de l'image de la figure V.1(b) on distingue l'initiation d'un sur-enroulement.

La discussion que nous allons faire autour de cette molécule en termes de plectonèmes lui est donc spécifique, mais l'étude à venir aurait tout aussi bien pu être conduite sur les autres chaînes.

V.3.a-iii Evolution de l'interaction attractive

En diminuant davantage l'amplitude des oscillations, donc en augmentant l'interaction attractive, on obtient une évolution du contraste des images qui va correspondre à des situations pour lesquelles la pointe vient moins au contact de l'échantillon. L'évolution, sur une même échelle de contraste en hauteur et en phase, pour quatre amplitudes $A_0 = 49, 11, 9$ et $6nm$ est présentée sur la figure V.9.

Avec $A_0 = 9nm$, les images obtenues sont les troisièmes en partant du haut de la figure V.9. Sur l'image de hauteur, les parties surilluminées avec $A_0 = 11nm$ sont maintenant globalement illuminées avec quelques points sombres, éparses, au centre de l'objet. Ces points sombres correspondent à des points lumineux sur l'image de phase. La valeur de la phase indique que ces petits domaines demeurent imagés en contact intermittent, le reste de l'objet étant imagé en attractif dominant. Pour $A_0 = 6nm$, l'ensemble de l'image, surface et objet, est obtenue en non-contact, il devient impossible de distinguer des structures le long de l'objet. La phase moyenne de l'image est un peu en dessous de -130° , la phase sur l'objet est approximativement 5° en dessous de cette valeur. Ce qui apparaissait avec $A_0 = 9nm$ se confirme à plus petite amplitude. On perd de la

résolution et l'objet devient plus large. A noter que ce résultat est en accord avec ce qui était annoncé au paragraphe II.3.b-iv concernant l'augmentation de κ_a .

Sur la figure V.10, nous reportons des coupes des images correspondant à ces quatre amplitudes.

Les coupes présentées ne correspondent pas toutes exactement au même endroit, elles ont été choisies pour mieux illustrer la présentation précédente des images. Les sections en hauteur montrent comment la partie centrale de l'objet disparaît sous l'influence de plus en plus importante des zones de plus forte interaction situées le long de l'ADN. La pointe survolant l'objet à une distance plus importante, la résolution latérale est plus faible.

Pour la chaîne de pSP65, l'interaction majoritaire est localisée sur les bords de la chaîne. Elle conduit aux épaulements observés avec $A_0 = 11nm$. Pour les plus faibles amplitudes, la pointe ne va donc être sensible qu'à ces contributions latérales et plus à celle de la chaîne. Pour des amplitudes trop faibles, la pointe va être à une distance de la surface telle que toute résolution latérale sur l'objet sera perdue. Pour la phase, tenant compte du fait que l'ensemble de l'image est en non-contact (exceptés les quelques points sur l'objet à $A_0 = 9nm$), les différences de phase sont faibles pour les deux plus petites amplitudes et deviennent plus difficiles à analyser. Néanmoins, on constate que, de façon générale, les maxima de hauteur correspondent approximativement à des minima de phase.

Une conclusion immédiate de ces résultats est que, en mode dynamique, la mesure de "hauteur" de façon générale et celle d'un objet en particulier, est très relative. Par exemple pour la section à $A_0 = 9nm$, on trouve des hauteurs de l'ordre de 0,4 à 0,5nm, alors que pour $A_0 = 49nm$, on obtient une valeur supérieure à 1nm. De même, la largeur observée n'est plus directement liée à la structure de l'objet, mais à la force de l'interaction attractive et à la localisation des domaines responsables de cette interaction, ici, le long de l'ADN. Comme le montre ces images, les hauteurs contiennent d'une part plusieurs informations, mais d'autre part sont déterminées par rapport à la façon dont est imagé le substrat. Ainsi que nous l'avons vu dans le cas de la silice greffée, du fait de l'interaction attractive, la surface peut fort bien être imagée avec une distance pointe-surface la plus proche de l'ordre du nm. En d'autres termes, même sans la présence d'un renforcement de l'interaction attractive au voisinage de l'ADN, on pourrait très bien observer le contraste en hauteur de la molécule s'atténuer lorsque l'amplitude est diminuée.

Ces résultats soulignent l'importance du choix de l'amplitude, donc celui - implicite - du régime retenu pour imager. Si les plus grandes amplitudes favorisent le contact intermittent autorisant éventuellement une étude structurale et mécanique des chaînes - mais ne donnant alors aucune indication sur la répartition des interactions -, les amplitudes les plus faibles conduisent à une perte de la localité de l'interaction. Seules des amplitudes intermédiaires, dont l'ordre de grandeur est essentiellement contrôlé par HR , vont conduire à la fois à identifier et mesurer la localité des interactions, mais également à des situations de contact intermittent. Ces comparaisons montrent très directement que les hauteurs mesurées n'ont une signification que si, au préalable, les conditions expérimentales ont été bien identifiées.

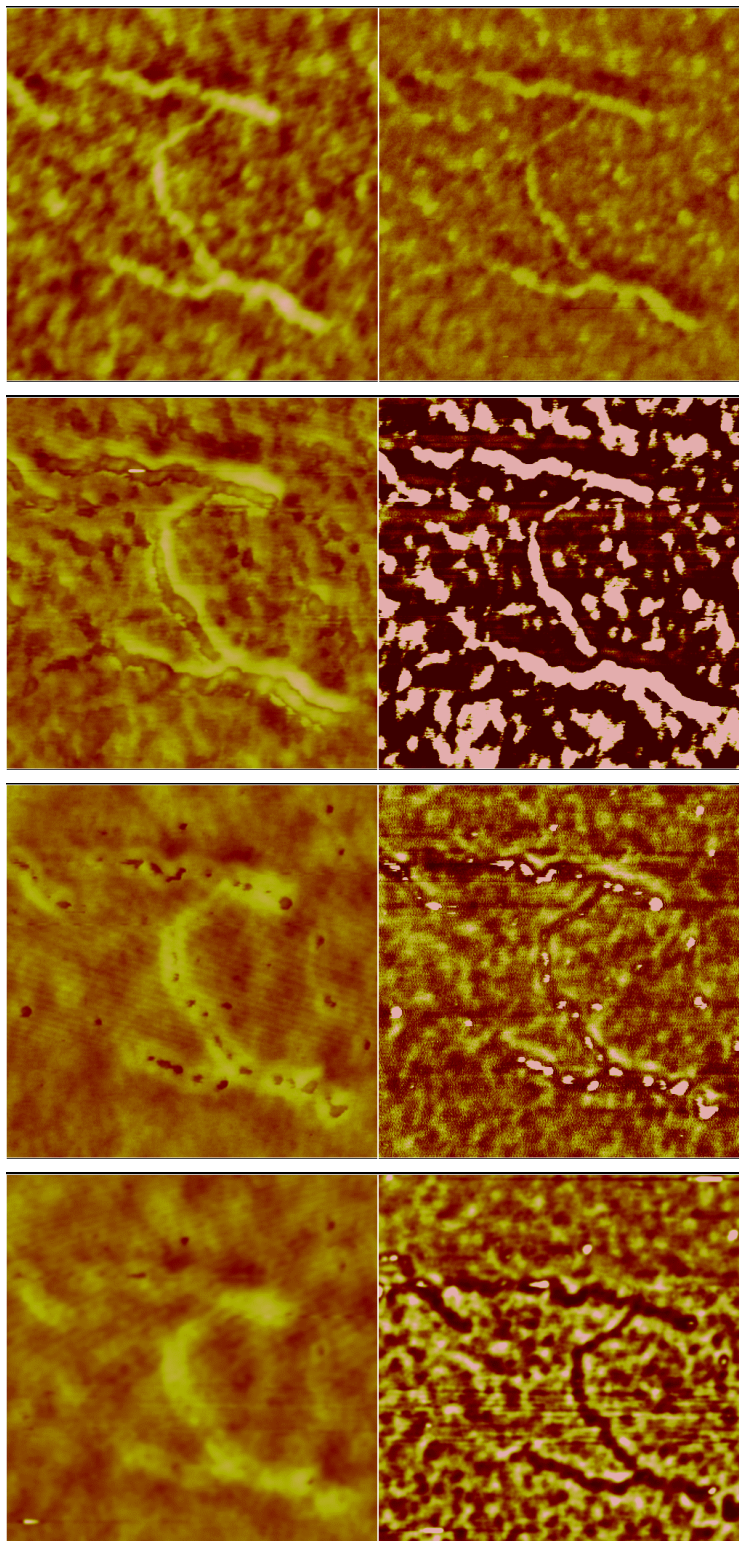


FIGURE V.9: Evolution du contraste des images en hauteur (colonne de gauche) et en phase (colonne de droite) de la zone de pSP65 pour $A_0 = 49, 11, 9, 6\text{nm}$, respectivement de haut en bas. Le contraste en hauteur est de 3nm et celui en phase de 10° pour toutes les images. Cela explique en particulier la saturation du contraste de phase pour $A_0 = 11\text{nm}$ alors qu'il avait été présenté jusque-là sur 180° . C'est également pour cette amplitude que nous recueillons le plus d'informations.

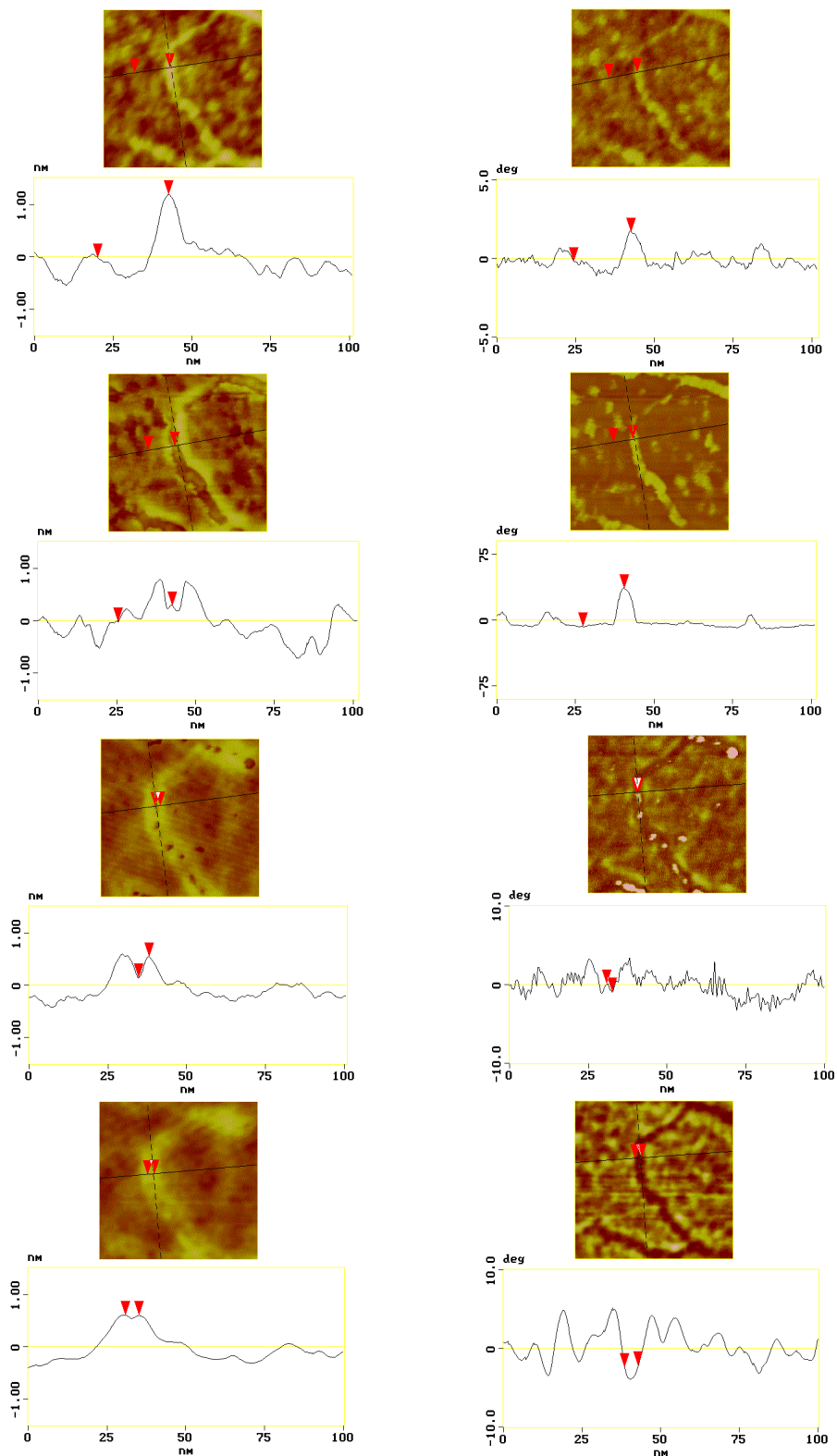


FIGURE V.10: Sections associées aux zones de pSP65 des images en hauteur (colonne de gauche) et en phase (colonne de droite) de la figure V.9. De haut en bas, $A_0 = 49, 11, 9, 6$ nm. Les échelles de contraste en en phase ne sont pas toutes identiques. La hauteur de l'objet et sa réponse en phase évoluent avec l'augmentation du régime attractif. Valeur moyenne de la phase de la surface: $A_0 = 49$ nm, $\varphi \simeq -43^\circ$; $A_0 = 11$ nm, $\varphi \simeq -123^\circ$; $A_0 = 9$ nm, $\varphi \simeq -130^\circ$; $A_0 = 6$ nm, $\varphi \leq -130^\circ$.

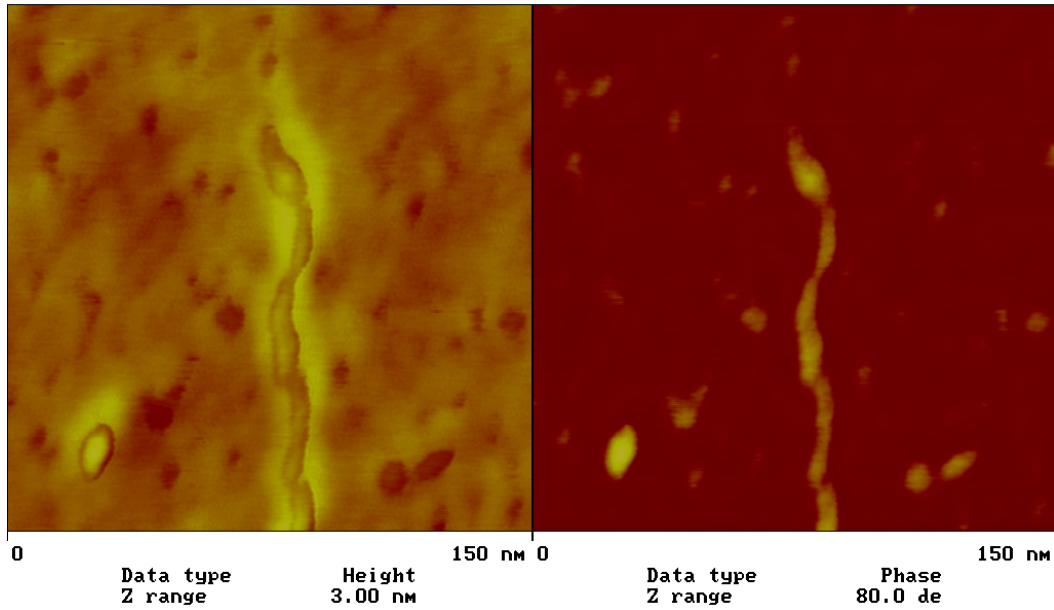


FIGURE V.11: Image de $150 \times 150 \text{ nm}^2$ du poly(dA)-poly(dT) obtenue pour $A_0 = 17 \text{ nm}$, c'est-à-dire dans le régime attractif. Le contraste de l'image en hauteur (à gauche) est de 3 nm et celui de l'image en phase (à droite) est de 80° . La section de la chaîne indique une hauteur de l'ordre de 1 nm .

V.3.b Échantillon de poly(dA)·poly(dT)

La densité de chaînes observées sur la surface est aussi faible que pour le pSP65. En imageant la surface en régime attractif, dans des conditions similaires à celles du pSP65 excepté que l'amplitude utilisée est maintenant $A_0 = 17 \text{ nm}$, nous obtenons l'image de la figure V.11.

La zone fait 150 nm de côté. Le contraste de l'image en hauteur est de 3 nm et celui de l'image en phase est de 80° . On retrouve une certaine hétérogénéité de la réponse de la couche de silanes.

De même que pour le pSP65, la chaîne apparaît très torsadée. Compte tenu de la similitude avec l'image obtenue à $A_0 = 11 \text{ nm}$ pour le pSP65, nous centrons notre propos autour de la comparaison entre ces deux images.

La phase moyenne sur la surface greffée est de -115° , donc légèrement supérieure à celle mesurée sur le pSP65 avec $A_0 = 11 \text{ nm}$ ($\varphi \simeq -123^\circ$). C'est un résultat auquel on s'attend puisque avec une amplitude plus grande, l'interaction attractive doit être moins importante. Cependant ce résultat n'était pas *a priori* totalement acquis. S'il met en évidence que la surface joue pleinement son rôle de référence, il indique surtout que, si il y a eu modification éventuelle des propriétés de la surface lors du dépôt de l'ADN (par exemple liée au pH de la solution) celle-ci est identique dans les deux cas.

L'image de la figure V.11 montre que la chaîne est plus éclairée que celle du pSP65. Cela suggère que, même avec une amplitude plus élevée, l'interaction attractive est plus importante sur le poly(dA)·poly(dT) que sur le pSP65. L'intérêt de la zone est l'alignement vertical de la molécule qui facilite la réalisation de courbes d'approche-

retrait latéralement. La série de courbes d'approche-retrait (cf. figure V.12) effectuées en traversant la molécule confirme l'impression visuelle. Excepté pour une courbe, le régime attractif est dominant sur toute la zone. Alors que l'on observait des phases supérieures à -90° sur la chaîne de pSP65 (cf. figure V.5, $\varphi \simeq -70^\circ$), la phase se situe³ plutôt aux alentours de -90° , voire à des valeurs inférieures pour la chaîne de poly(dA)·poly(dT) (cf. également figure V.14).

Nous avons montré avec la planche de figures sur le pSP65 que les mesures de hauteur ne fournissent pas nécessairement une information sur la conformation de l'objet. Dans le cas présent, il est même certain que la forme révélée est principalement due à une interaction attractive plus importante au voisinage et sur la chaîne. Cependant, comme on le voit avec une loupe sur la zone centrale présentée sur l'image de la figure V.13, on peut révéler certaines structures. Ainsi sur la torsade on observe des zones lumineuses espacées avec une période de l'ordre de $10nm$, soit environ 3 tours d'hélice.

Sur la figure V.15, nous reportons des sections réalisées sur le pSP65 et sur le poly(dA)·poly(dT). La figure V.15(a), rappelle à titre de comparaison une section sur la zone centrale du pSP65. Sur les plectonèmes et sur le poly(dA)·poly(dT), on observe également des épaulements, mais ces sections montrent aussi que la partie centrale demeure relativement haute (cf. figure V.15(a)). La comparaison des sections de phase en données brutes montre que la partie centrale du poly(dA)·poly(dT) et des plectonèmes sont imagés en contact intermittent mais avec une phase plus basse. Cette signature en phase indique que la contribution du régime attractif est plus importante. L'ensemble des coupes réalisées sur les plectonèmes du pSP65 montre des coupes très similaires à celles en partie observées sur le poly(dA)·poly(dT). D'autres coupes réalisées sur lui montrent des situations de régime attractif dominant, y compris sur l'objet (cf. section de la figure V.14). Cela est bien entendu en accord avec la série de courbes d'approche-retrait et l'impression visuelle donnée par l'image. Des situations de contact intermittent demeurent, mais elles ne sont pas systématiques comme pour le cas du pSP65.

Tout se passe donc comme si les structures et l'origine du contraste étaient similaires à celles observées pour le pSP65 mais avec une contribution attractive plus importante sur la partie centrale du poly(dA)·poly(dT).

V.3.c Échantillon de [poly(dA-dT)]₂

Sur cet échantillon, nous n'avons pas trouvé de zone qui présente des molécules étalées comme sur les précédents échantillons. En imageant à grande amplitude, la rugosité moyenne des zones était toujours sensiblement identique à celle du substrat de silanes. L'observation de chaînes fut plus difficile à réaliser que pour les cas précédents.

Une image obtenue pour les mêmes conditions d'amplitude du régime attractif est présentée sur la figure V.16.

Aucune molécule n'est observable de façon distincte, mais le contraste révèle quelques structures qui évoquent des chaînes. Ce résultat nous paraît être en accord avec les

³ au point de fonctionnement utilisé pour imager, ici $a \simeq 0,67$ (cf. flèches sur la figure V.12).

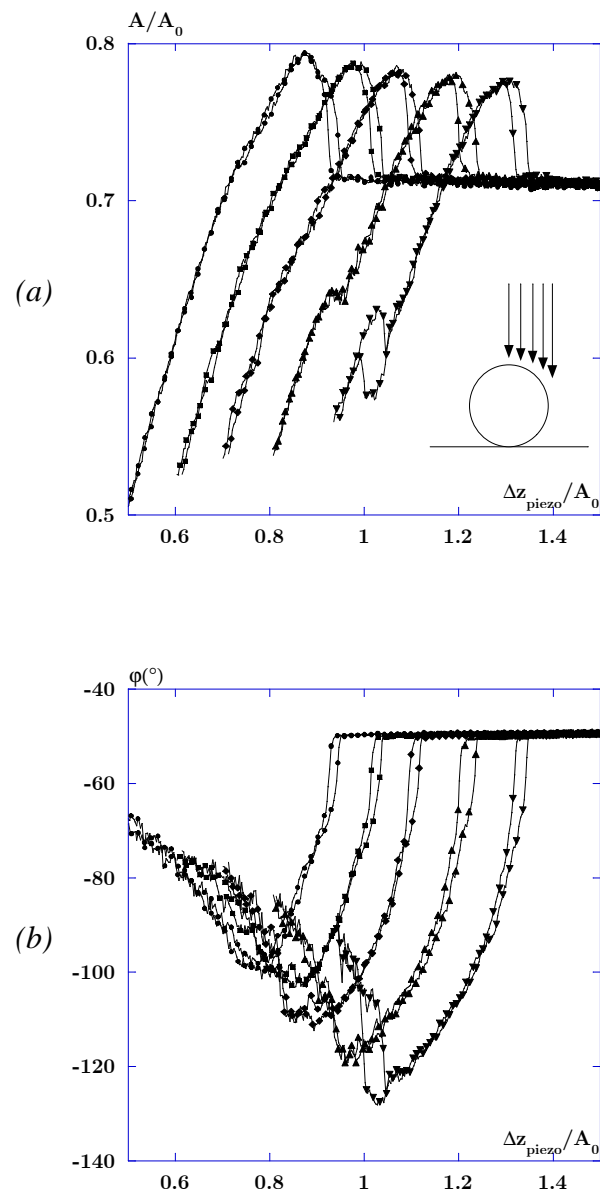


FIGURE V.12: Courbes d'approche-retrait en amplitude (a) et en phase (b) obtenues sur le poly(dA)•poly(dT). Les cinq courbes (de la gauche vers la droite respectivement) ont été obtenues en déplaçant entre chacune d'elles la position de la céramique piézoélectrique horizontalement de 1nm (cf. schéma en (a)). Le décalage en $\Delta z_{\text{piezo}}/A_0$ des courbes est arbitraire.

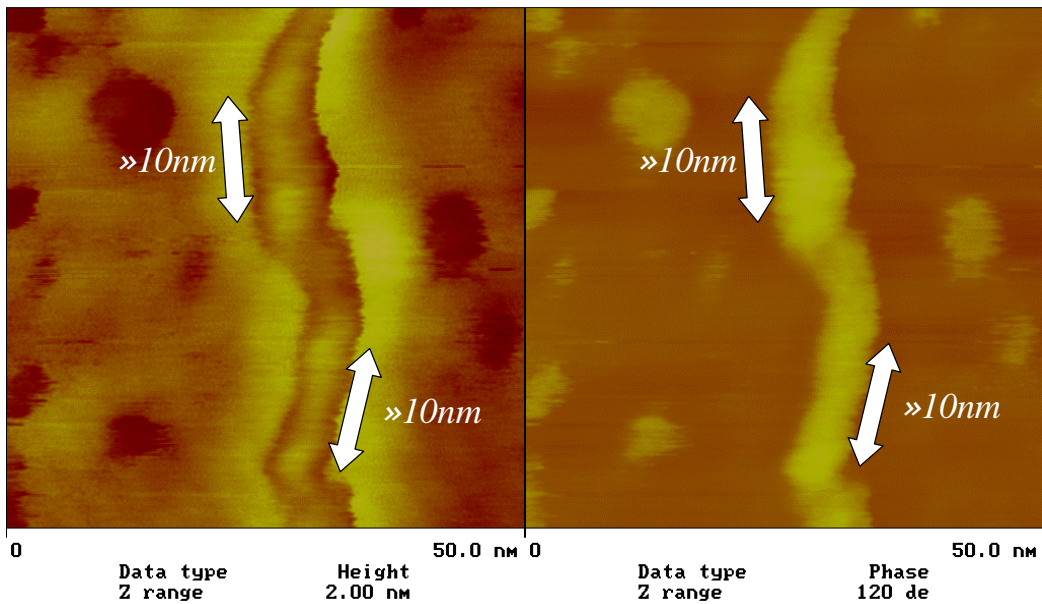


FIGURE V.13: Image en hauteur (gauche) et en phase (droite) de la zone centrale de la molécule de $\text{poly(dA)}\bullet\text{poly(dT)}$ précédente. Le contraste vertical est de 2nm en hauteur et de 120° en phase. L'analyse de l'image en hauteur indique des structures périodiques de l'ordre de 10nm, c'est-à-dire de l'ordre de trois périodes de la double hélice.

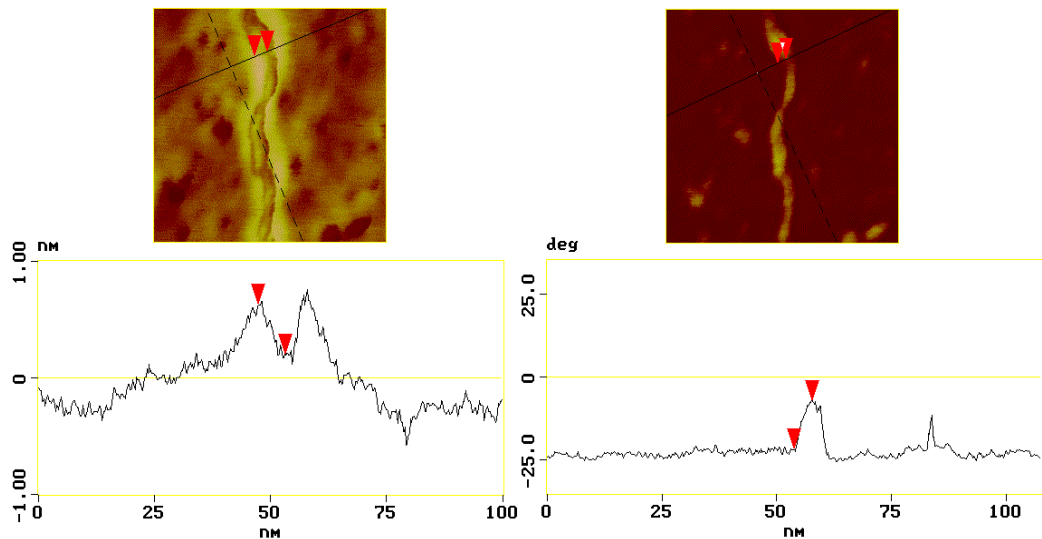


FIGURE V.14: Section du $\text{poly(dA)}\bullet\text{poly(dT)}$ en hauteur (gauche) et en phase (droite) de l'image de la figure V.11 imagée avec $A_0 = 17\text{nm}$. Le contraste de hauteur est de 2nm et celui de phase de 70° . La valeur de la phase associée au substrat est de -115° . Certaines zones de la chaîne telles que celle qui est y présentée sont imagées en régime attractif ce qui apparaissait moins sur le pSP65 avec une amplitude pourtant plus faible, $A_0 = 11\text{nm}$. Cela laisse penser que la contribution attractive est plus forte sur cet échantillon.

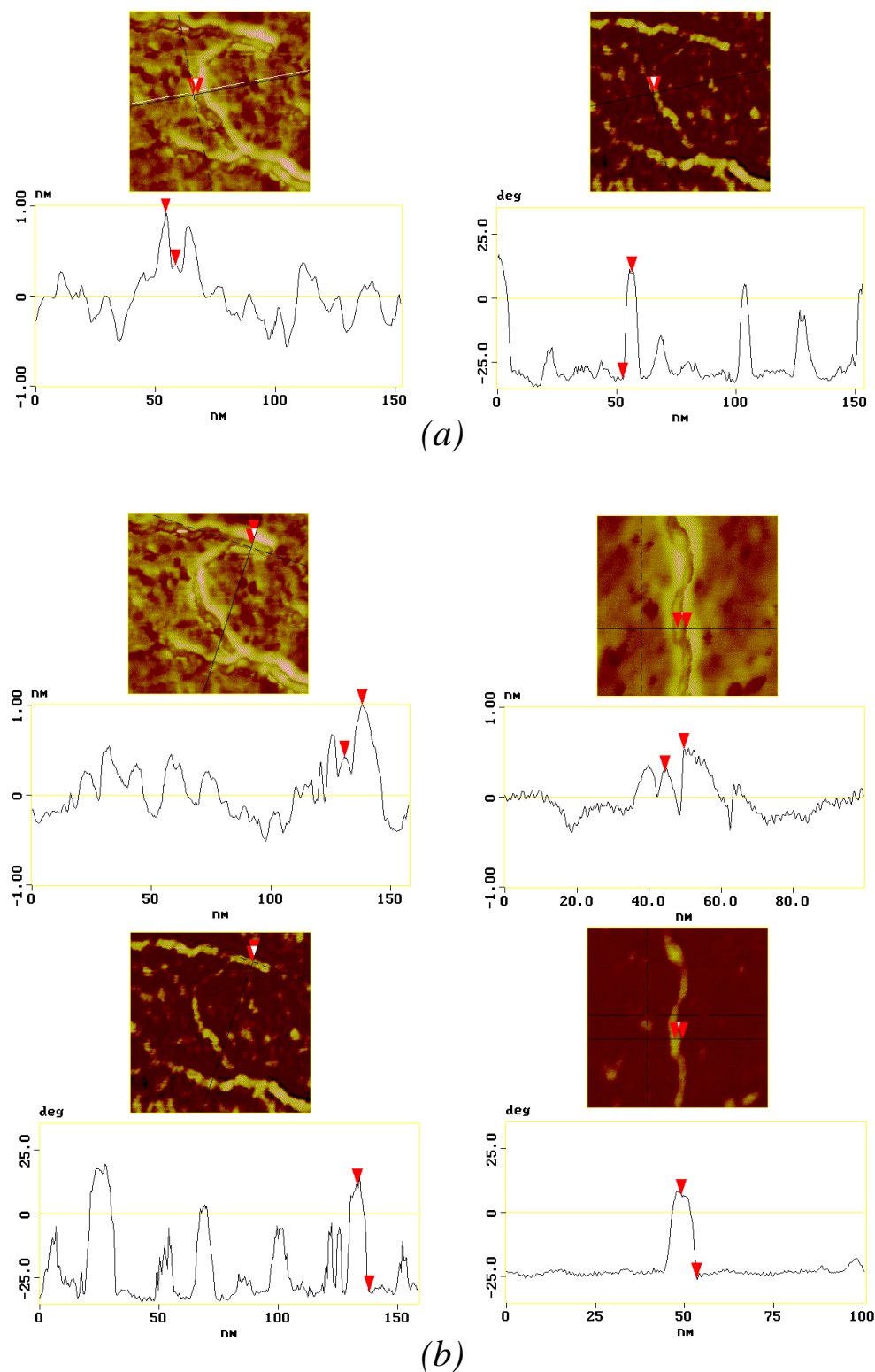


FIGURE V.15: (a)- Section de la zone centrale du pSP65 pour $A_0 = 11\text{nm}$ déjà présentée. (b)- Comparaison entre les zones de plectonèmes du pSP65 pour $A_0 = 11\text{nm}$ et le poly(dA)•poly(dT) pour $A_0 = 17\text{nm}$. Les réponses sont assez similaires indiquant un régime répulsif dominant sur les structures. Les épaulements liés à une intensité localement plus importante de l'interaction attractive sont également assez semblables. Le contraste en hauteur est de 2nm et celui en phase de 70° .

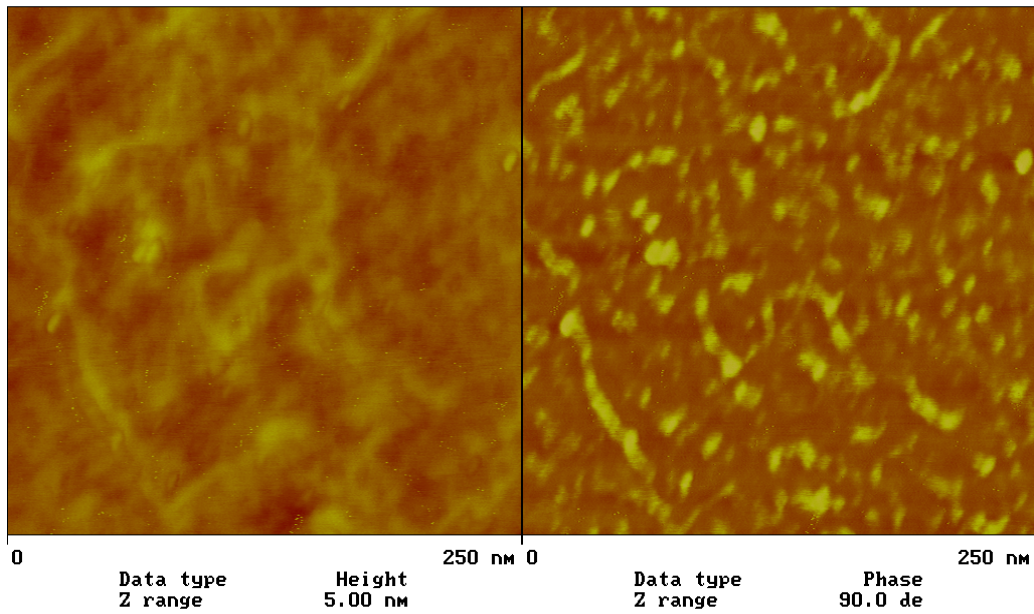


FIGURE V.16: Image de $250 \times 250 \text{ nm}^2$ du $[\text{poly}(\text{dA-dT})]_2$ obtenue dans les conditions de la figure V.11, c'est-à-dire dans le régime attractif. Le contraste de l'image en hauteur (à gauche) est de 5 nm et celui de l'image en phase (à droite) est de 90° .

résultats de Buckin *et al.* [126] déjà évoqués. Ces travaux montrent que l'oligonucléotide $[\text{poly}(\text{dA-dT})]_2$ n'est pas stable en présence de Mg^{2+} et conduit à une dénaturation sous la forme de mono-brins.

Nous en concluons que nous sommes également en présence de mono-brins, beaucoup plus difficiles à imager sur une couche greffée.

Synthèse

Le choix initial des différentes séquences des échantillons : pSP65, poly(dA)·poly(dT), [poly(dA-dT)]₂, était fondé sur leurs successions de paires de bases très différentes, dont on pouvait espérer *a priori* révéler des différences de comportements.

Nous avons discuté la capacité de l'oscillateur à identifier les différents régimes, répulsif ou attractif dominant, qui permet d'établir suivant les conditions d'oscillation de la pointe une cartographie des forces. A cet égard les images, et leurs sections correspondantes, obtenues sur le pSP65 (cf. figures V.9 et V.10) nous paraissent bien illustrer quel parti on peut espérer tirer de l'oscillateur en exploitant différentes valeurs de l'amplitude. Parmi les quatre amplitudes retenues, une ($A_0 = 11nm$) donne les informations les plus riches et les plus précises. L'exploitation de ces images ne peut se réaliser que par la confrontation systématique des mesures d'amplitude (images de hauteur) et de phase. Toutes les images aux faibles amplitudes indiquent une interaction attractive beaucoup plus forte sur les sur-structures et notamment sur les plectonèmes, l'image à l'amplitude intermédiaire montrant que ce surcroît d'interaction est localisé au voisinage de la chaîne.

L'origine de ce surcroît d'interaction n'est pas immédiate à interpréter. Une interprétation serait qu'elle soit due à la présence de dipôles permanents résultants, en parti, de l'appariement entre les ions ammonium de la surface et les ions O^- des groupements phosphate de la chaîne. Une autre source d'augmentation de l'interaction attractive, toujours en considérant la présence de dipôles permanents, est d'impliquer les cations Mg^{2+} utilisés au moment de la préparation des différentes solutions d'ADN et qui auraient pu réagir avec les chaînes. Cette proposition s'appuie sur l'étude comparative entre le pSP65 et le poly(dA)·poly(dT). Pour des conditions expérimentales similaires, l'oligonucléotide poly(dA)·poly(dT) présente une contribution attractive plus importante. La question est dès lors de savoir en quoi une séquence de A et de T serait susceptible d'augmenter l'interaction entre la pointe et l'objet.

Lors de l'étude sur l'oligonucléotide [poly(dA-dT)]₂, nous avons trouvé que les résultats obtenus étaient en accord avec les travaux de Buckin *et al.* [126]. Ces auteurs ont également étudié plusieurs autres séquences d'oligonucléotides⁴. Parmi celles-ci, des séquences de G-C et les séquences constituées de brins A et de brins T en présence de Mg^{2+} . Buckin *et al.* étudient les sites de fixation d'ions magnésium présents dans la solution d'ADN en fonction de la succession des séquences des chaînes. Ils montrent notamment qu'avec les oligonucléotides étudiés, la déshydratation de la chaîne par insertion du magnésium est plus forte sur les oligomères présentant des zones riches en couples C-G que sur les oligomères présentant des zones riches en A-T. Ils proposent la formation de complexes magnésium-paire de base dont la position le long de la chaîne dépend de sa séquence. Le schéma de la figure V.17 est extrait de leur article.

Même si les oligonucléotides qu'ils utilisent sont plus petits (une dizaine de *pb*) que la séquence de poly(dA)·poly(dT) de 450*pb* que nous avons étudiée, la structure

⁴ Les nucléotides qu'ils étudient sont les suivants: $d(A)_8 \bullet d(T)_8$, $[d(A_4T_4)]_2$, $[d(AT)_4]_2$, $d(GCAATTGC)_2$, $d(AC)_4 \bullet d(GT)_4$, $[d(CG_4)]_2$.

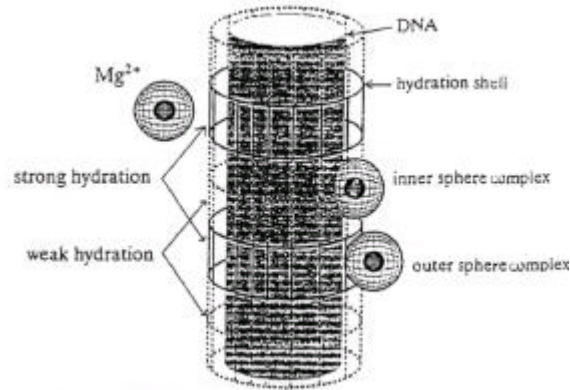


FIGURE V.17: Illustration des types de complexes formés par Mg^{2+} : (i)- Pour les complexes externes, Mg^{2+} ne pénètre pas dans la gangue d'hydratation de la chaîne localement forte (zone riche en séquences dA-dT). La conséquence en est une faible déshydratation de la molécule. (ii)- Pour les complexes internes, Mg^{2+} pénètre les zones moins hydratées de la chaîne (zones riches en séquences dC-dG). La déshydratation de la molécule liée à la fixation de l'ion est ici plus importante.

complexée avec le magnésium qu'ils proposent nous permet d'aller un peu plus loin dans notre interprétation. Nous prendrons pour hypothèse que l'augmentation de l'interaction attractive entre la pointe et l'objet est liée à une contribution électrostatique supplémentaire. Plus précisément, nous considérerons une contribution additionnelle de type Debye avec des moments dipolaires permanents orientés de manière aléatoire le long de la chaîne. Dans ce cadre, la position relative des contre-ions par rapport à la chaîne joue un rôle prépondérant.

Nous sommes ainsi conduits à considérer la formation d'un complexe entre d'une part le Mg^{2+} et d'autre part le groupement phosphate chargé négativement que supporte la base. Un moyen simple d'estimer cette contribution serait de coupler $2O^-$ à l'ion Mg^{2+} , puis, de la même manière que l'on calcule le dipôle résultant d'une molécule d'eau, de projeter les moments $Mg - O$ sur l'axe de symétrie du complexe ainsi formé. Nous n'avons pas d'information sur la structure de ces complexes (pas plus d'ailleurs sur celui éventuellement formé avec NH_3^+). Néanmoins, afin de situer un ordre de grandeur, considérons une distance moyenne entre charges de l'ordre de 2\AA . Cela conduit à $p = 2 \cdot 10^{-10} \times 1,6 \cdot 10^{-19} C.m = 10D$. Dans le cas des séquences A-T, l'ion Mg^{2+} est externe, ce qui conduit à une contribution électrostatique plus importante que celui qui aurait été obtenu avec le groupement C-G.

Une déduction logique de cette hypothèse de travail nous amène à interpréter les parties surper-enroulées observées sur le pSP65 comme étant majoritairement constituées de séquences A-T. Une telle déduction n'est pas en désaccord avec ce qui est connu de la stabilité relative des diverses séquences. Du fait de leur moindre stabilité, les séquences A-T sont plus propices à des modifications locales de courbures sous l'action d'une contrainte.

Chapitre VI

Discussions, modélisation et perspectives

Chapitre VI

Discussions, modélisation et perspectives

Nous nous proposons dans ce chapitre de discuter d'un certain nombre d'aspects susceptibles d'apporter des éléments de réponse aux observations expérimentales. Le premier élément pour discuter de l'apparition des super-structures est, en plus de celle du Mg^{2+} , la contribution du substrat d'aminosilanes. Cela nous amènera à envisager des simulations numériques pour tenter de reproduire les sections expérimentales. L'introduction d'une contribution de Debye à l'interaction pointe-surface ainsi que la contribution mécanique de l'objet, sur la base d'observations expérimentales, sera nécessaire pour une première approche.

La dernière partie de ce chapitre concernera les perspectives de ce travail.

VI.1 Remarques préliminaires

À l'exception des résultats reportés dans la référence [186], la plupart des mesures en MFA donnent des hauteurs des duplex situées entre 0,5 et 0,8nm [171, 173, 184, 186, 187, 204]. Nos mesures n'échappent pas à ce constat sur le duplex (cf. analyse de la zone 2 du pSP65). En outre, ces hauteurs ne sont pas uniquement observées en contact intermittent. Les mesures réalisées en non-contact résonant par différentes équipes reportent également des valeurs similaires, cf. par exemple les références [224–226] et [255]. Dans ce mode d'exploitation de la pointe oscillante, la distance la plus proche entre la pointe et l'objet est usuellement supérieure à 0,4nm. La pointe exerce une faible perturbation, uniquement liée à l'interaction attractive et on s'attend à observer une taille proche de la taille réelle. Le fait que les hauteurs restent faibles nous amène à conclure que la chaîne est plaquée sur la surface. Dès lors, une représentation géométrique, même simple, de la section de l'ADN devient par trop spéculative. Par contre, pour ce qui est des sur-structures, ainsi que nous allons le voir, nous mettons en évidence une réponse mécanique. Il devient dès

lors intéressant de montrer l'évolution d'une forme géométrique simple en fonction de sa réponse mécanique.

Nous nous trouvons dans la situation – commune aux différentes techniques de visualisation – qui est de tenter d'évaluer l'influence de la préparation des échantillons (cf. discussion du paragraphe III.5 sur la cryomicroscopie). La préparation d'échantillons que nous avons retenue est *a priori* simple. Elle ne nécessite pas d'ajouter des molécules ou des atomes lourds pour amplifier le contraste et donc élimine une possible modification locale de la conformation due à un intercalant. Cependant, d'autres contraintes apparaissent, comme la nécessité d'une surface plane, ou celle d'éviter la formation d'amas, ce qui conduit à étaler la chaîne sur la surface.

Nous allons, de façon qualitative, tenter d'évaluer les conditions dans lesquelles l'ADN se dépose sur la surface. Plusieurs facteurs contrôlent le dépôt de l'ADN : sa conformation en solution, la densité de charges sur la surface – éventuellement contrôlée par le pH de la solution –, la probabilité d'adsorption et de désorption, la diffusion de la chaîne. En l'absence de plus d'éléments pour décrire ces facteurs, nous nous contenterons d'évaluer la concentration de charges vue par l'ADN lorsqu'il est au voisinage de la surface.

Considérons une molécule d'ADN en solution s'approchant de la surface. En bon solvant, le volume occupé par la molécule est donné par :

$$V \simeq \frac{4\pi}{3} R_G^3 \simeq \frac{4\pi}{3} \left(\frac{\lambda_c L}{3} \right)^{3/2} \quad (\text{VI.1.1})$$

R_G est le rayon de giration de la chaîne et L sa longueur de contour.

Pour 2,5 *kpb*, la pelote d'ADN occupe en moyenne un volume de l'ordre $10^7 nm^3$ avant que celle-ci soit perturbée par la surface. Chaque paire de base occupe un volume de l'ordre de $1 nm^3$ ($0,34 nm \times \pi nm^2$), correspondant, pour le cas écroulé, à un volume de $2,5 \cdot 10^3 nm^3$. On voit ainsi que la densité à l'intérieur de la pelote est très faible. Le rapport du volume occupé par le volume disponible est de $2,5 \cdot 10^{-4}$. Cette "dilatation" est usuelle pour une macromolécule en bon solvant et se trouve ici renforcée par la grande rigidité de la chaîne. Cette rapide estimation donne un ordre de grandeur de la concentration maximale de bases arrivant sur la surface dans le cas de solutions diluées et, par voie de conséquence, de la densité de charges (ici définie par unité de surface).

Pour évaluer la concentration en ions NH_3^+ vue par la chaîne, considérons un greffage "idéal" où la seule contrainte déterminant la structure de la couche greffée serait l'encombrement stérique entre molécules. En prenant un rayon de l'ion de l'ordre de 3 \AA , la surface qu'il occupe est $s_m = 0,3 nm^2$, conduisant à une densité surfacique $\rho_{s_m} = s_m^{-1} = 3 \cdot 10^{18} m^{-2}$.

Considérons à présent une dilution assez grande d'ions NH_3^+ . Pour fixer les idées, des concentrations 30 à 300 fois plus faibles, afin de réduire l'effet de notre première approximation. On aura $\rho_s(NH_3^+) = 10^{17}$ à $10^{16} m^{-2}$. L'ordre de grandeur de la surface de contact moyenne de l'ADN en pelote avec la surface est donnée par : $S_{ADN} = \pi R_G^2 = \pi \lambda_c L = 5 \cdot 10^4 nm^2$, ce qui conduit à $n(NH_3^+) = S_{ADN} \times \rho_s(NH_3^+) = 5 \cdot 10^2$ à $5 \cdot 10^3$ ions monovalents : en d'autres termes, de 0,2 à 2 contre-ions par base.

Cette grossière estimation indique une très forte concentration d'ions lors du dépôt. Nous pouvons d'ailleurs confirmer cette densité en mesurant la proportion de régions éclairées sur la surface d'APTES en régime attractif dominant (cf. figure IV.12 par exemple). Le rapport entre la surface des zones éclairées par rapport à la surface totale indique que cette évaluation est loin de surestimer le nombre d'ions.

La question est de savoir de quelle façon une telle concentration est susceptible de modifier la conformation de la chaîne par rapport à son état dans la solution. Dans son article de revue, V. Bloomfield insiste sur le rôle des cations tri et tétravalents en considérant que les mono et divalents ont une incidence faible sur l'écroulement de l'ADN. Bednar *et al.* [112] indiquent néanmoins que Na^+ et Mg^{2+} montrent des activités similaires (avec des quantités de sel différentes) pour modifier la conformation de l'ADN. Les mesures de force de "molécule unique" paraissent indiquer les mêmes tendances. Bauman *et al.* [100], en utilisant des cations tétra et trivalents, mesurent des forces identiques à celles mesurées par T. Strick *et al.* [111] qui, eux, mesurent l'influence des ions Na^+ et Mg^{2+} dans des proportions similaires à celles employées par Bednar *et al.* pour leur étude des structures.

Notre hypothèse de travail est donc de considérer que la chaîne présente une courbure locale importante lorsqu'elle se colle en un point de la surface. Cette courbure étant d'autant plus aisée à réaliser qu'il existe des ions Mg^{2+} en solution. La chaîne se collant en plusieurs points, cette courbure locale peut ensuite être bloquée lors de l'étalement. Il en résulte ainsi la possibilité d'obtenir les structures que nous avons observées et cela, même dans le cas de chaînes linéaires.

Dans la partie qui suit, nous présentons quelques tentatives d'aborder de façon plus quantitative l'analyse des mesures réalisées dans le chapitre V.

L'analyse est faite en vue de reproduire la section observée du pSP65 dans le régime attractif avec $A_0 = 11nm$ (cf. section de la figure V.4 du chapitre précédent). Cela nous a conduit à tenter de reproduire, sur la base de simulations numériques, la section en question.

VI.2 Simulation numérique d'une section imagée en mode dynamique

Nous présentons en introduction l'influence de la taille de la pointe pour imager un objet de section circulaire et de module infini. La pointe possédant également un module infini, cette simulation a pour but de montrer simplement la dilatation de l'objet liée à la taille finie de la pointe. La seconde étape sera de montrer, toujours avec un objet simple, l'influence d'une réponse mécanique sur la forme révélée. Nous terminons ce paragraphe par des simulations dont le but est de présenter l'influence d'une ligne de dipôles d'orientation aléatoire en mode attractif dominant.

Compte tenu des résultats obtenus sur la silice, la taille de la pointe utilisée lors de cette expérience doit être relativement petite. Nous prendrons $R = 10nm$. Si la chaîne

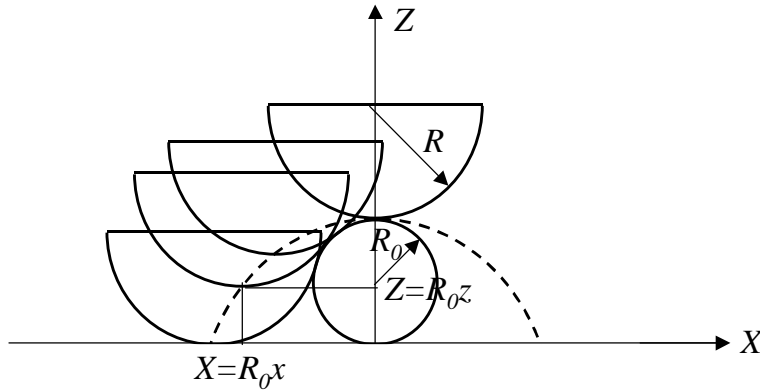


FIGURE VI.1: Dilatation de l'objet imagé par la pointe. Le profil apparent qui correspondrait dans ce cas à la topographie de la zone (contact infiniment dur) est représenté en pointillé sur la figure et donné par les relations VI.2.1 et VI.2.2.

d'ADN est simplement déposée sur une surface plane, sa section sera décrite par un cercle de rayon $R_0 = 1,2nm$.

Le profil apparent d'un objet de section circulaire par une pointe dont l'apex est de géométrie sphérique (cf. figure VI.1) est [256] :

$$x = [x_0(1 + \lambda)] \quad (\text{VI.2.1})$$

$$z = \left[1 + \sqrt{1 - x_0^2} - \lambda + \sqrt{\lambda^2 - (x_0 - x)^2} \right] \quad (\text{VI.2.2})$$

x et z sont les coordonnées de l'apex de la pointe le long de la section, définies en unités de R_0 . λ est le rapport des rayons de l'objet et de la pointe, $\lambda = R/R_0$. x_0 , représente l'extension spatiale selon x de l'objet, normée à son rayon. Pratiquement, pour un couple de rayons donné, il suffit de faire varier x_0 de -1 à 1 et de calculer les expressions de x et de z correspondantes.

La coupe numérique reproduit l'asservissement de la céramique piézoélectrique par rapport au point de fonctionnement retenu lors de la courbe d'approche-retrait préalable (cf. annexe E).

La forme géométrique retenue est celle d'un arc de cercle de $6nm$ de rayon de courbure, de $3,2nm$ de hauteur et de corde $10nm$. La figure VI.2 reporte la section numérique obtenue avec un module important de l'objet ($E_0 = 100GPa$) et le profil apparent calculé à partir des relations VI.2.1 et VI.2.2. La raison du choix de cette géométrie est détaillée dans le paragraphe VI.3 suivant. Le bon accord entre la simulation numérique et le profil calculé valide l'asservissement numérique (cf. également annexe E).

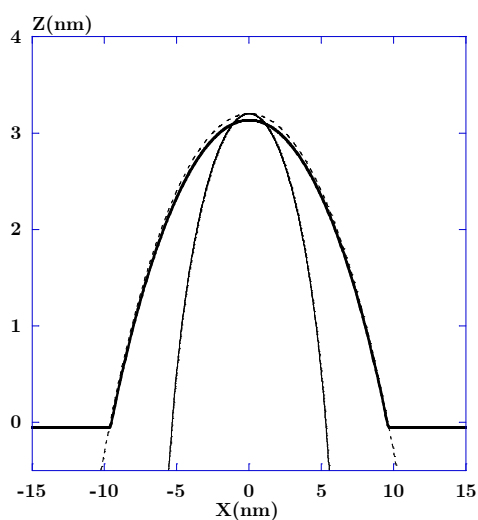


FIGURE VI.2: Profil apparent de l'objet envisagé calculé numériquement (traits continus épais) et calculé analytiquement à partir des relations VI.2.1. et VI.2.2 (pointillés fins). L'objet (traits continus fins) s'apparente à une arche de rayons de courbure 6nm et de hauteur maximale 3,2nm. Les paramètres numériques sont : $A_0 = 49\text{nm}$, $\nu_0 = 150\text{kHz}$, $u = 0,9975$, $Q = 200$, définissant des conditions d'oscillations libres $a_l = 0,707$ et $\varphi_l = -45^\circ$. Le rayon de la pointe est $R = 10\text{nm}$ et le levier présente une raideur de $4,5\text{N.m}^{-1}$. La constante de Hamaker de la surface est $H = 10^{-20}\text{J}$, et son module d'Young est $E = 100\text{GPa}$. L'objet présente un rayon de courbure de 6nm et une hauteur de 3,2nm. Nous avons retenu $H_0 = 10^{-20}\text{J}$ et $E_0 = 100\text{GPa}$. Le bon accord entre la simulation numérique et le profil calculé valide l'asservissement numérique.

VI.3 Réponse mécanique de l'A.D.N.

C'est sur la base de la signature des courbes d'approche-retrait réalisées sur la zone de la chaîne de pSP65 montrant une sur-structure que nous avons été amenés à considérer une réponse mécanique (cf. figure VI.3).

La courbe présente trois zones caractéristiques. La première, après l'instabilité, indique une zone d'indentation d'un matériau mou sans réduction d'amplitude. La phase associée montre un régime attractif dominant, mais la pointe est effectivement au contact de l'objet, le saut de phase initial étant au-dessus de -90° . Ainsi la réponse mécanique faible de l'objet ne permet pas de mettre en évidence, du point de vue de la phase, une signature de contact intermittent franche.

La deuxième partie de la courbe indique une pente de réduction de l'amplitude plus importante. Là, la pointe est davantage indentée dans la structure ce qui se traduit par une réduction plus rapide de l'amplitude par rapport à la première zone. La réponse en phase indique que le régime attractif devient dominant. Cela est lié à la contribution d'une adhésion croissante sur un matériau de faible module.

La troisième zone est facilement identifiable à partir de la phase. A partir de ce point, elle augmente et le régime répulsif redevient dominant. En parallèle, la pente de variation de l'amplitude est égale à 1. C'est sur cette zone que la céramique va chercher son point de fonctionnement ($a \simeq 0,67$).

Ces signatures sont caractéristiques de plusieurs couches traversées par la pointe. En fixant la position de la surface au voisinage de l'instabilité, on obtient une évaluation, relative, de l'épaisseur de chacune d'elles. La première zone indique que la pointe s'indente d'environ $\delta_1 \simeq 1,2nm$ et la seconde $\delta_2 \simeq 1,1nm$ et ce n'est qu'ensuite que la pente de réduction de l'amplitude est égale à 1.

Ces résultats indiquent clairement que le contraste sur l'ADN est également d'origine mécanique. La pointe image un objet qui présente une réponse mécanique de type matériau dur, seulement après une indentation de plus de $2nm$. La pente de la courbe en amplitude présentent plusieurs pentes attestant de la difficulté à décrire proprement cette réponse.

VI.4 Modélisation

VI.4.a Contribution de la réponse mécanique de l'objet

Pour évaluer la raideur d'un tel objet nous prendrons une géométrie simple décrivant la réponse mécanique d'un cylindre courbé en arc de cercle à l'action d'une force concentrée. Soit une arche cylindrique de module élastique E_0 et de rayon R_0 dont le rayon de courbure est R . La raideur de cette arche est de l'ordre de [60] :

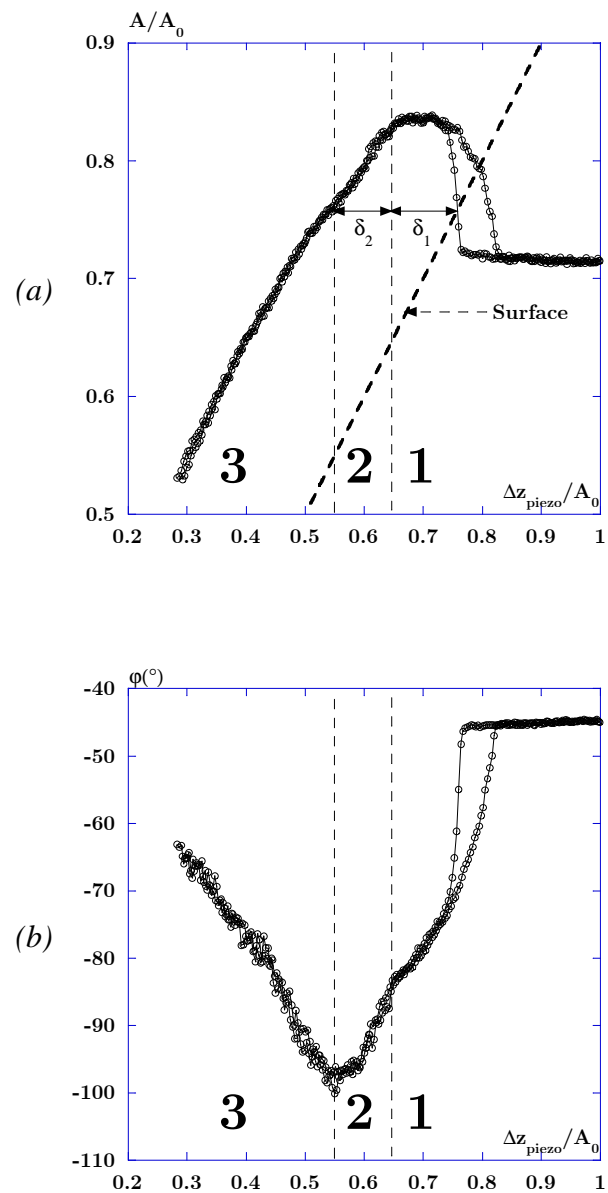


FIGURE VI.3: Courbe d'approche-retrait réalisée sur la molécule de pSP65 (cf. section de la figure V.4). La courbe présente trois zones caractéristiques correspondant à trois réponses mécaniques distinctes. Les conditions expérimentales sont celles de la figure V.3.

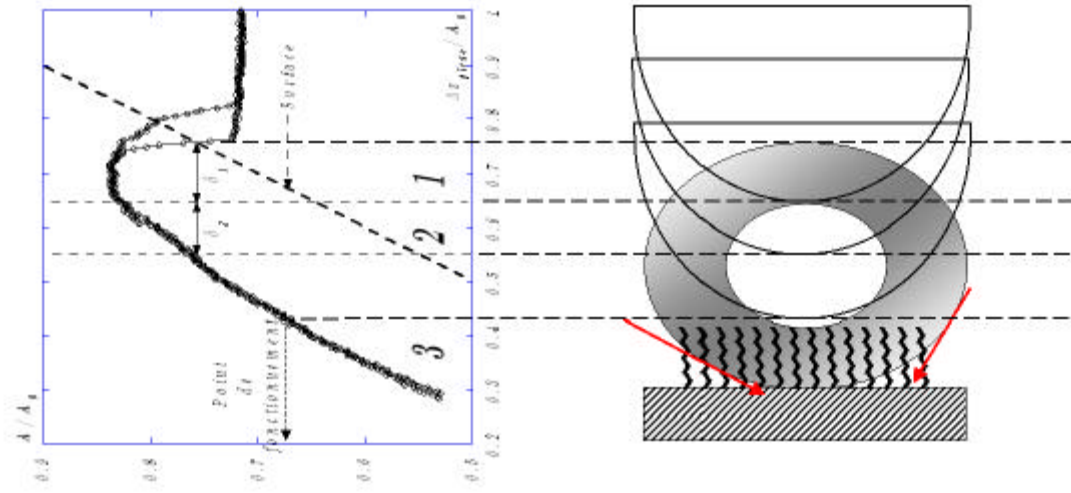


FIGURE VI.4: Les trois caractéristiques de la courbe d'approche-retrait de la figure VI.3 correspondent à différentes zones de réponses mécaniques testées par la pointe. Au moment où la céramique piézoélectrique récupère son point de fonctionnement, la pointe est indentée de plus de 2 nanomètres dans l'objet. Ainsi le contraste de l'image de la figure V.3 contient l'information de la réponse mécanique de la sur-structure.

$$k_0 \simeq \frac{E_0 \pi R_0^4}{4R^3}, \quad (\text{VI.4.1})$$

avec $E_0 \simeq 3.10^8 \text{ N.m}^{-2}$ (cf. équation III.5.3 du chapitre V), $R = 6 \text{ nm}$ et $R_0 = 1,2 \text{ nm}$, on obtient $k_0 \simeq 2,3.10^{-3} \text{ N.m}^{-1}$. Pour un levier présentant une raideur de 40 N.m^{-1} et un facteur de qualité $Q = 400$, la pente du contact intermittent est de l'ordre de¹ (cf. équation II.4.7 du chapitre II) :

$$p \simeq \frac{1}{1 + \frac{5}{(Q\kappa_s)^{2/3}}} \simeq \frac{1}{1 + \frac{5}{(400 \times 2,3 \cdot 10^{-3} / 40)^{2/3}}} \simeq 1,6\%$$

Sur un tel objet, on s'attend donc à une variation très faible de l'amplitude lors du contact intermittent, voire un plateau, comme l'indique la première évolution sur la courbe d'approche-retrait.

La figure VI.4 synthétise cette discussion et illustre la représentation de la structure que nous nous faisons maintenant sur la section étudiée.

La contribution de la réponse mécanique de l'objet conduit à une diminution de la taille apparente de la super-structure puisque la pointe peut maintenant l'indenter. La difficulté consiste à décrire numériquement de façon correcte le contact de la pointe dans la surface. Le modèle de contact élastique retenu est de type Hertzien. Selon la position horizontale pendant le balayage, trois situations sont envisagées :

¹ On néglige dans cette expression la contribution de l'adhésion de l'ADN tenant compte du fait qu'il semble assez raisonnable de retenir une valeur faible de sa constante de Hamaker.

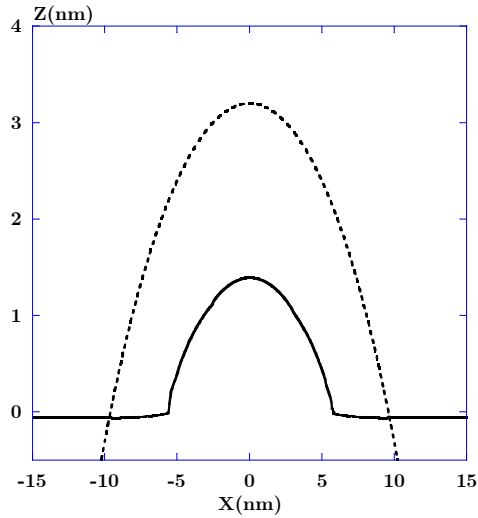


FIGURE VI.5: Section numérique de l'objet présentant une réponse mécanique. Les traits continus représente la section calculée et les pointillés le profil apparent calculé à partir des conditions géométrique ($R = 10\text{nm}$, $R_0 = 6\text{nm}$ et $h_{\text{objet}}^{\text{max}} = 3,2\text{nm}$). Les paramètres numériques sont identiques à ceux de la figure VI.2 excepté le module d'Young de la surface qui est $E_0 = 2.10^8\text{GPa}$.

- ▶ la pointe ne touche que le substrat.
- ▶ la pointe ne touche que l'objet.
- ▶ la pointe touche à la fois le substrat et l'objet.

La composante de la force est donc de type sphère-sphère et/ou sphère-plan. Au contact de l'objet, la force est projetée verticalement étant donné que l'on n'envisage pas sa contribution latérale². Le résultat, quelque peu trivial, que nous obtenons montre que la mesure de largeur à partir de l'image, y compris en contact intermittent, ne nous donne pas une information immédiatement exploitable en terme de conformation de la chaîne déposée sur la surface (cf. figure VI.5).

² Cet argument est renforcé par les valeurs importantes des raideurs latérales des leviers de dynamique (cf. annexe A).

VI.4.b Contribution d'une interaction de Debye : interprétation des épaulements

Afin de simuler le régime attractif utilisé pour obtenir les résultats expérimentaux, le point de fonctionnement doit conduire, sur la surface et loin de l'objet, à une situation de non-contact, conformément à la façon dont est imagé le substrat de silanes. Nous avons retenu en particulier $A_0 = 11nm$, $\nu_0 = 150kHz$ et $u = 0,9975$ avec une surface présentant une interaction attractive forte ($H = 2.10^{-19}J$), qui assure que l'oscillateur est en non-contact au voisinage de la surface. Le module de la surface a été fixé à $100GPa$ compte tenu du caractère dur de la surface indiqué par les courbes d'approche-retrait. Le point de fonctionnement avant d'initier le balayage est fixé à $A = 6nm$ ($\varphi \simeq -143^\circ$). Avec ces conditions, l'oscillateur est en non-contact à une distance de 3\AA de la surface (cf. figure VI.6(b)).

Nous n'avons pas retenu le facteur de l'expérience ($Q \simeq 400$), afin de réduire les temps de calcul. Pour une comparaison raisonnable entre les résultats numériques et expérimentaux, nous avons retenu $Q = 200$ ($A_l = 7,08nm$ et $\varphi_l = -45^\circ$). Cela assure des temps de calcul de la section de $2h30$ sur la plateforme dont nous disposons (cf. annexe E). Cette hypothèse n'est pas très contraignante pour l'interprétation des résultats. On peut s'attendre à ce que, dans les situations de contact intermittent, la valeur du module de l'objet retenue pour $Q = 200$ soit plus forte que celle qui aurait été obtenue pour $Q = 400$, conformément à la figure II.22.

L'extension spatiale faible des épaulements autour de l'objet ($\simeq 5nm$), indique une loi de variation de l'interaction attractive rapide et plus importante que sur l'objet lui-même. L'idée première de la description a consisté à considérer un objet très attractif, donc décrit par une constante de Hamaker équivalente à celle de la surface. Le caractère localisé des épaulements autour de l'objet aurait pu être en effet la conséquence d'une contribution purement géométrique. L'ADN, vis-à-vis de la pointe peut être considéré comme une petite paroi et introduire localement une contribution supplémentaire à l'interaction (cf. figure VI.6(a)). Les sections numériques réalisées ont donné le résultat de la figure VI.6(b).

La valeur de la constante de Hamaker retenue pour l'objet est identique à celle de la surface et donc $H_0 = 2.10^{-19}J$. L'objet est alors imagé en pur non-contact, sans apparition d'épaulement. Il s'ensuit une dilatation apparente de la taille de l'objet qui n'est liée à aucun contact entre la pointe et la surface, mais seulement à l'interaction attractive³. Dans cette situation, la hauteur de l'objet est plus faible que celle qui serait obtenue en reportant le profil apparent de l'objet (évident sur la figure VI.6(b)). Cette simulation indique que la présence d'un objet, ou d'une marche, va conduire à un arrondissement et une dilatation de l'objet par rapport au contact intermittent et non pas aux épaulements observés. Des résultats similaires sur la contribution de l'interaction dispersive et de la géométrie des objets en surface avaient déjà été obtenus par C. Girard *et al.* [257].

L'analyse qualitative faite du caractère local de l'interaction indique :

- qu'elle est localisée au voisinage, et non sur l'objet lui-même où elle est plus faible (au moins pour ce qui est du pSP65).

³ Nous avons observé un effet similaire lors de précédentes expériences sur des chaînes d'ADN. Ces résultats n'ont pas été reportés.

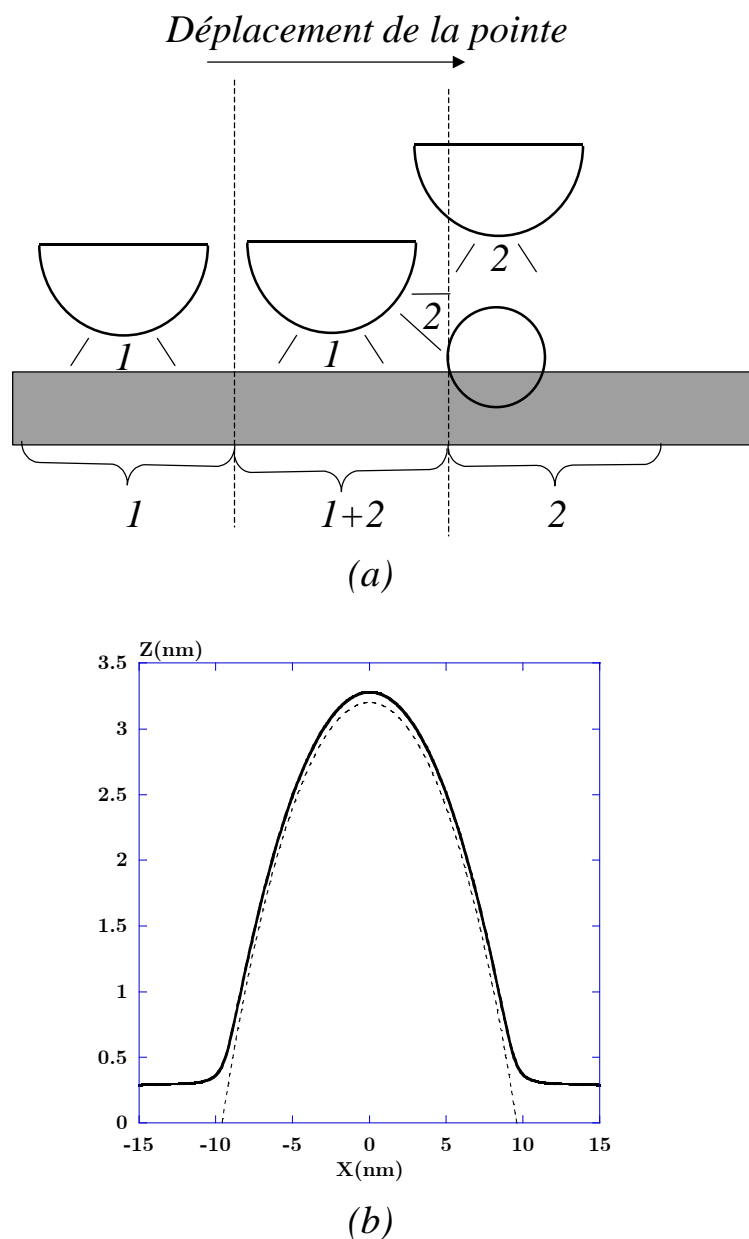


FIGURE VI.6: (a)- Loin de l'objet, la pointe n'est sensible qu'à l'interaction dispersive de la surface. Au voisinage de l'objet, l'interaction dispersive de l'objet n'est plus négligeable. Finalement, sur l'objet, la résultante de l'interaction est plus faible. Ainsi, les épaulements auraient pu être d'origine "géométrique". (b)- Simulation numérique d'une section en incluant une constante de Hamaker importante sur l'objet pour illustrer le schéma de pensée précédent. Les paramètres numériques sont ceux indiqués dans le texte. En particulier, la constante de Hamaker de l'objet est identique à celle de la surface, $H_0 = H = 2.10^{-19} \text{ J}$. La contribution dispersive n'est pas suffisante pour reproduire les épaulements observés expérimentalement.

- ▶ qu'elle est forte.
- ▶ qu'elle varie spatialement rapidement, la dépendance spatiale lente du potentiel dispersif n'étant pas suffisante pour rendre compte de ces observations.

Les résultats expérimentaux imposent ainsi que les caractéristiques de l'interaction remplissent deux contraintes : une loi de variation spatiale rapide et une intensité importante. C'est la raison pour laquelle nous avons retenu une interaction de type Debye entre une ligne de dipôles aléatoires et une sphère représentant la pointe.

Au-delà de la contribution du magnésium, une origine possible de la présence de dipôles est liée au substrat et à l'existence des charges NH_3^+ en surface (cf. figure VI.7). En outre, seules les espèces les plus proches de la chaîne sont susceptibles d'interagir avec elle pour former des dipôles permanents. Dans ce cadre, la localisation de la sur-illumination au voisinage de la chaîne apparaît assez naturelle, ce qui l'est moins en invoquant la seule contribution des ions Mg^{2+} . Afin de simplifier le calcul, nous supposons, qu'en moyenne, les dipôles formés sont d'orientation aléatoire.

L'interaction dispersive entre deux atomes ou celle de Debye entre un atome et un dipôle, varient en r^{-6} . La loi de puissance spatiale du potentiel n'est donc contrôlée que par la dimension sur laquelle le potentiel initial est intégré selon la géométrie envisagée (cf. chapitre I.4).

L'intégration du potentiel de Debye sur une ligne de dipôles et une sphère devait ainsi correspondre à une loi spatialement plus rapide que celle du dispersif entre deux volumes.

La sphère présente un rayon R et les dipôles, d'intensité p , sont agencés selon une ligne le long des côtés de l'objet avec une densité linéique λ . La chapitre I.4 a montré que le potentiel s'écrivait (relation I.4.14) :

$$V_{Debye}^{sph-ligne}(D) \stackrel{D \rightarrow 0}{\simeq} -\frac{\pi^2 \sqrt{R} \rho \lambda}{8\sqrt{2}} \times \frac{C_{Debye}}{D^{5/2}} = -\frac{C'_{Debye}}{D^{5/2}} \quad (\text{VI.4.2})$$

Le potentiel présente bien une loi de puissance en fonction de la distance plus importante que celle du potentiel dispersif en D^{-1} .

L'interaction totale entre la pointe et la surface, l'objet, la ligne de dipôles, devient la somme des deux contributions dispersives (pointe-surface, relation I.4.11 et pointe-objet, relation I.4.9) et de celle de Debye précédente. Soit :

$$V(D) = -\frac{H_{sub}R}{6D_{sub}} - \frac{H_{obj}R^*}{6D_{obj}} - \frac{C'_{Debye}}{D_{dip}^{5/2}}, \quad (\text{VI.4.3})$$

expression pour laquelle les indices sont référencés à chaque type d'interaction, supposant une définition spécifique des distances associées selon les conditions géométriques de la section (cf. annexes D et E).

Les premières simulations ont montré que la contribution de la ligne de dipôles conduisait bien à une augmentation de contraste à l'endroit où elle était placée (cf. figure VI.8). Cependant, si on ne considère pas de déformation de la surface sous l'action de la

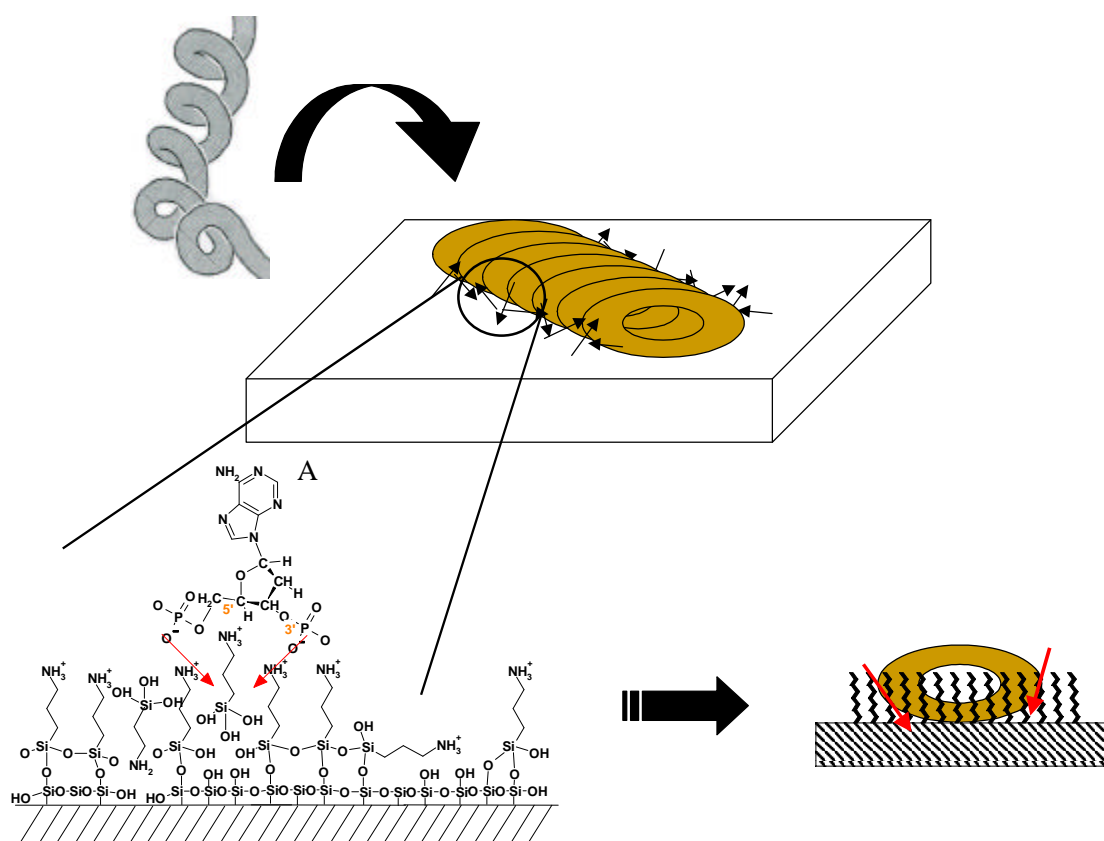


FIGURE VI.7: Origine envisagée de la forte interaction attractive entre la pointe et la surface. Des dipôles $\text{NH}_3^+ - \text{O}^-$ de la chaîne sucro-phosphate contraignent fortement la super-structure à la surface et la distordent. Les dipôles sont en moyenne d'orientation aléatoire, mais localisés au voisinage de la chaîne. Dans cette représentation, nous n'avons pas reporté la possible contribution des ions Mg^{2+} .

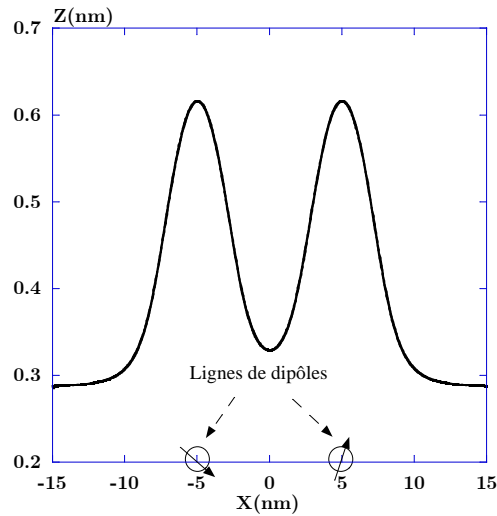


FIGURE VI.8: Section numérique présentant deux lignes de dipôles en $X = -5$ et 5nm . Chacune présente une densité linéique $\lambda = 10\text{nm}^{-1}$ de dipôles d'intensité $p = 50D$. Pour cette simulation, l'objet n'est pas reporté. Les autres paramètres numériques sont ceux qui sont indiqués dans le texte.

force attractive, il est nécessaire d'avoir recours à des valeurs élevées du moment dipolaire et de la densité linéique ($p = 50D$ avec une densité linéique de 10nm^{-1}) pour obtenir des hauteurs comparables à celles observées. Rappelons que plus l'intensité de l'interaction attractive est forte, plus la distance à laquelle l'oscillateur image la surface (pour un point de fonctionnement donné) est grande.

La figure VI.9 montre une simulation réalisée avec les mêmes lignes de dipôles et l'objet au centre. L'évolution de la hauteur et de la phase indique que c'est à présent l'adhésion qui gouverne le comportement de l'oscillateur sur l'objet. Bien que la pointe soit en contact intermittent avec l'objet, la phase est du type attractif avec une valeur proche de celle observée au-dessus des dipôles. Cette situation rappelle celle observée sur le pSP65 avec $A_0 = 9\text{nm}$.

Si ces simulations donnent une correspondance séduisante avec certaines des sections observées, elles ne contiennent pas tous les ingrédients nécessaires à la description de l'ADN sur la surface. Par exemple, le recours à une densité linéique anormalement grande avec une valeur de dipôle guère raisonnable suggère soit que la description de la contribution électrostatique par une interaction de type Debye est minimaliste, soit que nous avons omis un paramètre essentiel dans la description du comportement de l'objet et de son voisinage. Nous retiendrons la seconde hypothèse pour deux raisons :

- La première est que l'interaction entre la pointe et la surface en non-contact peut conduire à des forces de la fraction du nN , forces non négligeables, qui peuvent induire une déformation de la surface de l'ordre de l'angström. On peut dès lors introduire une raideur effective et un coefficient de frottement représentant la réponse mécanique de la surface. Dans ces conditions, il est possible de montrer qu'en introduisant une équation couplée décrivant cette réponse on peut augmenter la hauteur en non-contact. Cette hauteur dépendra de fait de la valeur de la raideur effective choisie et du temps

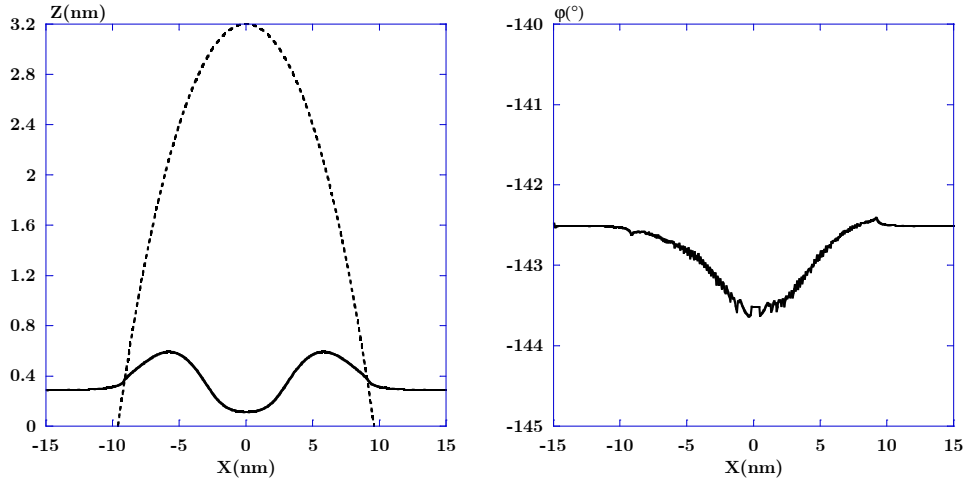


FIGURE VI.9: Section numérique en hauteur (gauche) et en phase (droite) de l'objet précédemment défini présentant deux lignes de dipôles ($\lambda = 10\text{nm}^{-1}$, $p = 50D$) sur ses bords ($X = -5$ et 5nm). Les paramètres numériques sont ceux indiqués dans le texte. La constante de Hamaker de l'objet au centre est $H_0 = 10^{-20}\text{J}$. Les résultats indiquent que le régime attractif est dominant (cf. courbe de phase), mais ces conditions ne sont pas suffisantes pour reproduire les épaulements observés sur les sections expérimentales. En outre, le régime répulsif ne peut pas être récupéré au centre de l'objet.

de relaxation caractéristique de la surface.

- La seconde raison, qui à notre avis est la plus probante, est que nous avons été incapables de reproduire correctement les sections avec épaulements. Elles correspondent pour la plupart des cas à des transitions entre une situation de non-contact et de contact intermittent. Cela signifie un saut entre la branche attractive et la branche répulsive et par voie de conséquence conduit à une instabilité. Les courbes d'approche-retrait que nous avons calculées montrent des transitions franches qui n'ont été que très rarement observées expérimentalement (cf. figures II.27 chapitre II). Le plus souvent, nous observons des "sauts" similaires à ceux montrés dans la figure V.3 (instabilité au voisinage du pSP65). La dissipation a tendance à lisser le comportement non-linéaire de l'oscillateur et par voie de conséquence les instabilités. Cela se voit sur l'évolution de la phase, en régime répulsif. La dissipation en contact intermittent et non-contact a tendance à rapprocher la phase de la valeur à -90° , alors qu'en non-contact elle a tendance à frustrer le saut de phase (cf. par exemple la figure II.20 du chapitre II). Le résultat est que la prise en compte de la dissipation rapproche les branches de contact intermittent et de non-contact. La situation décrivant la transition avec dissipation est délicate à décrire. Cela se retrouve également dans la modélisation des courbes d'approche-retrait qui sont, par construction, les résultats expérimentaux les plus faciles à modéliser. La modélisation de l'influence de la dissipation en pur non-contact et en contact intermittent reproduit bien les courbes correspondant à ces situations (Couturier *et al.* [84] et Aimé *et al.* [90]), mais dès lors que la courbe décrit une situation comportant une transition d'un régime à l'autre, l'approche proposée devient insuffisante.

Les données expérimentales dont nous disposons ne nous paraissent pas suffisamment précises pour tenter d'inclure ces effets de dissipation. La prise en compte de réponses mécaniques différenciées sur l'ADN et sur le substrat ajoute un degré de complexité supplémentaire que nous ne maîtrisons pas dans l'état actuel de notre compréhension des images observées.

VI.5 Perspectives

L'alternative retenue pour le dépôt des molécules d'ADN a donc été de fonctionnaliser des surfaces de silice avec des molécules de silanes.

Toutefois, concernant les APTES, une certaine hétérogénéité du substrat en régime attractif a pu être mise en évidence. Elle est consécutive à un mauvais auto-assemblage des molécules. Par ailleurs, la densité importante d'ions ammonium en surface peut également être à l'origine de l'existence des super-structures.

L'ensemble de ces résultats n'est pas très surprenant compte tenu de la taille des molécules (de l'ordre de $0,5\text{nm}$) et conduit à d'inévitables limitations pour les mesures par microscopie de force. Pour l'étude des conformations, une interaction entre substrat et molécule non maîtrisée peut conduire à des structures non souhaitées. Et pour les propriétés nanomécaniques, la proximité du substrat interdit, dans la plupart des cas, toute étude sur le seul double-brin.

Pour améliorer la qualité des substrats greffés, tant en termes d'homogénéité et de diversité du groupement fonctionnel susceptible de fixer l'ADN que de leurs propriétés mécaniques, nous avons réalisé une étude préliminaire en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Organique et Organométallique⁴ (LCOO) et l'équipe de B. Bennetau, dont F. Choplin [229], S. Navarre et Iyad Hassan.

Les chimistes du LCOO ont développé des protocoles de synthèse de composés pour la création de puces à ADN, leur objectif initial étant de pouvoir synthétiser de l'ADN sur un support solide. Leur hypothèse de départ pour la synthèse des composés a été identique à la nôtre : composé organosilicié trifonctionnel, mais avec une chaîne alkyle longue. Les molécules qu'ils ont su synthétiser ont conduit à de bons résultats pour l'hybridation des brins. Pour de plus amples détails sur les synthèses, greffage des molécules et techniques de caractérisation des couches, autres que la MFA, nous renvoyons à la thèse de F. Choplin [229].

La collaboration s'est développée autour de l'amélioration de la préparation des substrats greffés en vue d'obtenir des monocouches auto-assemblées planes et homogènes.

En effet, une couche mieux organisée que celles obtenues avec les APTES, présenterait une interaction avec la pointe plus homogène et constituerait une référence mieux adaptée. De plus, l'équipe de B. Bennetau sait fonctionnaliser ces composés avec des groupements divers. Cela permet d'envisager le dépôt des molécules d'ADN sur des substrats moins réactifs que les APTES ou au moins de diluer de façon contrôlée les fonctions amines.

⁴ Laboratoire de Chimie Organique et Organométallique, UMR5802, CNRS, Université Bordeaux I, 351 cours de la Libération, F-33405 Talence. (33).(0)5.56.84.62.82

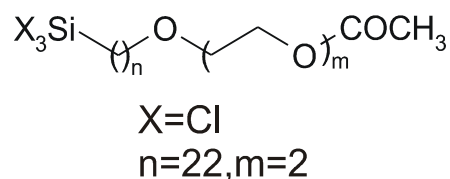


FIGURE VI.10: Molécules de silanes du LCOO envisagées pour le dépôt de l'ADN. Après greffage, le groupement COCH_3 est éliminé (étape dite de "déprotection") de sorte que la molécule expose le seul groupement éthylène-glycol.

La contribution du substrat à l'émergence de structures pourrait être ainsi évaluée. Enfin, dans l'hypothèse de la formation d'une couche de module faible sur une épaisseur suffisante, des mesures mécaniques spécifiques de la chaîne deviennent envisageables. L'effet du substrat serait, là encore, limité et la pointe ne testerait que la réponse de la chaîne. Ces expériences n'étaient pas envisageables sur des substrats durs d'APTES puisque, les réponses sont dominées par les propriétés du substrat sous-jacent.

La synthèse des molécules, puis leur greffage sur la silice sont décrites en détail dans la thèse de F. Choplin [229]. Les molécules qui ont finalement conduit aux meilleurs résultats, tant pour le greffage que pour la synthèse d'ADN *in situ*, sont les molécules correspondant à la formule générale de la figure VI.10 pour $n = 22$ et $m = 2$. Elles ont conduit à un brevet [258].

Les premières études en MFA sur de telles couches ont montré qu'elles présentaient une épaisseur de $3,5\text{nm}$ de haut, en bon accord avec la hauteur des molécules seules. Les expériences ont été réalisées avec des pointes fines⁵ ("ultrasharp" de NANOPROBES) pour tester la réponse mécanique de la couche. Les courbes d'approche-retrait sont sans équivoque (cf. figures VI.11 et VI.12).

Ces résultats préliminaires sont donc encourageants. La simulation numérique qui reproduit le mieux la courbe expérimentale donne un module de l'ordre de $2 \cdot 10^7 \text{N} \cdot \text{m}^{-2}$. Un des principaux objectifs est atteint : la couche présente un module faible et le dépôt d'ADN doit permettre de développer des études de propriétés mécaniques à l'échelle locale.

Toutefois, il est encore nécessaire de travailler sur la réduction de la densité d'agrégats qui peut se révéler importante sur certains échantillons. Cela nous a amené à reprendre ces analyses avec une molécule présentant une structure plus simple, le 22-trichlorosilanyl-docosane [259].

Un autre aspect potentiellement très intéressant est la capacité de préparer des substrats avec des molécules fonctionnelles diluées dans une couche greffée inerte. Cette option nous donnerait l'opportunité de réaliser des études en variant le nombre de points de collage de l'ADN.

Pour conclure tout à fait cette partie, nous revenons sur un aspect technique de la microscopie de force en mode dynamique.

⁵ Sur l'ensemble des pointes *ultrasharp* utilisées, il est certain qu'elles présentent des signatures caractéristiques de petits rayons par rapport aux pointes plus "usuelles".

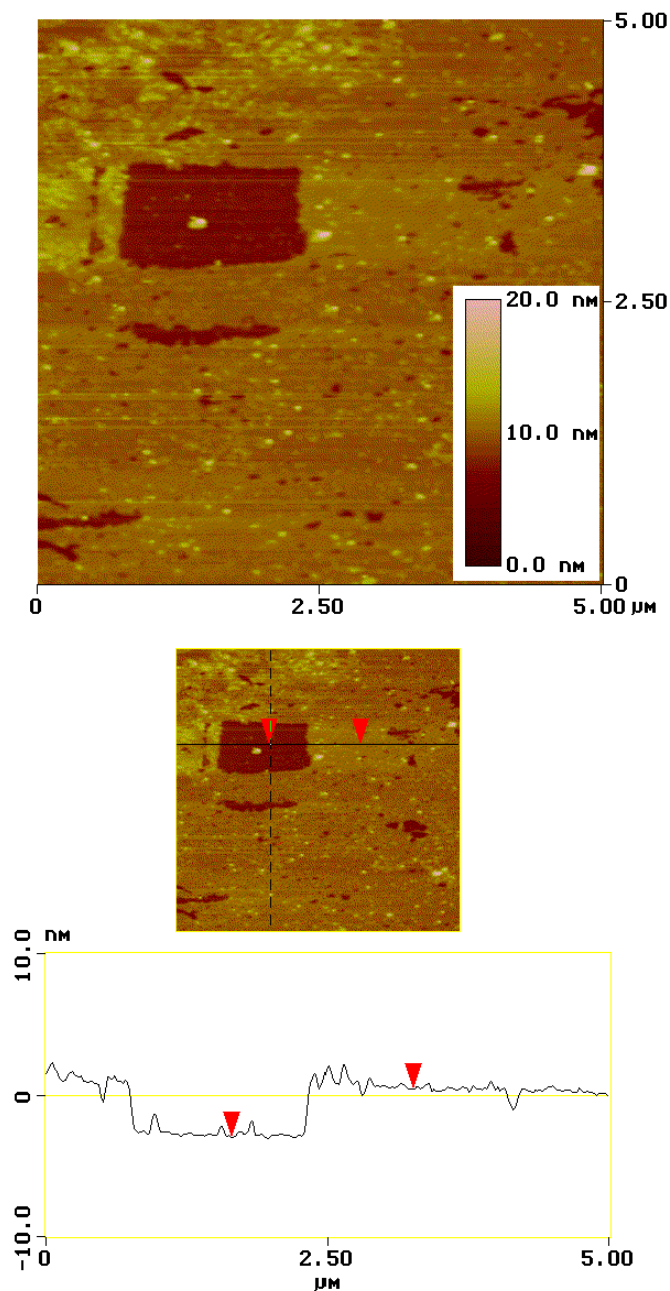


FIGURE VI.11: Image en hauteur (en haut) de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ d'un substrat greffé avec les molécules de silanes du LCOO. Le contraste vertical est de 20 nm. Les conditions expérimentales sont : $A_0 = 34 \text{ nm}$, assurant un régime répulsif dominant (cf. courbe d'approche-retrait de la figure VI.12), $\nu_0 = 184,981 \text{ kHz}$, $u = 0,9986$, $Q = 370$. Les conditions d'oscillations libres associées sont : $a_l = 0,706$ ($A_l = 24 \text{ mn}$) et $\varphi_l = -44^\circ$. L'amplitude de travail pour imager la zone est $a_{tr} = 0,647$ ($A_{tr} = 22 \text{ nm}$). La zone présente une région de silice non greffée de forme quasi-rectangulaire. Elle permet de donner une référence pour évaluer l'épaisseur de la couche. On mesure $\xi \simeq 3,5 \text{ nm}$, en bon accord avec la hauteur des molécules seules.

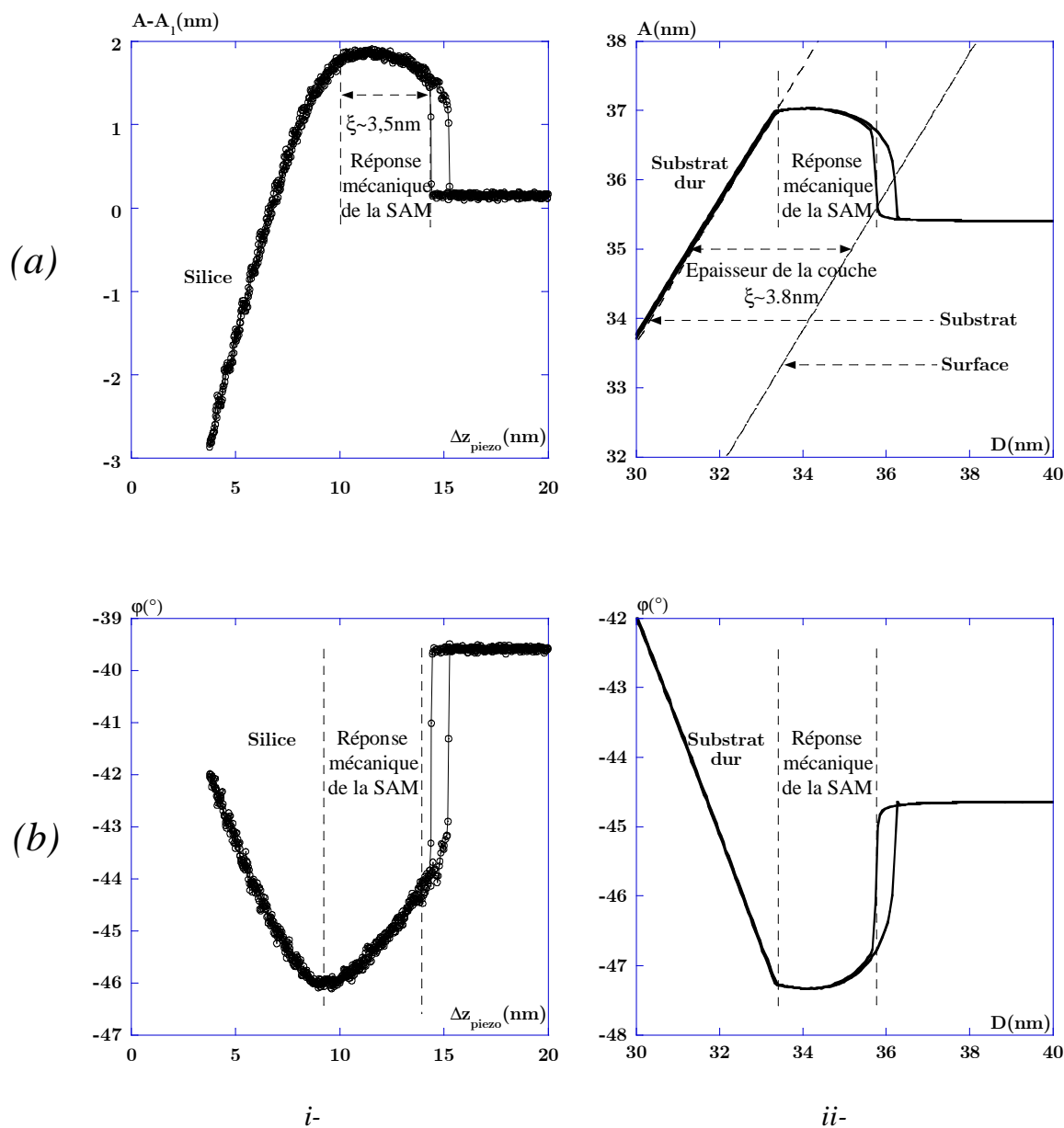


FIGURE VI.12: Comparaison entre une courbe d'approche-retrait expérimentale (i) et numérique (ii) en amplitude (a) et en phase (b). La courbe expérimentale a été obtenue sur une monocouche auto-assemblée de silanes de l'ordre de 3,5nm d'épaisseur. Les conditions expérimentales sont précisées dans la figure VI.11. Cette évaluation est en bon accord avec la hauteur attendue des molécules de silanes seules. L'utilisation d'une pointe "ultrasharp" (cf. texte) permet de donner accès à la réponse mécanique de la couche. La courbe numérique simule une couche de hauteur 3,8nm de faible module, nous avons retenu dans ce cas $E_{SAM} = 20\text{MPa}$, sur un substrat dur, $E_{sub} = 100\text{GPa}$ (pour les autres paramètres numériques de la simulation cf. figure E.3 de l'annexe E).

Il est à présent possible de réaliser au sein de l'équipe des expériences croisées en mode Tapping et NC-AFM résonnant. La confrontation de mesures réalisées par ces deux méthodes doit permettre d'améliorer l'étude proposée dans ce mémoire.

Pour les semi-conducteurs, le NC-AFM a prouvé expérimentalement qu'il était à même de révéler un contraste à l'échelle de l'angström. La description du comportement de l'oscillateur donné dans le chapitre II permet, à notre avis, d'identifier la raison de cette grande sensibilité. Cependant il n'est pas évident que la transposition à l'étude de matériaux dont la réponse mécanique peut être complexe soit immédiate.

Par exemple, dans le cas du contraste en hauteur et dans certaines situations, l'approche en Tapping peut se révéler mieux adaptée par sa capacité à jouer à la fois sur le non-contact et le contact intermittent. Dans le cas du NC-AFM, la pointe survole toujours la surface et l'objet, ce qui conduit à une variation de hauteur résultant à la fois des variations d'interaction pointe-surface, de la topographie et des propriétés mécaniques. Les mesures en hauteur peuvent ainsi devenir le résultat d'une combinaison de facteurs difficiles à évaluer et conduisant à la dilatation de l'objet.

Par contre, les mesures mécaniques, via l'étude de l'évolution de la dissipation du levier au voisinage de la surface, peuvent être à même de produire des informations précises sur les chaînes. Des mesures récentes réalisées dans l'équipe sur des copolymères montrent que la mesure de l'évolution de la dissipation de l'oscillateur en fonction des propriétés mécaniques de la surface permet de détecter jusqu'à 10^{-20} Joule. De même, nous avons montré pour le Tapping que la pente du contact intermittent était contrôlée par le produit $Q\kappa_s$. Cela conduirait, pour des mesures réalisées dans un vide intermédiaire, conduisant par exemple à un facteur de qualité de 10000, à une pente du contact intermittent de l'ordre de 12% contre les 1,6% calculés précédemment.

Cette sensibilité permet d'espérer accéder à des détails de la structure et aux propriétés mécaniques de la chaîne avec un meilleur contrôle de la force exercée par la pointe.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objet de ce travail concernait l'étude de diverses séquences d'ADN en microscopie de force dynamique. Nous avons mis en évidence la possibilité d'imager une seule chaîne selon différents modes d'interaction : pur attractif, pur répulsif et un mélange de deux, permettant ainsi d'accéder à des informations complémentaires sur cet objet. Ce travail était également motivé par la perspective de faire une mesure mécanique sur une chaîne seule.

Concernant la dynamique de l'oscillateur, les deux premiers chapitres ont montré quel parti on pouvait tirer des régimes, attractif et répulsif, en variant l'amplitude des oscillations selon le facteur de qualité de l'oscillateur. Trois situations ont été envisagées : une interaction purement attractive entre la pointe et la surface, une interaction purement répulsive, et un mélange des deux. Les solutions analytiques du modèle donnent les variations de l'amplitude ou de la fréquence et de la phase de l'oscillateur en fonction de la distance. Les évolutions théoriques présentées sont en bon accord avec les variations observées expérimentalement et permettent de les reproduire. Une analyse plus quantitative des données est ainsi possible.

Concernant les molécules d'ADN, l'objectif premier consistait à les déposer et les étaler sur un substrat. Notre orientation a été d'opter pour une préparation spécifique des substrats en silanisant des surfaces de silice. Les échantillons retenus sont des silices silanisées avec des aminopropyltriéthoxysilanes. Nous avons jugé ces conditions de dépôt comme étant les plus simples vis-à-vis du contrôle et de la description de l'interaction entre la pointe et la surface. Par ailleurs, concernant les conditions ioniques du dépôt, divers éléments bibliographiques nous ont amené à ajouter du magnésium à la solution.

Le choix initial des différents échantillons était fondé sur leurs successions de séquences très différentes, dont on a révélé des différences de comportements. Les résultats obtenus sur le pSP65 montrent une distribution des conformations des chaînes, dont certaines présentent des sur-structures jusqu'à des structures tertiaires de type plectonème et solénoïde. Ces éléments indiquent que les chaînes sont fermement adsorbées sur le substrat. L'exploitation du régime attractif a révélé une augmentation de l'intensité de l'interaction attractive localisée sur les bords de la chaîne. L'observation qualitativement similaire, mais quantitativement plus marquée sur le poly(dA)·poly(dT) nous a amené à impliquer le magnésium de la solution dans l'apparition des super-structures. Il a en

effet été montré qu'il était susceptible de se fixer préférentiellement sur les paires de bases A-T, dont il est par ailleurs connu qu'elles sont à l'origine des plus grandes courbures sur les chaînes. Il est donc vraisemblable qu'elles favorisent l'apparition des super-structures. Notre interprétation est confortée par l'observation de la dénaturation du [poly(dA-dT)]₂, dont il est prévu qu'il soit énergétiquement moins stable. La contribution du substrat d'aminosilanes à ces observations n'est cependant pas à écarter. Une densité surfacique importante de charges par rapport à celles de la chaîne a en effet été mise en évidence.

Pour une analyse plus quantitative des données, les observations nous conduisent à inclure dans l'interaction entre la pointe et la surface une contribution supplémentaire due à des moments dipolaires permanents. La présence de ces dipôles s'explique par la formation de complexes entre les ions Mg^{2+} et NH_3^+ et les groupements phosphate de la chaîne. En introduisant des lignes de dipôles d'orientation aléatoire le long de la chaîne, nos simulations sont à même, au moins qualitativement, de reproduire certaines de nos observations. Toutefois la seule introduction de la contribution de Debye n'est pas suffisante. Il s'avère nécessaire d'introduire la réponse mécanique de la chaîne pour tenter de reproduire les hauteurs des super-structures observées. Cette conclusion est une conséquence directe de nos mesures de courbes d'approche-retrait expérimentales montrant que sur la super-structure, la pointe peut s'indenter de plus de 2 nanomètres. Finalement, reproduire exactement la section observée avec les épaulements localisés au voisinage de la chaîne s'avère particulièrement délicat. Il semble que diverses contributions, dont on peut rendre compte numériquement parfois en ajustant soigneusement les paramètres, soient à l'origine des observations. Les forces d'adhésion et les processus de dissipation, que se soit en non-contact, ou en contact intermittent, ont vraisemblablement une influence non négligeable sur la formation du contraste des images obtenues dans ces conditions. Nous n'avons à ce jour pas davantage d'éléments pour une description plus détaillée de ces observations.

Les perspectives de ce travail sont un meilleur contrôle de la qualité du substrat en créant des couches de faible module et peu, mais suffisamment, réactives en vue de déposer et d'étaler la chaîne sans la contraindre. Dans ce cadre, des expériences croisées de Tapping et de NC-AFM dans des conditions de vide intermédiaire apparaissent comme des alternatives particulièrement intéressantes pour tester la réponse mécanique du duplex seul. En jouant sur les conditions ioniques du dépôt, on peut espérer le déposer sans induire de super-enroulement et ainsi réaliser des mesures plus locales des interactions.

Annexes

Annexe A

Instrumentation

Annexe A

Instrumentation

L'objet de cette annexe est de détailler certains des éléments relatifs au microscope. D'autres éléments sur la façon pratique dont sont réalisées les expériences sont aussi précisés.

L'exploitation expérimentale du microscope suppose de s'assurer qu'à chaque instant la mesure faite est proportionnelle à ce que la pointe mesure localement sur la surface. La linéarité de la réponse des différents étages du microscope est donc l'élément clef à vérifier et contrôler.

L'annexe s'articule autour de trois points, détaillés en 6 paragraphes.

Le premier (les quatre premiers paragraphes) concerne le système pointe-levier et la mécanique de la poutre encastree.

Le deuxième concerne le système de détection optique constitué de quatre photodiodes.

Le troisième traite des céramiques piézoélectriques qui assurent le déplacement de l'échantillon dans les trois directions de l'espace.

A.1 Le système pointe-levier

Le faisceau émis par la diode laser hélium-néon est centré à l'aide d'un dispositif de déplacement micrométrique (non représenté sur la figure I.1) sur l'extrémité libre d'un levier enchassé à sa base dans un support fixe.

Les leviers sont en silicium, pour ceux utilisés en dynamique, ou en nitrure de silicium (Si_3N_4), pour ceux utilisés en statique. Dès 1987, les techniques de micro-usinage du silicium ont permis de réaliser des microleviers en série de bonne reproductibilité [9, 260, 261].

Ces microleviers présentent deux grands types de géométries selon le fonctionnement utilisé : une géométrie triangulaire ou rectangulaire pour les leviers de statique, et exclusivement rectangulaire pour les leviers de dynamique.

Fonctionnement	Géométrie	Dimensions caractéristiques $L \times l \times h(\mu m^3)$	Raideur normale	Fréquence de résonance
Statique	Rectangulaire	450 × 30 × 15	0,006 – 0,6N.m ⁻¹	12 – 40kHz
	ou Triangulaire	200 × 40 × 3		
Dynamique	Rectangulaire	125 × 30 × 4	≈ 40N.m ⁻¹	≈ 150kHz

TABLEAU A.1: Principaux types de leviers utilisés en MFA ainsi que leurs caractéristiques.

Le tableau A.1 reprend leurs principales caractéristiques. Les dimensions qui y sont indiquées sont celles des grandeurs relatives à la figure A.1. Les valeurs des raideurs normales nominales sont données par NANOPROBES¹ [262].

Les leviers de contact sont traités sur leur partie supérieure avec une couche réfléchissante, généralement de l'or, afin d'optimiser la réflexion du spot laser. L'incertitude sur l'épaisseur du dépôt induit des distributions d'épaisseurs des leviers et donc des distributions de raideurs. Plusieurs méthodes expérimentales ont été développées en vue de déterminer de façon plus précise les valeurs de raideurs normales de ces leviers [6].

A l'extrémité libre du levier est présente une pointe obtenue, soit par croissance électrochimique, soit au moment de la préparation du microlevier [9]. Sa hauteur peut varier de quelques microns à une dizaine de microns et son rayon d'apex de quelques nanomètres, pour les plus fines, à plusieurs dizaines de nanomètres. Les pointes sont également en silicium (dynamique) ou nitrure de silicium (statique).

Les pointes utilisées en contact présentent généralement des rayons de courbure plus importants et des géométries différentes de celles du mode dynamique. Elles sont pyramidales pour les leviers de contact et coniques pour les leviers utilisés en mode dynamique.

Avec l'évolution grandissante des applications de la MFA, les constructeurs ont été obligés d'adapter leurs lots de pointes, tant en termes de spécificités, qu'en termes de qualité. Il est ainsi possible de trouver aujourd'hui des pointes développées particulièrement pour le Tapping ou le NC-AFM très fines (*UltraSharp* de LOT ORIEL par exemple). D'autres sont prétraitées [10].

A.2 Mécanique de la poutre encastrée

Le système mécanique pointe-levier ainsi constitué peut être décrit dans le cadre de la mécanique de la poutre encastrée [60].

Les différentes raideurs pour les deux géométries de leviers rencontrées (triangle évidé au centre et poutre de section rectangulaire) sont données. Ces géométries sont schématisées sur la figure A.1.

¹ Les dimensions données pour les leviers de géométrie triangulaire sont celles des leviers de type k_2 .

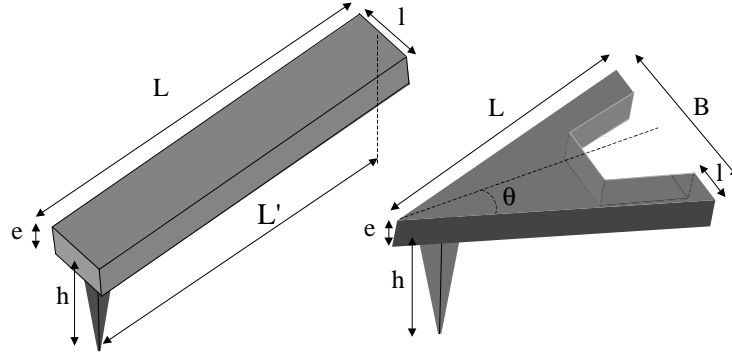


FIGURE A.1: Représentations schématiques d'un levier de section rectangulaire et d'un levier triangulaire évidé.

Nous nous proposons de détailler l'expression des constantes de raideur relatives à des rotations des leviers résultantes de l'application de forces purement normales ou tangentielles. Nous restreindrons cette présentation aux seuls leviers de géométrie rectangulaire.

Les rotations considérées sont des déflexions ou des torsions. Le point d'application des forces est situé à l'extrémité de la pointe en contact avec la surface. Deux déflexions sont considérées selon la direction de la force appliquée (\vec{F}_x, \vec{F}_z) et une torsion (\vec{F}_y) . La figure A.2 schématise ces trois situations dans le cas d'un levier de section rectangulaire.

La tableau A.2 donne les expressions des différentes raideurs pour les trois rotations élémentaires envisagées².

Les relations entre les différentes raideurs pour ce type de géométrie peuvent ainsi être déduites :

$$k_y = \frac{L}{h(1+\sigma)} k_x = \frac{2}{3(1+\sigma)} \left(\frac{L}{h}\right)^2 k_z \quad (\text{A.2.1})$$

La dépendance en $2L/(3h)$ entre la raideur normale et longitudinale suppose qu'il existe un facteur 20 entre elles pour les leviers du mode dynamique et 40 pour les leviers du mode statique.

Les raideurs normales élevées des leviers du mode dynamique (cf. tableau A.1) autorisent de négliger les déflexions longitudinales du levier liées à des composantes tangentielles de forces. Ainsi les forces appliquées en bout de pointe dans le cas du mode dynamique sont considérées comme de pures compositions verticales. Notons encore que cette remarque est *a fortiori* vraie dans le cas de la raideur en torsion en raison de la dépendance quadratique en L/h .

² Le levier fait en fait un angle de l'ordre de 12° par rapport au plan de la surface de façon à s'assurer que seule la pointe est au contact. Cette inclinaison introduit une dépendance angulaire non triviale dans l'expression des raideurs normales et longitudinales [263, 264].

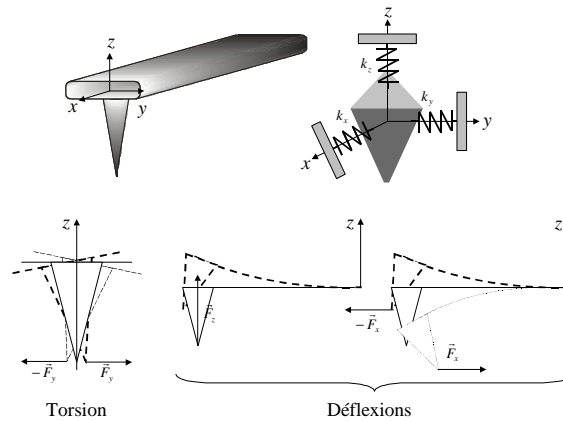


FIGURE A.2: Les rotations du levier sont des déflexions ou des torsions selon l'application de la force.

Cet argument est renforcé par le faible temps de contact de la pointe sur la surface lors d'une période d'oscillation, dont on a vu qu'il était une fraction de la période d'oscillation de la pointe, typiquement 10%. Sur cet intervalle de temps, la contribution des composantes longitudinales est donc faible. De fait, l'objectif premier du mode dynamique était bien, par opposition au mode statique, de limiter l'apparition des forces de cisaillement à l'interface entre la pointe et la surface de l'échantillon, forces susceptibles d'endommager les matériaux les plus mous.

A.3 Méthodes d'évaluation du rayon de la pointe

La mesure des rayons de pointes et l'évaluation du caractère sphérique de l'apex est une étape importante pour la quantification des données expérimentales selon les situations : études tribologiques, propriétés mécaniques, contact intermittent et même en non-contact pour l'évaluation de l'intensité de l'interaction attractive³. Des études ont en effet montré que certaines pointes peuvent par exemple présenter un double sommet [265]. Nous précisons ici quelques résultats classiques de l'imagerie en mode contact d'une surface par une pointe de dimension finie sans entrer dans les détails de la contribution, soit des effets de la dynamique non-linéaire en Tapping, soit de la contribution de la réponse mécanique de l'échantillon.

La déformation de la taille apparente de la topographie de la surface par la pointe en mode contact est un problème bien connu des microscopistes. La taille finie de la pointe, pour si petite qu'elle soit, conduit à une dilatation de la surface. Ainsi, une image "topographique" doit être considérée comme une représentation de la surface déformée par la géométrie de la pointe [266].

L'idéal pour imager serait d'envisager une pointe infiniment fine devant toutes les dimensions caractéristiques des objets présents sur la surface à analyser ou devant sa

³ avec la dépendance explicite en R du potentiel d'interaction sphère-plan.

Force	Type	Résultante	Constante de raideur
\vec{F}_z	Normale	Déflexion	Normale : $k_z = \frac{ELe^3}{4L^3}$
\vec{F}_x	Tangentielle	Déflexion	Longitudinale : $k_x = \frac{ELe^3}{6hL^2}$
\vec{F}_y	Tangentielle	Torsion	Torsion : $k_y = \frac{ELe^3}{6(1+\sigma)hL^2}$

TABLEAU A.2: Expressions des constantes de raideurs des leviers de géométrie rectangulaire pour les trois rotations envisagées.

topographie (cf. figure A.3). De façon générale, l'objet le plus fin (qui n'est donc pas forcément la pointe) image le plus gros.

L'extraction de la géométrie de la pointe à partir de l'analyse de la topographie d'images de MFA a été obtenue par plusieurs équipes [267–271]. Une méthode consiste à balayer selon différents axes une surface sur laquelle sont déposés des objets de taille et de géométrie connues (sphères de latex, réseaux, ...). La mesure du profil des objets permet de remonter à une évaluation de la taille et de la forme de la pointe [5, 256] dans le cadre d'une modélisation du profil de contact entre objets. Par ailleurs, de nombreuses méthodes de caractérisation de la pointe *in situ* ont été présentées dans la littérature.

Citons également la *méthode des maxima*, extension numérique de la méthode de calcul analytique du profil de contact, qui permet à partir d'une analyse numérique de reconstruire la géométrie de la pointe [6].

Une autre technique consiste à utiliser un microscope électronique pour déterminer la géométrie de la pointe [272]. Cette technique est toutefois lourde à mettre en place.

A.4 Système de détection quatre-quadrants

Le faisceau laser est réfléchi par l'extrémité supérieure du levier vers un miroir qui le redirige vers le système de détection constitué de quatre photodiodes (cf. figure A.4). La tension électrique délivrée par les photodiodes est alors théoriquement proportionnelle à la surface des photodiodes éclairée.

L'intérêt de ce système de détection est la possibilité qu'il offre de mesurer, en plus de ses déflexions verticales – donnant accès à la mesures de forces normales et longitudinales –, les torsions du levier qui, elles, donnent accès à la mesure des forces latérales.

Le Microscope à Force Latérale a été développé par Mate *et al.* [273] qui permet de mesurer, en plus des composantes normales des forces, la force latérale appliquée sur la pointe au cours du balayage. L'avantage de ce signal est qu'il autorise un sens de balayage supplémentaire pour évaluer une éventuelle asymétrie de pointe.

Les déflexions sont converties en volts, puis en nanomètres à partir d'une calibration basée sur la mesure des déplacements verticaux de la céramique piézoélectrique. L'amplitude des oscillations en Tapping est également calibrée ainsi (cf. paragraphe II.1.b-ii).

L'hypothèse sous-jacente de cette discussion est de considérer des déflexions du levier qui soient de pures compositions verticales ou horizontales. Si les photodiodes ne sont

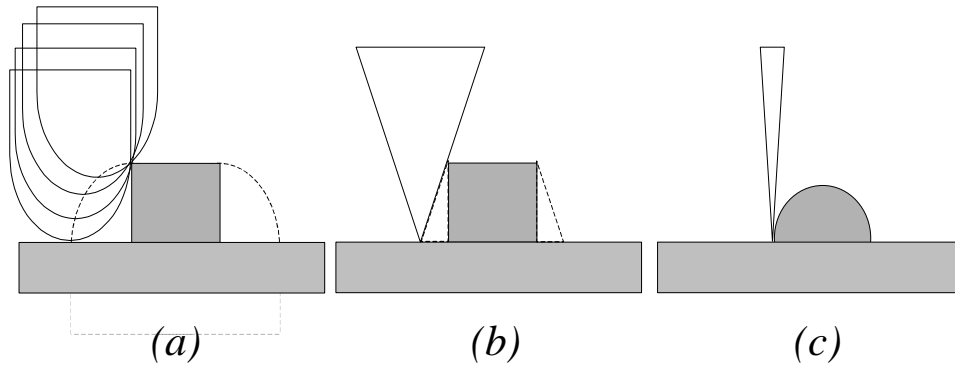


FIGURE A.3: (a)- Effet de dilatation apparente de la topographie de la surface par une pointe AFM. (b)- L'effet dépend fortement de la géométrie de la pointe. (c)- Une pointe infiniment fine imagerait la "vraie" topographie de la surface.

pas alignées selon ces axes de déplacements, il est introduit dans la composante "A-B" ("C-D") du signal de déflexion (torsion) une composante "C-D" ("A-B") qui va altérer la mesure (cf. figure A.5).

Sur le NANOSCOPE III dont nous disposons, un angle de 2° a été mesuré. Cela correspond à une erreur inférieure à 4% si on néglige la part de "C-D" ("A-B") dans la déflexion (torsion) [14].

Un problème plus délicat concerne la plage d'utilisation des photodiodes. La détection du système quatre-quadrants se fait sur 20 volts, $\pm 10V$ autour de la position centrale, mais il a été montré que le domaine de réponse linéaire est limité à l'intervalle $\pm 3V$ [14].

Ce domaine réduit de variations peut-être relié à la distribution de l'intensité du faisceau qui frappe les photodiodes. Le profil gaussien de l'intensité du faisceau suppose que, tant que la majeure partie du faisceau frappe à la fois les zones A et B des photodiodes, la décroissance de l'intensité du faisceau sur les bords n'affecte pas la détection. Cela n'est plus vrai si la tache est majoritairement décalée sur une zone ou l'autre sur laquelle l'intégration complète de la tache va se faire en introduisant un profil d'intensité non-linéaire du faisceau.

En conséquence, avant toute expérience, le faisceau est centré à l'extrémité libre du levier selon son axe de symétrie axiale et les signaux "A-B" et "C-D" centrés à 0 volt. Pour toutes les expériences, les déflexions du levier sont contrôlées de façon à ce qu'elles restent dans le domaine de réponse linéaire du système de détection. En Tapping, cette contrainte suppose des amplitudes d'oscillations qui ne soient pas trop importantes, typiquement inférieures à $100nm$.

A.5 Les céramiques piézoélectriques

L'échantillon est déplacé grâce à une céramique piézoélectrique. Les matériaux piézoélectriques, par l'ordre de grandeur des déplacements qu'ils peuvent induire (de la

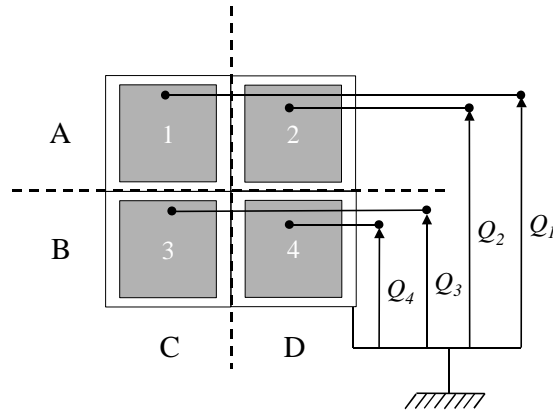


FIGURE A.4: Schéma du système de détection quatre-quadrants. Q_1, Q_2, Q_3, Q_4 sont les tensions délivrées par les photodiodes. Les signaux “A-B” et “C-D” sont définis respectivement par $(Q_1 + Q_2) - (Q_3 + Q_4)$ et $(Q_1 + Q_3) - (Q_2 + Q_4)$.

fraction d’angström à plusieurs dizaines de microns), sont tout à fait adaptés à la MFA et ont fait l’objet de nombreuses études pour leur application aux microscopies de champ proche depuis 1986.

Les tubes piézoélectriques présentent généralement cinq électrodes, dont quatre en vis-à-vis (cf. figure A.6). Le tube, correctement polarisé, assure les déplacements latéraux dans le plan (x, y) et le contrôle de la distance pointe-surface z .

L’intérêt supplémentaire de ces tubes est que leur géométrie permet de ne pas amplifier les bruits puisque ils présentent des fréquences de résonances mécaniques élevées ($\nu_{transversale} \simeq 10kHz, \nu_{longitudinale} \simeq 50kHz$) [274].

A.5.a Déplacements dans le plan (x, y)

Les tensions $+V_x/2$ et $-V_x/2$ ($+V_y/2, -V_y/2$) appliquées sur les deux électrodes opposées provoquent une flexion du tube et permettent un déplacement latéral dans le sens x (y) de l’échantillon. La combinaison de tensions V_x et V_y appliquées périodiquement assurent un déplacement de l’échantillon dans le plan (x, y) .

L’amplitude des déplacements est variable selon les caractéristiques du tube (intensité de l’effet piézoélectrique dans le matériau et géométrie du tube) mais est limitée par la tension de claquage électrique de la céramique.

Avec les céramiques utilisées sur le NANOSCOPE III, cette gamme de tensions varie de $-220V$ à $+220V$ en x, y, z .

Dans la limite des faibles tensions appliquées, les déplacements sont proportionnels à celles-ci. Pour un tube homogène pour lequel le cisaillement est négligé et à température constante [274], les déplacements peuvent s’écrire :

$$x = S_x V_x \quad y = S_y V_y \quad (\text{A.5.1})$$

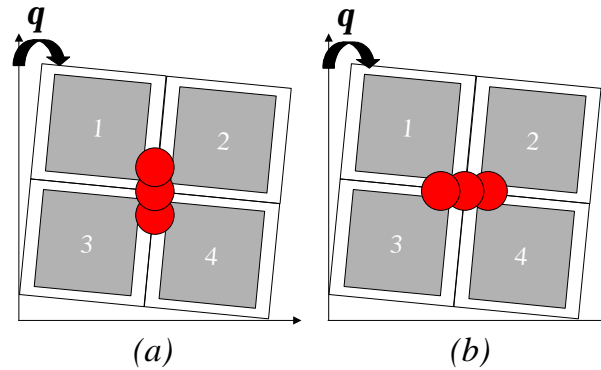


FIGURE A.5: Un angle de rotation des photodiodes par rapport aux axes de déflexions du levier va introduire (a) une composante résiduelle “C-D” au signal “A-B” et (b) une composante “A-B” au “C-D”. En première approximation, la composante résiduelle varie comme le sinus de l’angle θ .

Les expressions des sensibilités S_x et S_y peuvent être établies à partir des travaux de J. et P. Curie [275] sur la dilatation piézoélectrique en régime d’élasticité linéaire, soit en résolvant algébriquement les équations [276], soit à partir de méthodes d’intégration numérique [277]. La validité de ces relations pour les tubes piézoélectriques a été vérifiée expérimentalement par J. Chen [278].

Pour les plus grandes amplitudes de déplacement, la céramique présente une réponse non-linéaire à la tension appliquée. Afin de contrôler tout à fait ces déplacements, il est nécessaire de pratiquer des expériences sur des échantillons calibrés en vue d’évaluer la non-linéarité de la relation *tension appliquée – déplacement* de la céramique.

Les corrections des effets non-linéaires sont évaluées à partir de réseaux (x, y) calibrés. Les paramètres de calibration des céramiques sont programmés dans le logiciel de contrôle du microscope ce qui assure des déplacements corrigés de ces composantes non-linéaires.

Nous disposons au laboratoire de quatre céramiques piézoélectriques assurant des déplacements dans une gamme de $0,9 \times 0,9 \mu\text{m}^2$ à $130 \times 130 \mu\text{m}^2$. Leurs caractéristiques de déplacements nominales sont données dans le tableau A.3.

Nom de la céramique	$X \times Y (\mu\text{m}^2)$	$Z (\mu\text{m})$
A	$0,9 \times 0,9$	$\pm 0,33$
D	14×14	$\pm 1,65$
E	$15,4 \times 15,4$	$\pm 1,85$
J	130×130	$\pm 2,75$

TABLEAU A.3: Caractéristiques de déplacements des différentes céramiques piézoélectriques.

A.5.b Déplacements verticaux

La tension V_z appliquée sur l’électrode intérieure assure l’allongement du tube et modifie la distance pointe-échantillon. De façon similaire aux relations A.5.1, la relation *tension appliquée – déplacement* peut s’écrire :

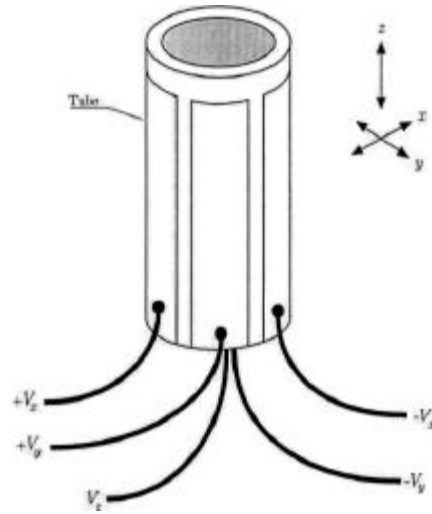


FIGURE A.6: Tube piézoélectrique segmenté.

$$z = S_z V_z, \quad (\text{A.5.2})$$

Pour les déplacements verticaux, lors de la formation d'une image, si la boucle d'asservissement est fermée ou lors des courbes d'approche-retrait, l'évaluation de la relation *tension appliquée – déplacement* peut être effectuée en utilisant les courbes d'approche-retrait en mode contact [5, 14]. En outre, la façon dont est polarisé le tube va induire un comportement hystérétique de la céramique. L'application de la tension avec une polarité positive ou négative ne conduira plus au même déplacement vertical du tube. Il a par exemple été montré que sur une plage de 150V de tension verticale, la céramique utilisée présentait un écart de l'ordre de 7.10^{-5} à la réponse linéaire et que cet écart dépendait de la polarisation de la tension appliquée à la céramique [14] :

$$z_{ext}(V_z) \propto 0,996V_z + 8,2.10^{-5}V_z^2 \quad (\text{A.5.3})$$

$$z_{ret}(V_z) \propto 0,999V_z - 7,0.10^{-5}V_z^2 \quad (\text{A.5.4})$$

où les indices “*ext*” et “*ret*” correspondent respectivement à une tension verticale positive et négative appliquée supposant une extension ou une rétraction de la céramique.

Chacune des céramiques dont nous disposons a ainsi été calibrée. Les paramètres de non-linéarité sont également stockés dans les fichiers de paramètres du logiciel qui imprime les déplacements à la céramique de sorte que les déplacements mesurés, dans la gamme de linéarité des photodiodes évoquée ci-dessus, soient des déplacements vrais, corrigés de toute réponse non-linéaire.

Pour limiter davantage encore ces effets, la céramique est toujours utilisée dans une gamme de tensions appliquées qui varie autour de 0 volt, typiquement entre $-10V$ et $+10V$ à l'échelle de la dynamique totale de 440V, les termes quadratiques des expressions précédentes étant alors tout à fait négligeables. C'est particulièrement vrai pour le mode

dynamique qui requiert, lors des courbes d'approche-retrait, des déplacements verticaux de la céramique beaucoup plus faibles que ceux utilisés en mode contact (cf. paragraphe I.3.a).

► *Remarques :*

- La fréquence d'application des tensions à la céramique est un autre paramètre expérimental dont il faut tenir compte. Aux plus grandes fréquences (10Hz, *i.e.* 10 cycles d'approche et de retrait par seconde), *a fortiori* si la tension est importante mais cela est observable dès les plus faibles tensions, la céramique présente également un comportement hystérétique dont l'intensité dépend de la fréquence de sollicitation. Une fois encore, la gamme de fréquences appliquées restera dans une zone où la céramique présente un comportement linéaire sans altération de ce comportement.
- Le dernier élément à souligner pour cette partie sur les céramiques piézoélectriques est la dérive mécanique qui a pu être observée. Pour les déplacements dans le plan (x, y) , à l'échelle du temps de formation d'une image (de l'ordre de 17 minutes pour une image de 512 lignes balayées à la vitesse de $0,5\mu m.s^{-1}$ en Tapping et dans des conditions de pression atmosphérique), cette dérive est un facteur expérimental limitant notamment lorsqu'on couple des mesures sur les images aux mesures de courbes d'approche-retrait. Pour les déplacements verticaux lors des courbes d'approche-retrait, l'asservissement étant coupé, la dérive peut devenir plus critique encore si la céramique se déplace vers la pointe. Pour limiter ces effets qui peuvent s'avérer critiques pour les expériences, le microscope est allumé la veille de l'expérience et la céramique est sous tension. Il est alors possible de la faire balayer dans le plan ou en vertical sans que la pointe soit engagée sur la surface. La dérive est ainsi limitée au début de l'expérience.

Annexe B

Le mode dynamique

Annexe B

Le mode dynamique

Cette annexe est complémentaire à la précédente, mais présente quelques spécificités expérimentales du mode Tapping qui ont été évaluées avant d'entreprendre les expériences. Il s'agit essentiellement de discuter de la contribution supplémentaire à l'instrumentation de l'excitation du système pointe-levier.

B.1 Linéarité de la réponse du piézoélectrique excitateur

L'introduction de l'élément supplémentaire qu'est le piézoélectrique excitant le levier dans l'instrumentation suppose de vérifier la linéarité de la réponse du levier oscillant à l'excitation fournie.

La figure B.1 présente l'amplitude des oscillations mesurée en fonction de l'excitation fournie au levier. Le domaine de réponse linéaire est vérifié des plus faibles tensions jusqu'aux plus importantes. Pratiquement, nous travaillons avec des tensions appliquées qui varient dans un intervalle de quelques dizaines à plusieurs centaines de millivolts.

Les non-linéarités peuvent apparaître pour les plus grandes tensions, aussi les tensions appliquées ne dépassent-elles jamais le volt.

B.2 Balayage et inclinaison du levier

Nous revenons un instant sur l'angle d'inclinaison du levier de 12° rapidement évoqué en annexe A. Lorsque le levier oscille, cette inclinaison induit une dépendance non triviale entre l'endroit de la surface où la pointe frappe et l'amplitude des oscillations (cf. figure B.2).

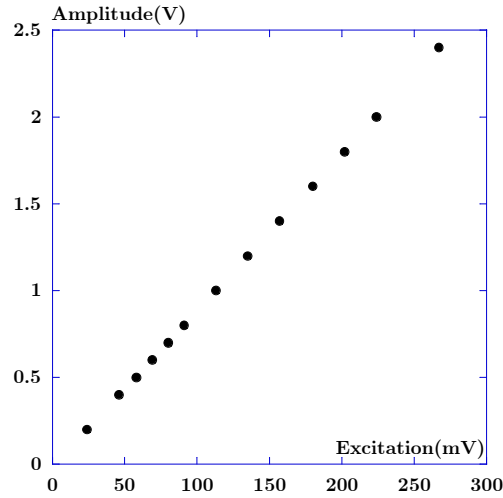


FIGURE B.1: La linéarité du cristal piézoélectrique excitateur est vérifiée sur un grand domaine de tensions appliquées.

A partir de considérations géométriques simples, il est possible de montrer que, pour¹ $A \ll L$, la dépendance de δ en fonction de A est de la forme :

$$\delta \simeq A \left[\tan(\theta) + \frac{h}{L} \right] \quad (\text{B.2.1})$$

Pour $\theta = 12^\circ$, $h = 3\mu\text{m}$ et $L = 125\mu\text{m}$, la pente de la droite vaut 0,24. Donc dès 20nm d'amplitude, le point de contact sur la surface est décalé de 4,7nm.

Cet argument suppose que la pointe, selon l'amplitude de travail, ne touche pas la surface de la même façon. Si la surface présente une topographie avec une rugosité importante et régulière ou s'il existe en surface un objet de taille non négligeable devant la taille de la pointe, cette asymétrie peut induire un effet dans l'interaction moyenne testée par la pointe. Si par contre la balayage de la surface se fait dans la direction perpendiculaire au plan du levier, expérimentalement la céramique déplace alors la surface à 90° , la situation est davantage symétrique. Par contre, le décalage introduit par la relation précédente reste le même (cf. figure B.3).

¹ Pratiquement, cette condition est toujours vérifiée puisque $A \approx 50\text{nm}$ et $L \approx 100\mu\text{m}$.

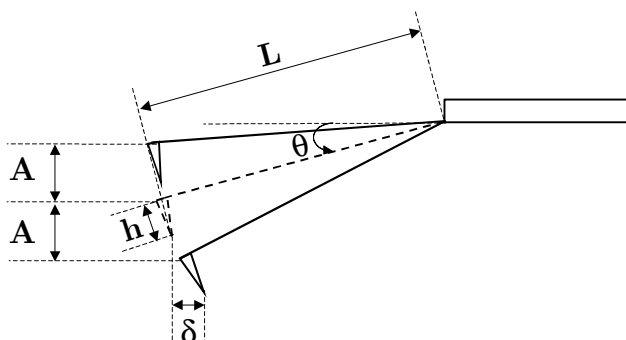


FIGURE B.2: L'angle de 12° assure le seul contact de la pointe avec la surface au moment de l'approche de la pointe ou lors du balayage de la surface, mais l'amplitude d'oscillation devient dépendante de cet angle. Cela peut déplacer le point de contact de la pointe avec la surface.

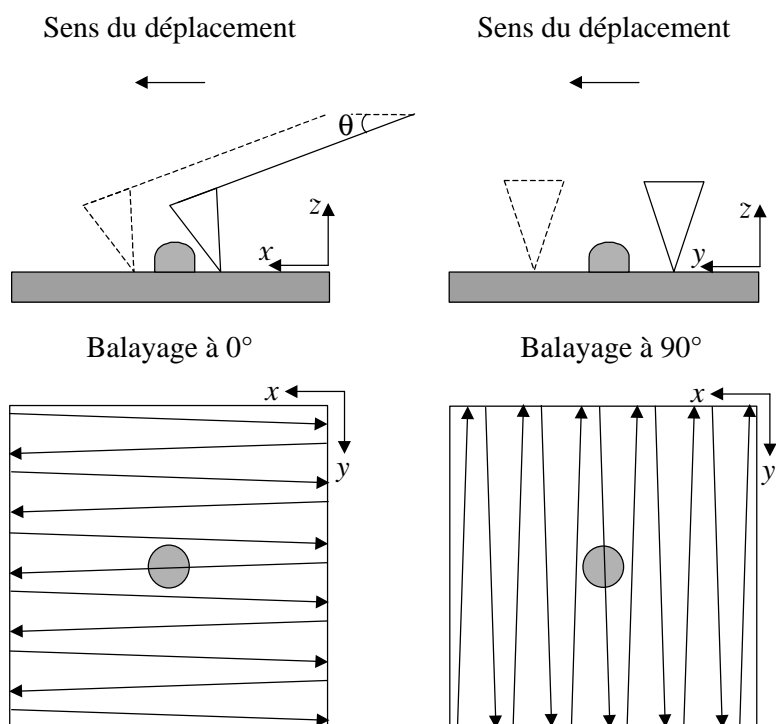


FIGURE B.3: Le balayage de la surface selon l'axe du levier peut induire des effets d'asymétrie dans l'interaction testée par la pointe. Le balayage à 90° permet de les limiter.

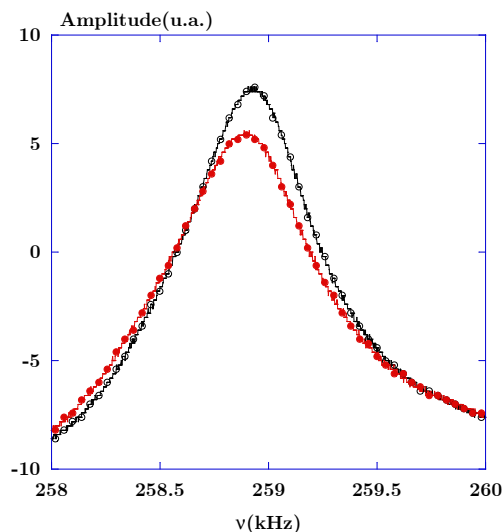


FIGURE B.4: *Evolution de la courbe de résonance d'un levier en fonction du temps. Les deux courbes ont été obtenues dans les mêmes conditions d'excitation. La première courbe (cercles pleins) a été enregistrée une fois le levier réglé. Les caractéristiques de l'oscillateur sont alors $\nu_0 = 258,785\text{kHz}$ et $Q = 390$. 18 heures plus tard (cercles vides), la forme du pic et ses caractéristiques ont évolué. Les nouveaux paramètres de l'oscillateur sont : $\nu_0 = 258,865\text{kHz}$ et $Q = 400$.*

B.3 Thermalisation du levier

Sur ce point particulier, nous n'avons que des observations expérimentales. Beaucoup de leviers présentent des courbes de résonance très asymétriques, caractéristiques de différents couplages dans l'oscillation qui perturbent la première harmonique : couplage avec des modes transverses... L'origine de cette asymétrie est difficile à déterminer : mauvaise conception des leviers, mauvais calage du levier dans son support, mauvaise fonction de transfert entre le cristal piézoélectrique et le support de levier... Nous avons effectivement parfois observé qu'un meilleur calage du levier dans son encoche pouvait améliorer sensiblement sa signature.

Une fois le réglage du spot laser à l'extrémité du levier fait, nous avons souvent observé une cinétique d'évolution du pic (cf. figure B.4) à l'échelle de quelques heures. L'évolution concerne l'amplitude et la fréquence de résonance du levier, mais également la forme du pic. On a ainsi parfois observé une amélioration de la qualité de la résonance, mais ce n'est pas systématique.

En l'absence d'autres éléments significatifs, nous attribuons cette évolution à une thermalisation du levier sous l'action du spot laser. Expérimentalement, une fois le levier réglé, nous attendons donc une douzaine d'heures avant de commencer les expériences, puis le réglage du faisceau est à nouveau vérifié et les photodiodes recentrées en "A-B" et "C-D". Cela revient pratiquement à régler le microscope la veille et débiter les expériences le lendemain.

B.4 Qualité des systèmes pointe-levier

Il s'avère que les bons systèmes pointe-levier sont plutôt rares, tant en termes de qualité de l'oscillateur – dont le comportement doit être le plus proche possible d'un oscillateur harmonique –, qu'en termes de taille de la pointe.

Compte tenu de la précision de la description analytique et de la sensibilité susceptible d'être obtenue expérimentalement, le système pointe-levier avec lequel l'expérience est conduite doit être à la fois un oscillateur harmonique et disposer d'une bonne pointe.

Sur l'ensemble des systèmes pointe-levier exploités dans le cadre de ce travail, ces deux critères ont rarement été regroupés. S'il y avait une statistique à faire sur la qualité des systèmes pointe-levier qui remplissent les critères évoqués et soulignés dans ce travail, elle serait environ de 7%.

B.5 Conditions d'engagement de la pointe

Compte tenu de la rareté des bons systèmes pointe-levier, nous avons été amenés à développer un protocole d'approche de la pointe de la surface. C'est une étape délicate qui risque d'être dommageable pour la pointe si l'engagement n'est pas contrôlé. Nous ne détaillons pas ici le caractère technique de la gestion de l'approche de la pointe de la surface par l'électronique du microscope, mais donnons quelques éléments pratiques.

L'approche se fait en deux étapes. La première consiste à approcher la pointe "à la main" jusqu'à une distance caractéristique d'une dizaine de microns. La seconde, correspondant à la fin de l'approche jusqu'à l'engagement de la pointe, est gérée par le microscope.

Les faibles amplitudes favorisant les situations de non-contact (cf. chapitre II), l'engagement idéal pour la préservation de la pointe est qu'elle arrive au voisinage de la surface en non-contact avec une courbe d'approche-retrait similaire à celle de la figure II.10, c'est-à-dire sans cycle d'hystérésis, afin d'éviter toute bifurcation intempestive vers la surface.

Pour fixer les conditions d'oscillations avant l'engagement, une courbe de résonance est faite à l'issue de la première étape. Cela va permettre de fixer des conditions d'oscillations à l'oscillateur, amplitude d'excitation et fréquence, pour terminer l'approche. Pour le microscope, la pointe est supposée engagée lorsqu'il mesure une fraction de réduction de l'amplitude libre des oscillations. L'engagement correspond donc à une courbe d'approche-retrait qui serait faite sur un déplacement vertical de plusieurs microns. L'idéal pour préserver la pointe est donc de faire en sorte que cette réduction d'amplitude soit liée à l'interaction attractive et non au contact intermittent de la pointe dans la surface.

Les conditions d'engagement standard sont donc de petites amplitudes d'oscillations² en choisissant une fréquence d'excitation légèrement inférieure à la fréquence de résonance,

² Il est difficile de donner ici un ordre de grandeur de l'amplitude retenue puisque le non-contact est caractérisé par le rayon de la pointe et la constante de Hamaker de l'interface.

typiquement quelques dizaines de hertz. Le choix de cette fréquence réside dans le fait que la fin de l'approche de la surface continue de décaler le pic vers les plus faibles fréquences en diminuant le facteur de qualité (cf. chapitre II). Une fois que le pic de résonance n'évolue plus avec la distance, pour des distances de l'ordre de quelques microns, la fréquence d'excitation retenue va correspondre à une fréquence de l'ordre de la résonance.

Une fois l'approche réalisée le contrôle de la distance pointe-surface est aisé et les conditions d'oscillations libres peuvent être fixées plus finement à partir du pic de résonance réalisé à quelques centaines de nanomètres de la surface.

Annexe C

Traitements des pointes et des surfaces

Annexe C

Traitements des pointes et des surfaces

Le but de cette annexe est de présenter quelques protocoles de nettoyage qui ont pu être testés selon les pollutions supposées de la pointe et/ou de la surface. Les premières expériences de nettoyage de la pointe ont été de tester l'effet d'un traitement thermique du levier. Deux solvants organiques ont ensuite été utilisés : l'acétone et le dichlorométhane. Concernant la pollution de la surface, nous présentons une mise en évidence de la cinétique d'hydratation d'une surface de silice qui a pu être mesurée en atmosphère contrôlée.

C.1 Identification de la pollution

Les effets de pollution sont liés à la qualité du substrat (eau, charges électriques, pollutions organiques, ...) et à celle de la pointe (taille, forme et également charges, adsorption de corps étrangers...). Leur signature est mise en évidence à partir des courbes d'approche-retrait. La façon la plus rapide de signer un effet éventuel de pollution et d'évaluer son mécanisme est de varier l'amplitude des oscillations.

Le mécanisme le plus net d'un effet de pollution de surface et/ou de pointe est l'observation de la croissance d'un col capillaire entre la pointe et la surface. Dans ce cas, il y a un "saut" de matière de la pointe (surface) vers la surface (pointe). Ces situations sont vite identifiées en non-contact. Si la pollution n'est liée qu'à peu de molécules, les effets capillaires sont faibles et une transition de non-contact vers le contact intermittent est observée (cf. figure C.1(a)). Ces effets sont ainsi mis en évidence pour les plus faibles amplitudes. Si par contre la pollution implique un nombre important de molécules, les forces capillaires sont plus importantes et dans ce cas, la pointe peut rester piégée sur la surface.

C'est ce qui apparaît sur des échantillons très mous comme des polymères de faibles poids moléculaires pour lesquels les unités monomériques sont petites. Dans ce cas toutefois, le comportement de l'oscillateur est lié à une réponse mécanique de

l'échantillon, donc ne correspond pas exactement à une pollution de la surface. Si ce même comportement est par contre observé sur une surface de silice, pour laquelle aucune réponse mécanique n'est attendue, la mise en évidence de la pollution est indiscutable.

Le deuxième cas à envisager est celui d'une taille de pointe importante qui induit des forces d'adhésion importantes, susceptibles de piéger également la pointe sur la surface. L'instabilité usuelle liée à la dynamique non-linéaire est complètement frustrée et l'amplitude des oscillations brutalement réduite (cf. figure C.1(b)), de façon assez similaire à un effet de nanoprotubérance.

L'évaluation de la taille de la pointe, en évaluant l'amplitude des oscillations à partir de laquelle les situations de non-contact sont obtenues, permet de favoriser l'interprétation du comportement comme étant gouverné par l'adhésion ou par la croissance d'un col capillaire.

Les signatures types des effets de pollution entre la pointe et la surface sont donc les suivantes :

- ▶ Croissance d'un col capillaire qui induit des bifurcations de l'oscillateur.
- ▶ Forces d'adhésions importantes.
- ▶ Instabilités moins franches.
- ▶ Bruit dans la mesure.

C.2 Traitement des pointes

C.2.a Traitement thermique

Les pointes qui ont été utilisées dans ce travail ont servi à tester des matières organiques (polymères, ADN). Un dépôt de matière sur la pointe est donc envisageable. Pour des composés organiques, un traitement thermique à quelques centaines de degrés doit être efficace.

Le système pointe-levier utilisé pour cette série d'expériences a été mis dans un four à une température de $400^{\circ}C$ pendant 3 heures. La pointe avait été précédemment utilisée pour des expériences sur des copolymères. Les figures C.2(a) et (b) montrent les résultats obtenus respectivement avant et après le traitement sur une surface de silice pour différentes amplitudes. Pour une comparaison qualitative des données, les amplitudes utilisées avant et après le traitement sont identiques. Notons également que les caractéristiques d'oscillations sont suffisamment similaires pour ne pas expliquer la différence de comportements mesurée. Dans ce cas, le traitement thermique n'a que peu modifié le système oscillant.

Le traitement thermique a été efficace et a apporté une diminution importante des forces d'adhésion. Pour $A_0 = 19nm$, la situation de collage n'est plus observée, une situation de non-contact est obtenue et les situations de non-contact (amplitudes plus

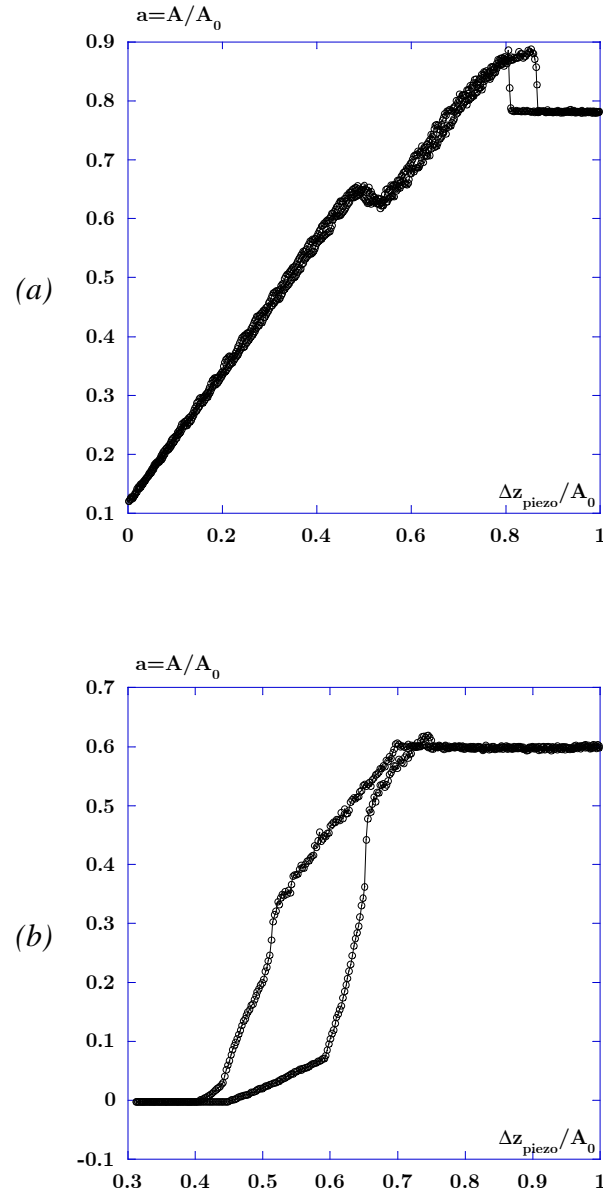


FIGURE C.1: Courbes d'approche-retrait expérimentales illustrant les deux effets majeurs de la pollution de la surface et/ou de la pointe. (a)- Effet capillaire, mis en évidence par une transition du non-contact vers le contact intermittent. Les paramètres expérimentaux sont $A_0 = 16\text{nm}$, $\nu_0 = 280,541\text{kHz}$, $u = 0,9987$ et $Q = 305$. (b)- Effet d'adhésion. En dessous d'une amplitude seuil, la pointe est brutalement piégée sur la surface réduisant fortement l'amplitude, jusqu'à l'annuler. Les paramètres expérimentaux sont $A_0 = 18\text{nm}$, $\nu_0 = 293,458\text{kHz}$, $u = 0,9987$ et $Q = 405$.

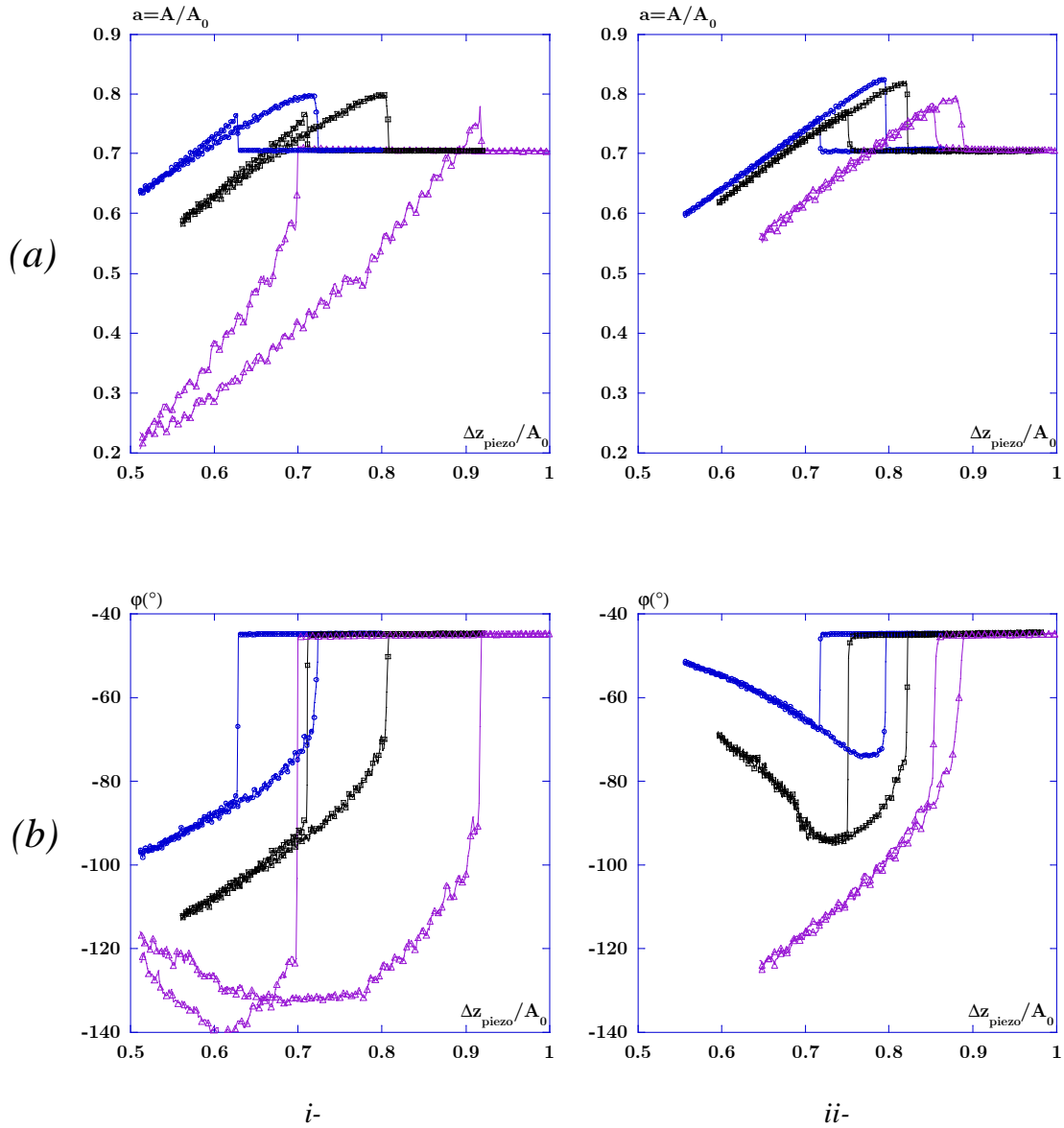


FIGURE C.2: Courbes d'approche-retrait en amplitude et en phase obtenues sur une surface de silice avant (i) et après (ii) traitement thermique. Les amplitudes utilisées sont $A_0 = 19, 38$ et 49nm . Les autres paramètres expérimentaux sont $\nu_0 = 154,192\text{kHz}$, $u = 0,9989$, $Q = 455$ et $\nu_0 = 154,215\text{kHz}$, $u = 0,9988$, $Q = 415$ respectivement avant et après traitement.

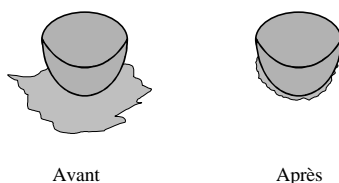


FIGURE C.3: Schéma de l'effet du traitement thermique sur la pointe.

importantes) ont laissé la place à des situations de contact intermittent. Ce résultat est net sur les courbes de phase. L'interaction attractive entre la pointe et la surface est également plus faible après traitement. La force d'interaction étant proportionnelle au rayon de la pointe, le rayon effectif de la pointe qui participe à l'interaction a été réduit par le traitement. L'interprétation faite de ce résultat est que les pollutions d'origine organiques ont été détruites, puis éliminées.

Le traitement thermique semble donc efficace pour le type de pollutions envisagées et permet d'améliorer sensiblement la signature des pointes. Notons toutefois le risque de détérioration et de modification des caractéristiques d'oscillations du levier en le chauffant.

C.2.b Traitement par solvants organiques

Une étude complémentaire à celle du traitement thermique concernant les pollutions d'origine organique était de tester des solvants organiques usuels. Les solvants retenus ici sont l'acétone et le dichlorométhane. Le mode opératoire est plus délicat que le précédent pour lequel le support de levier était sorti de son logement et déposé dans le four. Là le support est également sorti, puis immergé dans le solvant. La pointe est ainsi complètement immergée. Le traitement dure quelques minutes. Cette pointe avait également été utilisée pour des expériences sur des copolymères. Les différentes courbes obtenues selon le solvant avant et après le traitement sont présentées sur la figure C.4.

Ces résultats semblent indiquer une faible différence entre le nettoyage à l'acétone et celui au dichlorométhane. Le traitement à l'acétone ayant été effectué avant celui au dichlorométhane, il semble donc que le dichlorométhane soit moins efficace pour nettoyer la pointe. Pour l'acétone, les différences de comportement observées par rapport aux courbes de référence sont moins nettes que celles du traitement thermique.

Ces résultats préliminaires suggèrent que le nettoyage par solvant est peu efficace. Cela peut être interprété en disant que le solvant effectue un nettoyage sélectif des pollutions, ou que le mode opératoire n'est pas suffisant. De plus, les pollutions dissoutes de la pointe diffusent ensuite dans le solvant et peuvent se déposer à nouveau sur le levier. Des expériences complémentaires sont donc nécessaires (chauffage du solvant, sonication...), mais le nettoyage par solvant est très délicat et le risque de casser la pointe par une erreur de manipulation est important.

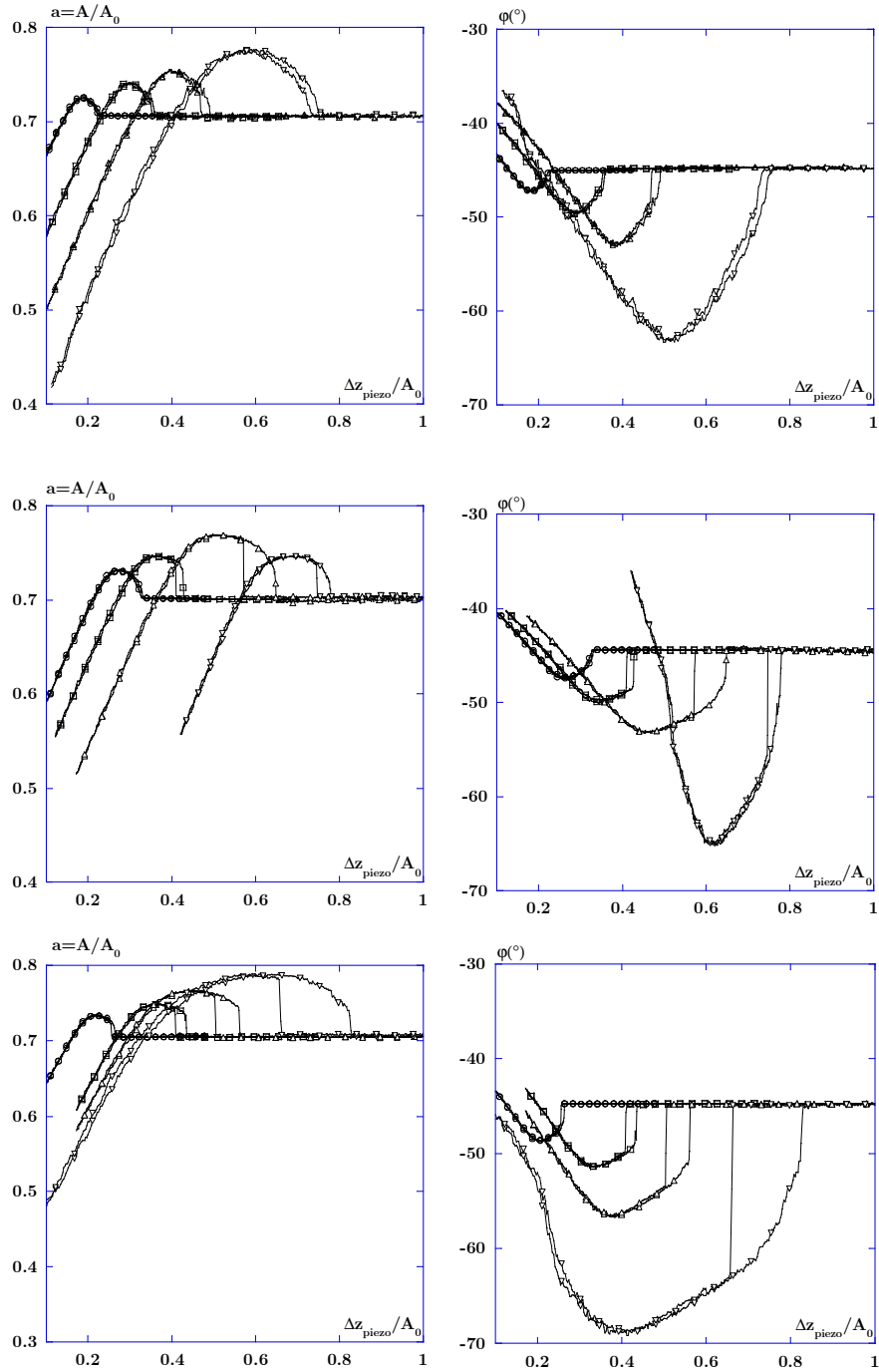


FIGURE C.4: Courbes d'approche-retrait en amplitude (colonne de gauche) et en phase (colonne de droite) obtenues sur une surface de silice avant et après traitement (de haut en bas) par des solvants organiques. Les amplitudes retenues sont $A_0 = 6, 10, 17$ et 24nm . Les autres conditions expérimentales avant traitement sont : $\nu_0 = 278,763\text{kHz}$, $u = 0,9989$ et $Q = 466$. Après traitement l'acétone : $\nu_0 = 278,445\text{kHz}$, $u = 0,9988$ et $Q = 440$. Après traitement au dichlorométhane : $\nu_0 = 278,600\text{kHz}$, $u = 0,9989$ et $Q = 474$.

C.3 Hydratation des surfaces de silice

Les chapitres I.4 et IV précisent que les surfaces de silice utilisées comme échantillons de référence s'hydratent à partir des groupements hydroxyles présents en surface.

L'expérience faite ici a été de chauffer une silice selon le protocole développé au chapitre IV et de réaliser dessus une série de courbes d'approche-retrait avec une même pointe et dans les mêmes conditions, à intervalle de temps régulier et ce, sur plusieurs jours (cf. figure C.5). Même dans les conditions de faible hygroscopie de la boîte à gant, une cinétique d'évolution de comportement du levier peut être mise en évidence. Compte tenu de la stabilité de l'oscillateur, connue et évaluée par ailleurs, cette évolution est attribuée à une hydratation de la surface. La pointe utilisée n'a pas subi de traitement, mais n'avait jamais été utilisée.

A partir du moment où la surface est sortie du four et placée dans la boîte à gant, des courbes d'approche-retrait sont réalisées toutes les heures pendant dix heures. Sur cet intervalle de temps, les courbes obtenues ne montrent pas de différence significative. Les premières différences sont observées environ au bout de 24 heures.

La contribution de l'adhésion de la surface est plus importante. Cette mesure conforte l'hypothèse de la formation d'une couche d'eau qui engendre des forces capillaires plus importantes. Cependant, les différences s'estompent à partir de 48 heures. Ce résultat laisse penser que, dans les conditions d'hygroscopie de la boîte à gant, la silice est à ce moment complètement hydratée.

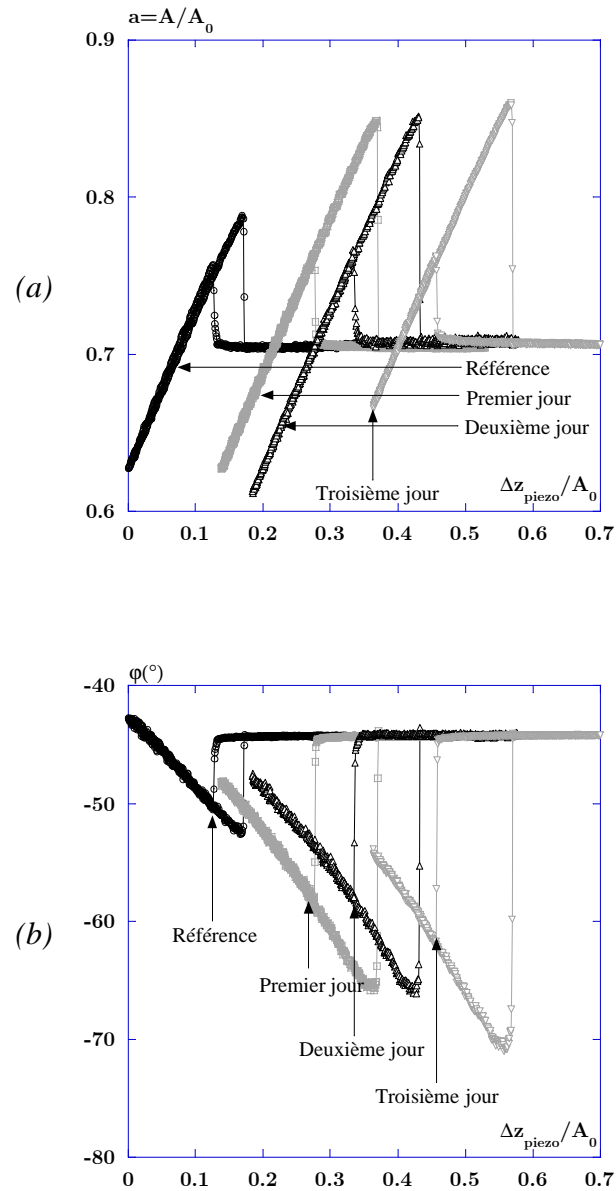


FIGURE C.5: Courbes d'approche-retrait en amplitude et en phase obtenues sur une surface de silice avec une même pointe et sur plusieurs jours. Les paramètres expérimentaux sont $A_0 = 40\text{nm}$, $\nu_0 = 185,135\text{kHz}$, $u = 0,99899$ et $Q = 500$. Les variations observées tendent à mettre en évidence une cinétique d'hydratation de la silice (cf. texte).

Annexe D

Approche analytique du mode dynamique

Annexe D

Approche analytique du mode dynamique

D.1 Principe de moindre action et méthode variationnelle

Le principe de moindre action spécifie que l'action de l'oscillateur, S , fonctionnelle de $z(t)$, est extrémale entre deux instants.

$$\delta S = \delta \left\{ \int_{t_i}^{t_f} L(z, \dot{z}, t) dt \right\} = 0, \quad (\text{D.1.1})$$

Le Lagrangien de ce système peut s'écrire sous la forme des trois contributions classiques : l'énergie cinétique, l'énergie potentielle, elle-même dépendante de plusieurs contributions, et l'énergie de dissipation de l'oscillateur dans le milieu dans lequel il est situé :

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(z, \dot{z}, t) &= \mathcal{T} - \mathcal{V} + \mathcal{W} & (\text{D.1.2}) \\ &= \frac{1}{2} m^* \dot{z}(t)^2 - \left[\frac{1}{2} k_z z(t)^2 - z(t) \mathcal{F}_{exc} \cos(\omega t) + V_{int} \right] - \frac{m^* \omega_0}{Q} z(t) \underline{\dot{z}(t)}, \end{aligned}$$

expression pour laquelle le terme non conservatif est évalué le long de la trajectoire physique. Cela suppose que les observables de $\underline{\dot{z}(t)}$ ne soient pas variées dans les calculs.

L'intérêt de la méthode variationnelle est d'utiliser une fonction d'essai qui permet d'effectuer le traitement analytique. La fonction d'essai retenue est la première harmonique de l'oscillation et l'action est définie sur une période d'oscillation :

$$z(t) = A_{libre}(\omega) \cos[\omega t + \varphi_{libre}(\omega)] \quad (\text{D.1.3})$$

Les observables sont A_{libre} et φ_{libre} . Le principe de moindre action conduit à un système de deux équations aux dérivées partielles couplées :

$$\begin{cases} \frac{\partial S}{\partial A} = 0 \\ \frac{\partial S}{\partial \varphi} = 0 \end{cases} \quad (\text{D.1.4})$$

Trois termes sont distingués pour le calcul de l'action :

$$S = S_0 + S_{int} + S_{dissip} \quad (\text{D.1.5})$$

S_0 , S_{int} et S_{dissip} sont respectivement l'action de l'oscillateur harmonique sans le terme de dissipation, l'action du terme d'interaction et l'action du terme de dissipation :

$$S_0 = \int_0^{2\pi/\omega} \left\{ \frac{1}{2} m^* \dot{z}(t)^2 - \frac{1}{2} k_z z(t)^2 + z(t) \mathcal{F}_{exc} \cos(\omega t) \right\} dt \quad (\text{D.1.6})$$

$$S_{int} = \int_0^{2\pi/\omega} -V_{int}[z(t)] dt \quad (\text{D.1.7})$$

$$S_{dissip} = \int_0^{2\pi/\omega} \left[-\frac{m^* \omega_0}{Q} z(t) \dot{z}(t) \right] dt \quad (\text{D.1.8})$$

Le calcul de S_0 donne :

$$S_0 = \frac{\pi m^*}{2\omega} A^2 (\omega^2 - \omega_0^2) + \frac{\pi \mathcal{F}_{exc}}{\omega} A \cos(\varphi) \quad (\text{D.1.9})$$

Pour le calcul de S_{dissip} , $\dot{z}(t) = -\underline{A}\omega \sin(\omega t + \underline{\varphi})$ est calculé le long du chemin physique, \underline{A} et $\underline{\varphi}$ étant fixés dans le calcul de l'intégrale. L'intégrale donne :

$$S_{dissip} = -\frac{\pi m^* \omega_0}{Q} \underline{A} \underline{A} \sin(\varphi - \underline{\varphi}) \quad (\text{D.1.10})$$

Il reste, selon la situation, à évaluer la contribution de l'action du terme d'interaction. Son calcul, dans les situations de non-contact et de contact intermittent, est l'objet des paragraphes suivants.

► *Remarque : Choix du Lagrangien du système*

Le Lagrangien du système oscillant n'est pas univoque. Considérons *a priori* le Lagrangien de l'oscillateur libre suivant :

$$\mathcal{L} = e^{2\beta_0 t} (\mathcal{T} - \mathcal{V}), \text{ avec } \mathcal{T} = \frac{1}{2} m^* \dot{z}(t)^2 \text{ et } \mathcal{V} = \frac{1}{2} k_z z(t)^2 - z(t) \mathcal{F}_{exc} \cos(\omega t) \quad (\text{D.1.11})$$

et montrons, depuis l'équation de Lagrange, qu'il conduit à l'équation différentielle du second ordre de l'oscillateur harmonique.

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \dot{z}} \right) = \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial z} \Leftrightarrow \frac{d}{dt} [m^* e^{2\beta_0 t} \dot{z}(t)] = -e^{2\beta_0 t} [k_z z(t) - \mathcal{F}_{exc} \cos(\omega t)], \quad (\text{D.1.12})$$

d'où :

$$\ddot{z}(t) + 2\beta_0 \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t), \quad (\text{D.1.13})$$

qui est bien l'équation usuelle (équation II.1.3).

Ce Lagrangien est donc susceptible d'être utilisé au même titre que le précédent. L'avantage qu'il présente est que la dépendance exponentielle du terme non conservatif permet de s'affranchir de la notion de variables non variées, peu intuitive. A noter toutefois que l'utilisation de ce Lagrangien ne peut se faire que si le terme non conservatif ne présente pas de dépendance explicite en A sans quoi l'équation de Lagrange n'est plus vérifiée.

D.2 Interaction purement attractive

Dans le cas de l'interaction attractive, le calcul de S_{int} est moins immédiat, mais assez direct. Avec $V_{int} = -HR / \{6 [D - A \cos(\omega t + \varphi)]\}$, on obtient :

$$S_{int} = \frac{HR}{6\omega A} I_1, \text{ avec } I_1 = \frac{2\pi}{\sqrt{e^2 - 1}} \quad (\text{D.2.1})$$

et $e = D/A$. Ce calcul requiert l'évaluation d'une intégrale de la forme (avec, ici, pour le Van der Waals dispersif $n = 1$) :

$$I_n = 2 \int_0^\pi \frac{1}{[e - \cos(\theta)]^n} d\theta, \quad (\text{D.2.2})$$

dont il est possible d'obtenir une évaluation analytique quel que soit n . Le calcul de cette intégrale permet donc, *a priori*, d'obtenir une expression analytique du terme d'interaction de l'action pour une loi de puissance n . Une illustration de ce résultat est donnée au paragraphe D.3.

En regroupant les expressions, D.1.9, D.1.10 et D.2.1, l'action complète s'écrit :

$$S = \frac{\pi m^*}{2\omega} A^2 (\omega^2 - \omega_0^2) + \frac{\pi \mathcal{F}_{exc}}{\omega} A \cos(\varphi) + \frac{\pi HR}{3\omega} \frac{1}{\sqrt{D^2 - A^2}} - \frac{\pi m^* \omega_0}{Q} A A \sin(\varphi - \underline{\varphi}) \quad (\text{D.2.3})$$

La minimisation par rapport à A donne :

$$\frac{\partial S}{\partial A} = \frac{\pi m^*}{\omega} A (\omega^2 - \omega_0^2) + \frac{\pi \mathcal{F}_{exc}}{\omega} \cos(\varphi) + \frac{\pi HR}{3\omega} \frac{A}{(D^2 - A^2)^{3/2}} - \frac{\pi m^* \omega_0}{Q} \underline{A} \sin(\varphi - \underline{\varphi}) \quad (\text{D.2.4})$$

tandis que celle par rapport à φ donne :

$$\frac{\partial S}{\partial \varphi} = -\frac{\pi \mathcal{F}_{exc}}{\omega} \underline{A} \sin(\varphi) - \frac{\pi m^* \omega_0}{Q} \underline{A} \underline{A} \cos(\varphi - \underline{\varphi}) \quad (\text{D.2.5})$$

Dans la mesure où les variables soulignées n'ont pas été variées et sont calculées le long du chemin physique, il faut maintenant poser $A = \underline{A}$ et $\varphi = \underline{\varphi}$.

En résolvant ensuite $\partial_A S = 0$, $\partial_\varphi S = 0$, en remplaçant l'expression $\mathcal{F}_{exc} = m^* \omega_0^2 A_0 / Q$, et en normant les différentes variables, les équations D.2.4 et D.2.5 conduisent au couple d'équations du mouvement de l'oscillateur en interaction avec la surface :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_A) = Qa(1 - u^2) - \frac{aQ\kappa_a}{3(d_A^2 - a^2)^{3/2}} \\ \sin(\varphi_A) = -ua \end{cases} \quad (\text{D.2.6})$$

Pour obtenir $d = f(a)$, le système est résolu en écrivant :

$$\cos(\varphi_A) = \pm \sqrt{1 - \sin(\varphi_A)^2} \quad (\text{D.2.7})$$

et conduit aux expressions :

$$d_{A\pm} = \sqrt{a^2 + \left[\frac{Q\kappa_a}{3 \left\{ Q(1 - u^2) \mp \sqrt{\frac{1}{a^2} - u^2} \right\}} \right]^{2/3}} \quad (\text{D.2.8})$$

$$\varphi_{A\pm} = \arctan \left\{ \frac{u}{Q(u^2 - 1) + \frac{Q\kappa_a}{3(d_{A\pm}^2 - a^2)^{3/2}}} \right\} \quad (\text{D.2.9})$$

Les deux branches de solutions obtenues en amplitude et en phase sont définies *a priori* pour tous les jeux de paramètres et sont donc à conserver.

D.3 Extension à une loi de puissance quelconque

D.3.a Expression générale

Le problème revient à calculer l'action du terme d'interaction dans le cas général d'un potentiel d'interaction de la forme :

$$V_{int}[z(t)] = -\frac{\varkappa}{[D - z(t)]^n} = -\frac{\varkappa}{[D - A \cos(\omega t + \varphi)]^n}, \quad (\text{D.3.1})$$

où $\varkappa > 0$ est une variable générale¹, indépendante du temps, qui vérifie l'homogénéité de la relation et inclut les termes caractéristiques de l'interaction : H, R, \dots L'action associée est :

$$S_{int} = \int_0^{2\pi/\omega} -V_{int}(A, \varphi) dt = \int_0^{2\pi/\omega} \frac{\varkappa}{[D - A \cos(\omega t + \varphi)]^n} dt \quad (\text{D.3.2})$$

Cette intégrale peut être réécrite à partir de changements de variables immédiats à partir de l'intégrale I_n de la relation D.2.2 du paragraphe précédent :

$$S_{int} = \frac{\varkappa}{A\omega} I_n \quad (\text{D.3.3})$$

Il est possible de montrer que, dans la limite $e = D/A \gtrsim 1$, I_n est analytique [80] et s'écrit :

$$I_n = 2 \int_0^\pi \frac{1}{[e - \cos(\theta)]^n} d\theta = \frac{\sqrt{2\pi} \Gamma(n - 1/2)}{\Gamma(n)} \frac{1}{(e - 1)^{n-1/2}} \quad (\text{D.3.4})$$

D.3.b Démonstration du résultat

La démonstration de la relation D.3.4 s'appuie sur un théorème mathématique. Le théorème en question est issu d'un exercice du livre de J. Dieudonné [279, p.138]. En voici l'énoncé :

Soient g et h deux fonctions continues et > 0 dans l'intervalle $[0, a]$. On suppose qu'au voisinage de 0 : $g(x) \simeq Ax^\alpha$ et $h(x) \simeq Bx^\beta$ où $B > 0$, $\alpha > -1$ et $\beta > 0$. Soit μ un nombre tel que $\mu \geq \frac{\alpha+1}{\beta}$. Montrer que lorsque t tend vers 0 en restant positif, on a :

$$\int_0^a \frac{g(x)}{[h(x) + t]^\mu} dx \simeq Ct^{\frac{\alpha+1}{\beta} - \mu} \quad \text{si} \quad \mu > \frac{\alpha+1}{\beta}$$

¹ \varkappa est choisie positive pour une interaction attractive. Le cas d'une interaction répulsive doit être reconsidéré pour les approximations faites dans les calculs.

où C est une constante que l'on exprimera à l'aide de A , B , α , β , μ et de la fonction Γ .

► La première partie de la démonstration consiste à obtenir l'expression de la constante C .

Partant du principe que le comportement de l'intégrale est piloté par le comportement des fonctions f et g au voisinage de 0, ces fonctions sont remplacées par leur équivalent au voisinage 0 et la borne supérieure est repoussée de a à l'infini. En notant J l'intégrale :

$$J = \int_0^a \frac{g(x)}{[h(x) + t]^\mu} dx \simeq \int_0^\infty \frac{Ax^\alpha}{(Bx^\beta + t)^\mu} dx \quad (\text{D.3.5})$$

En effectuant les changements de variables successifs :

$$x = \left(\frac{ut}{B}\right)^{1/\beta} \quad \text{et} \quad dx = \left(\frac{t}{B}\right)^{1/\beta} \frac{u^{1/\beta-1}}{\beta} du \quad (\text{D.3.6})$$

$$u = \frac{1-y}{y} \quad \text{et} \quad du = -\frac{dy}{y^2} \quad (\text{D.3.7})$$

L'intégrale devient :

$$J \simeq \frac{A}{\beta} \frac{1}{B^{\frac{\alpha+1}{\beta}}} t^{\frac{\alpha+1}{\beta}-\mu} \mathfrak{B}(v, w) \quad (\text{D.3.8})$$

où $\mathfrak{B}(v, w)$ est l'intégrale eulérienne de première espèce :

$$\mathfrak{B}\left(v = \mu - \frac{\alpha+1}{\beta}, w = \mu - \frac{\alpha+1}{\beta}\right) = \int_0^1 x^{v-1} (1-x)^{w-1} dx \quad (\text{D.3.9})$$

L'intégrale J peut donc se mettre sous la forme :

$$J \simeq Ct^{\frac{\alpha+1}{\beta}-\mu} \quad \text{avec} \quad C = \frac{A}{\beta B^{\frac{\alpha+1}{\beta}}} \frac{\Gamma\left(\mu - \frac{\alpha+1}{\beta}\right) \Gamma\left(\frac{\alpha+1}{\beta}\right)}{\Gamma(\mu)}, \quad (\text{D.3.10})$$

où l'on a utilisé la formule fondamentale d'Euler :

$$\mathfrak{B}(v, w) = \frac{\Gamma(v) \Gamma(w)}{\Gamma(v+w)} \quad (\text{D.3.11})$$

► La seconde partie de cette démonstration consiste à montrer que l'expression de I_n peut être mise sous une forme équivalente :

$$I_n = 2 \int_0^\pi \frac{1}{[e - \cos(\theta)]^n} d\theta \equiv \int_0^a \frac{g(\theta) d\theta}{[h(\theta) + t]^\mu}, \quad (\text{D.3.12})$$

expression pour laquelle les fonctions g et h présentent les mêmes particularités que les précédentes dans la limite $\theta \rightarrow 0$. Posons $e - 1 = t$. Soit :

$$I_n = 2 \int_0^\pi \frac{1}{[e - \cos(\theta)]^n} d\theta = 2 \int_0^\pi \frac{1}{[t + 1 - \cos(\theta)]^n} d\theta \quad (\text{D.3.13})$$

Par identification, $\mu = n$ et :

$$\begin{cases} g(\theta) = 1 \Rightarrow A = 1 & \text{et} & \alpha = 0 \\ h(\theta) = 1 - \cos(\theta) \simeq \theta^2/2 \Rightarrow B = 1/2 & \text{et} & \beta = 2 \end{cases} \quad (\text{D.3.14})$$

La constante C de l'expression précédente a ici pour expression :

$$C = \sqrt{\frac{\pi}{2}} \frac{\Gamma(n - 1/2)}{\Gamma(n)} \quad (\text{D.3.15})$$

d'où :

$$I_n = \frac{\sqrt{2\pi}\Gamma(n - 1/2)}{\Gamma(n)} \frac{1}{(e - 1)^{n-1/2}} \quad (\text{D.3.16})$$

qui est bien l'expression attendue.

D.3.c Exemple d'application

On cherche à calculer avec la formule D.3.10 précédente le potentiel d'interaction d'une sphère de densité ρ_1 et de rayon R avec un plan de densité ρ_2 situé à la distance D de l'apex de la sphère donné au chapitre I.4 (équation I.4.11). On part de l'interaction atome-atome du Van der Waals dispersif :

$$V_{dW} = -\frac{C_{VdW}}{r^6},$$

r étant la distance entre les deux molécules et A une constante.

► *Interaction molécule-plan :*

On a la géométrie de la figure D.1(a).

La molécule étant placée sur l'axe $0z$, la distance molécule-molécule du plan s'écrit :

$$r = [x^2 + y^2 + (z + D)^2]^{1/2} \quad (\text{D.3.17})$$

Le potentiel molécule-plan V_{dW}^{mp} a pour expression intégrale :

$$V_{dW}^{mp} = -C_{VdW} \int \frac{\rho_2}{r^6} d\tau = -C_{VdW} \rho_2 \int_{-\infty}^0 dz \int_{-\infty}^{+\infty} dy \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{dx}{[x^2 + y^2 + (z + D)^2]^3} \quad (\text{D.3.18})$$

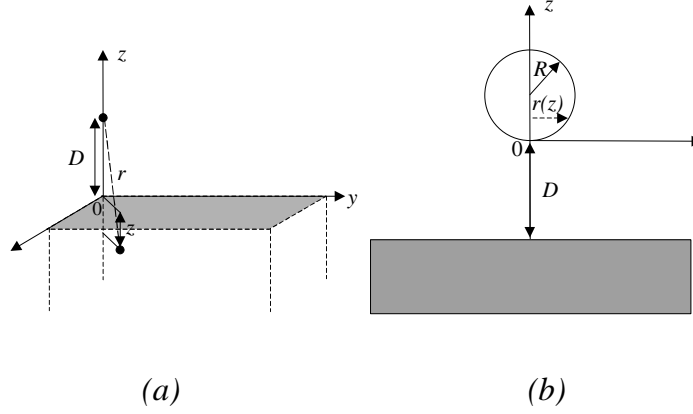


FIGURE D.1: Géométries envisagées pour l'intégration du potentiel (a) molécule-plan et (b) sphère-plan.

L'intégration exacte conduit à :

$$V_{VdW}^{mp} = -\frac{\pi C_{VdW} \rho_2}{6} \frac{1}{D^3} \quad (\text{D.3.19})$$

► *Interaction sphère-plan :*

On a à présent la géométrie de la figure D.1(b). Le potentiel sphère-plan V_{VdW}^{sp} s'écrit en utilisant la formule précédente :

$$V_{VdW}^{sp} = -\frac{\pi C_{VdW} \rho_2}{6} \int_0^{2R} \frac{\rho_1 \pi [r(z)]^2}{(z+D)^3} dz \quad (\text{D.3.20})$$

On exprime alors r en fonction du rayon de la sphère R et de la hauteur z du petit disque :

$$R^2 = r^2 + (R - Z)^2 \Rightarrow r^2 = R^2 \left[1 - \left(1 - \frac{Z}{R} \right)^2 \right] \quad (\text{D.3.21})$$

On pose alors le changement de variable $z = RZ$ ce qui donne pour l'énergie

$$V_{VdW}^{s-p} = -\frac{\pi^2 C_{VdW} \rho_2 \rho_1}{6} \int_0^2 \frac{R^2 [1 - (1 - Z)^2]}{R^3 (Z + d)^3} R dZ, \quad (\text{D.3.22})$$

où l'on a posé $d = D/R$. On obtient alors :

$$V_{VdW}^{s-p} = -\frac{\pi^2 C_{VdW} \rho_2 \rho_1}{6} J, \quad (\text{D.3.23})$$

où J est l'intégrale dépendant du paramètre d :

$$J = \int_0^2 \frac{[2Z - Z^2]}{(Z + d)^3} dZ = \int_0^a \frac{g(Z)}{(h(Z) + d)^\mu} dZ \quad (\text{D.3.24})$$

avec $\mu = 3$ et :

$$g(Z) = 2Z - Z^2 \simeq 2Z \Rightarrow A = 2 \quad \text{et} \quad \alpha = 1 \quad (\text{D.3.25})$$

$$h(Z) = Z \simeq Z \Rightarrow B = 1 \quad \text{et} \quad \beta = 1 \quad (\text{D.3.26})$$

On applique le théorème :

$$J \simeq C \frac{1}{D} \quad \text{avec} \quad C = 2 \frac{\Gamma(1)\Gamma(2)}{\Gamma(3)} = 1 \quad (\text{D.3.27})$$

Finalement :

$$V_{VdW}^{s-p} = -\frac{\pi^2 C_{VdW} \rho_2 \rho_1}{6} \frac{1}{D} \equiv -\frac{HR}{6D}, \quad (\text{D.3.28})$$

qui est bien la formule attendue.

D.3.d Interaction entre une sphère et une ligne de dipôles aléatoires

Ce calcul est celui présenté au chapitre I.4. Le calcul débute à partir du potentiel d'interaction entre une molécule non polaire de polarisabilité α_0 et un dipôle p d'orientation aléatoire distants de r :

$$\langle V_{d_p-d_i}(r) \rangle_{\theta,\varphi} = -\frac{2p^2\alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6} \equiv -\frac{C_{Debye}}{r^6} \quad (\text{D.3.29})$$

La géométrie de l'intégration retenue est similaire à celle de la figure D.1(b) excepté que le plan à l'abscisse 0 est maintenant remplacé par un dipôle. Le problème est ainsi équivalent à calculer le potentiel entre une molécule et une sphère. Nous avons obtenu, pour une interaction dispersive :

$$V_{VdW}(D) = -\frac{4\pi\rho R^3}{3} \frac{C_{VdW}}{(D+2R)^3 D^3} \quad (\text{D.3.30})$$

On déduit donc immédiatement :

$$V_{Debye}(D) = -\frac{4\pi\rho R^3}{3} \frac{C_{Debye}}{(D+2R)^3 D^3} \quad (\text{D.3.31})$$

En envisageant une ligne de dipôles de densité linéique λ et la géométrie de la figure D.2, l'intégrale à calculer est donc la suivante :

$$V_{Debye}^{dip-sph}(D) = -2 \int_0^\infty \frac{4\pi\rho R^3}{3} \frac{C_{Debye}\lambda}{D_{eff}^3 (D_{eff} + 2R)^3} dy, \quad (\text{D.3.32})$$

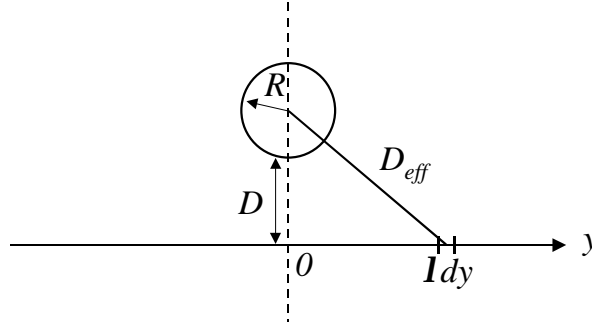


FIGURE D.2: Géométrie pour le calcul du potentiel sphère-ligne de dipôles.

où D_{eff} est une distance effective équivalente à sa définition dans la relation D.3.31. Soit $D_{eff} = \sqrt{(R + D)^2 + y^2} - R$. Le calcul conduit finalement à :

$$V_{Debye}^{dip-sph}(D) = -\frac{\pi^2}{2} R^3 \rho \lambda \mathcal{C}_{Debye} \times \frac{1}{D^2 (2R + D)^2 \sqrt{D^2 + 2RD}} \stackrel{R \gg D}{\simeq} -\frac{\pi^2 \sqrt{R} \rho \lambda}{8\sqrt{2}} \times \frac{\mathcal{C}_{Debye}}{D^{5/2}}, \quad (\text{D.3.33})$$

D.4 Interaction purement répulsive

D.4.a Système d'équations

Le potentiel répulsif retenu est de type harmonique. Il est défini pour $A > D$:

$$V_{int}[z(t)] = \frac{k_s}{2} [z(t) - D]^2 = \frac{k_s}{2} [A \cos(\omega t + \varphi)]^2 \quad (\text{D.4.1})$$

Le terme d'interaction se met sous la forme :

$$S_{int} = -2 \times \frac{k_s}{2} \int_0^{\arccos(D/A)/\omega} [A \cos(\omega t + \varphi) - D]^2 dt \quad (\text{D.4.2})$$

En calculant exactement cette intégrale qui est analytique et en utilisant un développement limité de $\arccos(D/A)$ pour $D \gtrsim A$, c'est-à-dire pour les petites indentations de la pointe dans la surface, les calculs conduisent au système d'équations suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_R) = Qa(1 - u^2) + \frac{4\sqrt{2}}{3\pi} Q\kappa_s a (1 - d/a)^{3/2} \\ \sin(\varphi_R) = -ua \end{cases} \quad (\text{D.4.3})$$

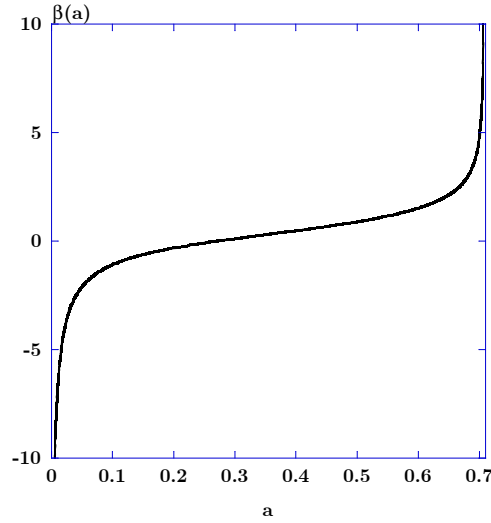


FIGURE D.3: Variations de la fonction β . Les paramètres choisis sont $a_l = 0,707$ et $u = 0,9989$.

La résolution de $\cos(\varphi_R) = \pm\sqrt{1 - \sin(\varphi_R)^2}$ conduit *a priori* à deux branches de variations. Cependant, la loi de puissance en $2/3$ de l'expression II.4.5 conduit à ne retenir que la seule solution $\cos(\varphi_R) = +\sqrt{1 - \sin(\varphi_R)^2}$ et ne produit qu'une seule branche de solutions observable.

D.4.b Pente du contact intermittent

La pente de la variation d'amplitude avec la distance définit la pente du contact intermittent. Son expression est analytique et donnée par la relation (équation II.4.7) :

$$p(a) = \frac{\delta a}{\delta d} = \frac{1}{1 + \frac{\beta(a)}{(Q\kappa_s)^{2/3}}} \quad (\text{D.4.4})$$

où $\beta(a)$ est fonction de a , de l'amplitude libre et de la fréquence d'excitation (normée à A_0, a_l) de l'oscillateur :

$$\beta(a) = \frac{2}{3} \frac{1}{a^2 \sqrt{1/a^2 - u^2} \left[\sqrt{1/a^2 - u^2} - \sqrt{1/a_l^2 - u^2} \right]^{1/3}} - \left[\sqrt{\frac{1}{a^2} - u^2} - \sqrt{\frac{1}{a_l^2} - u^2} \right]^{2/3} \quad (\text{D.4.5})$$

Ses variations sont reportées sur la figure D.3.

Elle est définie pour des variations de l'amplitude de 0 à la valeur de l'amplitude libre normée. La valeur maximale de $\beta(a)$ est de l'ordre de 5. Elle est atteinte pour une valeur de l'amplitude proche de a_l . Pour $a = a_l$ qui est la limite de la définition du contact dans le cas de l'interaction purement répulsive, la fonction diverge. Pour des valeurs

d'amplitude inférieures à a_l , $\beta(a)$ varie quasiment linéairement avec a . Les plus fortes réductions d'amplitude ne sont pas cohérentes avec l'hypothèse des faibles indentations.

La dépendance explicite de β avec l'amplitude marque la dépendance non-linéaire de la réduction d'amplitude avec la distance.

D.5 Interaction attractive et répulsive

Le terme d'interaction contient à la fois la contribution de l'interaction attractive sur l'intervalle de temps pendant lequel la pointe n'est pas au contact de la surface et l'interaction répulsive pendant le contact :

$$S_{int} = -k_s \int_0^{\arccos(D/A)/\omega} [A \cos(\omega t + \varphi) - D]^2 dt + \frac{HR}{3} \int_{\arccos(D/A)/\omega}^{\pi/\omega} \frac{1}{[D - A \cos(\omega t + \varphi)]} dt \quad (\text{D.5.1})$$

Le terme attractif introduit sous cette forme n'est pas calculable analytiquement. La partie attractive de non-contact est évaluée sur toute la période d'oscillation à partir de l'expression D.2.1. La surface physique est ensuite introduite : $D = A + d_c$ (cf. texte chapitre II). Les calculs conduisent au système d'équations suivant :

$$\begin{cases} \cos(\varphi_{AR}) = Qa(1 - u^2) + \frac{4\sqrt{2}}{3\pi} Q\kappa_s a \left(1 - \frac{d}{a}\right)^{3/2} - \frac{Q\kappa_a}{6\sqrt{2}d_c^{3/2}\sqrt{a}} \\ \sin(\varphi_{AR}) = -ua \end{cases} \quad (\text{D.5.2})$$

La loi de puissance de la dépendance $d = f(a)$ suppose encore de ne retenir qu'une seule branche de solutions.

D.6 Stabilité des branches de solutions de l'équation de Duffing

D.6.a Équations du mouvement des solutions stationnaires

Les équations de Lagrange de l'oscillateur de Duffing conduisent aux équations du mouvement en amplitude et en phase de l'oscillateur, avec les notations retenues :

$$\begin{cases} \ddot{a} + \frac{\dot{a}}{Q} = a [(u + \dot{\varphi})^2 - 1] + \frac{3\varepsilon A_0^2}{4} a^3 + \frac{\cos(\varphi)}{Q} \\ a\ddot{\varphi} = -\left(2\dot{a} + \frac{a}{Q}\right) (\dot{\varphi} + u) - \frac{\sin(\varphi)}{Q} \end{cases} \quad (\text{D.6.1})$$

Les équations du mouvement des solutions stationnaires (indice “s” pour les distinguer des solutions non stationnaires) qui nous intéressent sont ensuite obtenues en posant $\ddot{a} = \ddot{\varphi} = 0$ et $\dot{a} = \dot{\varphi} = 0$:

$$\begin{cases} \cos(\varphi_s) = Q \left[a_s (1 - u^2) - \frac{3\varepsilon A_0^2}{4} a_s^3 \right] \\ \sin(\varphi_s) = -u a_s \end{cases} \quad (\text{D.6.2})$$

Compte tenu des ordres de grandeur introduits au chapitre II, prenons ici $u = 1$, donc $1 - u^2 \simeq 2(1 - u)$ et posons $\alpha = 3\varepsilon A_0^2/4$. En considérant ces approximations et en résolvant le système précédent en u , les deux branches usuelles de solutions suivant que le cosinus est positif ou négatif sont obtenues :

$$u_{\pm}^D = 1 + \frac{1}{2} \left(-\alpha a^2 \pm \frac{1}{Q} \sqrt{\frac{1}{a^2} - 1} \right) \quad (\text{D.6.3})$$

D.6.b Stabilité des solutions

Afin d'étudier la stabilité des solutions stationnaires, les équations du mouvement sont linéarisées autour de la solution stationnaire. Pour une description des techniques d'étude de la stabilité des systèmes dynamiques, nous renvoyons par exemple aux références [85, §5 p.119] et [280, §6 p.75].

On pose $a = a_s (1 + \xi)$ et $\varphi = \varphi_s + \zeta$ avec $\xi, \zeta \ll 1$. En conservant les termes du premier ordre, les équations du mouvement des écarts aux solutions stationnaires s'écrivent :

$$\begin{cases} \ddot{\xi} = -\frac{\dot{\xi}}{Q} + \xi (u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2) + 2u\dot{\zeta} + \frac{u}{Q}\zeta \\ \ddot{\zeta} = -\frac{\dot{\zeta}}{Q} + \frac{\cos(\varphi_s)}{Q a_s} \zeta - 2\dot{\xi}u - \frac{u}{Q}\xi \end{cases} \quad (\text{D.6.4})$$

Ce système linéarisé est résolu en posant $\Xi = \dot{\xi}$, et $\Psi = \dot{\zeta}$ ce qui conduit à un système linéaire du quatrième ordre que l'on peut écrire sous forme matricielle :

$$\begin{pmatrix} \dot{\xi} \\ \dot{\zeta} \\ \Xi \\ \Psi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2 & u/Q & -1/Q & 2u \\ -u/Q & \cos(\varphi_s)/(Q a_s) & -2u & -1/Q \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \xi \\ \zeta \\ \Xi \\ \Psi \end{pmatrix} \quad (\text{D.6.5})$$

Les valeurs propres de cette matrice sont obtenues en résolvant le polynôme caractéristique fourni par le déterminant :

$$P = \begin{vmatrix} -\lambda & 0 & 1 & 0 \\ 0 & -\lambda & 0 & 1 \\ u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2 & u/Q & -(\lambda + 1/Q) & 2u \\ -u/Q & \cos(\varphi_s)/(Qa_s) & -2u & -(\lambda + 1/Q) \end{vmatrix} \quad (\text{D.6.6})$$

soit :

$$\begin{aligned} P = & \lambda^4 + 2/Q\lambda^3 + \lambda^2 [(1/Q)^2 + 4u^2 - (u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2) - \cos(\varphi_s)/(Qa)] \\ & + \lambda/Q [4u^2 - (u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2) - \cos(\varphi_s)/(Qa_s)] \\ & + [(u/Q)^2 + (u^2 - 1 + 3\alpha a_s^2) \cos(\varphi_s)/(Qa_s)], \end{aligned} \quad (\text{D.6.7})$$

que l'on peut réécrire sous la forme d'un produit de deux polynômes du deuxième degré.

$$P = (\lambda^2 + \lambda/Q + C) (\lambda^2 + \lambda/Q + D) \quad (\text{D.6.8})$$

Par identification :

$$\begin{cases} C + D = 4u^2 - (u^2 - 1 + 3\alpha a_s) - \frac{\cos(\varphi_s)}{Qa_s} \\ CD = (u/Q)^2 + (u^2 - 1 + 3\alpha a_s) \frac{\cos(\varphi_s)}{Qa_s} \end{cases} \quad (\text{D.6.9})$$

L'équation caractéristique $P = 0$ est alors équivalente au système :

$$\begin{cases} \lambda^2 + \lambda/Q + C = 0 \\ \lambda^2 + \lambda/Q + D = 0 \end{cases} \implies \begin{cases} \lambda_{1,2} = \left(-1/Q \pm \sqrt{(1/Q)^2 - 4C} \right) / 2 \\ \lambda_{3,4} = \left(-1/Q \pm \sqrt{(1/Q)^2 - 4D} \right) / 2 \end{cases} \quad (\text{D.6.10})$$

Pour avoir des solutions stables, il faut que $\lambda < 0$ [85] pour toutes les solutions, soit :

$$\begin{cases} 1/Q > \sqrt{(1/Q)^2 - 4C} \\ \text{et} \\ 1/Q > \sqrt{(1/Q)^2 - 4D} \end{cases} \implies C > 0 \quad \text{et} \quad D > 0$$

Pour cela, il suffit que $CD > 0$ et $C + D > 0$. En réécrivant $CD > 0$ et en utilisant la relation $\cos(\varphi_s) = \pm \sqrt{1 - (ua_s)^2}$, l'inéquation devient :

$$\left(\frac{u}{Q} \right)^2 \pm (u^2 - 1 + 3\alpha a_s) \frac{\sqrt{1 - (ua_s)^2}}{Qa_s} > 0 \quad (\text{D.6.11})$$

Résoudre cette inéquation par rapport à u n'est pas possible de façon analytique. Il va s'agir de faire quelques hypothèses, en particulier lorsque c'est envisageable $u = 1$, et $1 - u^2 \simeq 2(1 - u)$

$$\begin{aligned}
 D.6.11 \quad &\Leftrightarrow \frac{u^2 - 1}{Q} + \frac{1}{Q} \pm (u^2 - 1 + 3\alpha a_s) \frac{\sqrt{1 - (ua_s)^2}}{a_s} > 0 \\
 &\implies \frac{2(1 - u)}{Q} + \frac{1}{Q} \pm [2(1 - u) + 3\alpha a_s] \sqrt{1/a_s^2 - 1} > 0 \quad (D.6.12)
 \end{aligned}$$

Considérons maintenant les différentes situations selon le signe de la branche retenu.

► *Solution “-” : Etude de la stabilité de la branche u_-^D*

$$D.6.12 \Leftrightarrow 2(1 - u) \left[\frac{1}{Q} - \sqrt{1/a_s^2 - 1} \right] + \frac{1}{Q} - 3\alpha a_s \sqrt{1/a_s^2 - 1} > 0 \quad (D.6.13)$$

La discussion sur le signe du préfacteur de $2(1 - u)$ est importante. Selon la valeur de a par rapport à la valeur critique $a_{crit} = (1 + Q^{-2})^{-1/2}$, le signe de l'inéquation est renversé. Ces deux possibilités peuvent être résumées en une seule condition de stabilité de la branche de solution de la forme :

$$\begin{cases} u_-^D > u_-^{crit} & \text{si } a > (1 + Q^{-2})^{-1/2} \\ u_-^D < u_-^{crit} & \text{si } a < (1 + Q^{-2})^{-1/2} \end{cases} \quad \text{avec } u_-^{crit} = 1 - \frac{1 - 3Q\alpha a^2 \sqrt{1/a^2 - 1}}{2(1 - Q\sqrt{1/a^2 - 1})} \quad (D.6.14)$$

Le calcul exact de l'amplitude critique à partir de laquelle la stabilité évolue n'étant pas analytique, le critère est obtenu à partir de l'approximation $u = 1$ qui permet en particulier d'écrire que $\sqrt{1 - (ua_s)^2} \simeq \sqrt{1 - a_s^2}$ (équation D.6.12). C'est l'approximation faite ici qui introduit le plus d'erreur dans le calcul. Il en résulte que la condition déduite n'est pas exacte, ce qui explique la différence entre la valeur théorique de l'amplitude critique à partir de laquelle le point d'inflexion apparaît rendant la branche instable et celle qui est observée à partir des expressions exactes (cf. texte chapitre II et figure II.11).

► *Solution “+” de l'inéquation : Etude de la stabilité de la branche u_+^D*

La discussion est dans ce cas simplifiée. On a :

$$D.6.12 \Leftrightarrow 2(1 - u) \left[\frac{1}{Q} + \sqrt{1/a_s^2 - 1} \right] + \frac{1}{Q} + 3\alpha a_s \sqrt{1/a_s^2 - 1} > 0 \quad (D.6.15)$$

Le signe du préfacteur de $2(1 - u)$ étant toujours positif, la condition de stabilité est donc réduite à :

$$u_+^D > u_+^{crit} = 1 - \frac{1 + 3Q\alpha a^2 \sqrt{1/a^2 - 1}}{2 \left(1 + Q\sqrt{1/a^2 - 1}\right)} \quad (\text{D.6.16})$$

Annexe E

Simulations numériques

Annexe E

Simulations numériques

Cette annexe détaille certains éléments techniques relatifs aux simulations numériques du mode Tapping. Les simulations envisagées sont celles d'une courbe d'approche-retrait qui serait réalisée sur une surface ou sur une couche organique et d'une section qui présenterait un objet de symétrie sphérique en simulant l'asservissement de la position verticale de la céramique piézoélectrique.

Le langage utilisé est du C^{++} avec un compilateur BORLAND[©] (version 5.02) fonctionnant sur une plateforme WINDOWS NT[©] (TERMINAL SERVER EDITION, Service Pack 5). La carte mère de la machine présente deux processeurs PENTIUM III[®] cadencés à $500MHz$ avec $256Mo$ de mémoire vive. L'intérêt du langage et de la plateforme retenus est de pouvoir exploiter pleinement le codage sur $32bits$.

Beaucoup des relations utilisées ci-après peuvent être retrouvées aux chapitres I.4 et II. Précisons encore que les notations retenues ici sont similaires à celles indiquées dans le texte et ne sont pas redéfinies.

E.1 Prérequis

E.1.a Unités

Les diverses grandeurs sont définies dans des unités adaptées à l'échelle des phénomènes ce qui permet de limiter la répercussion des erreurs numériques en utilisant des nombres flottants en double précision (cf. tableau E.1).

E.1.b Critère d'adiabaticité

A chaque étape de l'intégration de l'équation du mouvement, l'oscillateur doit se trouver dans son état stationnaire. Cela suppose que tous les déplacements envisagés

Dimension	Unité
$[M]$	ng
$[L]$	nm
$[T]$	μs
$[T^{-1}]$	MHz
$[MLT^{-2}]$	nN
$[ML^2T^{-2}]$	$10^{-18} J$

TABLEAU E.1: Unités des différentes dimensions.

soient très lents devant le temps caractéristique de l'oscillateur (cf. chapitre II). En notant V la vitesse des déplacements¹, une formulation possible du critère d'adiabaticité est que la distance parcourue par la surface pendant le temps caractéristique d'amortissement τ de l'oscillateur est très faible devant l'amplitude des oscillations A_0 :

$$V\tau \ll A_0 \quad (\text{E.1.1})$$

V est définie sur un intervalle de distance connu. Expérimentalement, l'extension verticale de la céramique piézoélectrique sur laquelle la courbe d'approche-retrait est réalisée est fixée (cf. figure E.1). Soit $V = (D_{fin} - D_{init}) / (t_{fin} - t_{init})$. t_{init} étant fixé au moment où le stationnaire est atteint, c'est-à-dire avant le début de la courbe d'approche-retrait, la relation II.1.10 revient à fixer une contrainte sur t_{fin} . Par définition, $\tau = \beta_0^{-1} = 2Q/\omega_0$ (relation II.1.6), donc :

$$\Delta t \gg \frac{Q\Delta D}{\omega_0 A_0} \quad (\text{E.1.2})$$

Or Δt est égal au nombre de périodes d'oscillations sur la durée de la courbe, c'est-à-dire $\Delta t = N_P \times 2\pi/\omega_0$. Soit :

$$N_P \gg \frac{Q\Delta D}{A_0} \quad (\text{E.1.3})$$

Pour tenir compte de la contribution du déplacement vertical, de l'amplitude et du facteur de qualité de l'oscillateur, le critère d'adiabaticité pour l'oscillateur peut finalement être réécrit sous la forme :

$$N_P = N_Q \times Q \times \frac{\Delta D}{A_0} \quad \text{avec} \quad N_Q \gg 1 \quad (\text{E.1.4})$$

Cette formulation présente l'avantage de dépendre explicitement du facteur de qualité de l'oscillateur de sorte que, une fois les paramètres saisis, si la condition $N_Q \gg 1$ est vérifiée, l'oscillateur doit se trouver à chaque étape de l'implémentation dans son état stationnaire.

Pour les grands facteurs de qualité, le nombre de périodes d'oscillations nécessaires à tout le calcul, c'est-à-dire sur toute la durée de la courbe d'approche-retrait, est allongé de façon conséquente et donc le temps de la simulation également.

¹ Sans plus de précision, le déplacement ici envisagé peut être un déplacement vertical comme dans le cas de la courbe d'approche-retrait mais également un déplacement latéral comme dans celui de la section.

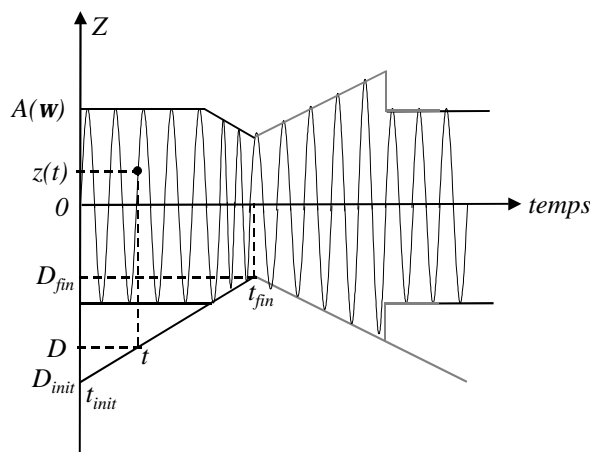


FIGURE E.1: Géométrie de la simulation d'une courbe d'approche-retrait.

E.2 Courbe d'approche-retrait sur une surface

E.2.a Géométrie du problème et construction de la simulation

Nous envisageons une géométrie du problème similaire à celle de l'expérience. Le zéro est situé à la position d'équilibre au repos de l'oscillateur. L'extension verticale de la surface est donc définie sur un intervalle de distances algébriquement négatives. La figure E.1 schématise la façon dont est faite la courbe d'approche-retrait numérique. Certains des éléments qu'elle présente sont en outre détaillés au paragraphe suivant et peuvent aussi être trouvés en référence [14].

L'équation différentielle à intégrer est la suivante :

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q}\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) + \frac{\mathcal{F}_{int}}{m^*} \quad (\text{E.2.1})$$

Nous ne discutons pour l'instant que la façon dont sont calculées l'amplitude et la phase des oscillations. Les paramètres fixés sont, à ce niveau, tous les paramètres caractéristiques de l'oscillateur : amplitude et phase libres, amplitude et fréquence à la résonance, masse, raideur... et ceux de l'excitation : fréquence et force.

L'équation précédente est intégrée pas à pas à partir d'une méthode de Runge-Kutta 4 (RK4) à partir de conditions initiales arbitraires, typiquement $z(t=0) = 0$ et $\dot{z}(t=0) = 5$. Compte tenu de la puissance de la plateforme, le nombre de points de calcul n'est pas un facteur très limitant et les courbes d'approche-retrait numériques sont susceptibles d'être obtenues avec des paramètres assez semblables à ceux des courbes d'approche-retrait expérimentales (cf. ci-après).

La résolution numérique des équations du mouvement est faite tous les $\delta t = T_0/N_p = (N_p \times \nu_0)^{-1}$, N_p étant le nombre de points par période d'oscillations² et T_0 la période des oscillations. Nous retenons généralement, $N_p = 1000$. La période de l'oscillateur est, elle, adaptée selon la situation. Pour $T_0 = 3,33\mu s$ ($\nu_0 = 300kHz$), l'échantillonnage numérique est fait toutes les $3,33ns$. L'équation est ainsi intégrée à partir de $t = 0$ pendant un intervalle de temps $\Delta t \simeq 30\tau$ de sorte qu'au bout de Δt , l'oscillateur soit dans son état stationnaire. Sur cet intervalle de temps, la surface reste immobile (cf. figure E.1). A partir de ce moment, $t = t_{init}$, la position de la surface commence à être déplacée à la vitesse $V = (D_{fin} - D_{init}) / (t_{fin} - t_{init})$.

Le calcul de l'amplitude et de la phase des oscillations est obtenu à partir de la simulation d'une détection synchrone susceptible de filtrer n'importe quelle harmonique des oscillations. La première harmonique est retenue ($n = 1$ dans la relation E.2.2). Le calcul de la valeur efficace de l'amplitude et du déphasage est réalisé en tenant compte des périodes d'échantillonnage de l'expérience. La période la plus courte, T_{ech} , est de 2×512 points à la fréquence de $27,9Hz$, soit $T_{ech} = (1024 \times 27,9)^{-1} \simeq 35\mu s$. Toutefois, les courbes d'approche-retrait expérimentales ne sont jamais enregistrées à ces fréquences en raison du critère d'adiabaticité. Les fréquences retenues sont plutôt de l'ordre de $0,5$ ou $0,3Hz$.

Dans ces conditions, $T_{ech} = (1024 \times 0,3)^{-1} \simeq 3,25ms$. La détection de la valeur efficace est donc faite sur $N_{Pech} = 3250/3,33 \simeq 975$ périodes. Toutes les $T_{ech} = N_{Pech} \times N_p \delta t$, l'amplitude et la phase des oscillations sont données par les relations :

$$\bar{A} = 2 \times \frac{\sqrt{\{\tilde{z}_c^2 + \tilde{z}_s^2\}}}{N_{Pech} \times N_p} \quad (E.2.2)$$

et :

$$\varphi = \arctan\left(\frac{\tilde{z}_s}{\tilde{z}_c}\right), \quad (E.2.3)$$

avec les expressions littérales de \tilde{z}_c et de \tilde{z}_s sous forme intégrale :

$$\begin{cases} \tilde{z}_c = \frac{1}{T_{ech}} \int_0^{T_{ech}} z(t) \times \cos(n\omega t) dt \\ \tilde{z}_s = \frac{1}{T_{ech}} \int_0^{T_{ech}} z(t) \times \sin(n\omega t) dt \end{cases}, \quad (E.2.4)$$

qui deviennent, sous forme discrète :

$$\begin{cases} \tilde{z}_c = \sum_{p=1}^{N_{Pech} \times N_p} z(p\delta t) \times \cos(n\omega \times p\delta t) \\ \tilde{z}_s = \sum_{p=1}^{N_{Pech} \times N_p} z(p\delta t) \times \sin(n\omega \times p\delta t) \end{cases} \quad (E.2.5)$$

Prenons un exemple avec une courbe d'approche-retrait qui serait réalisée sur $20nm$ d'extension verticale à la fréquence $\nu = 0,3Hz$ pour le cycle complet d'approche et de retrait et sur 2×512 points, c'est-à-dire $V = 12nm.s^{-1}$. A cette fréquence, $T_{ech} = 3,25ms$

² A ne pas confondre avec N_p , défini à partir du critère d'adiabaticité, qui correspond au nombre total de périodes d'oscillations pour toute la durée de la courbe d'approche-retrait

($N_{Pech} = 975$), avec un oscillateur qui résonne à $300kHz$ et un facteur de qualité de 350, le nombre de périodes nécessaires à tout le calcul vaut :

$$N_P = \frac{1}{\nu T_{ech}} \times N_{Pech} \simeq 10^6, \quad (\text{E.2.6})$$

supposant un nombre de points de calcul $N_p \simeq 10^9$. Pour $A_0 = 40nm$, il faut donc, pour valider le critère d'adiabaticité :

$$N_Q = \frac{A_0}{Q\Delta d} N_P \simeq 5700 \quad (\text{E.2.7})$$

Avec les ressources dont nous disposons, il faut 40 minutes pour obtenir la courbe. Les simulations numériques présentées dans ce travail ont donc souvent été réalisées avec des facteurs de qualité plus faibles.

E.2.b Situations de non-contact et de contact intermittent

En non-contact, dans le cadre de la géométrie retenue et pour une interaction dispersive sphère-plan, l'équation différentielle à intégrer est la suivante :

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q} \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) - \frac{HR}{6m^* [D - z(t)]^2} \quad (\text{E.2.8})$$

Les paramètres fixés sont, en plus des précédents, les valeurs de la constante de Hamaker et du rayon de la pointe.

Le critère de contact est fixé par la valeur de la distance de contact $d_c = 0,165nm$. Dès que $D - z(t) > d_c$, la pointe est au contact et commence à s'indenter dans la surface (cf. figure E.2). L'échantillon est décrit par un schéma mécanique équivalent analogue à celui du levier (cf. figure E.2). La force attractive est saturée et prend la valeur de la force adhésive. Elle est ensuite supposée constante quelle que soit l'indentation de la pointe dans la surface (théorie DMT). Au contact, pour un modèle élastique de type Hertz, l'équation à résoudre est la suivante :

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q} (1 + \eta) \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) - \frac{HR}{6m^* d_c^2} + \frac{2}{3m^*} k_s(\delta) \times \delta, \quad (\text{E.2.9})$$

où $k_s(\delta) = 2E_s \sqrt{R\delta} / (1 - \sigma^2)$. δ est l'indentation de la pointe dans la surface définie par $\delta = D + d_c - z(t) > 0$. $\eta = \tau/\tau_s$ est défini comme le rapport des temps caractéristiques d'amortissement de l'oscillateur et de l'échantillon. Concernant le contact, les paramètres fixés en plus sont le module élastique de la surface, le coefficient de Poisson et η .

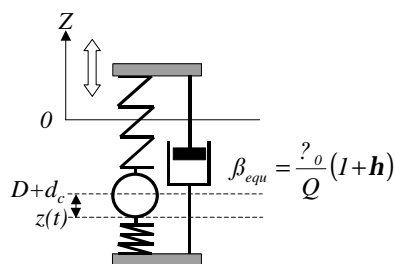


FIGURE E.2: Schéma équivalent du contact entre la pointe oscillante et la surface.

E.2.c Optimisations et perspectives

Les optimisations à faire sur les programmes sont avant tout liées à la diminution des temps de calcul, liés au facteur de qualité de l'oscillateur. On peut envisager, compte tenu de la quasi-harmonicité de la solution, de rechercher un système d'équations portant sur les variations lentes de l'amplitude $A(t)$ et de la phase $\varphi(t)$, par rapport à la période de l'oscillation (cf. étude de la stabilité de l'oscillateur de Duffing développée en annexe D). On peut s'attendre théoriquement à une réduction du temps de calcul de l'ordre du nombre de points retenu par période d'oscillation.

E.3 Courbe d'approche-retrait sur une couche organique

Ces simulations ont été initiées par les résultats obtenus sur les couches auto-assemblées du LCOO (cf. chapitre VI). Il s'agissait de décrire la réponse de l'oscillateur à une couche d'épaisseur donnée, greffée sur un substrat dur. La courbe d'approche-retrait est réalisée de façon identique à la description précédente. Par contre, celle de la surface est légèrement modifiée. La réponse de l'oscillateur est maintenant contrôlée par la profondeur de pénétration de la pointe dans la surface. En notant ξ l'épaisseur de la couche, si $\delta = D - z(t) + d_c < \xi$, la pointe teste la couche, sinon le substrat (cf. figure E.3). D'un point de vue mécanique, nous n'avons pas décrit les interactions entre couches.

E.4 Reconstruction de section

Il s'agit ici d'obtenir la section numérique d'un objet de symétrie sphérique qui présenterait des lignes de dipôles le long de ses côtés. L'objet est imagé en mode Tapping en tenant compte de l'asservissement de la position de la surface à l'amplitude des oscillations.

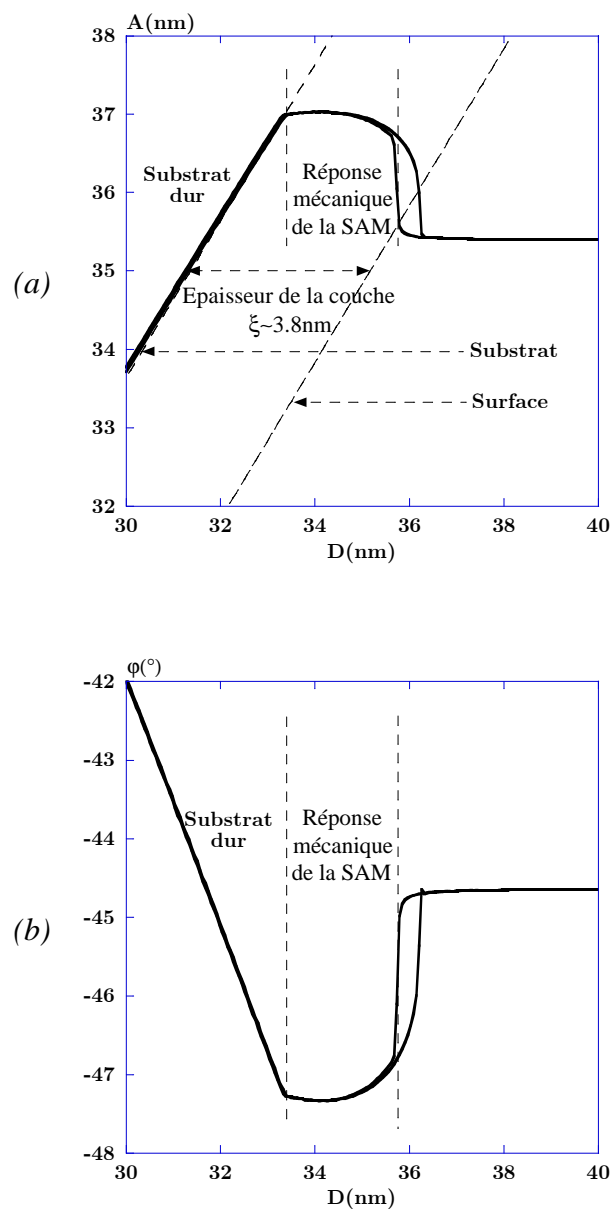


FIGURE E.3: Simulation numérique d'une courbe d'approche-retrait en amplitude (a) et en phase (b) sur une couche d'épaisseur $\xi = 3,8$ nm. Les paramètres numériques sont $A_0 = 50$ nm, $\nu_0 = 150$ kHz, $u = 0,99875$, $Q = 400$ définissant des conditions d'oscillations libres égales à $A_l = 35,6$ nm et $\varphi_l = -45^\circ$. Le rayon de la pointe est de 1 nm. Les paramètres de la SAM sont $H_{SAM} = 6.10^{-20}$ J, $E_{SAM} = 20$ MPa, $\xi = 3,8$ nm et ceux du substrat $H_{sub} = 10^{-20}$ J et $E_{sub} = 100$ GPa.

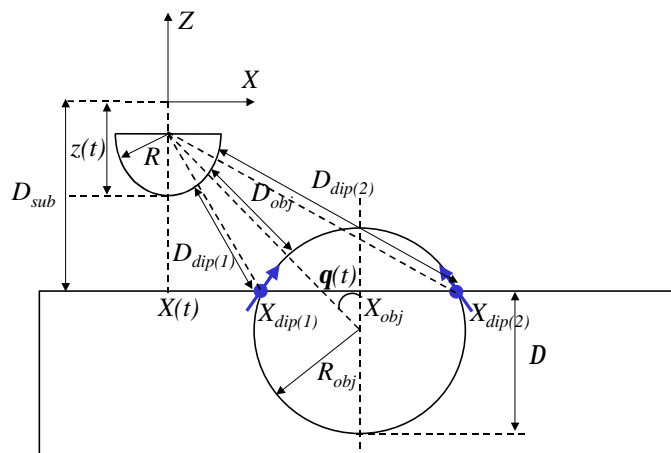


FIGURE E.4: Géométrie de la section numérique.

E.4.a Géométrie du problème

La géométrie envisagée est celle de la figure E.4. L'objet, de symétrie sphérique, est placé sur l'axe de la section. Deux lignes de dipôles sont placées arbitrairement³ sur les flancs de l'objet.

Pour fixer le langage utilisé, nous distinguerons la notion de “surface” et celle de “substrat”. La surface, de façon générique, correspondra à la position géométrique du substrat et/ou de l'objet qui sera susceptible de décrire, vis-à-vis de la pointe, le passage d'une situation de non-contact vers une situation de contact intermittent. La notion de substrat ne sera réservée qu'à la position géométrique de la surface si aucun objet n'y était déposé. Ainsi, si la surface est décrite à partir de deux paramètres, le substrat, quant à lui, ne le sera que par un seul (cf. ci-après).

On déduit donc aisément les relations suivantes :

$$D_{obj}(z(t); X(t)) = \sqrt{[R - R_{obj} + z(t) - D_{sub} - \Delta]^2 + [X_{obj} - X(t)]^2} - (R + R_{obj}) \quad (\text{E.4.1})$$

$$D_{dip(i)}(z(t); X(t)) = \sqrt{[R + z(t) - D_{sub}]^2 + [X_{dip(i)} - X(t)]^2} - R \quad (\text{E.4.2})$$

E.4.b Construction de la simulation

Le programme réalise une courbe d'approche-retrait suffisamment loin de l'objet pour qu'un éventuel contact n'intervienne pas et que le point de fonctionnement ne soit contrôlé que par l'interaction de la pointe avec la surface. Une fois le point de fonctionnement obtenu, le balayage dans le plan est initié.

³ cf. texte du chapitre V pour la discussion physique concernant la position de la ligne de dipôles.

Le paramètre clef de la simulation est le temps qui est incrémenté sans cesse. La surface est ainsi déplacée pour chaque pas d'intégration. Les paramètres numériques de l'asservissement doivent tenir compte de cette contrainte que nous nous sommes fixés pour reproduire le principe de fonctionnement de la machine au plus près. Donc par rapport à une courbe d'approche-retrait simple, le programme doit tenir compte à la fois de la position verticale de la pointe mais également de sa position horizontale.

Les paramètres caractéristiques du balayage sont la taille de la zone, S , la vitesse de balayage, V_b , et le nombre de points pour la section, N_S . Le temps est incrémenté tous les δt , comme pour une courbe d'approche-retrait, mais entre chaque point, le balayage suppose d'incrémenter X de $\delta X = V_b \times \delta t$.

E.4.c Equations du mouvement

Les équations du mouvement de l'oscillateur sont intégrées pour chaque nouvelle position de la pointe. Les deux paramètres d'importance qui contrôlent les situations de contact intermittent ou de non-contact de la pointe avec la surface sont d'une part la distance de la pointe au substrat et d'autre part celle de la pointe à l'objet (cf. figure E.4). Le modèle de contact élastique retenu est de type Hertzien et l'adhésion de type DMT.

Plusieurs cas sont à envisager

- 1- La pointe est en non-contact avec la surface.
- 2- La pointe est au contact du substrat mais pas de l'objet
- 3- La pointe est au contact de l'objet mais pas du substrat
- 4- La pointe est à la fois au contact de l'objet et du substrat

A chacun des cas correspond des équations du mouvement spécifiques, la difficulté essentielle étant de décrire la transition de l'une à l'autre de façon continue. Le critère de contact est fixé comme précédemment par la distance de contact d_c .

Si aucun contact n'existe entre la pointe et la surface, la pointe teste les contributions dispersives du substrat et de l'objet et la contribution de Debye de la ligne de dipôles :

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q} \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) - \frac{H_{sub} R}{6m^* [D_{sub} - z(t)]^2} - \frac{H_{obj} R^*}{6m^* D_{obj}(z(t); X(t))^2} - \frac{C_{Debye}}{m^*} \sum_{i=1,2} \frac{1}{D_{dip(i)}(z(t); X(t))^{7/2}} \quad (\text{E.4.3})$$

En envisageant les seuls contacts de la pointe dans le substrat :

$$\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q} (1 + \eta_{sub}) \dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) = \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) \quad (\text{E.4.4})$$

$$\begin{aligned}
& -\frac{H_{sub}R}{6m^*d_c^2} + \frac{2}{3m^*}k_{sub}(\delta_{sub}) \times \delta_{sub} \\
& -\frac{H_{obj}R^*}{6m^*D_{obj}(z(t); X(t))^2} \\
& -\frac{C_{Debye}}{m^*} \sum_{i=1,2} \frac{1}{D_{dip(i)}(z(t); X(t))^{7/2}}
\end{aligned}$$

ou de la pointe dans l'objet⁴ :

$$\begin{aligned}
\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q}(1 + \eta_{obj})\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) &= \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) - \frac{H_{sub}R}{6m^*[D_{sub} - z(t)]^2} \quad (\text{E.4.5}) \\
& -\frac{H_{obj}R^*}{6m^*d_c^2} + \frac{2}{3m^*}k_{obj}(\delta_{obj}) \times \delta_{obj} \times \cos(\theta) \\
& -\frac{C_{Debye}}{m^*} \sum_{i=1,2} \frac{1}{D_{dip(i)}(z(t); X(t))^{7/2}}
\end{aligned}$$

Si maintenant la pointe est à la fois au contact du substrat et de l'objet :

$$\begin{aligned}
\ddot{z}(t) + \frac{\omega_0}{Q}(1 + \eta_{sub} + \eta_{obj})\dot{z}(t) + \omega_0^2 z(t) &= \frac{\mathcal{F}_{exc}}{m^*} \cos(\omega t) \quad (\text{E.4.6}) \\
& -\frac{H_{sub}R}{6m^*d_c^2} + \frac{2}{3m^*}k_{sub}(\delta_{sub}) \times \delta_{sub} \\
& -\frac{H_{obj}R^*}{6m^*d_c^2} + \frac{2}{3m^*}k_{obj}(\delta_{obj}) \times \delta_{obj} \times \cos(\theta) \\
& -\frac{C_{Debye}}{m^*} \sum_{i=1,2} \frac{1}{D_{dip(i)}(z(t); X(t))^{7/2}}
\end{aligned}$$

Donc à chaque incrémentation du temps, un test du contact est effectué et le programme intègre l'équation différentielle associée.

E.4.d L'asservissement

Le principe de l'asservissement PI (proportionnel et intégral) de la céramique piézoélectrique est de comparer la valeur du signal mesuré, dans notre cas la racine carrée de l'amplitude carrée moyenne des oscillations, $\overline{A_{mes}}$, au signal de référence, c'est-à-dire l'amplitude des oscillations au point de fonctionnement, A_{ref} . Si $\overline{A_{mes}} > A_{ref}$, la céramique monte, sinon elle descend, définissant un signal d'erreur : $\varepsilon = \overline{A_{mes}} - A_{ref}$. Le caractère proportionnel de l'asservissement est que la céramique monte ou descend d'une quantité égale $g \times \varepsilon$. Nous avons retenu $g = 1$. Par ailleurs, la composante intégrale n'a pas été simulée. Nous nous contentons d'une simple moyenne du signal d'erreur sur un intervalle de temps adapté (cf. ci-dessous). Pour toutes les simulations qui ne font pas

⁴ La composante de la force est projetée le long de l'axe Z, d'où le $\cos(\theta)$.

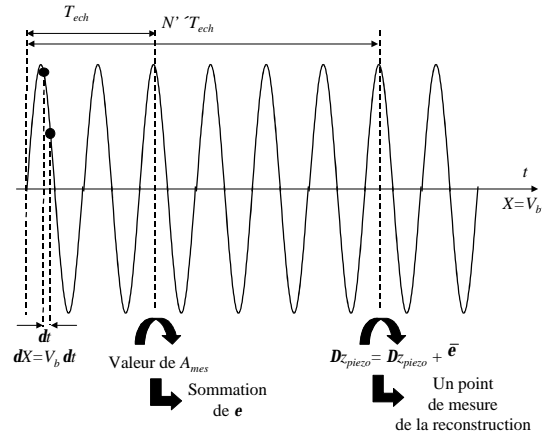


FIGURE E.5: Représentation schématique de l'asservissement numérique.

apparaître d'instabilités de l'oscillateur, la qualité de l'asservissement réalisé est bonne et permet d'obtenir les sections.

Raisonnons en termes de temps⁵ : $\overline{A_{mes}}$ est mesurée tous les $T_{ech} = N_p \times N_{Pech} \times \delta t$. Pour N_S points par section, chaque point est évalué tous les T_S/N_S , où T_S est le temps mis pour exécuter la section. Il est défini à partir de la taille S de la section et de la vitesse de balayage, V_b , par la relation : $T_S = S/V_b$. Il y a donc $N' = T_S/(N_S T_{ech})$ évaluations de $\overline{A_{mes}}$ avant l'obtention d'un point de la section. ε est ainsi moyenné sur N' mesures de $\overline{A_{mes}}$. La céramique est déplacée de cette valeur moyenne de ε , $\bar{\varepsilon}$, tous les $N' \times N_p \times N_{Pech} \times \delta t$ (cf. figure E.5).

Numériquement, T_S , N_S , N_p et δt (via ν_0) étant fixés initialement, c'est N_{Pech} qui contrôlera la valeur de N' . L'intégration sera d'autant plus marquée que N' sera faible (N_{Pech} grand) et inversement (N_{Pech} petit).

► *Ordres de grandeur :*

Expérimentalement, on sait que la céramique piézoélectrique asservi, au plus, à $35\mu s$. Cela correspond à des fréquences de balayage de l'ordre de $55Hz$ par ligne pour des lignes de 512 points. En considérant un ordre de grandeur plus cohérent des fréquences de balayage avec le mode dynamique, et notamment en vue de respecter le critère d'adiabaticité, nous retiendrons⁶ $1Hz$ et 512 ou 1024 points par ligne.

En considérant une section $S = 50nm$ de $N_S = 512$ points, balayée à la vitesse de $V_b = 50nm.s^{-1}$, alors $T_S = 1s$. Pour $N_{Pech} \simeq 500$, $N_p = 1000$ et $\delta t = T_0/N_p = (N_p \times \nu_0)^{-1} = 3,33.10^{-9}s$ pour $\nu_0 = 300kHz$, alors $T_{ech} = 1,66ms$. Donc $N' = 1/(512 \times 1,66.10^{-3}) \simeq 2$ puisque N' est entier.

Ces ordres de grandeur, pour les sections envisagées, assurent une qualité de l'asservissement de la valeur de référence à quelques dizaines de picomètres près (cf. paragraphe suivant).

⁵ Cette discussion pourrait être reprise en termes d'abscisse X compte tenu de la relation $\delta X = V_b \times \delta t$.

⁶ Expérimentalement, les images sont même enregistrées avec des fréquences plus basses, de l'ordre de 0,5 ou 0,3Hz. Toutefois, pour les sections envisagées, de quelques dizaines de nanomètres, la fréquence de $1Hz$ définit des vitesses de balayage suffisamment faibles pour que l'oscillateur soit toujours dans son état stationnaire.

E.4.e Étape de validation

La validation de la simulation a été de vérifier la qualité de l'asservissement. Dans les situations de contact intermittent, cela devait en particulier conduire à reproduire le profil apparent de la section. En retenant un module élastique de l'objet important, la section apparente devait être identique à celle obtenue à partir des relations analytiques VI.2.1 et VI.2.2. Les résultats obtenus montrent que l'asservissement est fiable à $10^{-3}A_{ref}$ près, c'est-à-dire compte tenu des paramètres retenus, à quelques dizaines de picomètres près (cf. figure E.6).

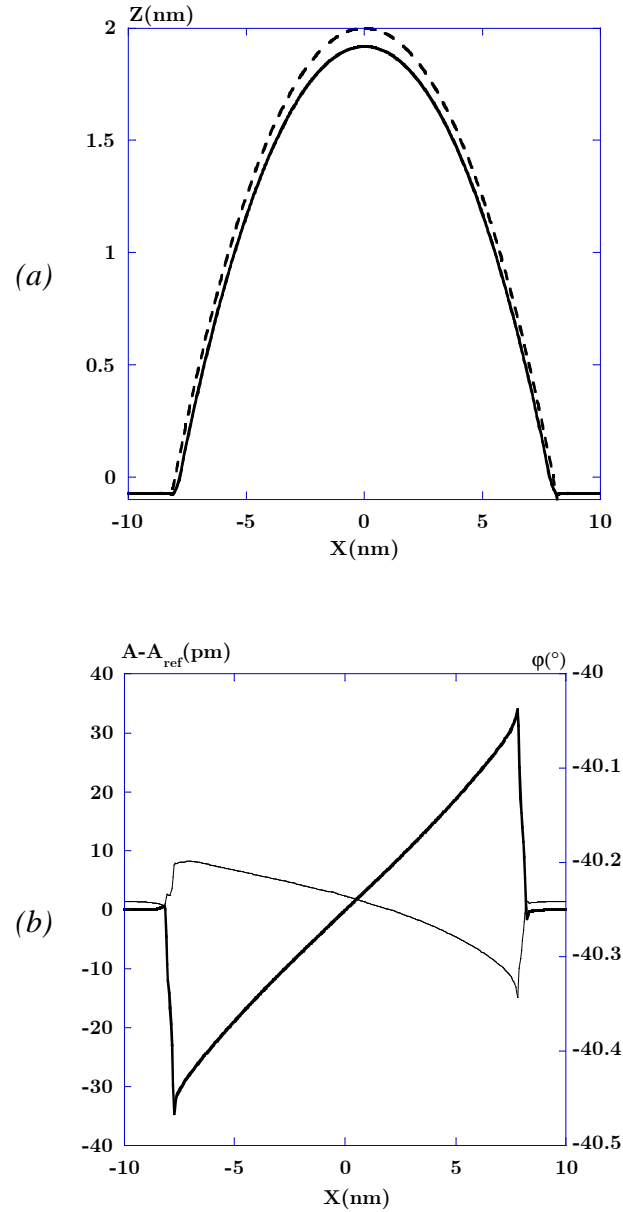


FIGURE E.6: Validation de l'asservissement numérique de la position de la surface à l'amplitude des oscillations. Les paramètres numériques sont $A_0 = 49\text{nm}$, $\nu_0 = 150\text{kHz}$, $u = 0,9975$ et $Q = 200$ définissant des conditions d'oscillations libres $a_l = 0,708$ ($A_l = 34,735\text{nm}$) et $\varphi_l = -45^\circ$. La raideur du levier est de $4,44\text{N.m}^{-1}$ et le rayon de la pointe $R = 10\text{nm}$. Le point de fonctionnement retenu est $A = 32\text{nm}$. La section a été calculée sur 40nm , balayée à la fréquence de 1Hz et avec 1024 points. Les paramètres du substrat et de l'objet sont identiques et valent $H_{\text{sub}} = H_{\text{obj}} = 10^{-20}\text{J}$, $E_{\text{sub}} = E_{\text{obj}} = 100\text{GPa}$ et $\eta_{\text{sub}} = \eta_{\text{obj}} = 0$. L'objet présente un rayon de 7nm pour une hauteur de 2nm . (a)- Section. (b)- Variations de la différence entre l'amplitude mesurée et l'amplitude de référence de 32nm (traits épais) et phase (traits fins). Les variations de l'amplitude ne sont que de quelques dizaines de picomètres par rapport à l'amplitude de référence, c'est-à-dire de l'ordre de 10^{-3} ce qui assure une qualité de l'asservissement très satisfaisante. Dans le même temps, la phase ne varie que très peu.

Annexe F

Séquence du pSP65

Annexe F

Séquence du pSP65

```

1 gaatacacgga aattcgagct cgcccgggga tcctctagag tcgacctgca gcccgaagctt
61 ggcgtaatca tggatcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca
121 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctgggggt gcctaattgag tgagctaact
181 cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc ttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct
241 gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc
301 ttctcgcctc actgactcgc tgcgctcggg cgttcgctcg cggcgagcgg tatcagctca
361 ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg
421 agcaaaaaggc cagcaaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcggttgctgg cgtttttcca
481 taggctccgc cccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa
541 cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc
601 tgttccgacc ctgcccgtta ccggatacct gtcccgcctt ctcccctcgg gaagcgtggc
661 gctttctcat agctcacgct gtaggatctc cagttcgggtg taggtcgctt cgtccaagct
721 gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg
781 tcttgagctc aaccgggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag
841 gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta
901 cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcccctcg ctgaagccag ttaccttcgg
961 aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtgggttttt
1021 tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt
1081 ttctacgggg tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggatct ttggatcatg
1141 attatcaaaa aggatcttca cctagatcct ttaaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat
1201 ctaaagtata tatgagtaaa cttgggtctga cagttaccaa tgcttaataca gtgaggcacc
1261 tatctcagcg atctgtctat ttctgtcatc catagttgct tgactccccg tcgtgtagat
1321 aactacgata cgggagggct taccatctgg ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc
1381 acgctaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag
1441 aagtggctct gcaactttat ccgctccat ccagctctatt aattgttgcc gggaaagctag
1501 agtaagtagt tcgccagtta atagtttgog caacggtgtt gccattgcta caggcatcgt
1561 ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg
1621 agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcgggttagc tccttcggtc ctccgatcgt
1681 tgtcagaagt aagttggcog cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataatct
1741 tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc
1801 attctgagaa tagtgatgac ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgctcaa tacgggataa
1861 taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacggt ctccggggcg
1921 aaaactctca aggatcttac cgtgttgag atccagttcg atgtaaccca ctctgacacc
1981 caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtagcaca aaacaggaag
2041 gcaaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt
2101 cttttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttatgt ctcatgagcg gatacatatt
2161 tgaatgtatt tagaaaaata acaaaatagg ggttccgccc acatttcccc gaaaatggcc
2221 acctgacgct taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac
2281 gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcggtga tgacgggtgaa aacctctgac acatgacgct
2341 cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgcccgg agcagacaag ccgctcaggg
2401 cgcgtcagcg ggtgttgccg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcccgat cacagacgat
2461 tgtactgaga gtgcaccata tcgacgctct cccttatgcg actcctgcat taggaagcag
2521 cccagtagta ggttgaggcc gttgagcacc gccgcccga ggaatggtgc atgcaaggag
2581 atggcgccca acagtcccc ggccacgggg cctgccacca taccacgccc gaaacaagcg
2641 ctcatgagcc cgaagtggcg agcccgatct tccccatcgg tgatgtcggc gatataggcg
2701 ccagcaaccg cacctgtggc gccggtgatg ccggccacga tgcgtccggc gtagaggatc
2761 tggctagcga tgacctgct gatgggttcg ctgaccattt ccggggtgog gaacggcgctt
2821 accagaaact cagaaggttc gtccaaccaa accgactctg acggcagttt acgagagaga
2881 tgataggttc tgcttcagta agccagatgc tacacaatta ggcttgatac tattgtcgtt
2941 agaacgcggc tacaattaat acataacctt atgtatcata cacatacgat ttaggtgaca
3001 ctata

```

FIGURE F.1: *Séquence du pSP65.*

Bibliographie

Bibliographie

- [1] Binnig, G., Quate, C.F., Gerber, C. *Phys. Rev. Lett.* **56**, 930–933 (1986).
- [2] Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C., Weibel, E. *Phys. Rev. Lett.* **49**, 57 (1982).
- [3] Sarid, D. *Scanning Force Microscopy with Applications to Electric, Magnetic and Atomic Forces*. Oxford University Press, (1991).
- [4] Sarid, D., Elings, V. *J. Vac. Sci. Technol. B* **9**, 431–437 (1991).
- [5] Elkaakour, Ziad. *La Microscopie À Force Atomique Comme Moyen D'étude Des Films de Polymères: Evaluation et Proposition D'une Approche Pour la Modification de Structures À L'échelle Submicrométrique*. PhD thesis, Université Bordeaux I, 24 Janvier (1996).
- [6] Mazeran, Pierre-Emmanuel . *Microscopie À Force Atomique et Imagerie Mécanique*. PhD thesis, Ecole Centrale de Lyon, (20 Février 1998).
- [7] Digital Instruments, Veeco Metrology Group, Santa Barabara CA (USA).
- [8] Integrated Dynamics Engineering GmbH, Karl Liebkecht-Str. 30 D-65479 Raunheim.
- [9] Albrecht, T.R., Akamine, S., Carver, T.E., Quate, C.F. *J. Vac. Sci. Technol. A* **8**, 3386 (1990).
- [10] Lot Oriel, 9, avenue de Laponie. F-91951 Courtaboeuf Cedex.
- [11] Sugarawa, Y., Otha, M., Ueyama, H., Morita, S. *Science* **270**, 1646 (1995).
- [12] Tomitori, M., Arai, T. *Appl. Surf. Sci* **140**, 432–438 (1999).
- [13] Gleyzes, P., Kuo, P.K., Boccara, A.C. *Appl. Phys. Lett.* **58**, 25 (1991).
- [14] Michel, Denis. *Applications de la Microscopie À Force Atomique En Contact et Contact Intermittent À L'étude Des Polymères: Contraste Mécanique À L'échelle Du Nanomètre*. PhD thesis, Université Bordeaux I, 12 Décembre (1997).
- [15] Basire, C., Fretigny, C. *Experimental Study of the Friction Regimes on Viscoelastic Materials*. ACS Symposium Series, (2000).
- [16] Geissibl, F.J. *Science* **267**, 68–71 (1995).
- [17] Takano, H., Fujihira, M. *J. Vac. Sci. Technol. B* **14**(2), 1272–1275 (1996).
- [18] Morita, S., Fujisawa, S., Sugarawa, Y. *Surf. Sci. Rep.* **23**(1), 1–41 (1996).
- [19] Hölscher, H., Schwarz, U.D., Zwörner, O., Wiesendanger, R. *Phys. Rev. B* **57**(4),

- 2477–2481 (1998).
- [20] Kitamura, S., Iwatsuki, M. *Jpn. J. Appl. Phys.* **34**(L145-L148) (1995).
- [21] Kitamura, S., Iwatsuki, M. *Jpn. J. Appl. Phys.* **35**(L668-L671) (1996).
- [22] Lüthi, R., Meyer, E., Howald, L., Haefke, H., Anselmetti, D., Dreier, M., Rüetschi, M., Bonner, T., Overney, R.M., Frommer, J., Güntherodt, H.J. *J. Vac. Sci. Technol.* **B 12**, 1673 (1994).
- [23] Bammerlin, M., Lüthi, R., Meyer, E., Baratoff, A., Lü, J., Guggisberg, M., Gerber, C., Howald, L., Güntherodt, H.J. *Probe Microscopy* **1**, 3–9 (1996).
- [24] Schwarz, A., Allers, W., Schwarz, U.D., Wiesendanger, R. *App. Surf. Sci.* **140**, 293–297 (1999).
- [25] *Proceedings of the First International Workshop on Noncontact Atomic Force Microscopy*. Appl. Surf. Sci., (Osaka (Japan) 21-23 Juillet 1998).
- [26] *Proceedings of the Second International Workshop on Noncontact Atomic Force Microscopy*. Appl. Surf. Sci., (Pontresina (Suisse), 1-4 Septembre 1999).
- [27] Albrecht, T.R., Grütter, P., Horne, D., Rugar, D. *J. Appl. Phys.* **69**(2), 668–673 (1991).
- [28] Israelachvili, J.N. *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press, New York, 2nd edition, (1992).
- [29] London, F. *Z. Phys. Chem. (B)* **11**, 222–251 (1931).
- [30] London, F. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **33**, 8–26 (1937).
- [31] Hamaker, H.C. *Physica* **4**, 1058–1072 (1937).
- [32] Lifshitz, E.M. *Soviet Phys. JETP (Traduction Anglaise)* **2**, 73–83 (1956).
- [33] Dzyaloshinskii, I.E., Lifshitz, E.M., Pitaevskii, L.P. *Adv. Phys.* **10**, 165–209 (1961).
- [34] Mahanty, J., Ninham, B.W. *Dispersion Forces*. Academic Press, (1976).
- [35] Landau, L.D., Lifshitz, E.M. *Electrodynamique Des Milieux Continus*. Physique Théorique, Tome 8. MIR, Moscou, 2ème édition, (1990).
- [36] McLachlan, A.D. *Proc. Roy. Soc. Lond. A* **202**, 224–243 (1963).
- [37] McLachlan, A.D. *Mol. Phys.* **6**, 423–427 (1963).
- [38] Hudlet, Sylvain. *Etude Des Propriétés Électrostatiques de Surface Par Microscopie À Force Atomique: L'exemple de la Triboélectricité*. PhD thesis, Université Paris VII Denis Diderot, 24 Juin (1997).
- [39] Horie, C. *Phys. Rev. B* **42**(18), 11757–11761 (1990).
- [40] Tang, H., Joachim, C., Devilliers, J. *Europhysics* **30**(5), 289–294 (1995).
- [41] Komiyama, M., Tazama, K., Tsujimichi, K., Tsujimichi, A., Hirotsu, A. *Jpn. J. Appl. Phys.* **35**, 4101–4104 (1996).
- [42] Tang, H., Girard, C., Joachim, C. *J. Chem. Phys.* **108**, 359 (1997).
- [43] Perez, R., Stich, I., Payne, M.C., Terakura, K. *Phys. Rev. Lett.* **78**(4), 678–681 (1997).
- [44] Georges, J.M. *Microscopic Aspects of Adhesion and Lubrication*. Elsevier, Amsterdam, (1982).

- [45] Lee, L.H. *Fundamentals of Adhesion*. Plenum Press, New-York, (1991).
- [46] Derjaguin, B.V. *Kolloid Zeits* **69**, 155–164 (1934).
- [47] Israelachvili, J.N. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II* **69**, 1729–1738 (1973).
- [48] Aveyard, R., Saleem, S.M. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **72**, 1609–1617 (1976).
- [49] Hough, D.B., White, L.R. *Adv. Colloid Interface Sci.* **14**, 3–41 (1980).
- [50] Tabor, D. *Colloid Dispersions*. Roy. Soc. Chem. Lond., j.w. goodwin edition, (1982).
- [51] Cohen, S.R. *Ultramicroscopy* **42-44**, 66–72 (1992).
- [52] Hu, J., Xiao, X. D., Ogletree, D. F., Salmeron, M. *Science* **2683**, 267–269 (1995).
- [53] Bouhacina, T., Desbat, B., Aimé, J.-P. à paraître dans *Tribology Letters*, (2000).
- [54] Maugis, D. *J. Colloid Interface Sci.* **150**, 243–269 (1992).
- [55] Johnson, K.L. *Contact Mechanics*. Cambridge University Press, Cambridge, Royaume-Uni, (1994).
- [56] Johnson, K.L., Kendall, K., Roberts, A.D. *Proc. Roy Soc. Lond. A* **324**, 301–313 (1971).
- [57] Maugis, D., Gauthier-Manuel, B. *J. Adhesion Sci. Technol.* **8**, 1311 (1994).
- [58] Hertz, H., *Reine Angew. J. Math.* **92**, 156 (1882).
- [59] Derjaguin, B.V., Muller, V.M., Toporov, Y.P. *J. Colloid Interface Sci.* **53**, 314–326 (1975).
- [60] Landau, L.D., Lifchitz, E.M. *Théorie de L'élasticité*. Physique théorique, Tome 7. Editions MIR, Moscou, 2ème édition, (1990).
- [61] Minobe, T., Uchihashi, T., Tsukamoto, T., Orisaka, S., Sugarawa, Y., Morita, S. *Appl. Surf. Sci.* **140**, 298–303 (1999).
- [62] Lévy-Leblond, J.-M. et Balibar, F. *Rudiments Quantiques*. CNRS-InterEditions, (1984).
- [63] Micropolish, Zone industrielle du pradeaux. 13850, Greasque.
- [64] Gauthier, Sandrine. *Greffage de Polymères sur Silice Recouverte Ou Non D'agents de Couplage. Etude Par Microscopie À Force Atomique*. PhD thesis, Université Bordeaux I, (1996).
- [65] Gauthier, S., Aimé, J.-P., Bouhacina, T., Attias, A.-J., Desbat, B. *Langmuir* **12**, 5126–5137 (1996).
- [66] Landau, L.D., Lifchitz, E.M. *Mécanique*. Physique Théorique, Tome 1. Editions MIR, Moscou, 4ème édition, (1988).
- [67] Weigert, S., Dreier, M., Hegner, M. *Appl. Phys. Lett.* **69**(19), 2834–2836 (1996).
- [68] Thompson, J.J. , Stewart, H.B. *Non Linear Dynamics and Chaos*. J. Wiley and sons, New York, (1991).
- [69] Boisgard, R., Michel, D., Aimé, J.-P. *Surf. Sci.* **401**, 199–205 (1998).
- [70] Aimé, J.-P., Couturier, G., Boisgard, R., Nony, L. *Appl. Surf. Sci.* **140**, 333–338 (1999).
- [71] Aimé, J.-P., Boisgard, R., Nony, L., Couturier, G. *Phys. Rev. Lett.* **82**(17), 3388–

- 3391 (1999).
- [72] Nony, L., Boisgard, R., Aimé, J.-P. *J. Chem. Phys.* **111**(4), 1615–1627 (1999).
- [73] Goldstein, H. *Classical Mechanics*. Addison-Wesley, Reading, (1980).
- [74] Chen, J., Workman, R., Sarid, D., Höper, R. *Nanotechnology* **5**, 199 (1994).
- [75] Winkler, R.G., Spatz, J.P., Sheiko, S., Möller, M., Reineker, R., Marti, O. *Phys. Rev. B* **54**, 8908–8912 (1996).
- [76] Anczykowsky, B., Krüger, D., Fuchs, H. *Physical Review B* **53**(23), 15485–15488 (1996).
- [77] Bachelot, R., Gleyzes, P., Boccara, A. *Probe Microscopy* **1**, 89–97 (1997).
- [78] Garcia, R., San Paulo, A. *Phys. Rev. B* **60**(7), 4961–4967 (1999).
- [79] Numerical Recipes Software. *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge university Press, (1988-1992).
- [80] Boisgard, R., Nony, L., Aimé, J.-P. Non publié, (1999).
- [81] Omicron, Vacuumphysik, GmbH. Voir par exemple <http://www.omicron.de>.
- [82] Geissibl, F.J. *Phys. Rev. B* **56**(24), 16010–16015 (1997).
- [83] Couturier, G., Thévenet, N. Non publié, (2000).
- [84] Couturier, G., Aimé, J.-P., Salardenne, J., Boisgard, R. à paraître dans *Applied Physics A*, (2000).
- [85] Manneville, P. *Structures Dissipatives, Chaos et Turbulences*. Aléa Saclay, (1991).
- [86] Gotsmann, B., Seidel, C., Anczykowski, B., Fuchs, H. *Phys. Rev. B* **60**(15), 11051–11061 (1999).
- [87] Gauthier, M. et Tsukada, M. *Phys. Rev. B* **60**(16), 11716–11722 (1999).
- [88] Dorofeyev, I., Fuchs, H., Wenning, G., Gotsmann, B. *Phys. Rev. Lett.* **83**(12), 2402–2405 (1999).
- [89] Bennewitz, R., Foster, A.S., Kantorovich, L.N., Bammerlin, M., Loppacher, Ch., Schär, S., Guggisberg, M., Meyer, E., Shluger, A.L. *Phys. Rev. B* **62**(3), 2074–2084 (2000).
- [90] Aimé, J.-P., Boisgard, R., Nony, L., Couturier, G. soumis à *Journal of Chemical Physics*, (2000).
- [91] Aimé, J.-P., Michel, D., Boisgard, R., Nony, L. *Phys. Rev. B* **59**(3), 2407–2416 (1999).
- [92] Dubourg, F., Aimé, J.-P. *Surf. Sci.* **466**, 137–143 (2000).
- [93] Dubourg, F., Aimé, J.-P. Non publié, (2000).
- [94] Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. *Biologie Moléculaire de la Cellule*. Flammarion.
- [95] Watson, J.D., Hopkins, N.H., Roberts, J.W., Steitz, J.A., Weiner, A.M. *Molecular Biology of the Gene*. Benjamin Cummings Publishing.
- [96] Smith, S.B., Finzi, L., Bustamante, C. *Science* **258**, 1122–1126 (1992).
- [97] Strick, T.R., Allemand, J.-F., Bensimon, D., Bensimon, A., Croquette, V. *Science* **271**, 1835–1837 (1996).

- [98] Cluzel, P., Lebrun, A., Heller, C., Lavery, R., Viovy, J.-L., Chatenay, D., Caron, F. *Science* **271**, 792–794 (1996).
- [99] Allemand, J.F. *Micro-Manipulations de Molécules d'ADN Isolées*. PhD thesis, Ecole Normale Supérieure, Département de Physique. *Laboratoire de Physique Statistique*. CNRS - Universités Paris 6 et Paris 7., (1997).
- [100] Baumann, C.G., Smith, S.B., Bloomfield, V.A., Bustamante, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 6185–6190 (1997).
- [101] Watson, J., Crick, F. *Nature* **171**, 737 (1953).
- [102] Boccara, M., Verdière-Sahuqué, M. *Les Acides Nucléiques*. Pavages. Diderot Editeur, Arts et Sciences, (1998).
- [103] Trifonov, E.N., Sussman, J.L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 3816–3820 (1980).
- [104] Hagerman, P.J. *Nature* **321**, 449–450 (1986).
- [105] Chuprina, V.P. *FEBS Lett.* **186**, 98–102; corrigenda and errata 195, 363 (1985).
- [106] Nelson, H.C.M., Finch, J.T., Luisi, B.F., Klug A. *Nature* **330**, 221–226 (1987).
- [107] Jernigan R.L., Sarai, A., Shapiro, B., Nussinov, R. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **4**, 561–567 (1987).
- [108] Marko, J.F., Siggia, E.D. *Phys. Rev. E* **52**(3), 2912–2938 (1995).
- [109] Odjik, T. *Polymer* **19**, 989 (1978).
- [110] Boles, T.C., White, J.H., Cozzarelli, N.R. *J. Mol. Biol.* **213**, 931–951 (1990).
- [111] Strick, T.R., Allemand, J.-F., Bensimon, D., Croquette, V. *Biophys. J.* **74**, 2016–2028 (1998).
- [112] Bednar, J., Furrer, P., Stasiak, A., Dubochet, J., Egelman, E.H., Bates, A.D. *J. Mol. Biol.* **235**, 825–847 (1994).
- [113] Wilson, R.W., Bloomfield, V.A. *Biochemistry* **18**, 2192–2196 (1979).
- [114] Vologodskii, A.V., Cozzarelli, N.R. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **23**, 609–643 (1994).
- [115] Rybenkov, V.V., Vologodskii, A.V., Cozzarelli, N.R. *Nucleic Acids Res.* **25**(7), 1412–1418 (1997).
- [116] *Physical Chemistry of Nucleic Acids. In Memory of Matt Petersheim*, Washington DC, (Proceedings de l'ACS, Washington DC 20-24 Août 2000).
- [117] Bloomfield, V.A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6**, 334–341 (1996).
- [118] Bloomfield, V.A. *DNA Condensation*, chapter 7. On-Line Biophysics Textbook, V.A. Bloomfield edition (1999). <http://biosci.cbs.umn.edu/biophys/OLTB/supramol.html>.
- [119] Widom, J., Baldwin, R.L. *J. Mol. Biol.* **144**, 431–453 (1980).
- [120] Marquet, R., Houssier, C. *J. Biomol. Struct. Dynam.* **9**, 159–167 (1991).
- [121] Oosawa, F. *Biopolymers* **6**, 1633–1647 (1968).
- [122] Oosawa, F. *Polyelectrolytes*. Marcel Decker, New York, (1971).
- [123] Rau, D.C., Parsegian, V.A. *Biophys. J.* **61**, 246–259 (1992).
- [124] Rau, D.C., Lee, B.K., Parsegian, V.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 2621–2625 (1984).

- [125] Leikin, S., Rau, D.C., Parsegian, V.A. *Phys. Rev. A* **44**, 5272–5278 (1991).
- [126] Buckin, V.A., Kankiya, B.I., Rentzeperis, D., Marky, L.A. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 9423–9429 (1994).
- [127] Schneider, B., Patel, K., Berman, H.M. *Biophys. J.* **75**, 2422–2434 (1998).
- [128] Travaglini, G., Rohrer, H., Amrein, M., Gross, H. *Surf. Sci.* **181**, 380–390 (1987).
- [129] Amrein, M., Stasiak, A., Gross, H., Stoll, E., Travaglini, G. *Science* **240**, 514–516 (1988).
- [130] Amrein, M., Dürr, R., Stasiak, A., Gross, H., Travaglini, G. *Science* **243**, 1708–1711 (1989).
- [131] Lindsay, S.M., Thundat, T., Nagahara, L., Knipping, U., Rill, R.L. *Science* **244**, 1063–1064 (1989).
- [132] Driscoll, R.J., Youngquist, M.G., Baldeschwieler, J.D. *Nature* **346**, 294–296 (1990).
- [133] Clemmer, C.R., Beebe, T.P.Jr. *Scanning Microscopy* **6**, 319–333 (1992).
- [134] Rekesch, D., Lyubchenko, Y., Shlyakhtenko, L.S., Lindsay, S.M. *Biophys. J.* **71**, 1079–1086 (1996).
- [135] Zareie, M.H., Erdem, G., Öner, C., Öner, R., Ogüs, A., Piskin, E. *Intern. J. Biol. Macromol.* **19**, 69–73 (1996).
- [136] Hu, K., Pyati, R., Bard, A.J. *Analytical Chemistry* **70**, 2870–2875 (1998).
- [137] Guckenberger, R., Heim, M., Cevc, G., Knapp, H.F., Wiegräbe, W., Hillebrand, A. *Science* **266**, 1538–1540 (1994).
- [138] Heim, M., Eschrich, R., Hillebrand, A., Knapp, H.F., Guckenberger, R. *J. Vac. Sci. Technol. B* **14**, 1498–1502 (1996).
- [139] Cricent, A., Selci, S., Chiarotti, G., Amaldi, F. *J. Vac. Sci. Technol. B* **9**, 1285–1287 (1991).
- [140] Delain, E., Le Cam, E., Barbin-Arbogast, A., Fourcade, A. *Microsc. Microanal. Microstructure* **5**, 329–340 (1994).
- [141] Delain, E., Le Cam, E. *The Spreading of Nucleic Acids.*, chapter 3, 35–56. Visualization of nucleic acids. CRC Press, Boca Raton, g. morel edition (1995).
- [142] Larquet, E., Le Cam, E., Fourcade, A., Culard, F., Furrer, P., Delain, E. *Sciences de la vie/ Life Science* **319**, 461–471 (1996). Biophysique/Biophysics.
- [143] Edstrom, R.D., Yang, X.R., Lee, G., Evans, D.F. *FASEB J.* **4**, 3144–3151 (1990).
- [144] Engel, A. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry* **20**, 79–108 (1991).
- [145] Bustamante, C., Vesenka, J., Tang, C.L., Rees, W., Guthold, M., Keller, R. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **3**, 363–372 (1993).
- [146] Bustamante, C., Erie, D.A., Keller, D. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **4**, 750–760 (1996).
- [147] Bottomley, L.A. *Analytical Chemistry* **70**, 425R–475R (1998).
- [148] Hansma, H.G., Pietrasanta, L. *Current Opinion in Chemical Biology* **2**, 579–584 (1998).
- [149] Delain, E., Michel, D. à paraître dans *Micron*.
- [150] Clementi, E. *Structures and Dynamics: Nucleic Acids and Proteins*. Structures and

- Dynamics: Nucleic Acids and Proteins. Academic Press, New York, E. Clementi, R.H. Sarma edition, (1983).
- [151] Duguid, J., Bloomfield, V.A., Benevides, J., Thomas, G.J. Jr. *Biophys. J.* **65**, 1916–1928 (1993).
- [152] Lee, J.S., Latimer, L.J.P., Reid, R.S. *Biochemistry and Cell Biology* **71**, 162–168 (1993).
- [153] Rossetto, F.E., Nieboer, E. *J. Inorganic Biochem.* **54**, 167–186 (1994).
- [154] Littlefield, N.A., Fullerton, F.R., Poirier, L.A. *Chemico-Biological Interactions* **79**, 217–228 (1991).
- [155] Littlefield, N.A., Hass, B.S. *Effect of Magnesium on DNA Damage from Cadmium, Nickel, Mercury and Lead.*, volume 3. John Libbey Eurotext Ltd, 92120 Montrouge, p. collery, l.a. poirier, n.a. littlefield, j.c. etienne edition, (1994).
- [156] Littlefield, N.A., Hass, B.S., James, S.J., Poirier, L.A. *Cell Biology and Toxicology* **10**, 127–135 (1994).
- [157] Stigter, D. *Biopolymers* **46**, 503–516 (1998).
- [158] Han, W., Dlakic, M., Zhu, Y.J., Lindsay, S.M., Harrington, R.E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 10565–10570 (1997).
- [159] Sogo, J.M., Portmann, R., Kaufmann, P., Koller, T. *J. Microscopy-Oxford* **104**, 187–198 (1975).
- [160] Portmann, R., Koller, T. *Proceedings of the 6th European Congress on Electron Microscopy. Jerusalem*, 546–547 (1976).
- [161] Kiss, I., Boros, I., Udvardy, A., Venetianer, P., Delius, H. *Biochimica et Biophysica Acta* **609**, 435–447 (1980).
- [162] Henderson, E. *J. Microscopy-Oxford* **167**, 77–84 (1992).
- [163] Zenhausern, F., *et al.* *J. Struc. Biol.* **108**, 69–73 (1992).
- [164] Bezanilla, M., Bustamante, C.J., Hansma, H.G. *Scanning Microscopy* **7**(4), 1145–1148 (1993).
- [165] Bezanilla, M., Drake, B., Nudler, E., Kashlev, M., Hansma, P.K., Hansma, H.G. *Biophys. J.* **67**, 2454–2459 (1994).
- [166] Hansma, H.G., Bezanilla, M., Zenhausern, F., Adrian, M., Sinsheimer, R.L. *Nucleic Acids Res.* **21**(3), 505–521 (1993).
- [167] Guthold, M., Bezanilla, M., Erie, D. A., Jenkins, B., Hansma, H. G., Bustamante, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 12927–12931 (1994). Biophysics.
- [168] Thundat, T., Warmack, R.J., Allison, D.P., Jacobson, K.B. *Scanning Microscopy* **8**, 23–30 (1994).
- [169] Marsh, T.C., Vesenka, J., Henderson, E. *Nucleic Acids Res.* **23**, 696–700 (1995).
- [170] Rivetti, C., Guthold, M., Bustamante, C. *J. Mol. Biol.* **264**, 919–932 (1996).
- [171] Allen, M.J., Bradbury, E.M., Balhorn, R. *Nucleic Acid Res.* **25**(11), 2221–2226 (1997).
- [172] Müller, D.J., Amrein, M., Engel, A. *J. Struc. Biol.* **119**, 172–188 (1997).
- [173] Rippe, K., Guthold, M., Von Hippel, P.H., Bustamante, C. *Nucleic Acids Res.* **25**, 1736–1744 (1997).

- [174] Rippe, K., Mücke, N., Langowski, J. *BIOforum Intern.* **1**, 42–44 (1997).
- [175] Rivetti, C., Walker, C., Bustamante, C. *J. Mol. Biol.* **280**, 41–59 (1998).
- [176] Van Noort, S.J.T. *et al. Biophys. J.* **74**, 2840–2849 (1998).
- [177] Samori, B., Siligardi, G., Quagliariello, C., Weisenhorn, A. L., Vesenka, J., Bustamante, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 3598–3601 (1993). Biochemistry.
- [178] Li, J.-W., Bai, C.-L., Wang, C., Zhu, C.-F., Lin, Z., Li, Q., Cao, E.-H. *Nucleic Acids Res.* **26**, 4785–4786 (1998).
- [179] Fang, Y., Hoh, J.H. *Nucleic Acids Res.* **26**(2), 588–593 (1998).
- [180] Delain, E., Fourcade, A., Poulin, J.C., Barbin, A., Coulaud, D., Le Cam, E., Paris, E. *Microsc. Micranal. Microstruc.* **3**, 457–470 (1992).
- [181] Weisenhorn, A.L., Gaub, H.E., Hansma, H.G., Sinsheimer, R.L., Kelderman, G.L., Hansma, P.K. *Scanning Microscopy* **4**(3), 511–516 (1990).
- [182] Arscott, P.G., Ma, C.L., Wenner, J.R., Blomfield, V.A. *Biopolymers* **36**, 345–364 (1995).
- [183] Arscott, P.G., Li, A.Z., Bloomfield, V.A. *Biopolymers* **30**, 619–630 (1990).
- [184] Bustamante, C., Vesenka, J., Tang, C.L., Rees, W., Guthold, M., Keller, R. *Biochemistry* **31**, 22–26 (1992).
- [185] Bustamante, C., Rivetti, C., Keller, D.J. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **7**, 709–716 (1997).
- [186] Lyubchenko, Y.L., Shlyakhtenko, L.S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 496–501 (1997).
- [187] Lyubchenko, Y.L., Oden, P.L., Lampner, D., Lindsay, S.M., Dunker, K.A. *Nucleic Acids Res.* **21**(5), 1117–1123 (1993).
- [188] Radmacher, M., Fritz, M., Hansma, H.G., Hansma, P.K. *Science* **265**, 1577 (1994).
- [189] Vesenka, J., Manne, S., Yang, G., Bustamante, C.J., Henderson, E. *Scanning Microscopy* **7**(3), 781–788 (1993).
- [190] Fang, Y., Spisz, T.S., Hoh, J.H. *Nucleic Acids Res.* **27**, 1943–1949 (1999).
- [191] Hansma, H.G., Revenko, I., Kim, K., Laney, D.E. *Nucleic Acids Res.* **24**(4), 713–720 (1996).
- [192] Allen, M.J., Hud, N.V., Balooch, M., Tench, R.J., Siekhaus, W., Balhorn, R. *Ultramicroscopy* **42-44**, 1095–1100 (1992).
- [193] Ballardur, V., Theretz, A., Mandrand, B. *J. Colloid Interface Sci.* **194**, 408–418 (1997).
- [194] Hegner, M., Wagner, P., Semenza, G. *FEBS* **336**(3), 452–456 (1993).
- [195] Hegner, M., Dreier, M., Wagner, P., Semenza, G., Guntherödt, H.G. *J. Vac. Sci. Technol B* **14**, 1418–1421 (1996).
- [196] Yoshida, K., Yoshimoto, M., Sasaki, K., Ohnishi, T., Ushiki, T., Hitomi, J., Yamamoto, S., Sigeno, M. *Biophys. J.* **74**, 1654–1657 (1998).
- [197] Lyubchenko, Y.L., Gall, A.A., Shlyakhtenko, L.S., Harrington, R.E., Jacobs, B.L., Oden, P.I., Lindsay, S.M. *J. Biomol. Struc. and Dynamics* **10**, 589–606 (1992).
- [198] Lyubchenko, Y.L., Jacobs, B.L., Lindsay, S.M. *Nucleic Acids Res.* **20**, 3983–3986

- (1992).
- [199] Lyubchenko, Y., Shlyakhtenko, L., Harrington, R., Oden, P., Lindsay, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 2137–2140 (1993). Biophysics.
- [200] Lyubchenko, Y.L., Jacobs, B.L., Lindsay, S.M., Stasiak, A. *Scanning Microscopy* **9**(3), 705–727 (1995).
- [201] Lyubchenko, Y.L., Shlyakhtenko, L.S., Aki, T., Adhya, S. *Nucleic Acids Res.* **25**(4), 873–876 (1997).
- [202] Thundat, T., Allison, D.P., Warmack, R.J., Ferrell, T.L. *Ultramicroscopy* **42**(44), 1101–1106 (1992).
- [203] Thundat, T., Warmack, R.J., Allison, D.P., Bottomley, L.A., Lourenco, A.J., Ferrell, T.L. *J. Vac. Sci. Technol. A* **10**(4), 630–635 (1992).
- [204] Thundat, T., Allison, D.P., Warmack, R.J., Brown, G.M., Jacobson, K.B., Schrick, J.J., Ferrell, T.L. *Scanning Microscopy* **6**(4), 911–918 (1992).
- [205] Thundat, T., Zheng, X.-Y., Sharp, S.L., Allison, D.P., Warmack, R.J., Joy, D.C., Ferrell, T.L. *Scanning Microscopy* **6**(4), 903–910 (1992).
- [206] Thundat, T., Allison, D.P., Warmack, R.J., Doktycz, M.J., Jacobson, K.B., Brown, G.M. *J. Vac. Sci. Technol. A* **11**(4), 824–828 (1993).
- [207] Schaper, A., Pietrasanta, L. I., Jovin, T.M. *Nucleic Acids Res.* **21**(25), 6004–6009 (1993).
- [208] Bezanilla, M., Manne, S., Laney, D.E., Lyubchenko, Y.L., Hansma, H.G. *Langmuir* **11**, 655–659 (1995).
- [209] Shlyakhtenko, L.S., Gall, A.A., Weimer, J.J., Hawn, D.D., Lyubchenko, Y.L. *Biophys. J.* **77**, 568–576 (1999).
- [210] Vesenska, J., Guthold, M., Tang, C.L., Keller, D., Delain, E., Bustamante, C. *Ultramicroscopy* **42**(44), 1243–1249 (1992).
- [211] Thundat, T., Allison, D.P., Warmack, R.J. *Nucleic Acids Res.* **22**, 4224–4228 (1994).
- [212] Kleinschmidt, A.K., Zahn, R.K. *Zeitschrift für Naturforschung* **14**(b), 770–779 (1959).
- [213] Delain, E., Brack, C. *J. Microsc.* **21**, 217–224 (1974).
- [214] Butour, J.-L., Delain, E. *J. Microsc.* **24**, 231–238 (1975).
- [215] Yang, J., Takeyasu, K., Shao, Z.F. *FEBS Let.* **301**, 173–176 (1992).
- [216] Yang, J., Tamm, L.K., Somlyo, A.P., Shao, Z.F. *J. Microsc.-Oxford* **171**, 183–198 (1993).
- [217] Butour, J.L., Delain, E., Coulaud, D., Barbet, J., Roques, B.P., Le Pecq, J.B. *Biopolymers* **17**, 873–886 (1978).
- [218] Joanicot, M., Révet, B. *Biopolymers* **26**, 315–326 (1987).
- [219] Muzard, G., Théveny, B., Révet, B. *EMBO J.* **9**, 1289–1298 (1990).
- [220] Schaper, A., Starink, J.P.P., Jovin, T.M. *FEBS Let.* **355**, 91–95 (1994).
- [221] Bratosin-Guttman, S. . *J. Struc. Biol.* **108**, 162 (1992).
- [222] Vesenska, J., Manne, S., Giberson, R., Marsh, T., Henderson, E. *Biophys. J.* **65**,

- 992–997 (1993).
- [223] Reed, J., Singer, E., Kresbach, G., Schwartz, D.C. *Analyt. Biochem.* **259**, 80–88 (1998).
- [224] Matsumoto, T., Maeda, Y., Naitoh, Y., Kawai, T. *J. Vac. Sci. Technol. B* **17**(5), 1941–1945 (1999).
- [225] Maeda, Y., Matsumoto, T., Kawai, T. *Surf. Interface Anal.* **27**, 450–455 (1999).
- [226] Maeda, Y., Matsumoto, T., Kawai, T. *Appl. Surf. Sci.* **140**, 400–405 (1999).
- [227] Salmeron, M., Beebe, T., Odriozola, J., Wilson, T., Ogletree, D.F., Siekhaus, W. *J. Vac. Sci. Technol. A* **8**, 635–641 (1990).
- [228] Butler, P.J.G. *Structure and Assembly of Tobacco Mosaic Virus (TMV)*, chapter 13. Balaban, Rehovoth, g. pifat edition (1994).
- [229] Choplin, Franck. *Synthèse et Greffage D'agents de Couplage Organosiliciés En Vue de L'obtention de Puces À ADN*. PhD thesis, Université Bordeaux I, (3 Juillet 2000).
- [230] Scott, R.P.W., Traiman, S. *J. Chromatography* **196**, 193–205 (1980).
- [231] Angst, D.L., Simmons, G.W. *Langmuir* **7**, 2236–2242 (1991).
- [232] Tripp, C.P., Hair, M.L. *Langmuir* **8**, 1120–1128 (1992).
- [233] Morrow, B.A., Cody, I.A., Lee, L.S.M. *J. Phys. Chem.* **80**, 2761–2767 (1976).
- [234] Morrow, B.A., Cody, I.A. *J. Phys. Chem.* **80**, 1998–2004 (1976).
- [235] Bunker, B.C., Haaland, D.M., Michalske, T.E., Smith, W.L. *Surf. Sci.* **222**, 95–118 (1989).
- [236] Morrow, B.A. *Studies in Surface Science and Catalysis*, 161–224 (1990).
- [237] Nony, L., Réungoat, V., Aimé, J.-P. Non publié, (1999).
- [238] Morel, D., Soleiman, S., Serpinet, J. *Chromatographia* **42**, 451–461 (1996).
- [239] Vuillaume, D., Boulas, C., Collet, J., Davidovits, J.V., Rondelez, F. *Appl. Phys. Lett.* **69**(11), 1646–1648 (1996).
- [240] Lin, V.S.Y., Motesharei, K., Dancil, K.-P.S., Sailor, M.J., Ghadiri, M.R. *Science* **278**, 840–842 (1997).
- [241] Parikh, A.N., Beers, J.D., Shreve, A.P., Swanson, B.I. *Langmuir* **15**(16), 5369–5381 (1999).
- [242] Britcher, L.G., Kehoe, D.C., Matisons, J.G., Swincer, A.G. *Macromolecules* **28**, 3110–3118 (1995).
- [243] Mao, G., Castner, D.G., Grainger, D.W. *Chem. Mater.* **9**(8), 1741–1750 (1997).
- [244] Faverolle, F., Attias, A.J., Bloch, B., Andrieux, C.P. *Chem. Mater.* **10**(3), 740–752 (1998).
- [245] Bohme, P., Vedantham, G., Przybycien, T., Belfort, G. *Langmuir* **15**(16), 5323–5328 (1999).
- [246] Choi, G.Y., Kang, J.F., Ulman, A., Zurawsky, W., Fleischer, C. *Langmuir* **15**(26), 8783–8786 (1999).
- [247] Sagiv, J. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 92–98 (1980).

- [248] Plueddemann, E.P. *Silane Coupling Agents*. Plenum Press: New York, (1982).
- [249] Waddell, T.G., Leyden, D.E., DeBello, M.T. *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 5303–5307 (1981).
- [250] Azzopardi, M-J. PhD thesis, Université Paris VI, (1994).
- [251] Rondelez, F., Azouz, I.B., Allara, D.L., Parikh, A.N. *J. Phys. Chem.* **98**, 7577–7590 (1994).
- [252] Brandow, S.L., Chen, M.S., Aggarwal, R., Dulcey, C.S., Calvert, J.M., Dressick, W.J. *Langmuir* **15**(16), 5429–5432 (1999).
- [253] Finklea, H.O., Robinson, L.R., Blackburn, A., Richter, B., Allara, D.L., Bright, T. *Langmuir* **2**, 239–244 (1986).
- [254] Marsaudon, S., Leclère, Ph., Dubourg, F., Lazzaroni, R., Aimé, J.-P. *Langmuir* **16**, 8432–8437 (2000).
- [255] *Proceedings of the Third International Workshop on Noncontact Atomic Force Microscopy*. Appl. Surf. Sci., (Hamburg (Allemagne), Juillet 2000).
- [256] Odin, C., Aimé, J.-P., Elkaakour, Z., Bouhacina, T. *Surf. Sci.* **317**, 321–340 (1994).
- [257] Girard, C., Maghezzi, S., Van Labeke, D. *Surf. Sci.* **234**, 181 (1990).
- [258] Bennetau, B., Bousbaa, J., Choplin, F. Fr. Demand N° 695, (2000).
- [259] Navarre, S., Choplin, F., Bennetau, B. et Nony, L., Aimé, J.-P. soumis à Langmuir, Septembre (2000).
- [260] Binnig, G., Gerner, C., Stoll, E., Albrecht, T.R., Quate, C.F. *Europhys. Lett.* **3**, 1281 (1987).
- [261] Wolter, O., Bayer, T., Greschner, J. *J. Vac. Sci. Technol. B* **9**, 1353 (1991).
- [262] Nanoprobes, Digital Instruments, Santa Barbara, Californie, USA.
- [263] Aimé, J.-P., Elkaakour, Z., Gauthier, S., Michel, D., Bouhacina, T., Curély, J. *Surf. Sci.* **329**, 149–156 (1995).
- [264] Fretigny, C., Basire, C., Granier, V. *J. Apply. Phys.* **82**(1), 43–48 (1997).
- [265] Xu, S., Arnosdorf, M.F. *J. Microsc.* **3**, 199 (1994).
- [266] Keller, D. *Surf. Sci.* **253**, 353 (1991).
- [267] Keller, D.J., Francke, F.S. *Surf. Sci.* **294**, 409 (1993).
- [268] Villarubia, J.S. *Surf. Sci.* **321**, 287 (1994).
- [269] Bonnet, N., Dongmo, S., Vautrot, P., Troyon, M. *Microsc. Microanal. Microstruct.* **5**, 477 (1994).
- [270] Atamny, F., Baiker, A. *Surf. Sci.* **323**, L314 (1995).
- [271] Jarausch, K.F., Stark, T.J., Russell, P.E. *J. Vac. Sci. Technol. B* **14**, 3425 (1996).
- [272] Schwarz, U.D., Zwörner, O., Köster, P., Wiesendanger, R. *J. Vac. Sci. Technol. B* **15**, 1527 (1997).
- [273] Mate, C.M., Mc Clelland, G.M., Erlandsson, R., Chiang, S. *Phys. Rev. Lett.* **59**, 1942–1945 (1987).
- [274] Dufour, J.P., Bourillot, E., Goudonnet, J.P. *J. Phys. III France* **1**, 1337–1348

- (1991).
- [275] Curie, J. et P. *Journal de Physique (Paris)* **8**, 149–168 (1889).
- [276] Chen, C.J. *Appl. Phys. Lett.* **60**(1), 132–134 (1992).
- [277] Carr, R.G. *J. Microsc.* **152**, 379–385 (1988).
- [278] Chen, C.J. *Ultramicroscopy* **42**, 1653–1658 (1992).
- [279] Dieudonné, J. *Calcul Infinitésimal*. Hermann, (1980).
- [280] Gutzwiller, M.C. *Chaos in Classical and Quantum Mechanics*. Springer-Verlag, (1991).

Résumé :

Ce travail concerne l'étude de molécules d'ADN avec un microscope à force atomique utilisé en « contact intermittent ». L'objectif poursuivi est de réaliser des mesures locales d'interaction et de mécanique sur une chaîne d'ADN. Le microscope est sensible aux forces d'interaction entre une pointe de dimension nanométrique et l'objet ou la surface à analyser. En mode dynamique, la pointe oscille au voisinage de la surface à des fréquences de quelques centaines de kilohertz et des amplitudes de l'ordre de la dizaine de nanomètres. Ce comportement peut devenir non-linéaire selon l'intensité de l'interaction et des conditions d'oscillation. Varier ces conditions en termes d'amplitude ou de fréquence constitue une opportunité de contrôler cette interaction. Nous mettons ainsi en évidence la possibilité d'imager une seule molécule d'ADN selon différents modes d'interaction : pur attractif, pur répulsif et un mélange des deux. Par ailleurs, le microscope de force dynamique n'est pleinement efficace que dans le cadre de la maîtrise de l'interaction de la pointe avec l'objet. La qualité de l'échantillon et celle de la pointe doivent être contrôlées à l'échelle des mesures. Des expériences préliminaires ont amené à retenir des substrats de silice greffés avec des molécules de silanes. Concernant les molécules d'ADN, trois types de séquences ont été étudiés. Une longue chaîne de 2500 paires de bases (pb) comportant une succession de séquences non périodique, une séquence de 450pb constituée d'Adénine sur un mono-brin et de Thymines sur le brin complémentaire et une chaîne de même longueur, mais constituée d'une alternance d'Adénine et de Thymines sur chaque mono-brin. Ces échantillons sont intéressants par la diversité des caractéristiques mécaniques attendues. L'exploitation expérimentale des différents régimes permet de révéler des informations géométriques, mécaniques et physico-chimiques sur les conformations des molécules.

Analysis of the dynamic force microscopy : application to the study of D.N.A.

Abstract :

This work aims at studying various DNA molecules with an atomic force microscope in the Tapping mode. DNA mechanical properties and its interaction with the surface at the nanometer scale are investigated. The microscope is sensitive to the interaction forces between a nanotip and an object or a surface. In the Tapping mode, the tip oscillates close to the surface at a drive frequency of about a few hundred kilohertz and with amplitudes of a few ten nanometers. The dynamic behavior of the oscillator may become non-linear depending on the strength of the tip-surface interaction and the oscillations conditions. Varying the drive frequency or the drive amplitude gives the opportunity to control the strength of the tip-surface interaction. Thus it's shown that a single DNA molecule may be imaged using various interaction modes : a pure attractive one, a pure repulsive one and a mixing of the two. In addition, it is shown that to extract quantitative information from DNA images requires to control the size and pollution of the tip, but also the quality of the surfaces on which the DNA is deposited. Following that way, silica surfaces were grafted with silanes molecules. Three different kinds of DNA molecules were studied. A long chain of 2500 non periodic bases pairs (bp), a shorter chain of 450bp made of Adenine bases on a single strand and of Thymines ones on the complementary strand and a chain with the same length, but made of alternated Adenine and Thymines bases on each strand. The experimental use of various regimes provides geometrical, mechanical and physico-chemistry information about the conformations of the chains.

Spécialité : Lasers et Matière Dense

Mots-clés : Microscopie de force dynamique – Contact intermittent – Non-contact – Dynamique non-linéaire – A.D.N. – Superstructures de l'A.D.N. – Silices silanisées – Interactions A.D.N./surface.

Keywords : Dynamic force microscopy – Intermittent contact – Non-contact – Non-linear dynamics – D.N.A. – D.N.A. supercoils – Silanized silica – Interactions D.N.A./surface.

Laboratoire : *C.P.M.O.H.*

*351, cours de la Libération
F-33405 Talence Cedex*