



HAL
open science

Propriétés mécaniques de bicouches et de capsules polymères résolues à l'échelle nanométrique. Etude par microscopie à force atomique

Baptiste Sarrazin

► **To cite this version:**

Baptiste Sarrazin. Propriétés mécaniques de bicouches et de capsules polymères résolues à l'échelle nanométrique. Etude par microscopie à force atomique. Mécanique [physics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066565 . tel-01490264

HAL Id: tel-01490264

<https://theses.hal.science/tel-01490264>

Submitted on 15 Mar 2017

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.

UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE (PARIS)
ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES MÉCANIQUES, ACOUSTIQUES, ÉLECTRONIQUE ET
ROBOTIQUE DE PARIS – SMAER ED N°391

**Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et
Supramoléculaire – LIONS**

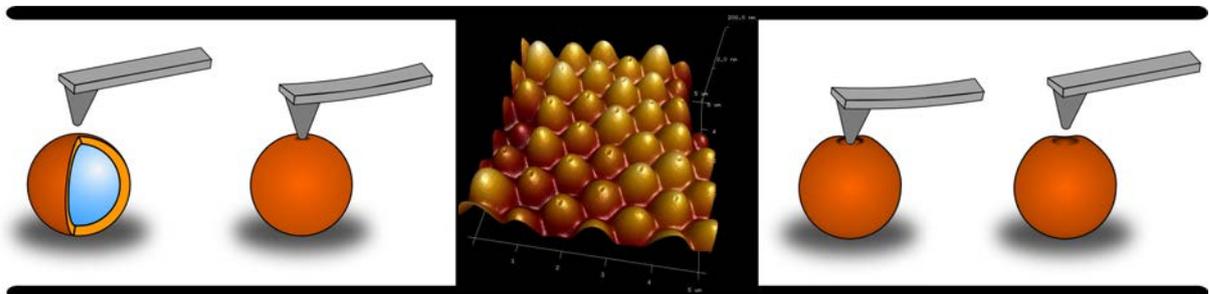
Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie
Spécialité : Mécanique

Présentée par :
Baptiste Sarrazin

Pour obtenir le grade de **Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris)**

**Propriétés Mécaniques de Bicouches et de Capsules
Polymères Résolues à l'Échelle Nanométrique :
Étude par Microscopie à Force Atomique**

Soutenue le 17 Novembre 2015



JURY

Magalie Phaner-Goutorbe
Sid Labdi

Professeur – ECL - Lyon
Professeur – Université d'Évry - Val d'Essonne

Rapporteur
Rapporteur

Catherine Quilliet
François Coulouvrat
Patrick Guenoun
Wladimir Urbach

Maître de conférence – UJF, Grenoble
Directeur de Recherche – CNRS, UPMC
Chercheur CEA – CEA Saclay
Professeur – ENS, Paris

Examinatrice
Examinateur
Encadrant CEA
Directeur de thèse

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Patrick Guenoun pour m'avoir encadré et aidé pendant ces quatre dernières années. Les difficultés rencontrées lors de la recherche de financement en valaient la chandelle, et rien de tout cela n'aurait été possible sans lui. Je remercie aussi Wladimir Urbach pour m'avoir encadré, certes "de loin", mais toujours de manière bienveillante et attentionnée. Merci encore de m'avoir laissé une si grande autonomie tout en me conseillant dans les mauvaises passes et les contradictions de mes propres réflexions !

Mes remerciements vont ensuite aux membres du jury : Magali Phaner-Goutorbe, qui a accepté de juger mon travail malgré un emploi du temps chargé et des transports perturbés par les événements récents ; Sid Labdi, pour sa bienveillance et ses questions avisées concernant la nanoindentation ; Catherine Quilliet, pour sa franchise et pour m'avoir permis de défendre mon travail dans un véritable débat intellectuel et scientifique ; François Coulouvrat, pour avoir accepté de présider mon jury et pour les échanges que nous avons eu lors des réunions du projet NABUCCO.

Je remercie les membres du Laboratoire d'Imagerie Biomédical des Cordeliers, Nicolas Taulier, Ksenia Astafyeva et Lucy Somaglino, pour m'avoir encouragé lors des réunions de groupe durant lesquelles je mettais à l'épreuve les premières interprétations de mes données. Je remercie aussi chaleureusement Nicolas Tsapis et Ludivine Mousnier, mes "chimistes préférés" sans qui l'objet de ce travail n'existerait tout simplement pas. Un remerciement particulier à Étienne Barthel (SIMM, ESPCI ParisTech) pour nous avoir permis d'utiliser et de bidouiller son modèle.

Pendant mon séjour au LIONS, comme "locataire" du bureau 137b du bâtiment 125, j'ai croisé la route de nombreuses personnes, toutes plus brillantes les unes que les autres, et qui, au-delà même de la Science, sont devenus des amis et des référents dans ma vie. Je remercie d'abord et avant tout Élodie pour avoir été la meilleure *coburette* qui soit. Être parfois "dégueulasse" et écouter de la purée auditive n'ont jamais véritablement atténué le plaisir que j'avais à travailler près de toi. La naissance de ta "petite volaille" restera un souvenir lié au début de ma thèse. Le voir grandir et devenir un petit homme a été la métaphore de ces trois années. Merci encore et ne change pas, sauf peut-être ton pantalon noir, tes goûts musicaux, ton volume sonore, ton iPhone greffé dans la main etc, etc...

Je remercie tous les permanents du LIONS avec qui j'ai pu interagir de près ou de loin : Florent, qui m'a permis de collaborer avec lui en me "prêtant" son stagiaire / thésard que j'ai

pu exploiter au mieux (!); Valérie Geertsen (oui, tu es trop jeune pour être ma mère!), Olivier Taché (vive Linux et L^AT_EX!) pour m'avoir aidé à utiliser l'imprimante 3D; Christian Blot (puisses-tu avoir chaud cet hiver!) pour les multiples bidouillages en métal, téflon, plastoc' et autres cochonium ainsi que pour les écrasements "sauvages" de coques; David, Corinne, Antoine, Fred et Fabienne pour leur gentillesse et leur ouverture d'esprit; Michèle et Stéphanie pour nos discussions et leurs moqueries quant à mon impéritie administrative chronique.

Je remercie aussi mes collègues et amis avec qui j'ai pu travailler et partager: Romain Salva et les derniers cafés/clopes de ma vie; Tony (Jian-Yuan) pour nos discussions lors des longues sessions de microscopie à force atomique; les post-doctorants: Blaizou, Maïa, Andrea, Raj'. Et les petits derniers, Marine, Rémy, Florian (le faiseur de Momie et de Carnyx sanglier en PLA!), Soumaya(tou) (Barak'Allahou fik!), Alexy (ou Alexi pour les intimes), Pierre (Picowan). J'espère qu'ils auront toujours la même candeur et qu'ils sauront trouver leur place.

Je remercie particulièrement Rémy Brossard, sans qui ce manuscrit n'aurait absolument pas le même visage et serait resté dans un état de "friche expérimentale avancée"... Merci pour toutes ces discussions et ces pérégrinations mentales plus ou moins pertinentes et productives. J'espère bien poursuivre avec toi nos discussions politiques, philosophiques et alimentaires! Que les forces de l'auto-enroulement soient avec toi!

Enfin, je souhaite remercier toute ma famille qui m'a soutenu chaleureusement, mes grands-parents, mes parents, M^e Maxime et Didier qui a fait un sacré détour pour me voir soutenir! Merci aussi à ceux qui n'ont pas pu être là mais qui, je le sais, m'ont soutenu par la pensée, en particulier P^r D^r François Sarrazin qui, même s'il ne s'en rend pas toujours compte, m'a inspiré et guidé dans cette voie.

Enfin, je te remercie toi, la meilleure d'entre nous, pour ton courage et ton tact, et sans qui ma vie ne serait pas la même. Le Mésenguy ne m'appartient que grâce à toi. Il ne sera le plus fort que grâce à toi. Il ne vaincra que grâce à toi...

Pendant plusieurs années, tel le lecteur qui dévore des histoires sans jamais goûter la qualité d'un style ni savoir qu'il peut en tirer des voluptés plus grande encore et des secrets bien gardés, j'ai monté pour le plaisir, sans beaucoup d'efforts ni de risques, à distance. C'était un complément de vie, une manière de défoulement dominical. Je ne changeais pas, je m'octroyais des séances de gymnastique à la carte, je m'augmentais à heures fixes. Et puis la curiosité a tourné à l'obsession. Une obsession intraitable, dévoreuse de temps, d'énergie, d'insouciance, de complaisance. Une obsession qui travaille le corps, ronge l'esprit, déchire le calendrier des tâches ordinaires, saccage les prévenances sociales et décourage les plus fidèles amitiés.

Mon royaume pour un cheval!!!

Jérôme Garcin, *La chute de cheval*, 1998

Table des matières

Symboles et Abréviations	3
Introduction générale et enjeux de la thèse	5
I Nanoindentation par AFM : Principes et état de l'Art	9
I.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)	10
I.1.1 Histoire et Principe de l'AFM	10
I.1.2 Mesure de force par AFM	13
I.2 Nanoindentation en AFM : Principe et Métrologie	16
I.2.1 Calibration de la raideur des leviers	16
I.2.2 Mesure de l'indentation	19
I.2.3 Détermination de la géométrie des pointes	20
II Théorie du contact et mesure de l'élasticité	25
II.1 Élasticité des matériaux homogènes	26
II.1.1 Module élastique : pertinence du module d'Young	26
II.1.2 Contact élastique : modèle de Hertz et ses variantes	28
II.1.3 Méthode d'Oliver et Pharr et microindentation	34
II.1.4 Modèles visco-élastiques	36
II.1.5 Contact élastique et adhésion	40
II.2 Élasticité des matériaux composites	44
II.2.1 Limite des modèles classiques pour les matériaux hétérogènes	44
II.2.2 Interprétation de l'élasticité équivalente d'une bicouche plane par l'approche semi-analytique CHIMER	49
II.2.3 Déformation d'une coque	53
IIISystèmes plans : films fins sur substrat de PDMS	55
III.1 Description des systèmes plans	56
III.1.1 Substrat de PDMS : enjeux de la mesure élastique	56
III.1.2 Film de chitosan sur substrat de PDMS	60
III.1.3 Système PDMS Oxydé	63
III.2 Nanoindentation de films sur substrat de PDMS	67
III.2.1 Film de chitosan sur substrat de PDMS	67
III.2.2 Oxydation du PDMS	73

III.2.3	Pertinence du modèle de Hertz linéarisé interprété par CHIMER	76
III.3	Conclusion sur l'élasticité de couches fines sur substrat de PDMS	78
IV	Propriétés mécaniques du PLGA	81
IV.1	L'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA)	82
IV.2	Préparation des échantillons de PLGA	84
IV.3	Nanoindentation AFM de films de PLGA	87
IV.3.1	Élasticité du PLGA	87
IV.3.2	Peak Force et élasticité à haute fréquence	90
IV.4	Visco-élasticité du PLGA à l'échelle nanométrique	91
IV.4.1	Relaxation du PLGA	91
IV.4.2	Mesure du fluage par AFM	96
IV.5	Microindentation des palets de PLGA	97
IV.5.1	Indentation et fluage	97
IV.5.2	Dureté et tenacité	100
IV.6	Conclusion sur les propriétés mécaniques du PLGA	102
V	Propriétés mécaniques de capsules polymères	103
V.1	Microcapsules PLGA/PFOB	105
V.1.1	Description du système et enjeux de la mesure élastique	105
V.1.2	Synthèse et caractérisation	108
V.2	Élasticité des microcapsules PLGA/PFOB	113
V.2.1	Nanoindentation AFM de microcapsules PLGA/PFOB	113
V.2.2	Interprétation de l'élasticité apparente des MCs PLGA/PFOB par le mo- dèle CHIMER	118
V.2.3	Visco-plasticité et rupture des MCs PLGA/PFOB	122
V.2.4	Effet de la température sur l'élasticité des microcapsules	125
V.3	Nanocapsules PLA-PEG/PFOB	128
V.3.1	Description des nanocapsules PLA-PEG/PFOB	128
V.3.2	Préparation des échantillons pour l'indentation en milieu aqueux	129
V.3.3	Indentations de NPs et NCs en milieu aqueux	132
V.4	Conclusion sur l'indentation des capsules polymères	135
	Conclusion générale et perspectives	136
	Annexe A : Algorithme CHIMER	140
	Annexe B : Séchage de particules colloïdales	148
	Annexe C : Publications	153
	Bibliographie	175

Symboles et abréviations

Abréviations

AFM	Atomic Force Microscopy = Microscopie à force atomique
CHIMER	Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response
DLS	Dynamic Light Scattering = Diffusion dynamique de la lumière
DMT	Derjaguin - Müller - Toporov = modèle élasti-adhésif
JKR	Johnson - Kendall - Roberts = modèle élasto-adhésif
MC	Microcapsule
MHL	Modèle de Hertz linéarisé
ML	Modèle linéaire
MP	Microparticule
NC	Nanocapsule
NP	Nanoparticule
PDMS	polydiméthylsiloxane
PFOB	Bromure de perfluorooctane = bromoperfluorooctane = Perflubron
PLGA	acide poly(L-lactic-co-glycolic)
RPM	Rotations per minute = tours par minutes
SPG	Shirazu Porous Glass
STM	Scanning Tunelling Microscopy = Microscope à effet tunnel

Symboles

d	distance pointe échantillon
F	force appliquée
k	constante de raideur
D	déflexion du levier
k_B	constante de Boltzmann
T	épaisseur des films / coques
δ	profondeur d'indentation
R	rayons (i) de l'indenteur (pointe AFM ou indenteur Rockwell) (ii) des particules
E	module élastique d'Young
ν	coefficient de Poisson
G	module de cisaillement
K	module d'élasticité isostatique
E^*	module élastique réduit
H	dureté
P	pression
σ	contrainte linéaire
ϵ	déformation linéaire
η	viscosité cinématique
θ	temps caractéristique de relaxation
γ	énergie d'adhésion
F_{po}	force d'arrachement
a	rayon de contact
ω	vitesse de rotation
ψ	fonction poids
μ	paramètre de Tabor
λ	paramètre de Maugis
E_{eq}^*	module élastique réduit équivalent = module apparent d'une bicouche
\bar{E}^*	module élastique réduit moyen issu du modèle de Hertz linéarisé
$\bar{\delta}$	indentation équivalente moyenne du modèle de Hertz linéarisé
t	temps
T_g	température de transition vitreuse

Introduction générale

Les nanotechnologies ont connu un essor sans précédent au cours de ces dix dernières années dans des domaines aussi variés que la biomédecine, les matériaux ou l'électronique. Le développement de nano-objets passe d'abord et avant tout par une connaissance précise des phénomènes physico-chimiques fondamentaux liés à l'échelle nanométrique. Ces connaissances fondamentales sont intrinsèquement interdisciplinaires et reposent notamment sur la science des colloïdes (Graham 1861). La mécanique des milieux continus entre naturellement dans le champ des sciences permettant la compréhension des systèmes complexes comme les nanotechnologies. La rhéologie, définie comme la science des déformations ou des écoulements (Pr. Bingham, 1929), fait partie intégrante de la mécanique des milieux continus et constitue une étape inévitable de l'étude d'un système complexe. Les bases de la rhéologie ont été posées par Newton (pour les liquides) et Hooke (pour les solides) il y'a plus de trois cents ans mais il a fallu attendre le XIXème siècle pour que Maxwell concilie les comportements visqueux et élastique au sein d'une même description. La mécanique des milieux homogènes à l'échelle macroscopique est ainsi globalement bien comprise depuis le milieu du XXème siècle mais il reste difficile de prédire le comportement des milieux qui sont à la fois nanométriques et complexes, que ce soit par leurs formes que par la diversité des matériaux qui les composent. Ces systèmes complexes peuvent ainsi prendre la forme de cellules biologiques, de nanoparticules colloïdes ou encore de multicouches composites.

Cette thèse de doctorat s'inscrit dans le contexte du développement d'un nano-objet, au sein d'un projet supporté par le projet IDEX inter-LABEX (MECANUCA), le Plan Cancer 2012-2015 (INSERM, projet NABUCCO) et le RTRA Triangle de la Physique (Nanocapfilm), en se concentrant sur la mécanique à l'échelle nanométrique. L'objectif de cette thèse est la caractérisation mécanique d'une particule théranostique novatrice prenant la forme d'une coque polymère contenant un liquide fluoré. Cet objet présente toutes les caractéristiques d'un système mécaniquement complexe : une taille finie micro-nanométrique, une composition hétérogène. L'étude d'un tel objet ne peut se faire que grâce à un outil permettant à la fois la visualisation à l'échelle nanométrique, l'application d'une contrainte et la mesure de la réponse mécanique. La microscopie à force atomique (AFM) est le seul appareil rassemblant toutes ces caractéristiques. La nanoindentation permet la mesure de l'élasticité d'un échantillon à l'échelle nanométrique via l'analyse d'une courbe de force, c'est-à-dire de la réponse à une compression normale.

Le premier chapitre de ce manuscrit traite de la microscopie à force atomique en tant que capteur de forces. Les calibrations préalables aux mesures feront l'objet d'une attention toute particulière. En effet, ces considérations métrologiques sont indispensables à l'obtention de résultats quantitativement pertinents. Cette technique, bien que présentement très répandue dans la communauté scientifique, souffre d'une large méconnaissance de ces notions métrologiques et des modèles permettant l'interprétation des courbes de force.

Le second chapitre présente les modèles de contact permettant l'interprétation des courbes de force et la mesure de l'élasticité, de la viscosité et de l'adhésion. L'étude bibliographique et épistémologique concernant la nanoindentation montrera que l'interprétation des courbes de force des échantillons complexes est sujette à caution. Un modèle semi-analytique (CHIMER : Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response) sera décrit afin de préciser l'interprétation de l'élasticité apparente d'une bicouche plane.

Le troisième chapitre s'intéressera à deux systèmes plans comportant chacun une couche rigide supportée par un substrat épais et compliant de polydiméthylsiloxane (PDMS). Les objectifs de l'étude de ces systèmes sont multiples. Tout d'abord, il s'agit de tester le modèle semi-analytique décrit au chapitre 2 sur un échantillon connu (PDMS recouvert d'un film mince de chitosan). Concomitamment, nous nous intéresserons à la possibilité offerte par ce modèle d'estimer *ab oculis* l'épaisseur de la couche supérieure en connaissant l'élasticité des matériaux composant la bicouche. Cela prend tout son sens dans le cas du système composé d'une couche d'oxyde qui est générée directement à la surface du substrat de PDMS. Enfin, le choix du PDMS n'est pas anodin puisqu'il s'agit d'un matériau très largement usité en microfluidique. Cette étude a donc fait l'objet d'une collaboration avec Florent Malloggi et Rémy Brossard du Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et Supramoléculaire, avec pour objectif une caractérisation mécanique du PDMS oxydé et enduit dans le cadre de la microfluidique fonctionnelle.

Le quatrième chapitre constitue une analyse mécanique du polymère composant les capsules thérapeutiques, l'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA). Cette étude mettra en évidence sa visco-élasticité et sa plasticité à l'échelle nanométrique par nanoindentation AFM et à l'échelle micrométrique par microindentation. Les mesures de fluage et de force à haute fréquence permettront de mettre en évidence une stabilité mécanique du PLGA aussi bien à hautes qu'à basses fréquences. La relaxation de déformations résiduelles de nanoindentation est mesurée en deçà et au-delà de la T_g et nous montrerons que, dans les deux conditions de température, le PLGA s'écoule en suivant un comportement identique décrit par l'équation de l'écoulement d'un film mince.

Le cinquième et dernier chapitre de ce manuscrit traitera de l'élasticité des capsules thérapeutiques. En tirant profit des résultats obtenus au chapitre 3 et 4 sur les bicouches planes et sur l'élasticité du PLGA, nous utiliserons le modèle CHIMER pour interpréter l'élasticité des microcapsules polymères et comprendre son évolution en fonction de l'épaisseur des coques.

Des microcapsules seront d'abord étudiées et nous verrons que l'approximation d'un contact sphère-plan permet une bonne interprétation de leurs élasticités. Des nanocapsules seront ensuite étudiées par nanoindentation en milieu liquide, pour se rapprocher au mieux des conditions biologiques. Nous discuterons de l'usage du modèle CHIMER, adapté aux bicouches planes, dans le cas de particules sphériques.

Chapitre I

Nanoindentation par AFM : Principes et état de l'Art

Sommaire

I.1	Microscopie à Force Atomique (AFM)	10
I.1.1	Histoire et Principe de l'AFM	10
I.1.2	Mesure de force par AFM	13
I.2	Nanoindentation en AFM : Principe et Métrologie	16
I.2.1	Calibration de la raideur des leviers	16
I.2.2	Mesure de l'indentation	19
I.2.3	Détermination de la géométrie des pointes	20

La Microscopie à Force Atomique (AFM) constitue le principal outil d'investigation de la mécanique des matériaux à l'échelle nanométrique. Après un bref historique permettant la mise en contexte de cette étude, nous discuterons de l'AFM en tant que capteur de force et décrirons les courbes de force caractéristiques de la nanoindentation par AFM. Cette mise en perspective de l'AFM en tant que capteur de force nous mènera à des considérations métrologiques indispensables pour l'obtention de résultats quantitativement pertinents. Nous discuterons ainsi de la raideur des microleviers, de la détermination de la profondeur d'indentation et de la géométrie des pointes utilisées.

I.1 Microscopie à Force Atomique (AFM)

I.1.1 Histoire et Principe de l'AFM

La naissance de la microscopie en champ proche, aussi appelée microscopie à sonde locale, a été à un élément déterminant dans la compréhension des nanosciences et le développement des nanotechnologies. La microscopie à effet tunnel (STM : Scanning Tunnelling Microscope) est la première née des techniques à sonde locale. Créée en 1981 par des chercheurs d'IBM, Gerd Binnig et Heinrich Rohrer (prix Nobel 1986, fig. I.1), le STM permet de mesurer la topographie d'une surface à l'aide du courant tunnel entre une pointe conductrice et l'échantillon. Cette technique permettait d'atteindre, dès les années 80, une résolution atomique. Cependant, le STM nécessite un échantillon conducteur.

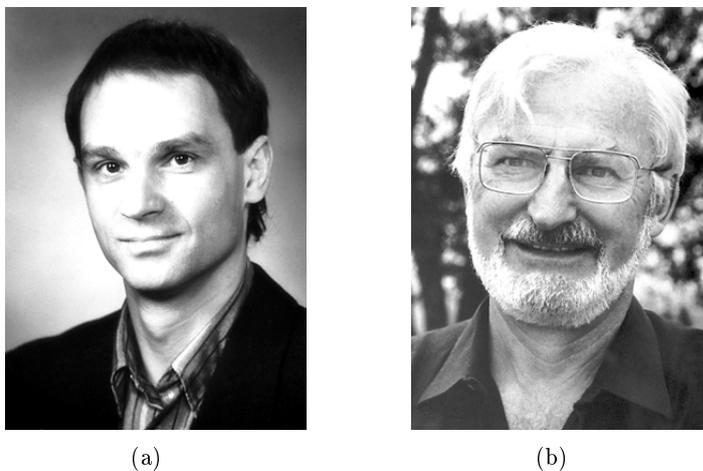


FIGURE I.1 – Gerd Binnig (a) et Heinrich Rohrer (b), prix Nobel de Physique 1986 pour leur développement du microscope à effet tunnel.

D. Rugar et P. Hansma [1] rapportent l'anecdote à l'origine du développement de la microscopie à force atomique. Durant un séjour à l'université de Stanford, Binnig fit l'analogie entre les motifs du plafond de sa maison et les images topographiques qu'il obtenait par STM. Il eut alors l'idée d'utiliser les forces plutôt que le courant afin de produire une image topographique d'une surface. L'AFM (Atomic Force Microscope) ou microscopie de force à balayage (SFM : Scanning Force Microscope) a été inventée en 1986 pour pallier aux limitations de la STM [2, 3]. L'AFM permet d'obtenir des images topographiques de surface avec une résolution de l'ordre du picomètre, soit 10^3 fois meilleures que la limite de diffraction optique. Contrairement au STM, l'AFM ne mesure pas de courant électrique mais emploie un levier muni d'une pointe comme capteur de force. Si le contact est possible entre la pointe AFM et l'échantillon, il est ainsi possible d'étudier n'importe quel type de surface, que ce soit un échantillon biologique en milieu aqueux ou un polymère isolant à l'air ambiant.

Au-delà de l'aspect visuel (Figure I.2(a)), le fonctionnement général de la microscopie à force atomique n'a que très peu changé depuis le premier modèle de 1985. La Figure I.2(b) montre le schéma général de la microscopie à force atomique. L'AFM se compose d'un levier appelé

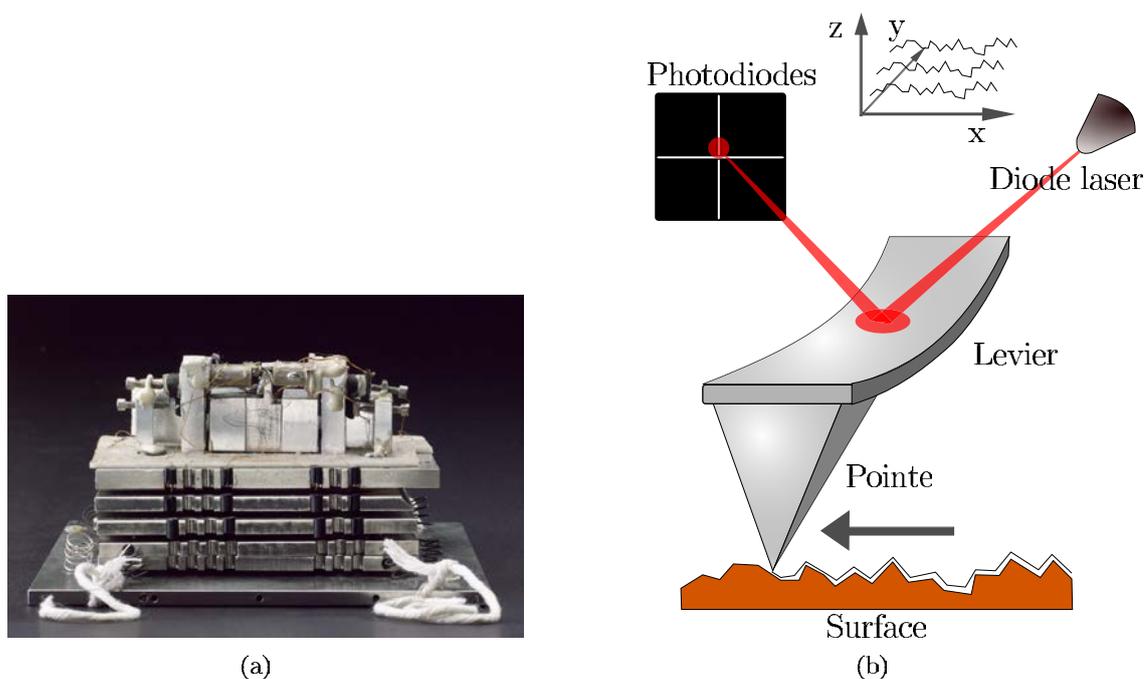


FIGURE I.2 – (a) Premier montage de microscopie à force atomique (Gerd Binnig, Calvin Quate et Christoph Gerber) conservé au musée de la Science de Londres. (b) Schéma du fonctionnement général de la microscopie à force atomique.

"cantilever", dont la traduction française littérale est "porte-à-faux", ce qui peut se comprendre du fait de sa position au-dessus du vide. Dans la suite de cette étude, nous utiliserons le terme "levier", plus à même de caractériser un solide rigide. Ce levier comporte une pointe à son extrémité dont la forme et le matériau varient en fonction de l'application et de l'échantillon étudié. Classiquement, les pointes d'AFM ont une forme conique et leur apex est une sphère d'une dizaine de nanomètres de rayon ou un cône ayant une ouverture d'environ 20° . Cet apex constitue la véritable sonde locale de l'AFM et ses dimensions déterminent les limites de résolution et les problèmes de convolution induisant des artefacts d'imagerie. La pointe permet ainsi de suivre la topologie d'une surface à l'échelle nanométrique. L'information topologique est déduite de la déformation du levier surmontant la pointe. La surface supérieure du levier étant réfléchissante, un rayon laser est réfléchi vers un quadrant de photodiodes. Lorsque le levier est défléchi sur la surface pour épouser un relief, le laser est dévié et cette déviation est mesurée sur les photodiodes. Une boucle de rétroaction liée à une cellule piézoélectrique permet le maintien de la pointe AFM à une force (ou à une hauteur) constante, permettant ainsi la mise en contact ininterrompue et l'imagerie par balayage de la surface.

Le "contact" entre la pointe et l'échantillon est décrit par le potentiel Lennard-Jones (Figure I.3). À longue portée, les forces attractives van der Waals attirent la pointe vers l'échantillon tandis qu'à courte portée les forces répulsives de Pauli, dues aux interactions entre électrons, repoussent la pointe. Selon l'échantillon, différents modes de contact peuvent être employés (Figure I.4) :

- Le mode contact, le mode contact intermittent (*Tapping mode*) et le mode *Peak-Force Tapping*. Le mode contact consiste à appliquer une force constante à la surface et le levier

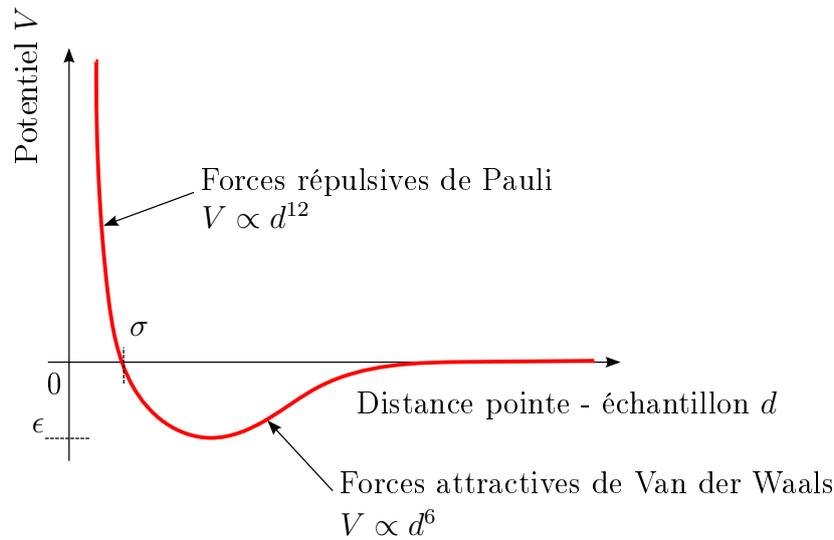


FIGURE I.3 – Le potentiel Lennard-Jones : description du contact en AFM.

est plus ou moins dévié par les forces répulsives en fonction de la topologie de l'échantillon. Ce mode est utilisé dans le cas de matériaux rigides et peu rugueux, comme des surfaces de verre ou de métal, mais ne convient pas aux échantillons mous, déformables et adhésifs comme les échantillons biologiques ou les polymères.

- Le mode *Tapping* (Veeco, 1993), le plus utilisé dans cette étude, consiste à faire vibrer le levier à une fréquence proche de sa fréquence de résonance (de l'ordre de la centaine de kHz) avec une amplitude donnée. Les interactions de la pointe avec la surface (forces Van der Waals, interactions dipôle-dipôle, forces électrostatiques...) diminuent l'amplitude. Une boucle de rétroaction permet d'ajuster la hauteur afin de conserver l'amplitude d'oscillation lors du balayage de la surface. Cette méthode permet de limiter les interactions entre la surface et l'échantillon et donc d'imager des surfaces molles, instables et fragiles. Le mode *Tapping* peut aussi être utilisé comme un mode "non-contact" si l'amplitude des oscillations est suffisamment faible pour que la boucle de rétroaction s'effectue uniquement sur les interactions attractives. Dans ce cas, le contact entre la pointe et la surface est minimisé, ce qui permet l'imagerie d'échantillon particulièrement ductile, instable ou fragile. Cependant, la qualité de l'image souffre de la faiblesse de l'interaction due à la distance pointe-échantillon.
- Le mode *Peak Force Tapping* (Veeco, 2010), est aussi un mode oscillant mais il n'est pas résonnant. La fréquence d'oscillation utilisée (de l'ordre du kHz) est bien en-dessous de la fréquence de résonance. Ce mode permet à la fois un contrôle précis en force et une réduction des dommages de la pointe liés aux forces latérales. Une courbe de force est effectuée en chaque point, permettant une imagerie en force et une imagerie topologique simultanées. De plus, la fréquence de mesure en force étant reliée à la fréquence d'oscillation, il est alors possible d'effectuer des indentations avec une fréquence de l'ordre du kHz.

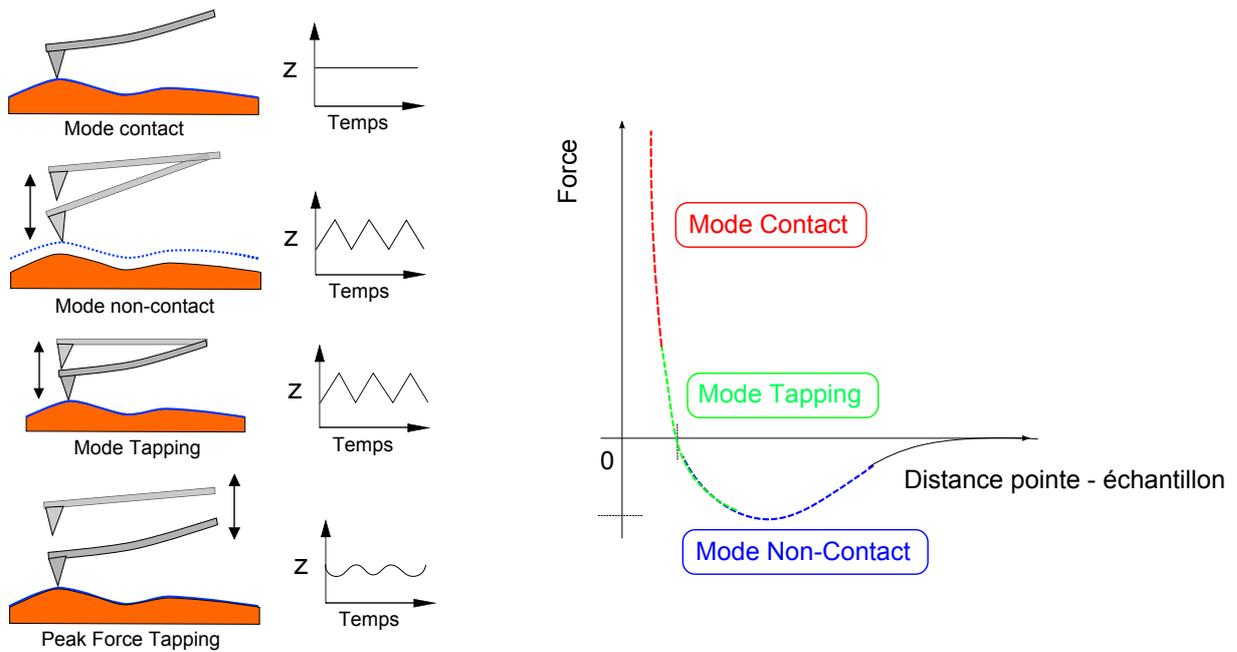


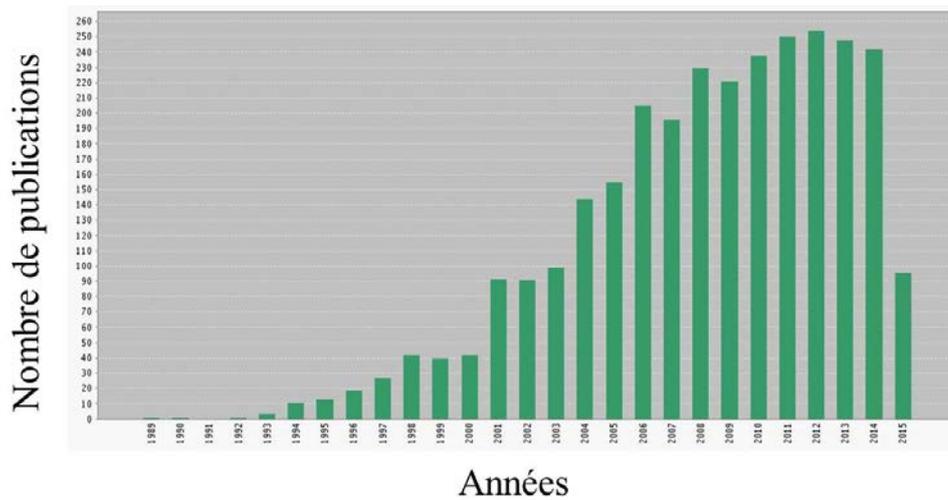
FIGURE I.4 – Modes d'imagerie en microscopie à force atomique. Le mode contact exploite les forces répulsives en plaçant la pointe au plus proche de la surface. Le mode Tapping, le plus utilisé dans cette étude, fait osciller le levier à une fréquence proche de sa fréquence de résonnance et permet de sauvegarder les échantillons fragiles en limitant le contact. Enfin, le mode Peak Force est aussi un mode oscillant couplant l'imagerie topographique et la mesure de force à haute fréquence.

I.1.2 Mesure de force par AFM

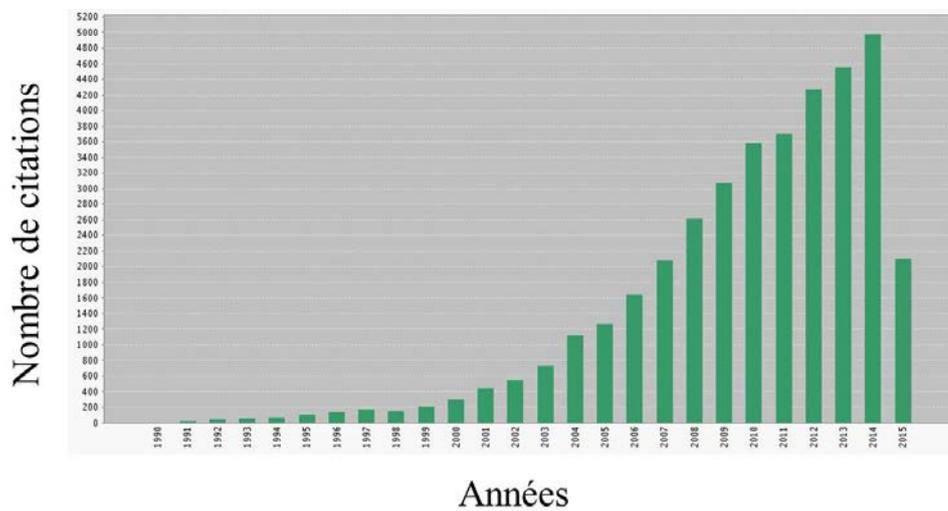
État de l'Art

De par son principe, la microscopie à force atomique n'est pas simplement un outil d'imagerie mais constitue aussi un formidable capteur de force à l'échelle nanométrique. Depuis la fin des années 80, l'intérêt porté par la communauté scientifique pour les mesures de force par AFM n'a fait qu'augmenter, ce qui est clairement visible dans la littérature (Figure I.5) et qui peut s'expliquer par l'émergence des nanotechnologies. En 2005, H.J. Butt, B. Cappella et M. Kappl publient une revue de référence concernant les mesures de force par AFM, leur acquisition et leur interprétation [4]. Il est à noter que les domaines dans lequel la nanoindentation AFM est citée sont très variés, allant de la science des matériaux jusqu'à la biologie moléculaire.

Les premières courbes de force AFM publiées dans une revue internationale datent de 1989 [5]. Cette étude est particulièrement intéressante d'un point de vue épistémologique puisqu'elle pose les bases des mesures de force par AFM, notamment en ce qui concerne les effets liés à l'échelle nanométrique (tension de surface, van der Waals...). En 1990, Landman et al. publient dans *Science* la première étude comparant des simulations de dynamique moléculaire à des nanoindentations AFM sur des surfaces d'or [6]. Par la suite, le développement croissant de la fabrication de micro-levers dans les années 90, notamment par l'usinage de la silice par photolithographie, a permis la diversité des applications par AFM. L'utilisation de colloïdes et de microbilles en acier remplaçant les pointes de silice traditionnelles a permis l'essor de la nanoin-



(a)



(b)

FIGURE I.5 – (a) Nombre d'articles publiés annuellement concernant la nanoindentation AFM. (b) Nombre de citations annuelles concernant la nanoindentation AFM. (Source Web of Science).

dentation d'échantillons biologiques [7] et des mesures quantitatives mieux contrôlées pour des échantillons polymères [8]. Dans le courant des années 2000, la nanoindentation AFM s'est de plus en plus tournée vers des échantillons composites, tels que des microbulles [9, 10, 11, 12], des microcapsules [13, 14, 15], des colloïdes creux [16, 17], des nanotubes [18], des capsides virales [19] ou encore des cellules plus ou moins complexes [20, 7, 21]. Les études mécaniques sont indispensables à la conception de nouveaux systèmes et matériaux macroscopiques, il en est de même pour la fabrication de nano et micro objets. Élasticité, raideur, viscosité ou encore plasticité sont des paramètres qui peuvent s'avérer limitants ou avantageux selon l'application. Par exemple, une particule ayant pour objet de servir de vecteur thérapeutique doit être suffisamment résistante pour ne pas être détruite avant d'atteindre la zone ciblée. Concernant les mesures d'indentations sur des cellules ou des organites, des études récentes montrent que leurs

élasticités et leurs raideurs sont des marqueurs du cancer [22] et des paramètres pouvant évaluer l'efficacité d'un traitement [23]. Certains travaux prétendent ainsi pouvoir discriminer les cellules cancéreuses (et leur degré de malignité) des cellules saines grâce à la mesure de leur raideur et de leur élasticité [24].

Autopsie d'une courbe de force

En pratique, la mesure de force par AFM consiste en l'acquisition de la force appliquée sur la surface en fonction du déplacement vertical (position selon l'axe z). La figure I.6 représente une courbe de force typique ainsi que des schémas suivant l'évolution du levier et de la pointe durant l'approche et la rétractation. Une courbe de force peut être divisée en cinq temps (Figure I.6(a)) :

- une ligne de non-contact : la pointe est suffisamment loin de la surface pour ne pas interagir avec elle (pas de déflexion du levier) [1],
- une attraction à longue portée liée au puit de potentiel de Lennard-Jones (force de van der Waals), attirant la pointe au contact [2],
- l'augmentation de la force (déflexion du levier) appliquée [3],
- la rétraction du levier et donc la diminution de la force et de la déflexion du levier [4],
- une force adhésive, retenant la pointe à la surface et défléchissant le levier de manière négative [5],
- un retour à la ligne de non-contact [1].

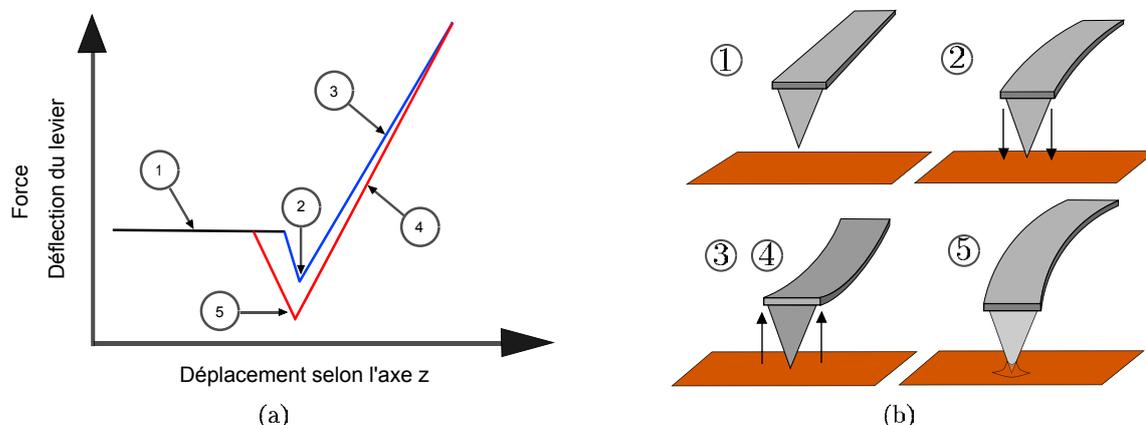


FIGURE I.6 – Courbe de force typique et schémas de la configuration du levier AFM à chaque étape.

Néanmoins, la mesure en force n'est pas directe mais elle est déduite de la déflexion et de la raideur du levier. Au-delà d'une simple considération métrologique, la calibration des paramètres que sont la sensibilité et la raideur du levier, ainsi que la géométrie de la pointe, sont des prérequis nécessaires à l'obtention de données quantitatives. Nous verrons dans la partie suivante comment effectuer cette calibration et quelles sont les attentions particulières à apporter pour pouvoir obtenir des résultats fiables.

I.2 Nanoindentation en AFM : Principe et Métrologie

I.2.1 Calibration de la raideur des leviers

La raideur des leviers AFM est un paramètre important pour l'obtention de données quantitatives en indentation. Le choix du levier doit se faire en fonction du mode d'imagerie utilisé, mais aussi en fonction de l'échantillon à déformer. La gamme de raideurs disponibles est grossièrement située entre 0.01 N.m^{-1} à 100 N.m^{-1} . Les leviers AFM sont classiquement composés de silice. Les dimensions des leviers doivent être choisies pour obtenir les raideurs adaptés à l'échantillon. Ainsi, pour un levier de section rectangulaire, la constante de raideur k_L est :

$$k_L = \frac{Ewt^3}{4L^3} \quad (\text{I.1})$$

où E est le module élastique (module d'Young, voir chapitre suivant) du matériau constituant le levier et w , L et t sont respectivement la largeur, la longueur et l'épaisseur du levier. Les leviers d'AFM peuvent aussi avoir une forme en V, notamment pour les rendre plus souple et limiter la torsion lors du balayage. Cependant, les leviers raides (supérieurs à 1 N.m^{-1}) sont à section rectangulaire car leur déflexion est plus linéaire pour des raisons évidentes de régularité géométrique.

Du point de vue de l'imagerie topographique, les leviers souples (à faible fréquence de résonance) seront plutôt utilisés en mode contact alors que les leviers raides (à haute fréquence de résonance) permettent d'utiliser le mode *Tapping*. En ce qui concerne les mesures d'indentation, le choix de la raideur du levier dépend de l'échantillon étudié. En effet, le levier doit être suffisamment raide pour pouvoir déformer l'échantillon tout en étant suffisamment souple pour pouvoir se défléchir lui-même. En considérant le système levier / échantillon comme deux ressorts en série (respectivement k_L et k_{ech}), on obtient un ressort équivalent k_{eq} de la forme :

$$\frac{1}{k_{eq}} = \frac{1}{k_L} + \frac{1}{k_{ech}} \quad (\text{I.2})$$

Ainsi, la raideur du levier doit être proche de la raideur de l'échantillon ($k_{ech} \approx k_L$). L'indentation de matériaux biologiques nécessite donc des raideurs de l'ordre de 0.05 à 0.5 N.m^{-1} alors que celle des polymères de synthèse (polystyrène, polycarbonate...) nécessite des raideurs dix à cent fois supérieures (1 à 100 N.m^{-1}).

L'étape préliminaire indispensable à toute mesure d'indentation en AFM est la mesure de la raideur du levier utilisé. Classiquement, les fabricants indiquent la raideur nominale des leviers qu'ils fournissent. Cependant, l'écart-type indiqué est souvent relativement important (10 à 50 % de la valeur nominale), surtout pour les leviers les plus raides. De plus, l'application stricte de l'équation I.1 se heurte à des variabilités liées aux méthodes de fabrication, aux hétérogénéités potentielles de la silice ou à la relaxation des contraintes d'un levier ayant déjà servi à la nanoindentation. Pour cette raison, une mesure de la raideur individuelle de chaque levier est l'unique moyen d'obtenir des résultats quantitativement pertinents.

Plusieurs méthodes de mesures existent afin de déterminer la raideur des leviers AFM [25, 26].

Méthode	Incertitude	Avantages	Inconvénients
Chargement sur un levier inversé calibré	$\pm 15 \%$	Permet une comparaison entre leviers	Nécessite une approche très contrôlée / Potentiellement destructif / Dépendant de la stabilité du levier de calibration
Chargement sur un échantillon de calibration	$\pm 15\%$	Permet une mesure simultanée de la géométrie de pointe	Souillure de la pointe / Potentiellement destructif / Dépendant de la stabilité de l'échantillon de calibration
Réponse au bruit thermique	$\pm 5-20 \%$	Très rapide / Sensible pour les leviers souples	Nécessite une courbe de force sur une surface dure / Moins sensible pour les leviers raides / Potentiellement destructif
Réponse à des oscillations forcée	$\pm 5 \%$	Plus sensible que le bruit thermique car amplitude plus importante	Potentiellement destructif / Difficile à mettre en oeuvre et à interpréter en routine

TABLE I.1 – Avantages et inconvénients des différentes techniques permettant de mesurer la raideur k des leviers d'AFM.

Chaque méthode présente ses avantages et ses inconvénients comme décrit dans le tableau I.1.

Dans cette étude, la réponse au bruit thermique (*Thermal Tune*) a été principalement utilisée. La première étape de cette méthode consiste à appliquer une force sur une surface dure afin de mesurer la sensibilité du levier (en $nm.V^{-1}$). En l'occurrence, les surfaces utilisées peuvent être des lames de silicium, des micas clivés ou encore des alliages métalliques. Cette étape n'est pas sans risque puisque la pointe est appliquée sur une surface dure avec une force qu'il est difficile de maîtriser étant donné que la sensibilité et la raideur du levier ne sont pas encore connues. Pour cette raison, il est préférable d'utiliser des pointes recouvertes de carbone à haute densité qui ont une résistance particulière à l'usure en raison de leur dureté. Les courbes de force sur surface dure ont pour particularité d'être linéaires quelle que soit la géométrie de la pointe. En effet, l'échantillon n'étant pas déformé, seul le levier se défléchit et ce de manière linéaire comme l'exprime la loi de Hooke :

$$F = k_L D \quad (I.3)$$

où F est la force appliquée, k_L la raideur du levier et D la déflexion du levier.

La pointe est ensuite éloignée de la surface afin de procéder à la mesure de la réponse au bruit thermique. Le premier mode d'oscillation d'un levier d'AFM peut s'écrire :

$$\left\langle \frac{1}{2} k_L D^2 \right\rangle = \frac{1}{2} k_B T_a \quad (I.4)$$

avec D , la déflexion du levier, T_a la température ambiante et k_B la constante de Boltzmann.

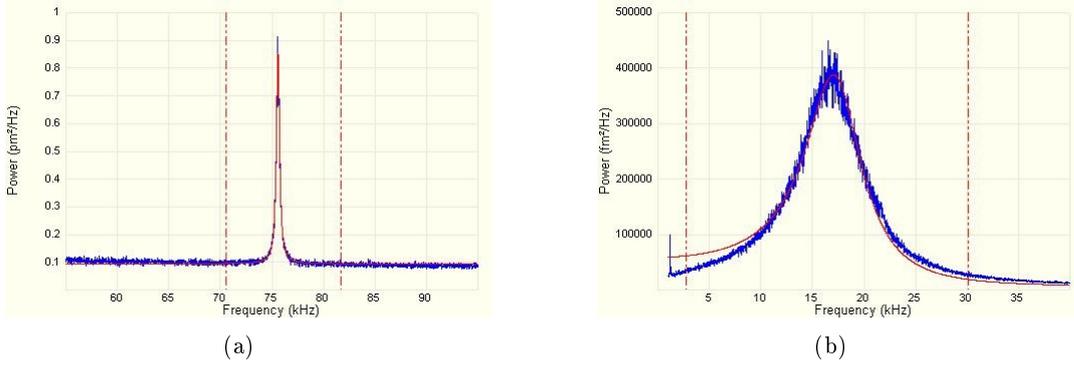


FIGURE I.7 – Spectre de puissance d’oscillation thermique d’un levier d’AFM (a) à l’air, (b) en liquide. Le décalage de la fréquence de résonance du levier est clairement visible.

L’acquisition d’un spectre de bruit thermique (Figure I.7) permet de retrouver le pic correspondant à l’harmonique située à la fréquence de résonance du levier. À l’air, un modèle lorentzien permet de décrire le spectre de puissance d’oscillation thermique $p(f)$ au voisinage de la première harmonique de la fréquence de résonance suivant la relation :

$$p(f) = \frac{a_0}{(f - a_1)^2 + a_2} + a_3 \quad (\text{I.5})$$

où a_0 , a_1 , a_2 et a_3 sont des paramètres à ajuster. a_3 représente le bruit ambiant et est considéré comme uniforme et constant dans l’intervalle de fréquence avoisinant le pic de résonance. a_0 , a_1 et a_2 sont reliés à la hauteur du pic de résonance. Ainsi, la raideur du levier k_L peut être déduite de l’expression suivante :

$$k_L = \frac{k_B T_a}{\pi a_0 / \sqrt{a_2}} \quad (\text{I.6})$$

Bien que la raideur du levier change très peu en fonction de la température et du milieu, il est possible d’effectuer un *Thermal Tune* en milieu liquide. Dans ce cas, la fréquence et l’amplitude du pic de résonance sont fortement amorties et le modèle lorentzien peut ne pas suffire à décrire la puissance d’oscillation thermique au voisinage de la première harmonique. Dans ce cas, une équation d’oscillateur harmonique permet de décrire le spectre de puissance selon l’expression :

$$p(f) = a_{f_0} \cdot \frac{a_1^2}{(a_1^2 - f^2) + 2f\sqrt{a_2}} + a_3 \quad (\text{I.7})$$

La méthode du *Thermal Tune* a pour avantage d’être très rapide et utilisable en routine. Les leviers les plus raides (de l’ordre de 100 N.m^{-1}) présentent une amplitude d’oscillation plus faible que les leviers souples, ce qui peut induire des erreurs de mesures de k_L de l’ordre de 10 à 15 % par rapport à leur valeur nominale. Pour éviter cela, il est utile de coupler cette méthode avec une méthode de mesure directe (sur un échantillon de calibration par exemple). Il est à noter que cela nécessite une connaissance de la géométrie de la pointe, dont la mesure est décrite dans la partie I.2.3.

I.2.2 Mesure de l'indentation

Le mot *indentation* désigne la technique consistant à déformer un objet à l'aide d'un indenteur pour en déterminer les propriétés mécaniques (élasticité, raideur, dureté) mais il désigne aussi la grandeur physique δ . Par la suite, nous parlerons de *déformation* pour désigner l'intégralité du déplacement du matériau par rapport à sa position d'origine. L'indentation δ , aussi appelée pénétration, est définie comme étant la profondeur maximale atteinte par l'indenteur (la pointe AFM par exemple) à un temps t et à une force F .

L'indentation δ n'étant pas directement lisible sur les courbes de force (F vs. z), il est nécessaire de la calculer via une comparaison entre les courbes de force sur une surface dure et sur l'échantillon indentée. Cette étape qui peut paraître triviale est fortement dépendante de la calibration de la raideur du levier décrite précédemment. La qualité de la courbe sur une surface dure, ainsi que la précision de la mesure de la sensibilité du levier, peuvent faire varier de manière critique les interprétations en indentation des courbes de force. L'indentation est calculée comme suit :

$$\delta = |z - z_0| - |D - D_0| \quad (\text{I.8})$$

où z est le déplacement vertical du scanner d'AFM, D la déflexion du levier, z_0 et D_0 sont le déplacement vertical et la déflexion du levier auxquels le contact entre la pointe et l'échantillon intervient. Ce point de contact "zéro" peut être particulièrement délicat à déterminer, notamment dans le cas d'échantillon fortement adhésif ou électrostatique. En règle générale pour un échantillon homogène et non adhésif, le point de contact choisi se situe au minimum de la force appliquée, c'est à dire lorsque les forces attractives et les forces répulsives se compensent. Le choix du point de contact est crucial dans la détermination de l'indentation et de l'élasticité. Les méthodes décrites par Cao et al. [27] et Sun et al. [28] permettent d'introduire une correction de l'erreur initiale due à la translation liée à l'adhésion. Cet aspect sera développé plus en détail dans la partie II traitant des modèles de contact élastique et de la manière de les mettre en oeuvre.

La figure I.8 présente une courbe de force sur un film de polystyrène ainsi que sur une surface de silicium. Cette dernière est considérée comme étant infiniment dure et sert de référence pour le calcul de l'indentation. Dans le cas des techniques de micro ou nano indentations sans leviers (indenteurs Vickers, Rockwell...), il n'est pas nécessaire d'effectuer des calibrations afin d'obtenir δ . Des actuateurs piézoélectriques permettent la mesure directe de la force F et de l'indentation δ . L'utilisation de l'AFM en tant que nanoindenteur présente donc l'inconvénient d'être très dépendant de la qualité et de la calibration des leviers. Néanmoins, les forces accessibles en AFM sont de l'ordre de 10^{-12} à 10^{-6} N alors que la micro indentation applique des forces de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-2} N. De plus, les techniques d'indentation sans levier ne permettent pas d'imager les échantillons à l'échelle nanométrique ce qui limite la possibilité d'indenter des nano ou des micro objets.

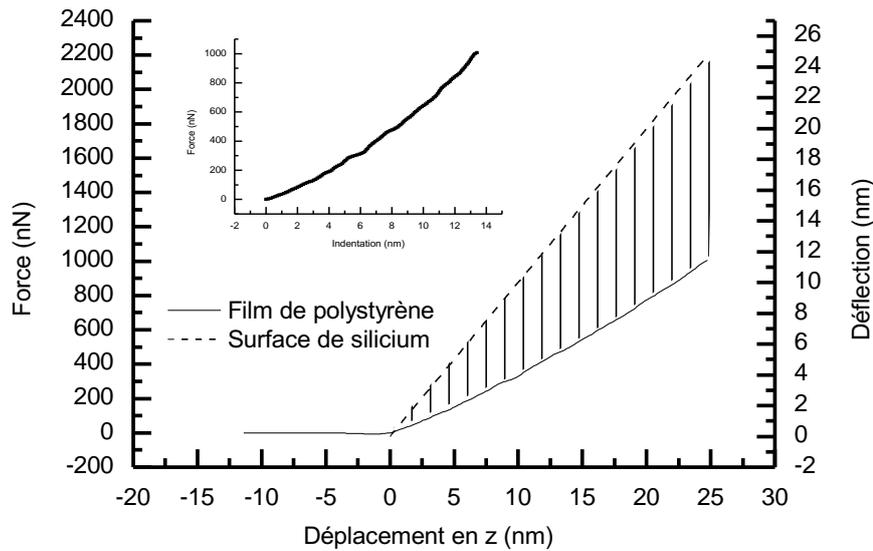


FIGURE I.8 – *Mesure de l'indentation d'un film de polystyrène par AFM. La courbe noire est une courbe de force sur un film de polystyrène. La ligne discontinue représente une courbe de force sur une surface infiniment dure. La différence des déflexions sur la surface dure et sur le film de polystyrène permet de déterminer la profondeur d'indentation (cf. encart).*

I.2.3 Détermination de la géométrie des pointes

La géométrie des sondes AFM est un paramètre important permettant l'interprétation des courbes force. Le chapitre II présente en détail les différents modèles de contact et les paramètres géométriques indispensables à la détermination des paramètres mécaniques tels que l'élasticité, la raideur ou la dureté.

Contrairement aux techniques de micro et nano indentation pour lesquelles la forme de la sonde est bien connue, les pointes d'AFM ont des dimensions nanométriques qui rendent difficile leur appréciation géométrique. Pour cette raison, de nombreuses études de nanoindentation en AFM utilisent des sondes colloïdales afin d'obtenir une géométrie régulière et plus évidente à caractériser. Les sondes colloïdales classiquement utilisées sont des sphères de plusieurs dizaines voire centaines de microns. Dans ces conditions, la microscopie électronique permet aisément la mesure du rayon R . En revanche, de telles pointes ne permettent pas la mesure topographique d'un échantillon à l'échelle nanométrique, ce qui est handicapant dans le cas d'une étude de nano-objet. Dans cette étude, des pointes à apex sphérique de 10 à 150 nm de rayon ont été utilisées, ce qui motive la détermination précise de leurs dimensions.

La figure I.9 présente des clichés de microscopie électronique à balayage (MEB) de pointes ayant été utilisées pour indenter des microcapsules polymères. La microscopie électronique classique dispose d'une résolution de l'ordre de 10 nm, ce qui n'est pas toujours suffisant pour discerner avec précision la géométrie d'une pointe AFM. Au-delà du problème de la résolution, la mise en place d'un porte-levier d'AFM dans une chambre à vide de microscopie électronique

multiplie les risques de destruction de la sonde, que ce soit lors de la descente en pression ou lors de la manipulation. Cette méthode n'est donc pas facilement adaptable en routine.

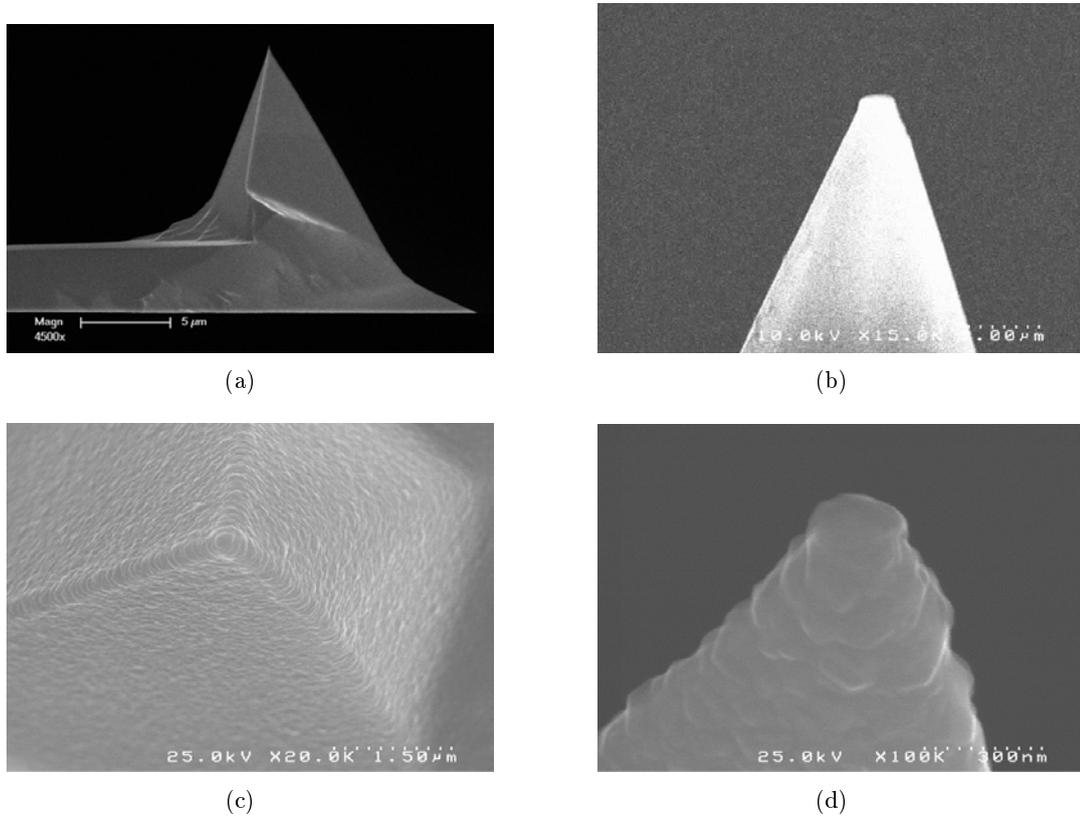


FIGURE I.9 – Images de microscopie électronique à balayage de pointes AFM : pointe de silice classique avant (a) et après (b) utilisation en indentation. L'érosion de la pointe est parfaitement visible. Les images (c) et (d) sont des images d'une pointe comportant un revêtement de carbone haute densité, ce qui augmente leur taille mais résiste mieux à l'érosion lors des indentations successives.

La déconvolution s'impose comme étant la méthode la plus simple pour déterminer les dimensions caractéristiques des pointes de nanoindentation. Des algorithmes d'estimation aveugle des pointes (*blind tip estimation algorithms*) permettent de procéder à ce que l'on peut appeler une "image inverse". La topographie d'une surface de caractérisation, comportant des motifs géométriques réguliers (pyramides aigües, trous ou marches rectangulaires), est effectuée avec la pointe d'intérêt et l'algorithme de déconvolution permet de retrouver l'image de la pointe avec une résolution dépendante des dimensions des objets à la surface. L'image d'un objet est obtenue par dilatation de l'échantillon et la réflexion (image inversée) de la pointe P telle que :

$$I = S \oplus P \quad (\text{I.9})$$

avec I l'image de l'échantillon, S la véritable topologie de la surface et $-P$ la réflexion de la pointe. Cet effet de convolution est clairement visible sur le schéma de la figure I.10.

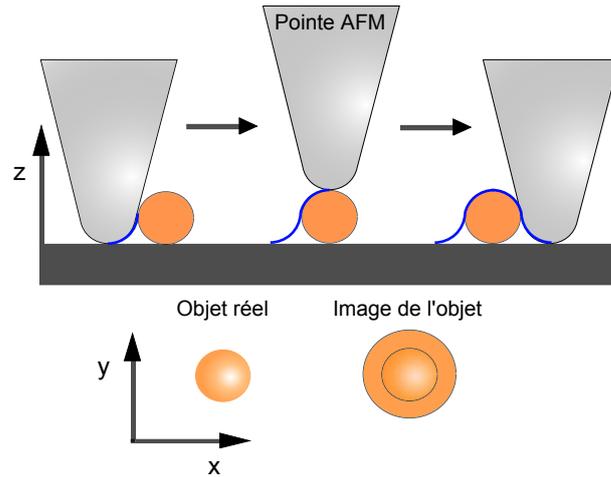


FIGURE I.10 – Schéma de la convolution d'un objet sphérique avec une pointe AFM classique. L'image obtenue comporte un artefact déformant la forme réelle de l'objet.

Si l'échantillon est connu ou si les objets sont particulièrement réguliers (régulièrement répartis à la surface et approximativement identiques), il est possible de définir un processus itératif permettant de retrouver P , l'image "réfléchie" de la pointe :

$$P_{i+1} = \bigcap_{\vec{x} \in I} [(I - \vec{x}) \oplus P'_i(x)] \bigcap P_i \quad (\text{I.10})$$

où le calcul de l'itération $(i + 1)$ est basé sur le résultat de l'itération i et \vec{x} est un point d'intérêt de l'image I . Si l'algorithme converge, le résultat de l'estimation de la forme de la pointe P_r est :

$$P_r = \lim_{i \rightarrow \infty} P_i \quad (\text{I.11})$$

Cet algorithme est décrit en détail dans l'article de J.S. Villarubia [29] et a été mis en œuvre grâce au logiciel Gwyddion¹ (David Nečas and Petr Klapetek, Department of Nanotechnology, Czech Metrology Institute). Ce traitement permet d'avoir une connaissance précise des dimensions de la pointe mais aussi de corriger les artefacts des images d'AFM. La figure I.11 présente le résultat de la déconvolution aveugle d'une pointe B1-NCHR (Nanoworld). Cette pointe est de nouveau caractérisée après avoir effectué de multiples courbes de force sur des échantillons polymères. La souillure de la pointe est ainsi flagrante. Une couche de polymère forme un véritable manteau autour de la pointe, ce qui multiplie le rayon effectif par deux et modifie considérablement sa réponse mécanique. Une caractérisation régulière des pointes permet une vérification de leur géométrie et met en évidence les pointes souillées ou détruites.

1. Logiciel téléchargeable gratuitement sur <http://gwyddion.net/>

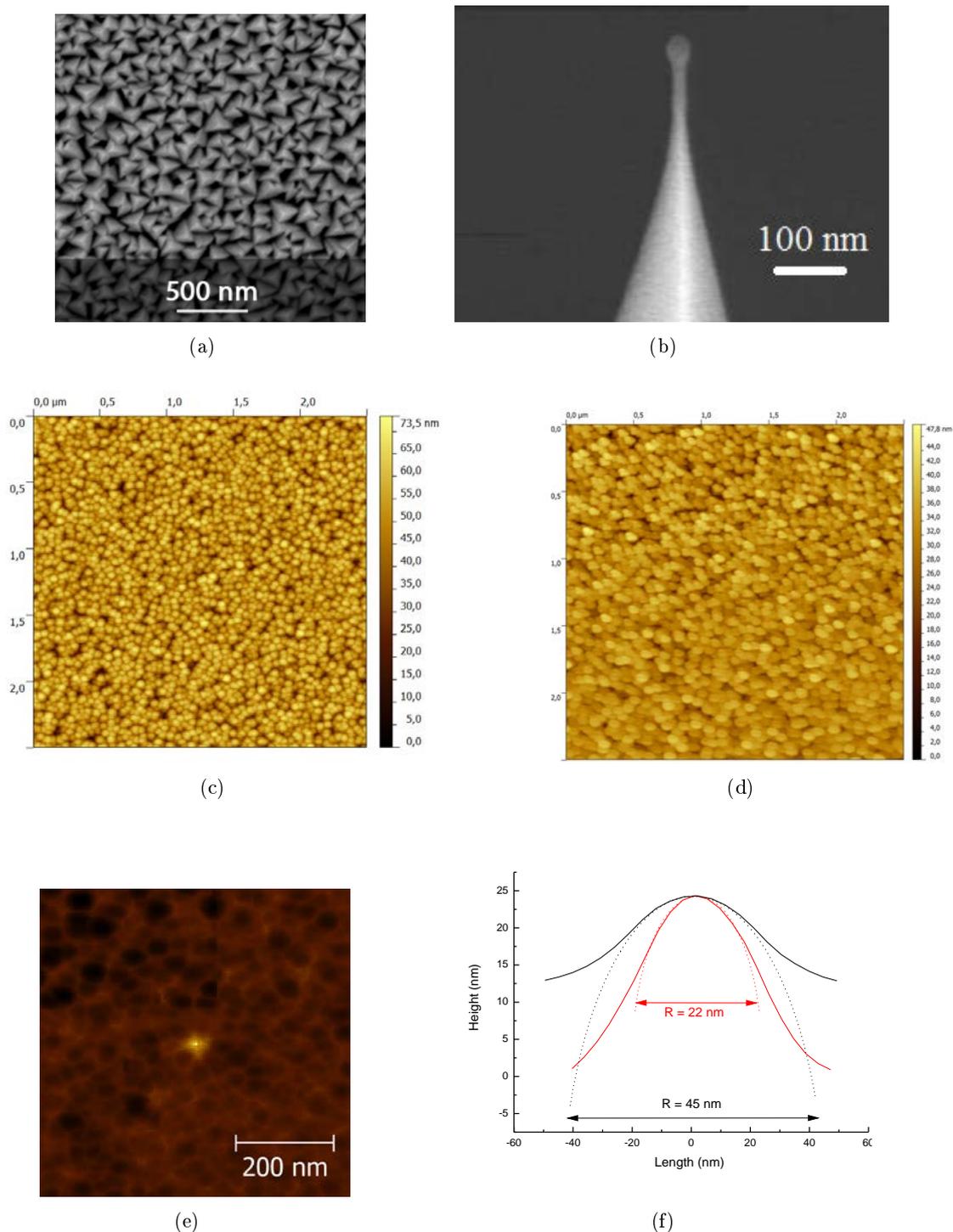


FIGURE I.11 – Déconvolution d’une pointe AFM B1-NCHR (Nanoworld) dont l’apex est une sphère de carbone haute densité ($R = 15-25$ nm). (a) Image de microscopie électronique d’une surface de caractérisation type PA01 (Mikromasch). (b) Image de microscopie électronique d’une pointe B1-NCHR. (c) Image AFM de la surface PA01 via une pointe B1-NCHR neuve. (d) Image AFM d’une surface PA01 via une pointe B1-NCHR souillée après l’indentation d’un échantillon polymère. (e) Déconvolution/Image inverse de la pointe via l’image de la surface de caractérisation. (f) Profil de la pointe avant (rouge) et après utilisation (noir). Les lignes discontinues représentent les rayons estimés de la pointe avant et après utilisation.

Chapitre II

Théorie du contact et mesure de l'élasticité

Sommaire

II.1 Élasticité des matériaux homogènes	26
II.1.1 Module élastique : pertinence du module d'Young	26
II.1.2 Contact élastique : modèle de Hertz et ses variantes	28
II.1.3 Méthode d'Oliver et Pharr et microindentation	34
II.1.4 Modèles visco-élastiques	36
II.1.5 Contact élastique et adhésion	40
II.2 Élasticité des matériaux composites	44
II.2.1 Limite des modèles classiques pour les matériaux hétérogènes	44
II.2.2 Interprétation de l'élasticité équivalente d'une bicouche plane par l'ap- proche semi-analytique CHIMER	49
II.2.3 Déformation d'une coque	53

Les mesures de forces par AFM (ou par toute autre technique d'indentation) ne peuvent être interprétées sans une compréhension théorique du contact. Ce chapitre décrit donc les principaux modèles de contact élastique utilisés dans cette étude. La première partie sera consacrée à l'élasticité des matériaux homogènes. Après une brève description du module élastique d'Young, nous nous intéresserons au modèle élastique de Hertz. Ce modèle simple, s'il en est, repose sur des hypothèses fortes, notamment en ce qui concerne la géométrie du contact. L'adhésion tenant une part importante dans le comportement du contact à l'échelle nanométrique, nous nous pencherons sur les modèles de contact élastiques-adhésifs et nous discuterons de leur pertinence de le cas de l'indentation des polymères. La seconde partie s'intéressera particulièrement à l'élasticité des matériaux composites, dont les bicouches et les capsules font partie. Nous verrons que l'emploi des modèles de contacts décrits précédemment devient caduc. Un modèle numérique est donc proposé pour interpréter les courbes de force issues de l'indentation des bicouches composés d'un film reposant sur un espace semi-infini. Cette méthode originale fera l'objet de la dernière partie de ce chapitre et permettra l'interprétation des résultats décrits dans les chapitres III et V.

II.1 Élasticité des matériaux homogènes

II.1.1 Module élastique : pertinence du module d'Young

Le mot élasticité vient du grec *ελαστός* qui signifie "étiré, ductile" et représente la capacité d'un matériau solide à retourner à son état d'origine après avoir été déformé. Physiquement, l'élasticité reflète des comportements très variés, allant de la réorganisation à l'échelle atomique pour les métaux à la relaxation des forces dans un matériau poreux en passant par l'étirement des chaînes d'un polymère à l'échelle moléculaire. La quantification de l'élasticité s'effectue grâce à la mesure de paramètres appelés modules, qui expriment les forces par unité de surface nécessaires pour déformer un objet (en Pa). Un module élevé caractérise un matériau difficile à déformer (rigide) alors qu'un module faible indique que le matériau est mou et facilement déformable. Différents modules élastiques peuvent être déterminés en fonction du mode de déformation employé. Les trois principaux modules élastiques sont :

- le **module d'Young (E)** décrivant l'élasticité de traction (ou de compression) longitudinale et classiquement appelé *module élastique*,
- le **module de cisaillement (G ou μ)** décrivant l'élasticité d'un matériau déformé à volume constant et soumis à des efforts de cisaillement, c'est-à-dire de manière tangentielle à la surface d'un matériau,
- le **module d'élasticité isostatique (K)** (*bulk modulus*) décrivant l'élasticité volumique d'un matériau uniformément comprimé dans toutes les directions, et exprimé comme l'inverse de la *compressibilité*.

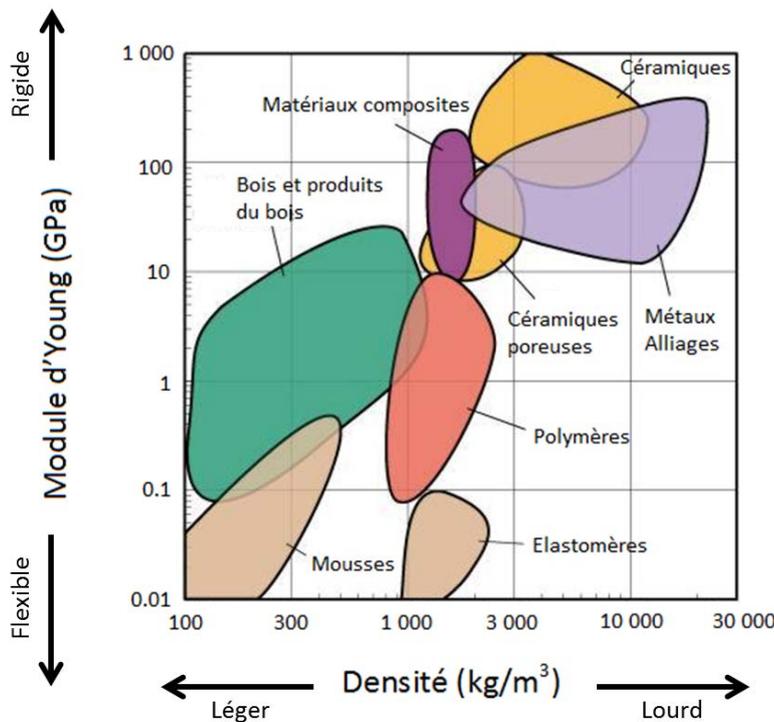


FIGURE II.1 – Modules d'Young de différents matériaux en fonction de leurs densités.

Les relations entre le module d'Young et les modules de cisaillement et d'élasticité isostatique sont définies comme étant :

$$\begin{aligned} E &= 2(1 + \nu)G \\ E &= \frac{3(1-2\nu)}{K} \end{aligned} \quad (\text{II.1})$$

avec ν , le coefficient de Poisson du matériau. Ce coefficient caractérise la contraction de la matière perpendiculairement à la direction de l'effort appliqué. À titre indicatif, le coefficient de Poisson est de 0.5 pour les matériaux incompressibles comme les élastomères et est proche de 0.3 pour les polymères vitreux [30].

La figure II.1 permet d'apprécier l'ordre de grandeur du module élastique d'Young des matériaux usuels en fonction de leur densité. De nombreux abaques¹ compilent les propriétés élastiques des matériaux et permettent une première approche de leurs propriétés mécaniques.

La déformation élastique intervient pour des sollicitations faibles des matériaux. Au-delà du régime élastique, des ruptures et des déformations plastiques non-linéaires interviennent. Pour les petites déformations, l'élasticité d'un matériau peut être appréhendée comme celle d'un ressort présentant une relation linéaire entre la contrainte exercée et sa déformation. Cette relation a été formulée pour la première fois par Robert Hooke à la fin du XVIIème siècle : $F = -kx$, "*Ut tensio, sic vis*", "*telle extension, telle force*". Dans un modèle unidimensionnel, l'élasticité peut ainsi s'exprimer comme :

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} \quad (\text{II.2})$$

où E est le module d'Young, σ est la contrainte imposée au matériau (exprimée comme une pression, $\sigma = F/S$) et ϵ est la déformation induite par cette contrainte (déformation relative sans unité $\epsilon = \Delta L/L_0$). Le module d'Young E est à distinguer de la raideur k . E est une grandeur intensive alors que k est fondamentalement extensive. Le module élastique est donc intrinsèque au matériau considéré ce qui en fait une grandeur mécanique pertinente pour la science des matériaux et les approches conceptuelles et expérimentales du comportement d'un objet selon les conditions physico-chimiques.

Les techniques d'indentation permettent, via l'application d'une force normale à une surface, la détermination du module d'Young d'un matériau. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser un modèle de contact décrivant l'évolution d'une déformation en fonction de la contrainte exercée et prenant en compte la géométrie des corps en contact. Le contact élastique sans adhésion est décrit par le modèle de Hertz et ses variantes (partie II.1.2). Le modèle d'Oliver et Pharr, traité dans la partie II.1.3, introduit la plasticité dans la mesure de l'élasticité, ce qui peut s'avérer particulièrement pertinent dans le cas de la microindentation. Tous les matériaux réels étant visco-élastiques, nous nous intéresserons dans la partie II.1.4 à la déformation de fluage et au modèle permettant de déterminer les paramètres visqueux et élastiques à temps longs. Enfin, la nanoindentation AFM traitant des déformations nanométriques, nous verrons que l'adhésion

1. cf. par exemple http://www.engineeringtoolbox.com/young-modulus-d_417.html

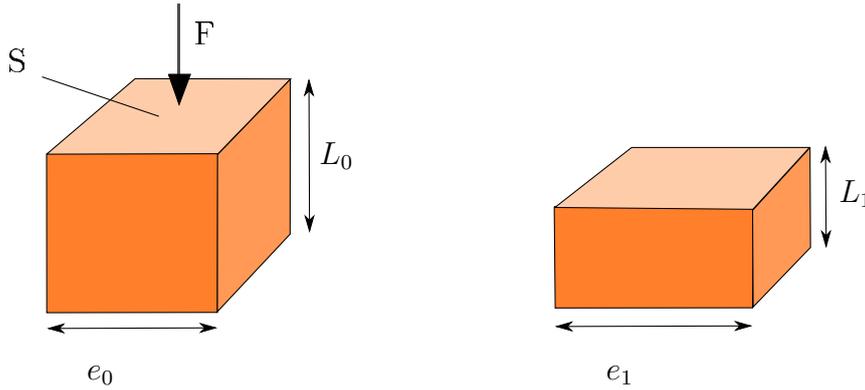


FIGURE II.2 – Schéma d'un objet isotrope soumis à une pression uniaxiale F/S . $L_0 - L_1 = \Delta L$. Le coefficient de Poisson est défini comme : $\nu = [(e_1 - e_0)/e_0]/[(L_1 - L_0)/L_0]$

peut jouer un rôle important dans la mesure du module élastique. Les modèles prenant en compte l'adhésion seront traités dans la partie II.1.5.

II.1.2 Contact élastique : modèle de Hertz et ses variantes

Le problème du contact² d'une sphère sur un espace semi-infini ou du contact entre deux sphères a été résolu en 1882 par le physicien allemand Heinrich Rudolf Hertz [32]. Considérons deux sphères de rayons R_1 et R_2 . On définit R comme étant le rayon effectif du contact entre les deux objets :

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad (\text{II.3})$$

Le point de contact intervient au point O . Si les deux sphères sont comprimées l'une contre l'autre avec une force F , les centres des deux sphères se rapprochent d'une distance équivalente à l'indentation δ avec un rayon de contact a . Les hypothèses du modèle de Hertz sont les suivantes :

- le rapport a/R est petit ;
- la friction entre les deux objets est nulle ;
- le contact est unilatéral, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de force de traction dans l'aire de contact (adhésion...)

Géométriquement, les équations des profils des sphères présentés au schéma II.3 sont :

$$\begin{aligned} R_1^2 &= r_1^2 + (z_1 - R_1)^2, \\ R_2^2 &= r_2^2 + (z_2 - R_2)^2. \end{aligned} \quad (\text{II.4})$$

Près de l'axe z et du point O , la distance entre les points M et N est décrit par la fonction :

$$g(r) = \frac{r^2}{2R} \quad (\text{II.5})$$

En considérant $u_z(1)$ et $u_z(2)$ les déplacements élastiques verticaux dus à la déformation locale et la distance $[HK]$ comme étant égale à l'indentation δ , on obtient :

2. Ce problème est largement décrit dans le cours de référence de L. Landau et E. Lifshitz (Physique Théorique, Vol.7, Théorie de l'Élasticité, 1959). Par ailleurs, notons que le livre de D. Maugis (*Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids* [31]) est une référence incontournable de la mécanique du contact.

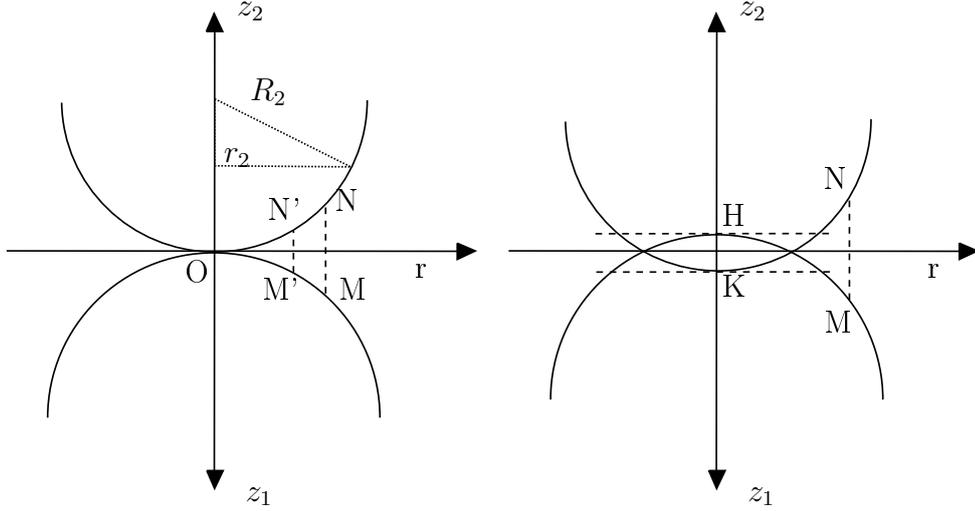


FIGURE II.3 – Deux sphères en contact : en un seul point (à gauche), avec une surface circulaire de contact (à droite). Reproduction d'un schéma de D. Maugis, "Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids".

$$u_z(1) + u_z(2) = \delta - \frac{r^2}{2R} \quad (\text{II.6})$$

Cette description purement géométrique ne rend pas compte du déplacement tangentiel $u_z(r, 0)$. Il devient alors nécessaire d'intégrer ce résultat dans une description du champ de déplacement due à une force appliquée de manière ponctuelle sur une surface élastique. La description de Joseph Boussinesq (1885, [33]) permet d'appréhender ce problème. Le déplacement d'une surface indentée par une force ponctuelle est ainsi donné par :

$$u_z(r, 0) = \frac{(1 - \nu^2) F}{\pi E} \frac{1}{r} \quad (\text{II.7})$$

En revenant au problème sphérique, le déplacement $d^2u_z(1)$ d'un point de la sphère 1 situé dans la surface de contact, sous l'action d'une pression $\frac{F}{S}$ exercée par la sphère 2 est donné par :

$$d^2u_z(1) = \frac{(1 - \nu^2) F}{\pi E_1} \frac{1}{S} \quad (\text{II.8})$$

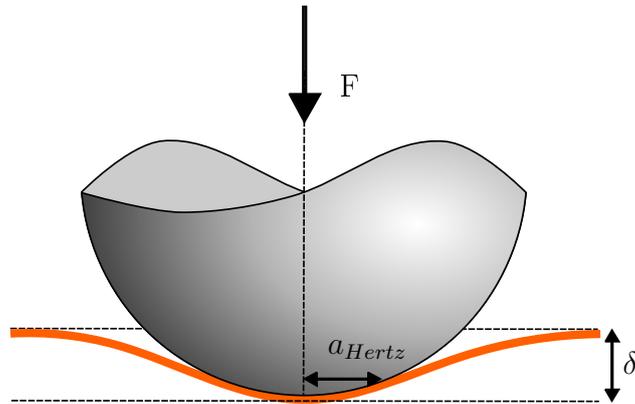


FIGURE II.4 – Contact Hertzien entre un indenteur sphérique et un plan.

À ce stade, il faut trouver une expression de la distribution de pression qui satisfasse cette relation pour tout point de contact. Cette condition est remplie en supposant que la distribution de pression dans la zone de contact est représentée par une demi sphère de rayon a . Le schéma II.4 présente la configuration classique décrite par le modèle de Hertz. La relation entre l'indentation δ et le rayon de contact a est :

$$\delta(a) = \frac{a^2}{R} \quad (\text{II.9})$$

La force exercée est l'intégrale du profil de pression :

$$F_H(\delta) = \frac{4}{3} \sqrt{R} E^* \delta^{3/2} \quad (\text{II.10})$$

où E^* est défini comme :

$$\frac{1}{E^*} = \frac{(1 - \nu_1^2)}{E_1} + \frac{(1 - \nu_2^2)}{E_2} \quad (\text{II.11})$$

avec E_1 et E_2 les modules élastiques et ν_1 et ν_2 les coefficients de Poisson respectifs des sphères 1 et 2.

Le modèle de Hertz constitue un socle sur lequel d'autres modèles de contact élastique ont été développés. De nombreuses variantes de ses modèles de contact sont présentées à la table II.1. En particulier, des modèles considérant l'influence du substrat sont à noter. En effet, il a été montré que la proximité du substrat lors de l'indentation de films minces peut considérablement modifier l'indentation et donc perturber la mesure de l'élasticité. Pour cette raison, la mesure de l'élasticité d'un matériau homogène doit se faire sur un échantillon épais devant la profondeur d'indentation (typiquement $\delta < 0.1T$ avec T l'épaisseur du film).

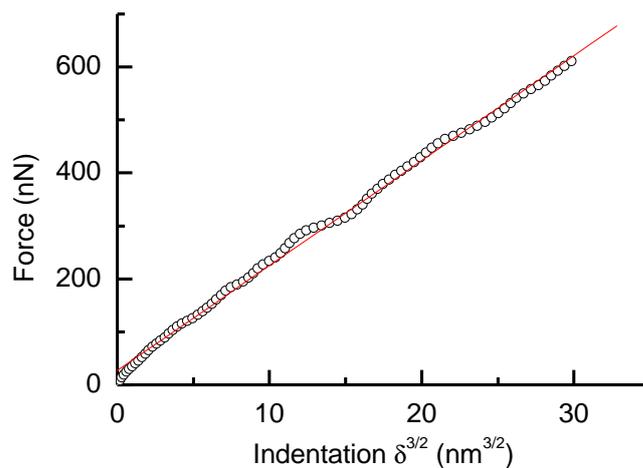


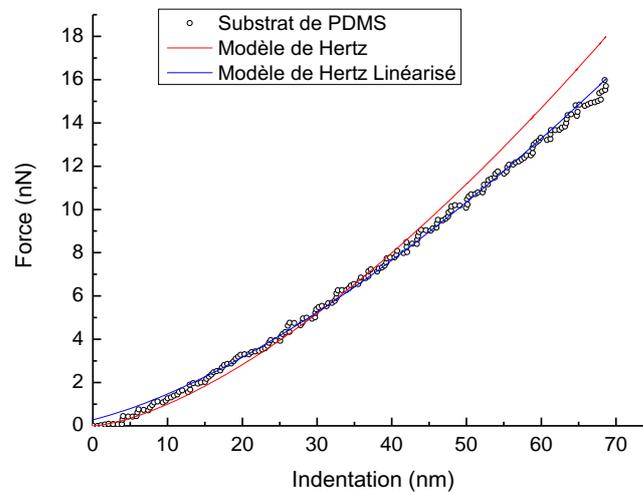
FIGURE II.5 – Ajustement par le modèle de Hertz de la courbe de force expérimentale sur un film de polystyrène présentée dans la partie I.2.2 (figure I.8). Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

Différentes méthodes permettent de mettre en œuvre le modèle de Hertz pour déterminer

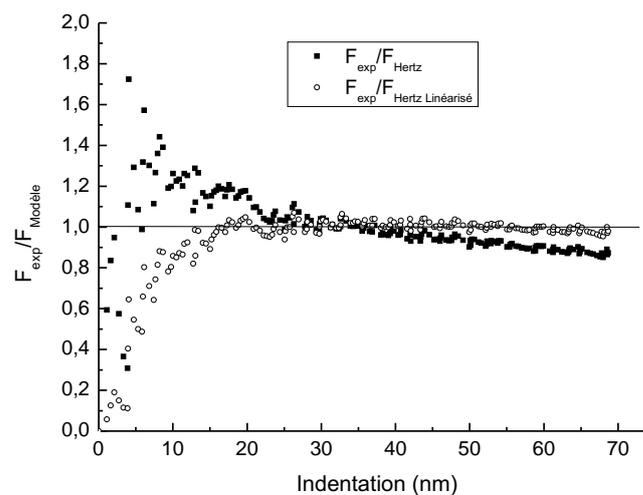
l'élasticité d'un matériau via une courbe de force. La première et la plus commune consiste à ajuster une fonction affine sur les points expérimentaux $F(\delta^{3/2})$ (Figure II.5). Si le point de contact est correctement choisi, cette droite doit avoir une ordonnée à l'origine proche de zéro (force nulle à indentation nulle) et son coefficient directeur peut être introduit dans la relation II.1.2 pour obtenir le module élastique E . Cependant, une légère adhésion ou l'inhomogénéité de l'échantillon rend difficile le choix du point de contact ce qui induit un biais important dans la mesure de l'élasticité. Dans ce cas, l'ajustement de la fonction affine est rendu imprécis notamment à faible indentation. Cette difficulté peut être surmontée en utilisant un modèle de contact plus adapté (cf. partie II.1.5 traitant des modèles élastico-adhésifs) mais aussi plus complexe à mettre en œuvre. Une autre approche consiste à laisser le point de contact libre avec un modèle de Hertz linéarisé selon l'équation :

$$F^{2/3} = \left(\frac{4E\sqrt{R}}{3(1-\nu^2)} \right)^{2/3} (\delta - \delta_0) \quad (\text{II.12})$$

Cette relation est utilisée pour ajuster une partie de la courbe d'approche, typiquement de 10 à 70 % de la force maximale (figure II.6). Négliger les premiers nanomètres d'indentation permet de surmonter les problèmes liés à l'adhésion (dans la mesure où les forces élastiques sont suffisamment fortes devant les forces adhésives) mais aussi les effets d'une hétérogénéité du matériau (cf. partie II.2). La borne supérieure permet de s'affranchir des artefacts liés à la plasticité et à la viscosité des échantillons. En effet, au cours de l'indentation, une certaine quantité de matière va s'amonceler sur les bords de l'indenteur. Cette accumulation de matière, appelée *pile-up*, induit un biais par rapport au comportement Hertzien lorsque l'indentation devient importante. Il est à noter que le point de contact δ_0 (implicitement ajusté par l'ajustement de Hertz linéarisé) peut différer considérablement du point d'équilibre entre les forces attractives et les forces répulsives, que l'on peut considérer comme le point de contact physique. Cet ajustement via un modèle de Hertz linéarisé permet de faire abstraction de tout autre effet que l'élasticité durant les premiers nanomètres d'indentation. Par conséquent, cette interprétation peut s'avérer particulièrement erronée si la zone ajustée contient une part importante d'information adhésive. Si tel est le cas, l'application d'un modèle prenant l'adhésion en compte est recommandée et l'élasticité ainsi calculée se révèle très différente de celle obtenue par le modèle de Hertz linéarisé.



(a)



(b)

FIGURE II.6 – (a) Courbe de force (approche sur un substrat de PDMS) ajustée par le modèle de Hertz (courbe rouge, coefficient de corrélation = 0.95, $E = 3.98\text{MPa}$) et le modèle de Hertz linéarisé ajusté par la méthode des moindres carrés de 10 à 70 % de la courbe d'approche (courbe rouge, coefficient de corrélation = 0.99, $E = 3.2\text{MPa}$, $\delta_0 = -5\text{nm}$). (b) Qualité de l'ajustement des modèles de Hertz et Hertz linéarisé. Le modèle linéarisé souffre d'une erreur importante à faible indentation en raison du décalage du point de contact mais décrit parfaitement la suite de la courbe de force. Résultats B. Sarrazin / CEA LIONS.

Modèle	Équations	Références
Hertz	$F = \frac{4}{3}E^* \sqrt{R}\delta^{3/2}, \delta = a^2/R$	Hertz 1882 [32]
Sneddon (Sphère)	$F = E^* \left(\frac{R^2+a^2}{2} \log \left(\frac{R+a}{R-a} \right) - aR \right), \delta = \frac{a}{2} \log \left(\frac{R+a}{R-a} \right)$	Sneddon [34]
Film mince sur un substrat dur (Sphère)	$F = \frac{4E\sqrt{R}\delta^{3/2}}{4} \cdot f(\chi), \chi = \frac{\sqrt{R\delta}}{T}$	Dimitriadis et al. 2002 [35]
Hyperbole	$F = \frac{E^*a^3}{R} \cdot i(\xi), \xi = \frac{R \cot \theta}{a}$ avec θ le demi-angle d'ouverture de l'hyperbole	Akhremitchev et Walker [36]
Cône (Sneddon)	$\frac{2E^* \tan \alpha}{\pi} \delta^2, \delta = \frac{a\pi}{2 \tan \alpha}$ avec α le demi-angle d'ouverture du cône	Harding and Sneddon [37, 34]
Film mince sur un substrat dur (cône)	$F = \frac{8E^* \tan(\theta)}{3\pi} \delta^2 \left[1 + \beta \frac{\tan(\theta)\delta}{\pi^2 h} + 16\beta \tan(\theta)^2 \frac{\delta^2}{h^2} \right]$	Gavara et Chadwick [38]
Puissance	$F = \frac{E^* A \lambda^2}{2(\lambda+1)} 2^\lambda \frac{\Gamma(\frac{\lambda}{2})^2}{\Gamma(\lambda)} a^{\lambda+1}$ avec la fonction d'Euler Γ	Galini 1946 [39]
Cône émoussé ou tronqué	Faible indentation \approx Hertz, si $(\delta < \frac{b^2}{R})$ $F = 2E^* \cdot g(a, b)$ avec b le rayon de transition	Briscoe et al. 1994 [40]
Pyramide (base carrée)	$F = \frac{1.4906E^* \tan \theta}{2} \delta^2$	Bilodeau 1992 [41]
Pyramide émoussée ou tronquée	Faible indentation \approx Hertz, si $(\delta < \frac{b^2}{R})$ $F = 2E^* f(a, b)$ avec b le rayon de transition	Rico et al. 2005 [42]

TABLE II.1 – Revue des modèles de contact élastique de Hertz et Sneddon selon le type d'échantillon et la forme de l'indenteur.

II.1.3 Méthode d'Oliver et Pharr et microindentation

Outre les problèmes liés à l'adhésion qui seront traités dans la partie II.1.5, les modèles de contact décrits ci-avant ne tiennent pas compte de la plasticité de l'échantillon. Le modèle de Hertz permet de décrire la courbe d'approche et ne tient donc pas compte de l'effet d'hystérèse de la courbe de rétraction dû à la plasticité. Cet effet est classiquement observé lors des expériences de microindentation pour lesquelles la force appliquée atteint plusieurs centaines de millinewtons.

En 1992, W. C. Oliver et G. M. Pharr [43] développèrent une méthode de mesure de l'élasticité dans laquelle la pénétration de l'indenteur δ est la somme de la hauteur de contact δ_c et de l'enfoncement δ_s causé par la déflexion élastique à l'extérieur de l'aire de contact proprement dite. On a ainsi :

$$\delta_c = \delta_{max} - \delta_s \quad (\text{II.13})$$

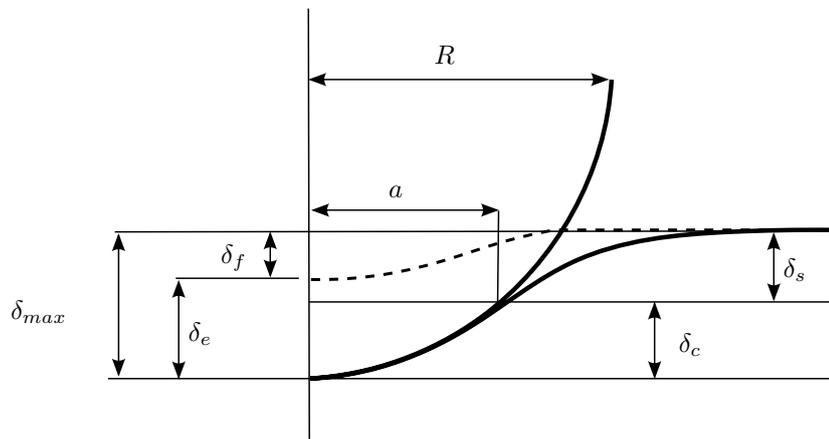


FIGURE II.7 – Géométrie du contact et courbe de force décrites par la méthode de Oliver et Pharr. δ_{max} est l'indentaion maximale atteinte par l'indenteur, δ_f est l'indentaion finale résiduelle après décharge de l'indenteur, δ_c est la profondeur de contact entre la pointe et l'échantillon, δ_s est le déplacement de la surface en dehors du périmètre de contact ($\delta_{max} = \delta_c + \delta_s$).

La figure II.7 et le schéma II.8 présente la configuration de l'indentation et la courbe de force appréhendée par la méthode d'Oliver et Pharr. La pénétration δ est mesurée en cours d'indentation comme étant le déplacement de l'indenteur selon l'axe z à partir du point de contact. La détermination de δ_s et δ_c est plus subtile. Oliver et Pharr supposent que la déflexion de la surface en dehors de l'aire de contact est purement élastique. En s'inspirant des équations de Sneddon [34], on obtient la relation suivante :

$$\delta_c = \delta_{max} - \epsilon \frac{F_{max}}{S} \quad (\text{II.14})$$

avec $\epsilon = 1$ pour un poinçon plat, $\epsilon = 0.75$ pour un parabolôïde de révolution (ou une sphère à faible indentaion par rapport à son rayon) et $\epsilon = 2(\pi - 2)/\pi$ pour un cône et S la raideur à la décharge, mesurée comme étant la pente initiale de la courbe de décharge ($S = dF/d\delta$). Pour un indenteur sphérique, le modèle de Hertz décrit précédemment, couplé aux hypothèses Oliver et Pharr, donne :

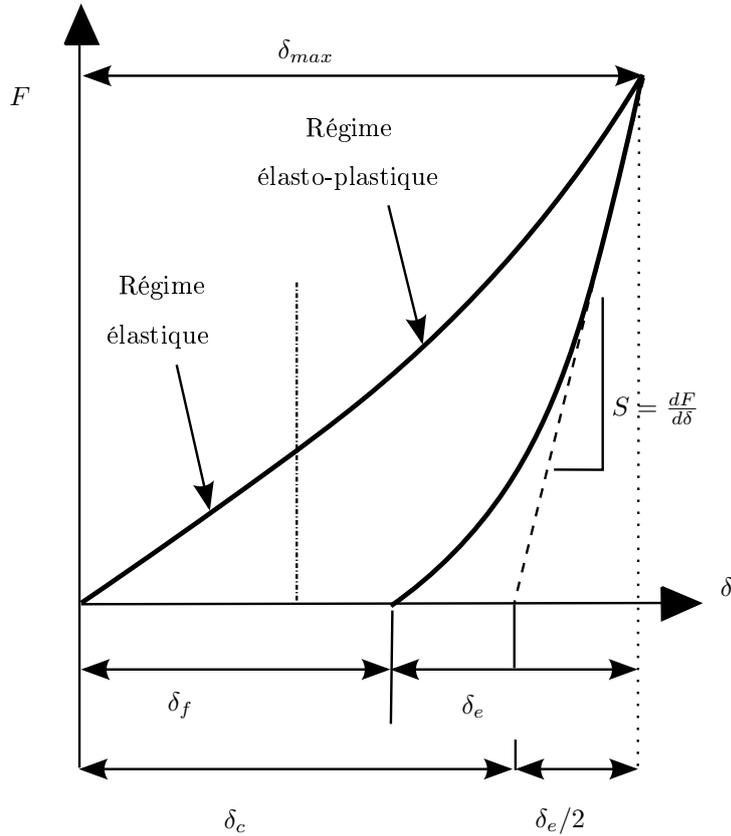


FIGURE II.8 – Courbe de force typique de microindentation. La plasticité de l'échantillon induit une hystérèse et une indentation résiduelle δ_f qui est lisible sur la courbe.

$$F = \frac{4}{3}\sqrt{RE^*}(\delta_{max} - \delta_f)^{3/2} \quad (\text{II.15})$$

Notez que l'indentation n'est pas δ_{max} mais bien $\delta_{max} - \delta_f$ car il s'agit ici de décrire le déplacement de la courbe de retour afin de prendre en compte la plasticité. La déformation résiduelle δ_f est donc soustraite de l'indentation totale. La raideur à la décharge S est ainsi :

$$S = \frac{dF}{d\delta} = 2\sqrt{RE^*}(\delta_{max} - \delta_f)^{1/2} \quad (\text{II.16})$$

En substituant les équations II.15 et II.16 dans l'équation II.14 et en notant que $\epsilon = 0.75$ pour une sphère, on obtient :

$$\delta_c = \frac{\delta_{max} + \delta_f}{2} \quad (\text{II.17})$$

La profondeur de contact δ_c est donc simplement la moyenne de l'indentation maximale δ_{max} et de l'indentation finale δ_f . Ainsi, le module élastique est déterminée en mesurant la pente S et en utilisant la relation II.16. Cette méthode sera utilisée par la suite pour mesurer l'élasticité de pastilles de polymère en microindentation.

II.1.4 Modèles visco-élastiques

Dans tous les matériaux, les comportements élastiques et visqueux coexistent³. Le concept de viscosité a été introduit à travers le postulat de Newton selon lequel, pour un liquide parfait :

$$\sigma(t) = \eta \dot{\epsilon}(t) \quad (\text{II.18})$$

où σ est la contrainte ($\sigma = F/S$), ϵ est la déformation ($\epsilon = \Delta l/L$) et η est la viscosité exprimée en Pa.s. En reformulant dans les mêmes termes la loi de Hooke décrite précédemment (équation I.3), on obtient pour un solide élastique parfait :

$$\sigma(t) = E\epsilon(t) \quad (\text{II.19})$$

Ces deux relations permettent d'élaborer des modèles décrivant les matériaux visco-élastiques (figure II.9). Par une analogie avec les circuits électriques, on combine les deux éléments que sont le ressort (élastique, contrainte proportionnelle à la déformation) et le piston (visqueux, contrainte proportionnelle à la vitesse de déformation).



FIGURE II.9 – Représentations schématiques des comportements rhéologiques idéaux : le ressort hookéen et le piston newtonien.

La viscosité est un paramètre qui n'est pas pris en compte par les modèles de contact dérivés de Hertz. Les courbes de force AFM étant classiquement effectuées avec une fréquence de 1 Hz ou plus, il est difficile d'en extraire la viscosité statique ($\omega \rightarrow 0$) des matériaux. Le fluage est la tendance d'un matériau solide à s'écouler lentement et à se déformer de manière permanente sous l'influence d'une contrainte mécanique. La mesure du fluage s'effectue en appliquant une force constante à la surface d'un matériau et en mesurant sa déformation. La figure II.10 présente une courbe de force typique du fluage sur un polymère. Une force de 100 mN est exercée à la surface durant 10 min et la déformation de fluage est mesurée. Cette déformation contient l'information visqueuse et des informations élastiques à temps longs.

Les modèles de Maxwell et de Kelvin-Voigt sont les deux modèles les plus simples décrivant le comportement visco-élastique des matériaux. Il s'agit dans les deux cas de la mise en relation d'un ressort hookéen et d'un piston newtonien, le modèle de Maxwell les plaçant en série (ce qui correspond à un *liquide élastique*) alors que le modèle de Kelvin-Voigt les place en parallèle (ce qui correspond à un *solide fluant*).

3. Sur la question de la visco-élasticité et des modèles rhéologiques, voir H.A. Barnes, J.F. Hutton et K. Walters, *An Introduction to Rheology*, 1989 [44]

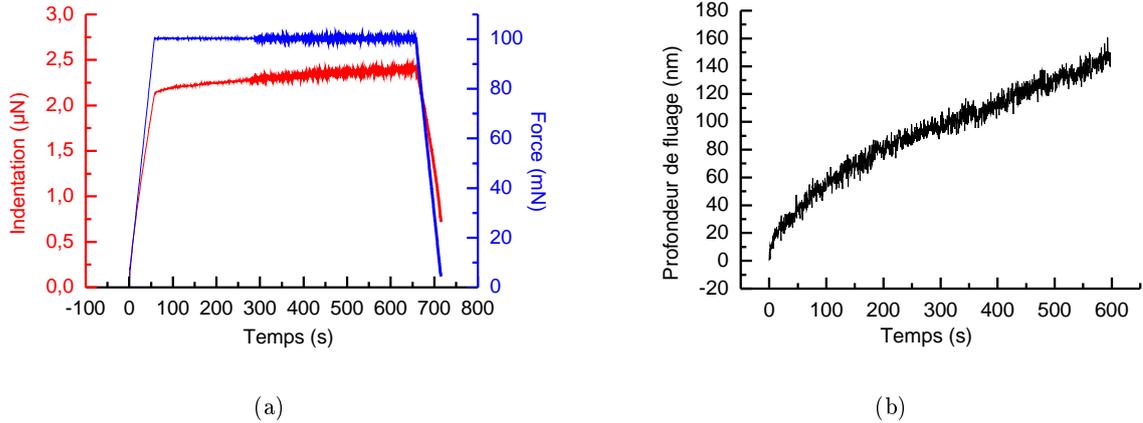


FIGURE II.10 – Microindentation et fluage d'un film épais de polymère (acide poly(lactide-co-glycolide)). Le fluage s'effectue à 100 mN pendant 10 min. La profondeur de fluage est définie comme étant la hauteur de la déformation à partir du moment où la force appliquée est maintenue constante.

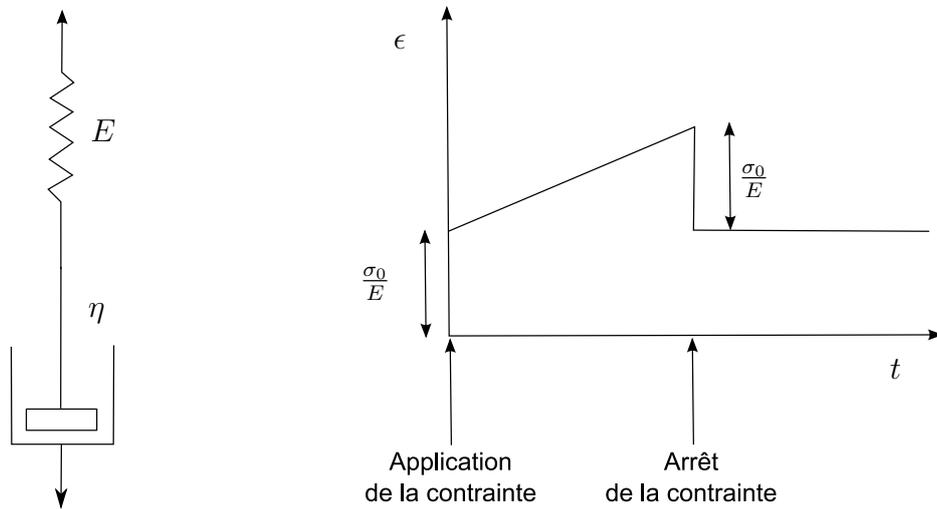


FIGURE II.11 – Représentation schématique du modèle visco-élastique de Maxwell.

Le modèle de Maxwell implique que les contraintes imposées au ressort et au piston sont identiques et que la déformation totale est la somme de leurs déformations. La déformation de fluage est exprimée comme :

$$(\epsilon_M(t))^b = AF_0 \left[\frac{1}{E^*} + \frac{1}{\eta} t \right] \quad (\text{II.20})$$

avec A et b des facteurs dépendants de la géométrie de l'indenteur. Pour un cône de demi-angle d'ouverture α , $A = \pi/2 \cot \alpha$ et $b = 2$. Pour une sphère de rayon R , $A = 3/(4\sqrt{R})$ et $b = 3/2$. Le modèle de Maxwell prédit une déformation instantanée (figure II.11) incompatible avec la courbe de la figure II.10. Une déformation permanente (à $t \rightarrow \infty$) est induite par le piston newtonien.

Le modèle de Kelvin-Voigt implique par contre que les déformations du ressort et du piston

sont identiques et que la contrainte du système est la somme de leurs contraintes (figure II.12). La déformation de fluage est exprimée comme :

$$(\epsilon_{KV}(t))^b = AF_0 \left[\frac{1}{E^*} \left(1 - e^{-t \frac{E^*}{\eta}} \right) \right] \quad (\text{II.21})$$

Le modèle de Kelvin-Voigt prédit un fluage transitoire et une relaxation visqueuse compatible avec la courbe de la figure II.10 mais il ne présente pas de déformation instantanée.

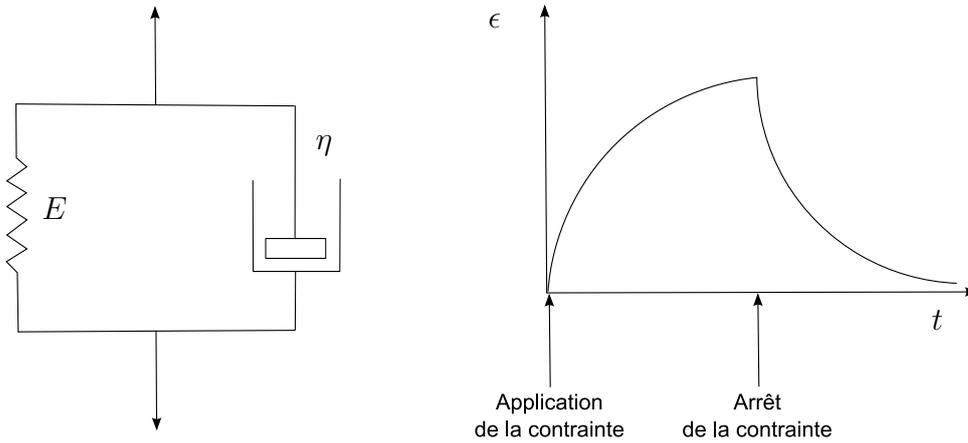


FIGURE II.12 – Représentation schématique du modèle visco-élastique de Kelvin-Voigt.

Un modèle d'ordre supérieur est donc nécessaire pour décrire à la fois le fluage transitoire et la déformation initiale. Pour cela, il faut placer un ressort en parallèle avec un système de Maxwell (ou un ressort en série avec un système de Kelvin-Voigt). Ce modèle, appelé modèle de solide linéaire standard ou modèle de Zener est représenté figure II.13. Il décrit une déformation élastique instantanée lors de l'application de la contrainte et une déformation de fluage qui tend vers une limite à contrainte constante. La déformation de fluage est exprimée comme :

$$(\epsilon_{Zener}(t))^b = AF_0 \left[\frac{1}{E_0} + \frac{1}{E_1} \left(1 - e^{-t \frac{E_1}{\eta}} \right) \right] \quad (\text{II.22})$$

Le temps caractéristique de relaxation τ est défini comme :

$$\tau = \frac{\eta}{E_1} \quad (\text{II.23})$$

Ce modèle est particulièrement adapté dans le cas des polymères vitreux comme le polystyrène. E_0 peut être interprétée comme l'élasticité à temps courts et E_1 comme une élasticité à temps long.

La figure II.14 présente l'ajustement par le modèle de Zener du fluage d'un polymère vitreux. L'élasticité E_0 est ajustée pour tenir compte de l'indentation formée à temps court par l'augmentation rapide de la charge. L'élasticité E_1 et la viscosité η permettent de décrire l'écoulement de notre polymère à temps long lors de l'application d'une force constante. Ce modèle sera utilisé par la suite (chapitre IV) pour mesurer la visco-élasticité du PLGA, principale constituant de nos capsules théranostiques.

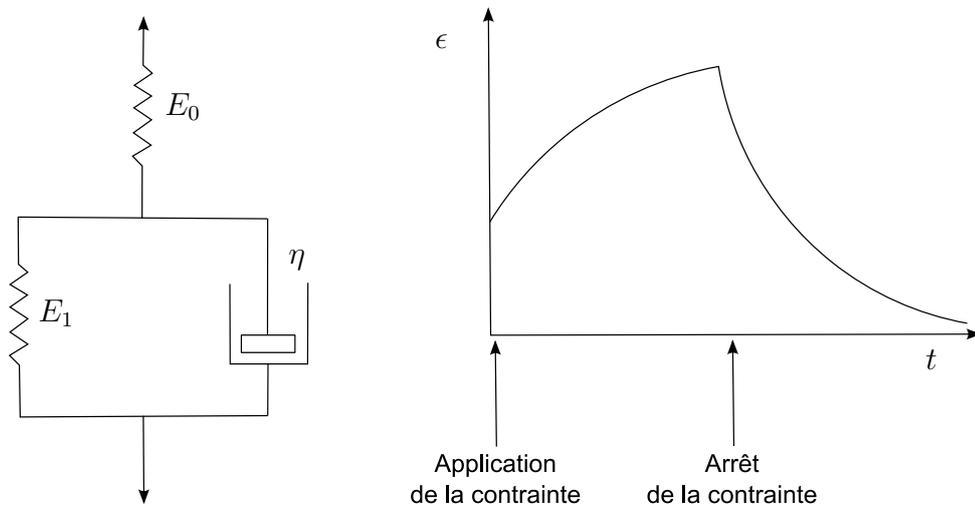


FIGURE II.13 – Représentation schématique du modèle visco-élastique de Zener.

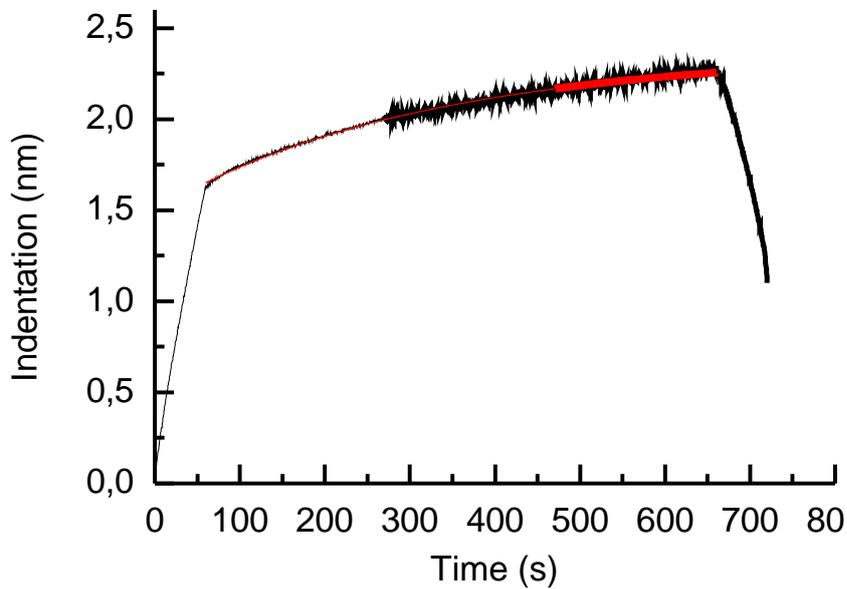


FIGURE II.14 – Microindentation et fluage d'un film épais de polymère (acide poly(lactide-co-glycolide)). La courbe rouge représente l'ajustement par le modèle de Zener de la déformation de fluage avec $E_0 = 3 \text{ GPa}$, $E_1 = 2.9 \text{ GPa}$ et $\eta = 1000 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$. Le temps caractéristique de relaxation τ est donc de l'ordre de $3 \cdot 10^{11}$ secondes. Cette mesure sera décrite plus en détail au chapitre IV.

II.1.5 Contact élastique et adhésion

L'adhésion joue un rôle important dans le contact aux échelles micro et nanométriques. En effet, par analogie avec les effets du mouillage, un col d'adhésion plus ou moins important selon les propriétés des matériaux se forme autour de la zone de contact, modifiant son aire et conduisant à une discordance avec les modèles décrits précédemment. Une extension du modèle de Hertz prenant en compte l'adhésion a été développée en 1971 [45] par trois physiciens britanniques, K. L. Johnson, K. Kendall et A. D. Roberts (JKR). Ce modèle a connu un succès important suite à l'essor de la nanoindentation AFM car il permet de décrire le contact entre l'indenteur et l'échantillon de manière plus complète que le modèle de Hertz, notamment dans le cas des échantillons très adhésifs et relativement mous comme le polydiméthylsiloxane (PDMS) [46]. Le modèle JKR prend en compte l'adhésion au sein de l'aire de contact et néglige toutes les interactions se situant en dehors de cette zone. Le schéma II.15 permet de comparer les descriptions de Hertz et de JKR.

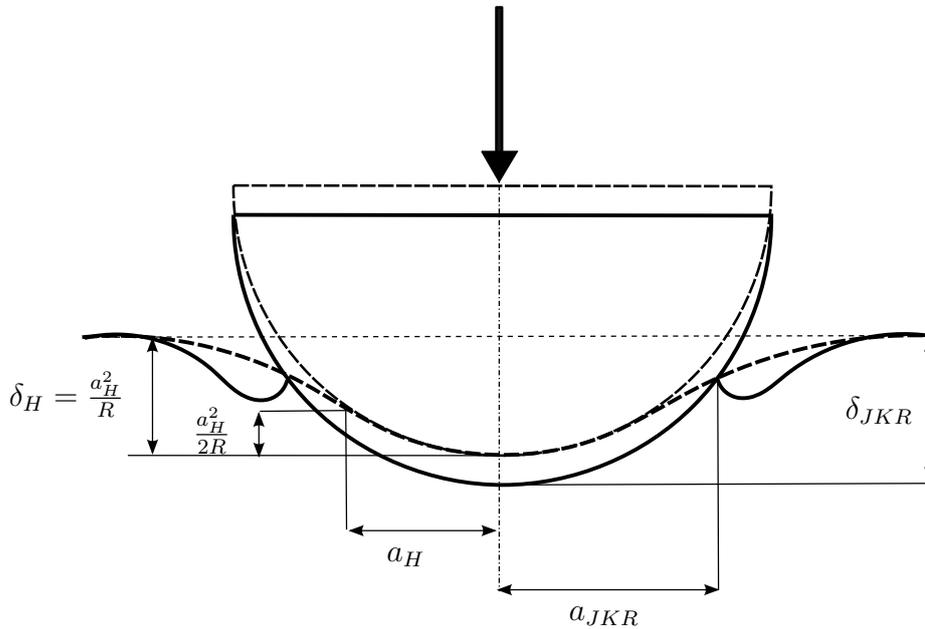


FIGURE II.15 – Comparaison entre les modèles de Hertz (--- $\gamma = 0$) et de JKR (— $\gamma \neq 0$). Notez les différences entre a_H et a_{JKR} et entre δ_H et δ_{JKR} lorsque l'échantillon est soumis à une force identique F .

La force adhésive exprimée par le modèle JKR peut se comprendre comme étant une force Hertzienne additionnelle. Dans le cas d'une sphère indentant un demi-espace élastique plan (figure II.15), le rayon de contact a et l'indentation δ sont exprimés en fonction de la force appliquée F selon les relations :

$$a = \left(\frac{3R}{4E^*} \left[F + 3\pi R\gamma + \sqrt{6\pi R\gamma F + (3\pi R\gamma)^2} \right] \right)^{\frac{1}{3}} \quad (\text{II.24})$$

$$\delta = \frac{a^2}{R} - \sqrt{\frac{2\pi a\gamma}{E^*}} \quad (\text{II.25})$$

où γ est l'énergie d'adhésion des deux surfaces en contact. La force F s'exprime donc :

$$F(a)_{JKR} = \frac{4E^*a^3}{3R} - 2\sqrt{2\pi E^*\gamma a^3} \quad (\text{II.26})$$

La force d'arrachement (*pull-out force*) nécessaire pour extraire l'indenteur de l'échantillon, peut être calculée en minimisant l'équation II.26 par rapport à a , ce qui donne :

$$F_{po}^{JKR} = -\frac{3}{2}\pi\gamma R \quad (\text{II.27})$$

Le rayon de contact a n'étant pas directement accessible lors d'une mesure d'indentation par AFM, Chizhik et al. [47] et Lin et al. [8] reformulèrent la relation de JKR afin d'exprimer le module élastique réduit E^* en fonction de l'indentation δ , la force F et le rayon de l'indenteur R :

$$\begin{cases} E^* = \frac{3P_1}{4R^{1/2}\delta^{3/2}} \left[1 - \frac{2}{3} \left(\frac{6\pi R\gamma}{P_1} \right)^{1/2} \right]^{3/2} \\ P_1 = F + 3\gamma\pi R + \sqrt{6\gamma\pi RF + (3\gamma\pi R)^2} \end{cases} \quad (\text{II.28})$$

où P_1 représente la somme des forces interfaciales dans l'aire de contact et la tension de surface γ est déterminée expérimentalement grâce à l'équation II.27 en mesurant la force d'arrachement sur la courbe de rétraction.

Un modèle alternatif à JKR a été développé en 1983 par B.V. Derjaguin, V. Muller et Y.P. Toporov (DMT) [48]. Ce modèle suppose que l'aire de contact n'est pas modifiée par les forces attractives et reste donc identique à l'aire de contact Hertzienne. Ainsi, contrairement au modèle JKR, les forces attractives interviennent uniquement à l'extérieur de l'aire de contact. Les forces attractives sont donc simplement ajoutées au modèle Hertzien pour obtenir l'indentation et l'aire de contact selon les relations :

$$a = \left[\left(\frac{3R}{4E^*} \right) (F + 4\pi\gamma R^*) \right]^{1/3}, \delta = \frac{a^2}{R^*} \quad (\text{II.29})$$

Le modèle DMT prévoit donc un rayon de contact plus petit que le modèle JKR et sera plus adapté aux matériaux rigides comme les métaux. Dans le cas DMT, la force d'arrachement de la pointe est :

$$F_{po}^{DMT} = -2\pi\gamma R^* \quad (\text{II.30})$$

Un paramètre physique sans dimension appelé paramètre de Tabor [49] permet d'appréhender la pertinence des modèles de contact et de faire le lien entre les deux approches que sont DMT et JKR :

$$\mu = \left(\frac{16R\gamma^2}{9(E^*)^2 Z_0} \right)^{1/3} \quad (\text{II.31})$$

avec Z_0 la distance entre la pointe et la surface à l'équilibre des forces élastiques et adhésives, i.e. point de contact physique au fond du puit de force de la courbe d'approche. Ce paramètre

μ peut être interprété comme étant le rapport de la déformation élastique avant l'arrachement de la pointe (δ_{po}) par la séparation à l'équilibre Z_0 . Le modèle JKR est pertinent si μ est grand, c'est-à-dire si le matériau se déforme beaucoup avant que la pointe ne s'arrache de la surface. Au contraire, le modèle DMT est approprié si μ est faible.

Les modèles JKR et DMT constituent donc deux approches aux hypothèses relativement opposées (table II.2). En 1992, D. Maugis formula une description complexe de l'interaction élastico-adhésive sphère-plan [50]. Cette description reste la plus complète à ce jour et permet d'appréhender la pertinence des modèles de contact en fonction d'un paramètre λ :

$$\lambda = 2 \left(\frac{16\gamma}{9\sqrt{3}\epsilon_0} \right)^3 \sqrt{\frac{9R}{16\pi\gamma(E^*)^2}} \quad (\text{II.32})$$

où ϵ_0 est le rayon d'action des force de surface à l'équilibre. Pour $\lambda \gg 3$ (cas des élastomère comme le PDMS), D. Maugis montre que le modèle de JKR est pertinent alors que pour $\lambda \ll 0.01$ (cas du verre et des métaux), l'approche DMT est appropriée. Dans le cas des polymères vitreux comme le polystyrène, le paramètre λ est de l'ordre de 1 ce qui se trouve dans la transition entre les deux modèles de contact élastico-adhésif. D. Maugis décrit cette transition et montra qu'il n'existe pas de solution analytique évidente dans cette gamme de λ . La figure II.16 présente le diagramme adhésif du contact de sphères élastiques. Cette cartographie permet de déterminer la pertinence du modèle élastique en fonction des paramètres μ et λ et du rapport entre la force élastique (P) et la force adhésive ($\pi\gamma R$).

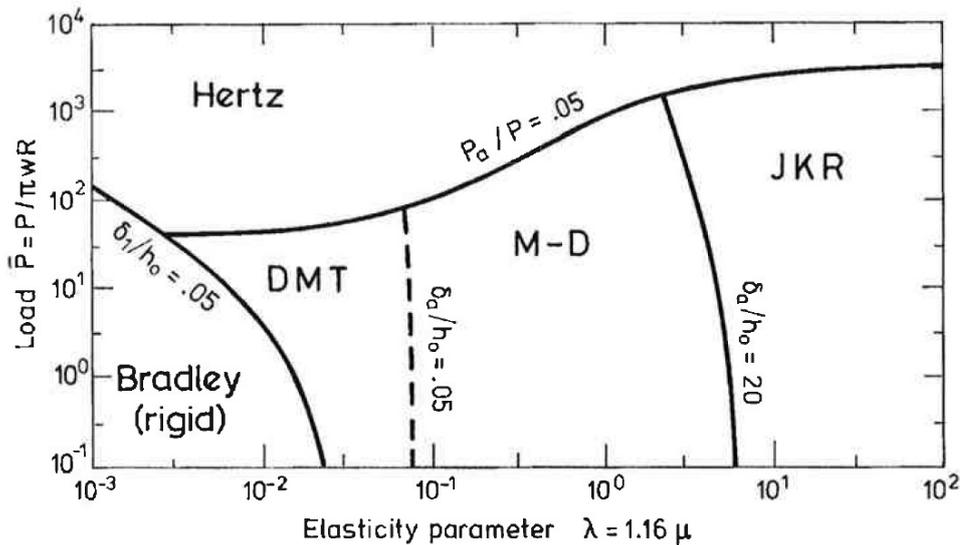


FIGURE II.16 – Cartographie adhésive du contact entre deux sphères élastiques (figure extraite de l'article de K.L. Johnson et J.A. Greenwood [51]).

Modèle	Hypothèses	Limitations
Hertz	Élasticité linéaire Pas d'adhésion Pas de friction	Inapproprié lorsque les forces de contact sont faibles devant les forces adhésives
JKR	Force de surface agissant au sein de l'aire de contact Pas de friction	Possible sous-estimation de la force de contact à cause des forces de surface
DMT	Force de surface agissant en dehors de l'aire de contact Pas de friction	Possible sous-estimation de l'aire de contact à cause de l'hypothèse d'une aire de contact élastique
Maugis	Zone attractive d'épaisseur variable agissant autour du rayon de contact Pas de friction	Solution analytique / équations paramétriques

TABLE II.2 – *Comparaison des hypothèses et des limitations des modèles de Hertz, JKR, DMT et Maugis [52].*

II.2 Élasticité des matériaux composites

II.2.1 Limite des modèles classiques pour les matériaux hétérogènes

À la lumière de ce qui a été présenté précédemment concernant l'élasticité et les modèles de contact, il apparaît que la mesure et l'interprétation d'une telle grandeur physique dans le cas d'un échantillon hétérogène (matériau composite et/ou géométriquement complexe) constituent une aporie. La complexité croissante des nanotechnologies et les systèmes biologiques intrinsèquement composites (Figure II.17) conduisent à une réflexion sur l'interprétation et la signification des modules élastiques de ces échantillons.

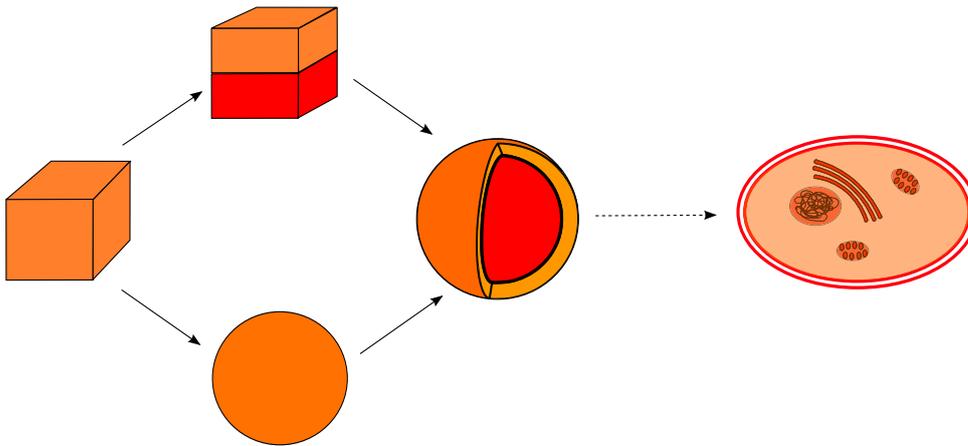


FIGURE II.17 – Complexité croissante des échantillons vis à vis de l'interprétation de leur module élastique en nanoindentation.

L'étude de la mécanique des échantillons complexes aux échelles micro et nanométriques a fait l'objet de nombreuses approches, souvent spécifiques à l'échantillon d'intérêt. De nombreuses études ont traité de la raideur k des échantillons pour éviter l'écueil de l'interprétation de leur élasticité. Glynos et al. [53] ont étudié la raideur et l'élasticité de microsphères (2 à 6 μm de diamètre) de polylactide à coeur gazeux (N). Un levier sans pointe est utilisé pour appuyer sur les microsphères, induisant ainsi un contact sphère/plan. Cela est rendu possible par la grande taille des objets qui permet leur visualisation par la microscopie optique couplée de l'AFM. Bien que ce mode de contact soit de type hertzien, il apparaît que les courbes de force sont linéaires, ce qui est en contradiction avec la dépendance hertzienne $F \propto \delta^{3/2}$. La figure II.18(a) montre la raideur effective des microsphères en fonction de leur diamètre et de la raideur du levier employé. La dispersité des résultats est importante, dénotant à la fois la difficulté du choix du levier mais aussi la dépendance de la raideur aux dimensions de l'échantillon. Un modèle décrivant l'élasticité des coques sphériques fines est alors utilisé pour déterminer le module d'Young des microsphères en fonction de leur épaisseur. Ce modèle décrit par la solution analytique de Reissner [54] prédit la relation suivante :

$$k = \frac{4}{\sqrt{3(1-\nu^2)}} \frac{T^2}{R} E \quad (\text{II.33})$$

avec T l'épaisseur de la coque et R son rayon. La figure II.18(b) présente l'élasticité des mi-

crosphères en fonction de l'épaisseur de la coque. Une augmentation du module élastique avec la diminution de l'épaisseur de la coque est ainsi observée. Il est à noter que le modèle de Reissner décrit un module unique pour chaque courbe de force. La relation II.33 est indépendante de l'indentation δ . Cette unicité de l'élasticité d'un objet sphérique hétérogène peut ici être justifiée par le mode de contact (plan-sphère) et la taille importante des microsphères devant la profondeur d'indentation. Cependant, il est important de garder à l'esprit que cette approximation d'un module élastique unique ne permet pas d'appréhender la mécanique du système dans sa globalité.

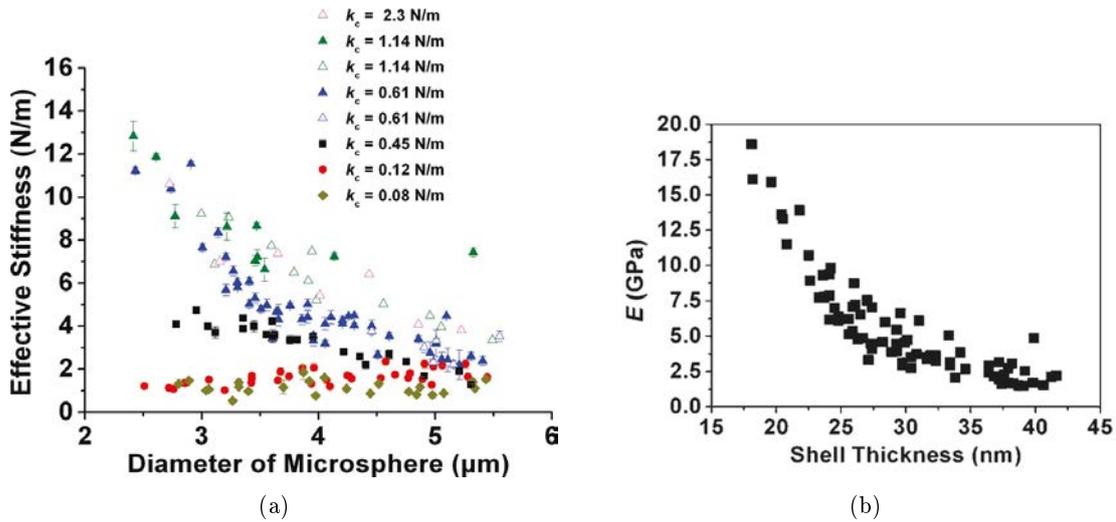


FIGURE II.18 – (a) Raideur effective de microsphères de polylactide à coeur gazeux en fonction de la raideur du levier AFM et de leur diamètre. L'épaisseur de coques est d'environ 30 nm pour un diamètre de 4 μm et varie linéairement avec la taille des microsphères. (b) Élasticité (modèle de Reissner) des microsphères en fonction de l'épaisseur de leur coque. Figures extraites de l'article de Glynos et al., [53]

Dans les mêmes conditions, Santos et al. [9] ont étudié l'élasticité de microbulles de phospholipides (figure II.19). Les courbes de force présentent un régime linéaire, tout comme dans l'étude de Glynos et al. [53]. Cette dépendance non-hertzienne de la force vis à vis de l'indentation montre une fois de plus la difficulté de l'interprétation de l'élasticité des matériaux composites. Les résultats obtenus via la théorie de Reissner suggèrent cette fois-ci que l'élasticité augmente lorsque le diamètre des bulles augmentent. De nouveau, on peut s'interroger sur l'interprétation d'un tel résultat.

Une autre approche consiste à développer des modèles adaptés à chaque échantillon composite notamment dans le cas de films minces reposant sur un substrat rigide. Dimitriadis et al. ont développé une correction du modèle de Hertz permettant de déterminer le module élastique d'une couche molle déposée sur un substrat rigide (Figure II.20 [35, 38]). Une séquence infinie d'image de la sonde sphérique permet de remplir les conditions limites d'un échantillon fin reposant sur un substrat dur (figure II.20(b)). L'emploi d'une telle correction s'avère efficace mais elle n'est pas généralisable à n'importe quelle bicouche.

Dans le cas d'échantillons très complexes comme les cellules, Bonilla et al. (Figure II.21 [55])

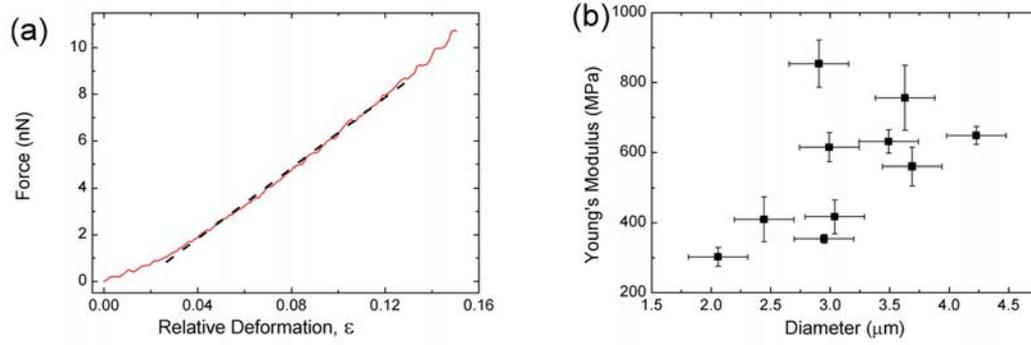


FIGURE II.19 – (a) Courbe de force sur une microbulle de phospholipide de $3 \mu\text{m}$ de diamètre. La déformation relative est ici définie comme le rapport de l'indentation par le diamètre initial de la bulle. La ligne discontinue représente le régime linéaire de la courbe de force, i.e. la pente (raideur) utilisée dans la théorie de Reissner. (b) Élasticité calculée par la théorie de Reissner de microbulles de diamètres allant de 2.1 à $4.2 \mu\text{m}$. Figures extraites de l'article de Santos et al. [9].

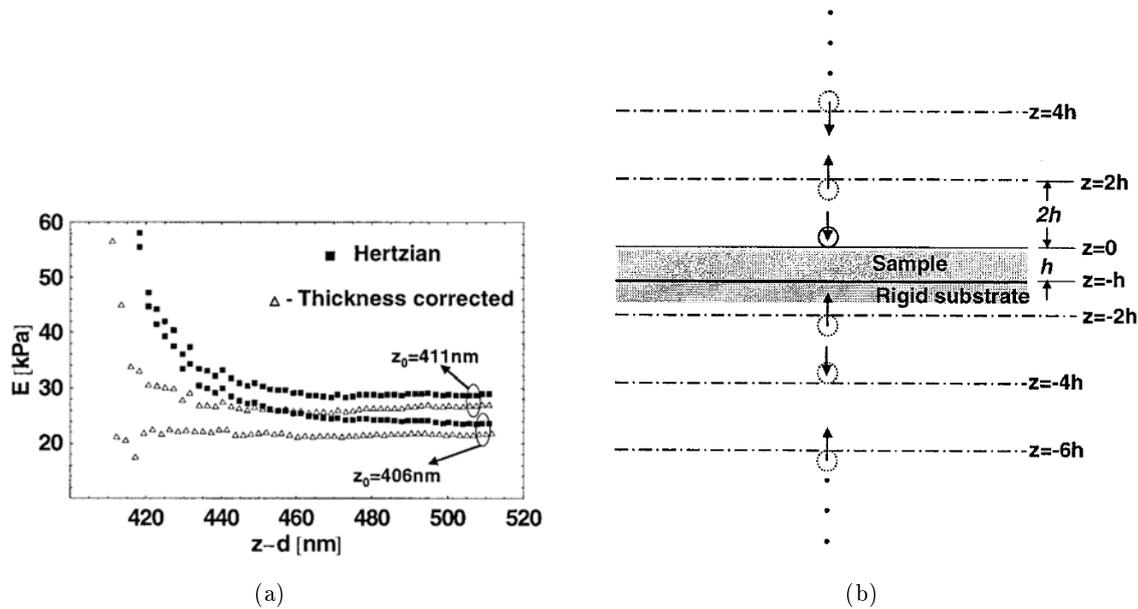


FIGURE II.20 – (a) Module élastique instantané d'un film fin de gel ($2.7 \mu\text{m}$) indenté avec une sonde colloïdale de $2 \mu\text{m}$ de diamètre. La mesure est effectuée deux fois et interprétée avec le modèle de Hertz classique (carrés noirs) et avec une correction liée à l'épaisseur du film et à la proximité du substrat dur (triangles blancs). La correction permet de retrouver le module du gel en compensant l'effet du substrat. (b) Schéma représentant les images de la sonde sphérique permettant la correction du modèle de Hertz dans le cas d'un échantillon fin sur un substrat rigide. Les images peuvent être multipliées ad infinitum pour diminuer le degré d'action des conditions limites liées au substrat rigide. Figures extraites de l'article de Dimitriadis et al. [35]

ont développé une analyse multirégime des courbes de force permettant de discriminer différentes dépendances $F \propto \delta^n$ selon la profondeur d'indentation. Cette méthode permet de déconvoluer les différentes contributions mécaniques et permet une bonne approximation des comportements élastiques, notamment des matériaux biologiques. Cependant, en recherchant un module élas-

tique unique issu de régimes différents, cette analyse ne constitue pas une méthode dynamique (i.e. que l'élasticité est indépendante de la déformation) permettant de comprendre l'évolution du module élastique apparent dans le cas de matériaux composites.

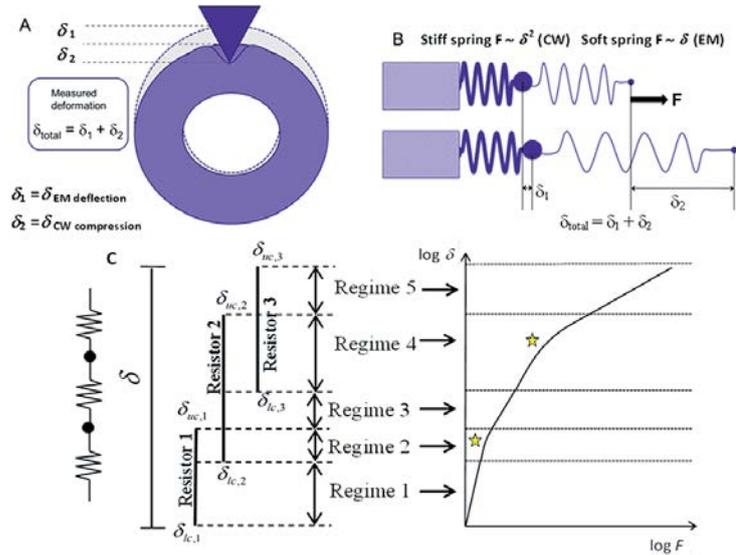


FIGURE II.21 – Schémas et graphiques de la déformation d'une paroi cellulaire végétale. Un modèle multi-régime de raideurs permet de suivre l'évolution de la loi de puissance d'un système multi-ressorts. Figures extraites de l'article de Bonilla et al. [55].

Enfin, la méthode des éléments finis (FEM) constitue un moyen fiable, bien que numériquement lourd, pour décrire le comportement mécanique des objets complexes comme des films fins [56], des multi-couches [57] ou des coques (figure II.22 [19]).

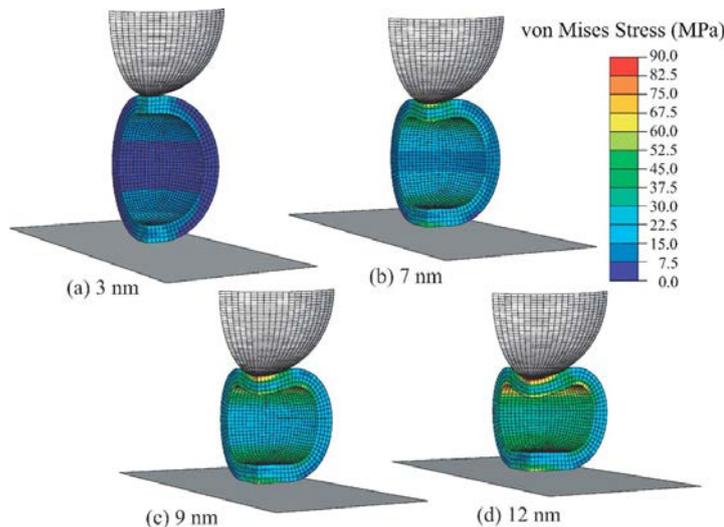


FIGURE II.22 – Modélisation par la méthode des éléments finis de l'indentation d'un modèle sphérique de capsid virale décrite par un modèle Hookéen non-linéaire, $E = 250$ MPa et $\nu = 0.4$. La capsid déformée est montrée pour plusieurs distances pointe/substrat. La contrainte de von Mises est un critère de distorsion élastique. Figure extraite de l'article de Gibbons et al. [19].

La spécificité de ces approches est un obstacle à l'étude de la mécanique des matériaux complexes. Le développement d'une méthode simple permettant l'analyse de multicouches ou de particules nanométriques est un enjeu à la fois pour la compréhension théorique de la mécanique de ces systèmes mais aussi pour l'amélioration des propriétés des objets dont la mécanique représente une contrainte technique. La partie II.2.2 présente un modèle semi-analytique décrivant le comportement élastique d'un film mince reposant sur un substrat semi-infini. Ce modèle est dépendant à la fois des modules des matériaux mais aussi de la profondeur d'indentation. Nous verrons que cette interprétation dynamique de l'élasticité des matériaux composites (i.e. élasticité dépendante de la déformation) constitue une approche nouvelle et prometteuse (partie III et V).

II.2.2 Interprétation de l'élasticité équivalente d'une bicouche plane par l'approche semi-analytique CHIMER

L'élasticité mesurée par nanoindentation sur un matériau composite n'est pas uniquement liée aux élasticités des matériaux qui la composent, elle est aussi dépendante de la géométrie et de la profondeur de l'indentation. La figure II.23 montre l'évolution du module apparent de la bicouche. Ainsi, un échantillon enduit aura une élasticité équivalente différente selon les élasticités des matériaux ainsi que l'aire ou la profondeur d'indentation.

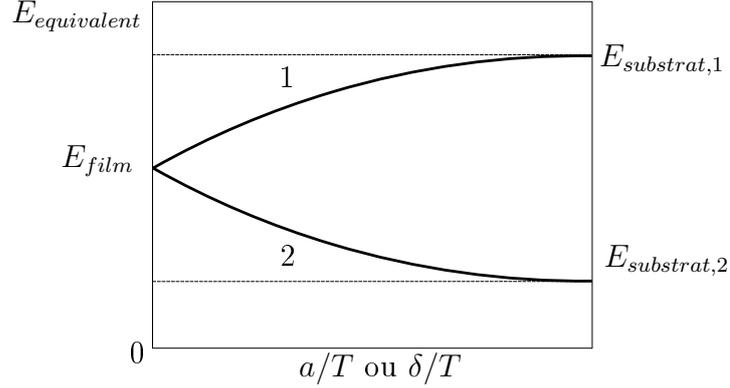


FIGURE II.23 – Module élastique apparent en fonction du rapport a/T ou δ/T . La courbe 1 correspond à un film compliant sur un substrat dur et la courbe 2 correspond au cas opposé.

Les schémas de la figure II.24 présentent l'indentation d'une surface hétérogène et son équivalent homogène, c'est-à-dire l'interprétation classique qui en serait faite par le modèle de Hertz à force identique.

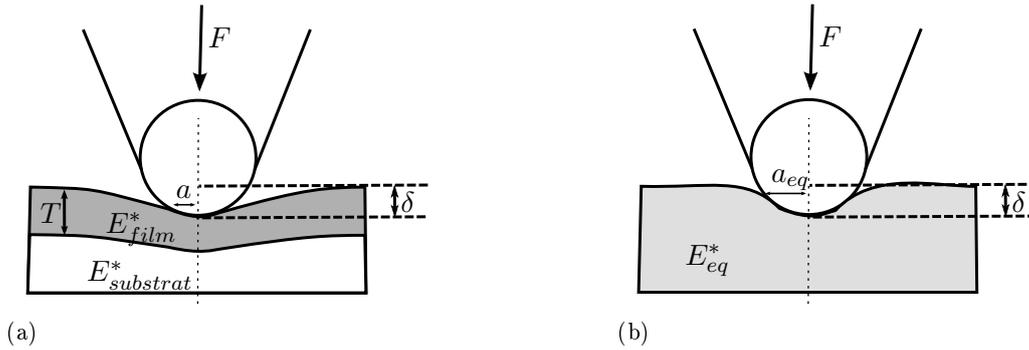


FIGURE II.24 – Indentation d'une surface hétérogène (a) et son équivalent homogène (b).

Empiriquement, cette élasticité effective, apparente ou équivalente (notée E_{eq}) d'un substrat recouvert d'un film prend la forme suivante :

$$E_{eq} = E_{substrat} + (E_{film} - E_{substrat})\Phi(x) \quad (\text{II.34})$$

où x est le rapport du rayon de contact a ou de la profondeur d'indentation δ avec l'épaisseur T du film, Φ est une fonction poids égale à 1 quand x vaut 0 et 0 quand x est infini.

Menčík et al. [58] ont comparé empiriquement différentes fonctions poids Φ et montrent que deux fonctions décrivent raisonnablement bien l'évolution du module élastique équivalent en fonction du rapport a/T :

- une fonction exponentielle, $\Phi_{exp} = e^{-\alpha x}$ avec $x = a/t$ et α une constante,
- une solution analytique du contact entre un indenteur rigide cylindrique et un film reposant sur un substrat (Gao et al. [59]) de la forme :

$$\Phi_{Gao} = \frac{2}{\pi} \arctan \frac{1}{x} + \frac{1}{2\pi(1-\nu)} \times \left[(1-2\nu) \frac{1}{x} \ln(1+x^2) - \frac{x}{1+x^2} \right] \quad (\text{II.35})$$

En 1997, J. Li et T-W Chou [60] présentèrent une solution élastique de la compression axisymétrique d'un demi-espace plan recouvert d'un film. Cette solution générale permet de décrire le déplacement de la surface $u(r)$ ainsi que le champ de contrainte $q(r)$ via une fonction de Green $C(kt)$ de la forme :

$$u(r) = \int_0^\infty \bar{q}(k) dk J_0(kr) C(kt) \quad (\text{II.36})$$

$$C(kt) = \frac{2}{E_1^*} \frac{1 + 4bkte^{-2kt} - abe^{-4kt}}{1 - [a + b + 4b(kt)^2]e^{-2kt} + abe^{-4kt}} \quad (\text{II.37})$$

$$a = \frac{\alpha\gamma_3 - \gamma_1}{1 + \alpha\gamma_3}, b = \frac{\alpha - 1}{\alpha + \gamma_1}, \alpha = \frac{E_{film}(1 + \nu_{substrat})}{E_{substrat}(1 + \nu_{film})} \quad (\text{II.38})$$

$$\bar{q}(k) = \int_0^\infty dr r J_0(kr) q(r) \quad (\text{II.39})$$

Cependant, cette fonction ne permet pas de calculer le déplacement de la surface à cause des conditions aux limites mixtes du problème de l'indentation : seuls le déplacement de la surface dans l'aire de contact et la contrainte appliquée à l'extérieur de celle-ci sont connus. Pour cette raison, Perriot et Barthel [61] proposèrent d'introduire un champ auxiliaire afin de résoudre ce problème. Ce champ auxiliaire est défini comme étant la transformée de Fourier cosinus de la transformée de Hankel de la contrainte $q(r)$ et du déplacement $u(r)$:

$$\begin{aligned} g(s) &= \int_0^\infty dk \bar{q}(k) \cos(ks) \\ \theta(s) &= \int_0^\infty dk k \bar{u}(k) \cos(ks) \end{aligned} \quad (\text{II.40})$$

en réécrivant II.36 avec la transformée de Hankel, on obtient :

$$k \bar{u}(k) = C(kt) \bar{q}(k) \quad (\text{II.41})$$

avec la transformée cosinus :

$$\theta(s) = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty g(r) \left[\int_0^\infty dk C(kt) \cos(kr) \cos(ks) \right] dr \quad (\text{II.42})$$

On note que si on considère le système comme étant homogène, c'est-à-dire que $t \rightarrow \infty$ ou $E_{film} = E_{substrat}$, on obtient :

$$\begin{aligned} k\bar{u}(k) &= \frac{2}{E^*} \bar{q}(k), \\ \theta(r) &= \frac{2}{E^*} g(r). \end{aligned} \quad (\text{II.43})$$

En repassant dans le cas hétérogène et en réexprimant les équations II.40 dans l'espace réel, on obtient :

$$\begin{aligned} g(s) &= \int_s^\infty dr \frac{rq(r)}{\sqrt{s^2-r^2}} \\ \theta(s) &= \frac{d}{ds} \int_0^s dr \frac{ru(r)}{\sqrt{s^2-r^2}}. \end{aligned} \quad (\text{II.44})$$

En posant les conditions limites du problème, on obtient :

$$\begin{cases} \forall r \leq a, & u(r) = \delta - h(r) \\ \forall r \geq a, & q(r) = 0. \end{cases} \quad (\text{II.45})$$

En combinant l'expression de $g(s)$ avec les conditions limites II.45, on obtient :

$$\forall r \geq a, \quad g(r) = 0 \quad (\text{II.46})$$

Ainsi, l'équation II.42 devient :

$$\theta(s) = \frac{2}{\pi} \int_0^a g(r) \left[\int_0^\infty dk C(kt) \cos(kr) \cos(ks) \right] dr \quad (\text{II.47})$$

Or, $\theta(r)$ est connu entre 0 et a . Cette expression permet donc de résoudre le problème numériquement. La figure II.25 montre la configuration du contact élastique décrit par le modèle de Perriot et Barthel [61]. Ce modèle est implémenté au sein d'un algorithme Python et sera par la suite appelé CHIMER (*Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response*). L'annexe B (page 141) reproduit le noyau de l'algorithme et donne les éléments essentiels permettant de le mettre en œuvre.

La figure II.26 présente une série de simulations effectuées par le modèle CHIMER. Ces simulations décrivent la transition de l'élasticité équivalente en fonction du rapport a/T dans différents cas de substrats mous sur lesquels reposent des films durs. Cette transition est traduite selon le rapport $E_{film}/E_{substrat}$. L'aire de contact réelle est aussi simulée et comparée à l'aire de contact hertzienne à indentation équivalente (encart de la figure II.26). Ainsi, plus la différence d'élasticité entre les deux couches est importante, plus l'aire de contact réelle a s'écarte de l'aire de contact hertzienne a_{Hertz} à indentation équivalente. Cette description relativement simple permet d'appréhender les effets liés à la complexité de l'échantillon indenté.

Le modèle CHIMER confirme donc que les modèles de contact classiques (Hertz, JKR, DMT...) ne peuvent être appliqués directement aux systèmes complexes. Néanmoins, il est numériquement lourd d'interpréter les courbes de force AFM uniquement via le modèle CHIMER. À cela s'ajoute le fait que l'indentation AFM est limitée pour éviter les effets de plasticité et que les courbes de force peuvent être localement bruitées. Ainsi, lors d'une seule et unique courbe

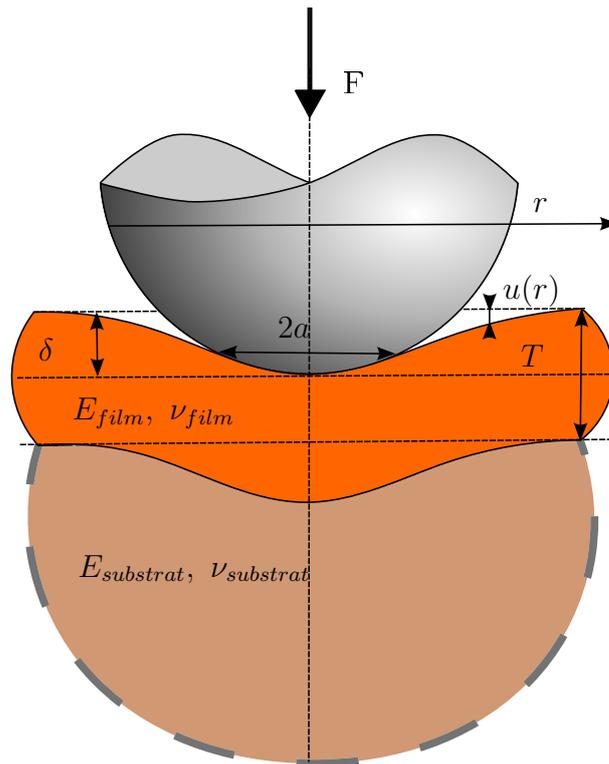


FIGURE II.25 – Schéma de l'indentation d'un film reposant sur un substrat semi-infini.

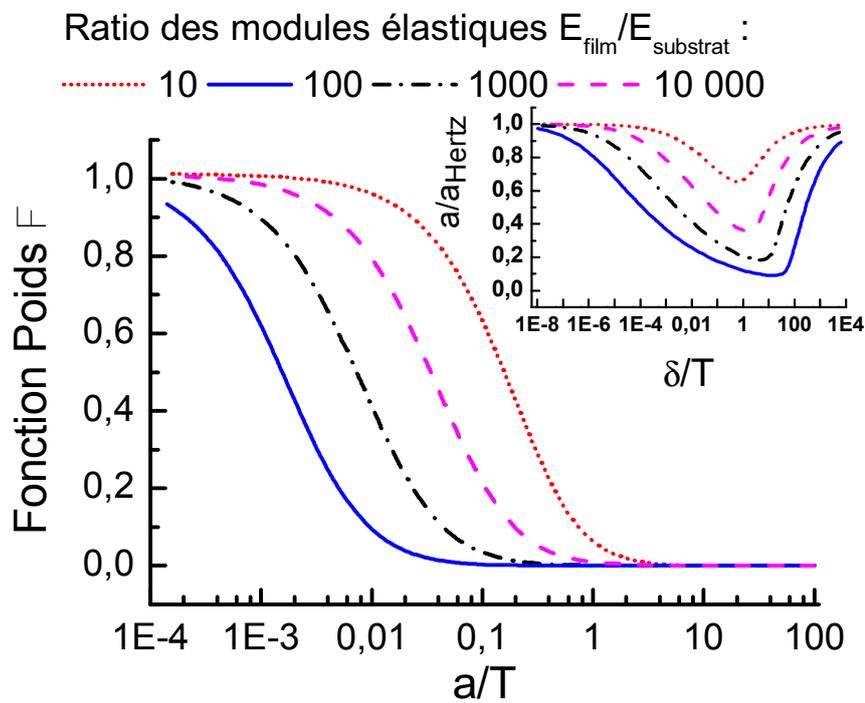


FIGURE II.26 – Transition de la fonction poids ϕ pour différent rapport de module élastique $E_{\text{film}}/E_{\text{substrat}}$. L'encart présente la correction calculée par CHIMER apportée à l'aire de contact hertzienne dans le cas d'une bicouche.

de force AFM, il est délicat de sonder une gamme suffisante de a/T (ou δ/T) pour se déplacer le long de la transition de l'élasticité apparente. La partie suivante, traitant de l'élasticité de bicouches planes, s'attachera à construire une approche méthodique permettant l'interprétation par le modèle CHIMER de l'élasticité apparente issue des modèles de contact classiques.

II.2.3 Déformation d'une coque

Dans leur Cours de Physique (t.7) sur la Théorie de l'Élasticité [62], L. Landau et E. Lifchitz ont décrit le comportement élastique des *enveloppes*, c'est-à-dire des plaques ayant une forme courbe à l'état naturel. Dans le cas d'une plaque plane, la traction (i.e. l'allongement longitudinal) est un effet du second ordre de petitesse par rapport au déplacement de flexion lui-même. En revanche, dans le cas d'une enveloppe, la traction est un effet du premier ordre et joue donc un effet important, même à petite déformation. Cet effet est rendu négligeable si $R \rightarrow \infty$, ce qui est le cas quand le rayon de l'indenteur et la profondeur de la déformation sont faibles. Cependant, nous commençons ici à percevoir les différences qui peuvent apparaître entre les comportements du système plan (plaques) décrit au chapitre III et ceux des microcapsules (enveloppes) polymères décrites au chapitre V de ce manuscrit.

Pauchard et al. [63] ont étudié le comportement d'une coquille élastique compressée entre deux plans. Deux régimes sont ainsi mis en évidence : un premier régime élastique dans lequel la déformation de la sphère garde un profil plan en raison de l'équilibre entre les énergies de courbure et de traction (I) et un second régime provoquant l'inversion de la courbure de la sphère (II). La transition du premier ordre reliant les deux régimes intervient pour une déformation δ proche de deux fois l'épaisseur T de la coque (figure II.27).

Ces considérations théoriques sont essentielles pour appréhender expérimentalement et avec justesse l'élasticité des microcapsules polymères. Il est à noter que la théorie des enveloppes décrites par Landau et Lifchitz [62] et le comportement décrit par Pauchard et al. [63] tiennent compte uniquement de l'élasticité. Nous verrons que les expériences de nanoindentation AFM se confrontent à d'autres paramètres, comme la plasticité, et que la transition du première ordre reliant le régime de déformation plane au régime de flambage n'est pas évidente d'un point de vue expérimental à l'échelle nanométrique.

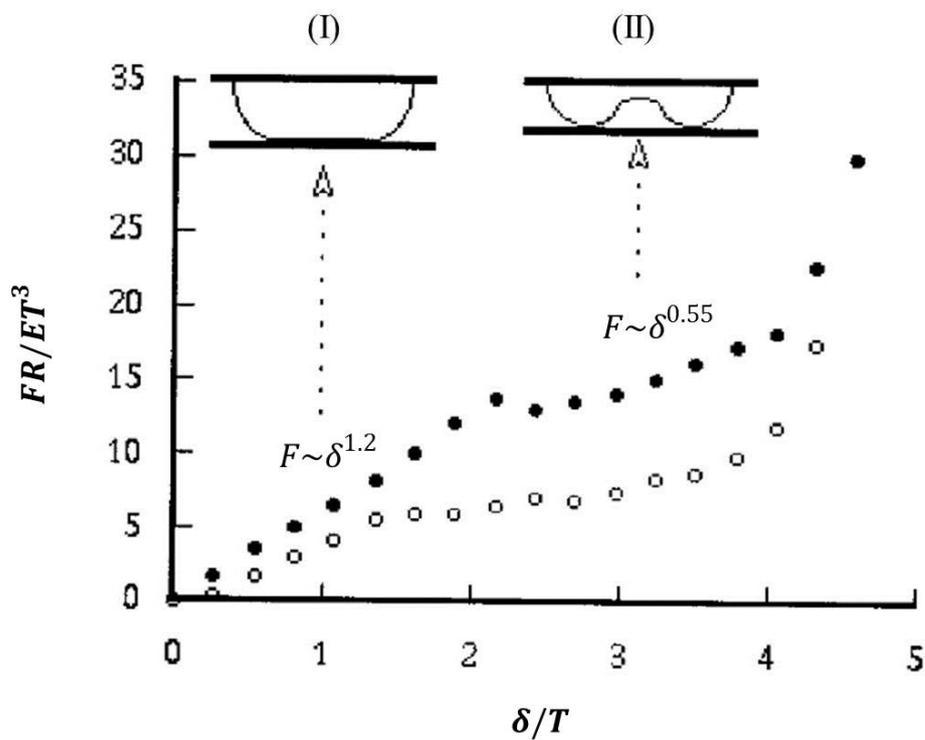


FIGURE II.27 – Force adimensionnée $(F/ET^3)(R/T)$ en fonction de la déformation δ/T pour une balle de tennis. Les points expérimentaux décrivent un cycle compression (●) - décompression (○) révélant une hystérésis. On note la transition pour $\delta/T \approx 2$. Reproduction d'une figure de l'article de Pauchard et Rica [63].

Chapitre III

Systemes plans : films fins sur substrat de PDMS

Sommaire

III.1 Description des systemes plans	56
III.1.1 Substrat de PDMS : enjeux de la mesure elastique	56
III.1.2 Film de chitosan sur substrat de PDMS	60
III.1.3 Systeme PDMS Oxyde	63
III.2 Nanoindentation de films sur substrat de PDMS	67
III.2.1 Film de chitosan sur substrat de PDMS	67
III.2.2 Oxydation du PDMS	73
III.2.3 Pertinence du modele de Hertz linearise interprete par CHIMER	76
III.3 Conclusion sur l'elasticite de couches fines sur substrat de PDMS .	78

Dans le contexte de l'interpretation de l'elasticite equivalente des materiaux composites a l'echelle nanometrique, il est indispensable de se tourner vers un systeme modele. La geometrie plane, semblable a celle decrite par le modele numerique expose au chapitre precedent, s'impose comme etant la plus facile a explorer en premier lieu. La premiere partie de ce chapitre decrira le systeme choisi, qui se compose d'un substrat epais de polydimethylsiloxane (PDMS) surmonte d'une couche relativement plus rigide. Deux couches seront etudiees : un film fin de chitosan et une couche de PDMS oxyde par un plasma O_2 . La seconde partie de ce chapitre presentera les resultats obtenus pour les deux types de bicouche et discutera des incertitudes liees a l'introduction de modules elastiques calcules via le modele de Hertz dans le modele numerique. Nous verrons que l'interpretation des modules elastiques equivalents par le modele numerique permet une estimation fiable de l'epaisseur de la couche superieure. Cette methode est particulierement avantageuse dans le cas de la couche d'oxyde qui est consubstancielle au substrat de PDMS et ne peut etre mesuree facilement par les techniques d'imagerie classiques a l'echelle de quelques dizaines de nanometres.

III.1 Description des systèmes plans

III.1.1 Substrat de PDMS : enjeux de la mesure élastique

Un des enjeux les plus importants de la science et de la technologie moderne est la miniaturisation. La microélectronique est un exemple évident de cette recherche de structures toujours plus petites permettant l'augmentation du nombre de composants et l'amélioration des performances. Du point de vue scientifique, la compréhension des phénomènes aux échelles micro et nanométriques ont permis la miniaturisation des systèmes.

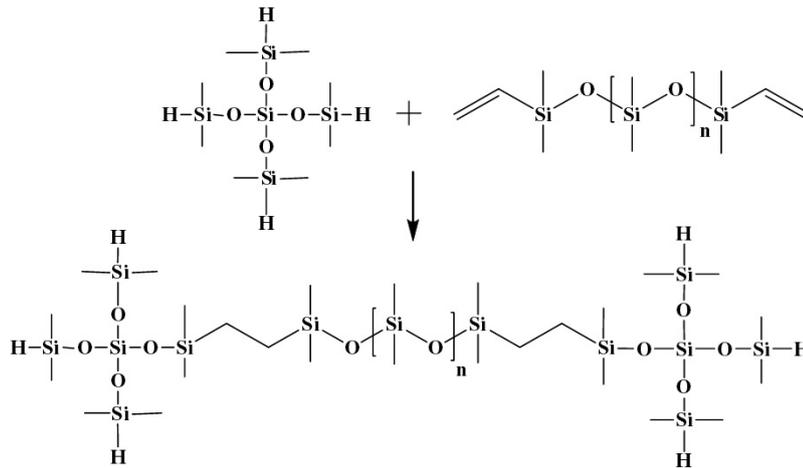


FIGURE III.1 – Schéma de la réticulation du PDMS.

La microfluidique, issue du développement de la *soft lithographie* [64] (ou lithographie douce), constitue une de ces techniques de miniaturisation ayant conduit à la fois à des développements technologiques mais aussi à la compréhension scientifique de phénomènes fondamentaux, que ce soit dans le domaine de la biologie [65] ou de la physico-chimie des matériaux (auto-enroulement [66], puce microfluidique 3D [67]). Un des matériaux les plus utilisés dans la fabrication de système microfluidique est le poly(diméthylsiloxane) (PDMS). Cet élastomère est classiquement formé à partir d'un polymère liquide qui est ensuite réticulé pour obtenir un matériau plus ou moins élastique selon le taux de réticulation (figure III.1). De plus, le PDMS présente l'intérêt d'être chimiquement inerte et d'avoir une faible énergie de surface du PDMS ($21.6 \times 10^{-3} \text{ J.m}^{-2}$ [64]). La surface du PDMS peut facilement être modifiée selon l'application voulue par microstructuration (lithographie, impression par microcontact, moulage...), dépôt de SAM (*self-assembly monolayer*) et/ou *spin-coating*. Il est aussi possible d'augmenter l'énergie de surface du PDMS en l'oxydant par diverses techniques comme l'exposition à un plasma O_2 , un traitement par UV/ozone ou encore par effet corona. Le PDMS peut ainsi être le substrat de diverses couches fines dont il est crucial de caractériser les épaisseurs et les propriétés mécaniques pour mieux contrôler les propriétés.

Dans cette étude, deux systèmes basés sur un substrat de PDMS ont été étudiés :

- des films fins de polymère déposés sur un substrat de PDMS,
- des substrats de PDMS oxydés par un plasma O_2 .

La différence fondamentale entre ces deux systèmes réside dans la nature de la couche surmontant le substrat de PDMS. En effet, l'épaisseur du film de chitosan est connue car définie par le procédé de *spin-coating* alors que celle de l'oxyde est plus difficile d'accès car consubstantielle au substrat de PDMS. Le système PDMS-chitosan permettra de construire une méthode de mesure mécanique permettant de déterminer l'épaisseur de la couche supérieure par l'interprétation de l'élasticité équivalente. Le système PDMS-Oxyde illustrera l'intérêt de cette méthode dans le cas d'une couche dont l'épaisseur est difficile d'accès.

Afin de pouvoir interpréter le module élastique équivalent de ces systèmes et/ou déterminer l'épaisseur du film reposant sur le PDMS, il est indispensable d'effectuer une mesure de calibration de l'élasticité du PDMS "nu". Cette élasticité dépend fortement du taux de réticulation mais aussi de la méthode de mesure comme l'a montré Carrillo et al. [46] (figure III.2). Les modèles d'Oliver et Pharr et de Hertz indiquent des modules élastiques de 20 à 80 % supérieur à ceux déterminés par des méthodes de mesures non-confinés de l'élasticité volumique (traction-compression, analyse mécanique dynamique). De plus, le modèle JKR conduit à des modules élastiques très inférieurs à l'élasticité volumique. F. Kaveh et al. [68] rapportent un module élastique du PDMS (rapport PDMS/réticulant = 10 :1) de 1.3 MPa grâce à la mesure du drainage hydrodynamique permettant de dépasser les problèmes dus au contact pointe/échantillon (adhésion, point de contact...). Ces différences importantes des modules élastiques en fonction de la technique de mesure et du modèle choisi sont symptomatiques des mesures mécaniques, particulièrement dans le cas de la nanoindentation pour laquelle l'incertitude du point de contact et la difficulté d'interprétation liée à l'adhésion sont cruciales.

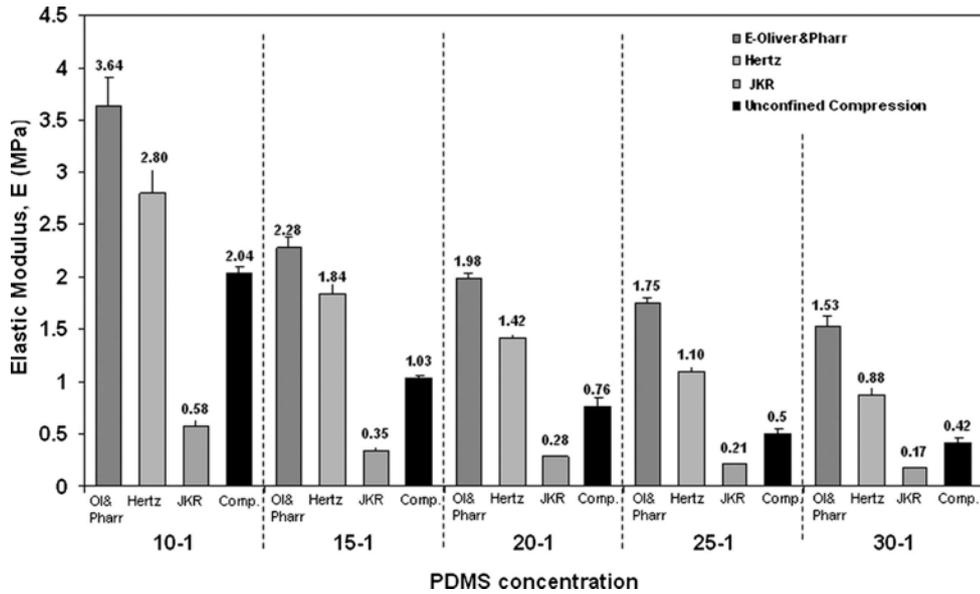
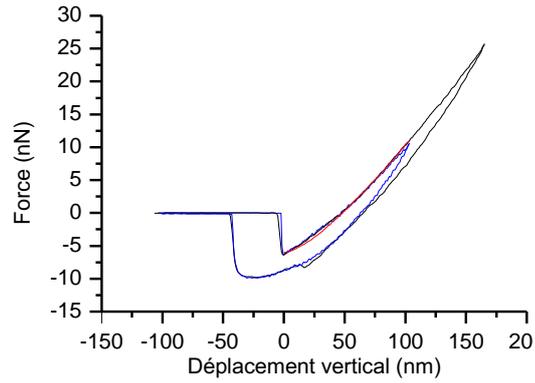


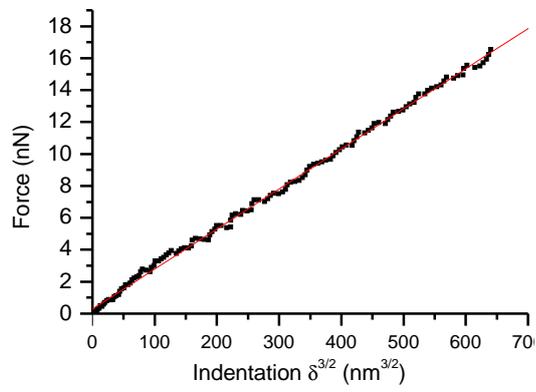
FIGURE III.2 – Module d'Young du PDMS en fonction du taux de réticulation (ratio quantité de PDMS/ quantité de réticulant). Mesures d'indentation effectuées par nanoindentation instrumentale (TriboIndenter) et mesure de l'élasticité volumique par tension-compression. Figure extraite de l'article de Carrillo et al. [46].

La courbe de force de la figure III.3(a) présente une indentation classique sur un substrat de PDMS natif (sans aucun traitement) préparé avec un taux de réticulation 10 :1. Les modèles de Hertz et JKR sont utilisés pour en déterminer le module d'Young. L'adhésion joue un rôle important dans le contact entre la pointe et le PDMS. Il est à noter que la force d'arrachement de la pointe lors de la rétraction ne semble pas varier avec la force maximale appliquée lors du chargement, ce qui montre qu'il s'agit uniquement d'un effet d'adhésion et non d'une quelconque plasticité de l'échantillon. Le module d'Young du PDMS (10 :1) est de 3.9 ± 0.22 MPa par le modèle de Hertz, ce qui est supérieur à la valeur donnée par Carrillo et al.. Cela est probablement lié aux dimensions des sondes utilisées et aux forces appliquées : des pointes de 10 à 20 nm de rayon pour des forces de l'ordre de 10 nN dans notre cas et une sphère de 100 μm pour des forces de l'ordre de 100 μN pour Carrillo et al.. Ainsi, les contraintes appliquées sont beaucoup plus importantes dans notre cas et il est probable que les effets de *pile-up* élastiques et adhésifs soient très importants et induisent une surestimation du module élastique calculé par le modèle de Hertz. En revanche, le modèle de JKR conduit à un module d'Young de 2.14 ± 0.37 MPa. Cette valeur se rapproche de la valeur de l'élasticité mesurée en compression non-confinée (2.04 MPa) ce qui en fait une valeur crédible. Notons que notre estimation de l'élasticité par le modèle de JKR est très supérieure à l'estimation JKR de Carrillo et al. [46] qui mettent en avant leurs incertitudes quant à la détermination du point de contact et la forme de leur sonde lorsque l'indentation devient importante.

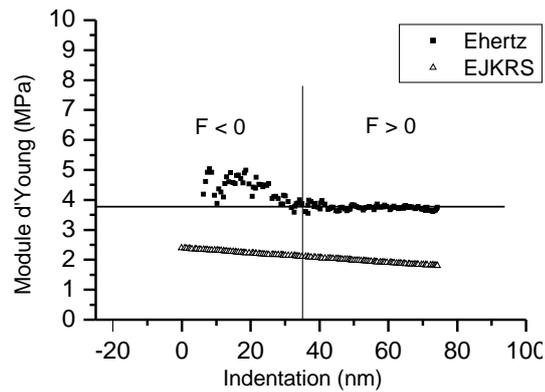
La mesure de l'élasticité d'un matériau homogène comme le PDMS montre déjà les difficultés liées à la nanoindentation. Bien que les résultats expérimentaux soient bien ajustés par le modèle de Hertz, le module élastique hertzien est à considérer avec précaution. L'interprétation des courbes de force en terme d'élasticité et d'adhésion suppose d'utiliser un modèle de contact adapté. Dans le cas du PDMS, le paramètre μ proposé par Tabor [49] suggère que le modèle JKR constitue une bonne approximation ($\mu \gg 5$). Nous considérerons donc la valeur du module élastique issue de l'interprétation par le modèle JKR comme étant la plus crédible pour la suite de l'étude (2.14 ± 0.37 MPa).



(a)



(b)



(c)

FIGURE III.3 – (a) Courbes de force sur PDMS avec deux forces maximales appliquées (10 et 25 nN). La courbe rouge est l'ajustement Hertzien. (b) Ajustement Hertzien d'une courbe de force sur un substrat épais de PDMS. (c) Module élastique instantané du PDMS interprété par le modèle de Hertz et le modèle JKR en fonction de la profondeur d'indentation. Résultat B. Sarrazin, CEA LIONS.

III.1.2 Film de chitosan sur substrat de PDMS

Le chitosan est un polyoside composé aléatoirement de D-glucosamine et de N-acétyl-D-glucosamine et est le composant principal de l'exosquelette des arthropodes, de l'endosquelette des céphalopodes et de la paroi des champignons. Ce polymère est biodégradable, biocompatible et présente une bonne tenue mécanique (élasticité et raideur importante). Ces propriétés en font un choix intéressant pour recouvrir les parois d'un canal microfluidique pour des analyses biologiques par exemple.

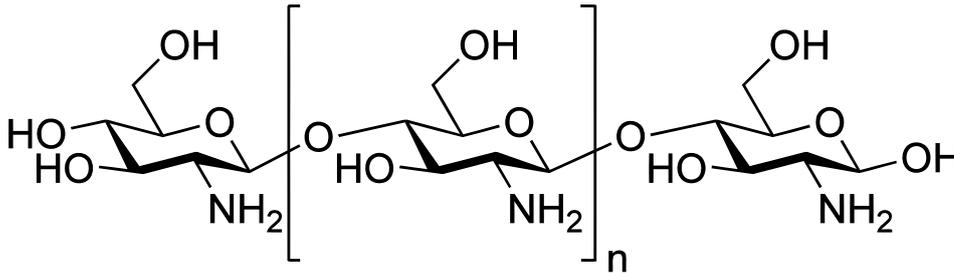


FIGURE III.4 – Structure chimique du chitosan

Le chitosan (MW, 480 kDa) est dissout dans une solution d'acide acétique 1% v/v dans de l'eau pure. Les épaisseurs de chitosan déposées par spin-coating sont mesurées sur une surface de verre "témoin" (figure III.5(a) et III.5(b)) et on considère que les épaisseurs sont identiques sur le PDMS pour des temps (60s) et des vitesses de rotation égales. Cette approximation semble pertinente dans la mesure où le substrat de PDMS est préalablement oxydé par un plasma O_2 pendant 30s. L'épaisseur de la couche d'oxyde induite par ce traitement est estimée à moins de 10 nm. La rugosité des échantillons ainsi formés ne semble pas varier avec la vitesse de rotation et est de l'ordre de 1 à 3 nm (figure III.5(c)) ce qui est faible devant l'épaisseur des films. La figure III.5(d) présente l'épaisseur des films de chitosan en fonction de la vitesse de rotation du *spin-coater*.

La relation généralement admise [69, 70] donnant l'épaisseur T du film en fonction de la vitesse de rotation ω est :

$$T = A\omega^\alpha \quad (\text{III.1})$$

Dans le cas d'une solution visqueuse avec un solvant non volatil, il a été montré que $\alpha \approx 1$ [71]. Dans le cas du chitosan, la régression linéaire montre une pente de puissance -0.8. Ceci peut être expliqué par la faible viscosité de la solution déposée (induisant une expulsion du solvant et donc une augmentation de la viscosité au cours des rotations) et/ou par un temps de rotation trop court. Cependant, nous avons montré qu'il est possible d'obtenir des épaisseurs de chitosan très reproductibles et ayant une faible rugosité.

L'épaisseur du chitosan étant connue, il ne reste qu'à déterminer son module élastique pour pouvoir tester l'efficacité du modèle numérique. L'élasticité du chitosan est très variable en fonction du mode de préparation de l'échantillon et notamment du pH du solvant utilisé [72]. Nous

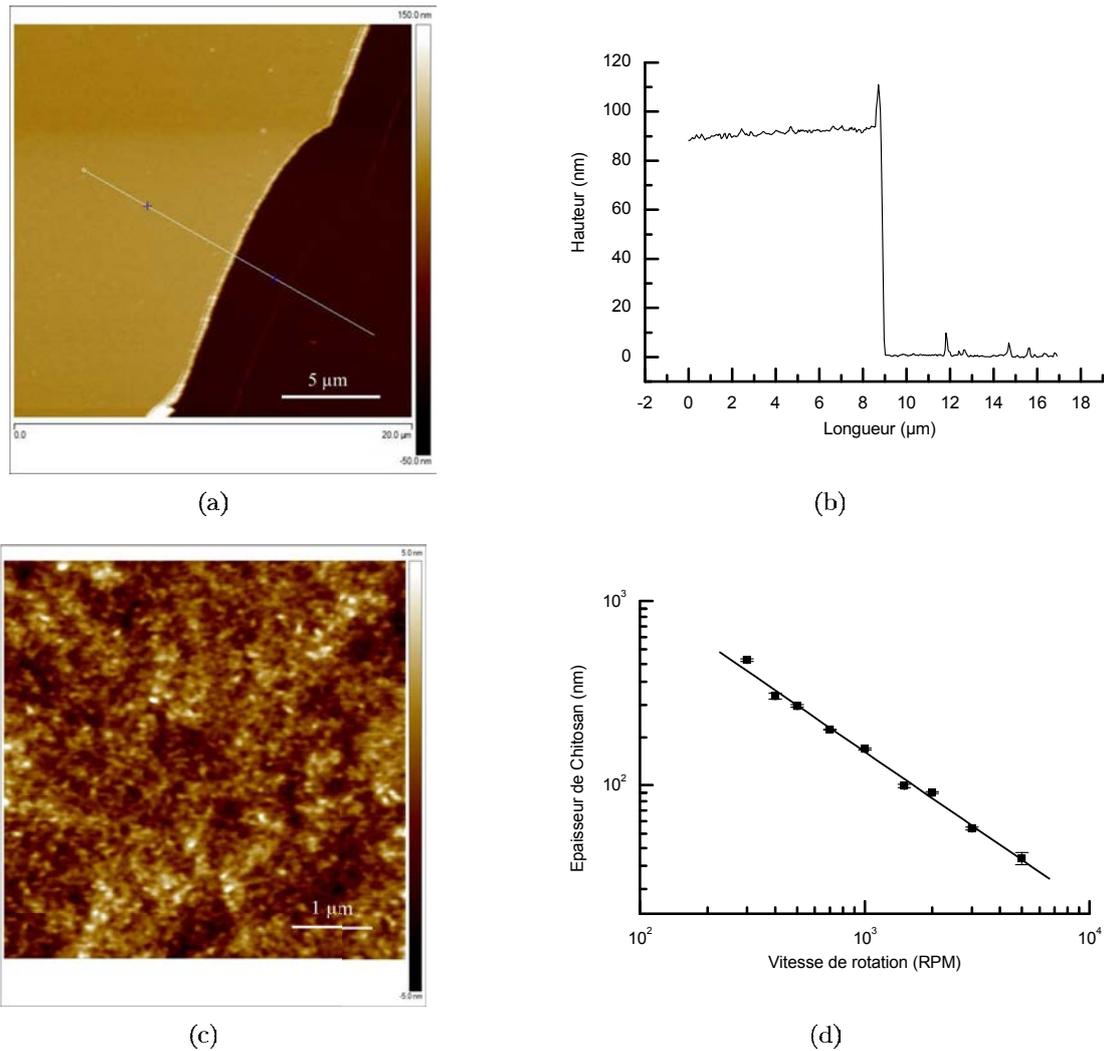


FIGURE III.5 – (a) Image topographique AFM d'un film de chitosan rayé à l'aide d'un scalpel. Le profil de la marche ainsi formée est mesuré pour déterminer l'épaisseur du film. (b) Profil AFM de la marche, la ligne de base est le niveau de la surface et la hauteur du chitosan est la moyenne de la hauteur ainsi mesurée. Le pic dû à l'accumulation de matériau lors de la rayure n'est pas pris en compte dans la mesure. (c) Rugosité caractéristique d'un film fin de chitosan par AFM (1.2 ± 0.4 nm) (d) Épaisseur du film de chitosan en fonction de la vitesse de rotation. Le coefficient directeur de la régression linéaire est -0.8 . Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

avons donc effectué des mesures de microindentation sur des films épais de chitosan ($> 400 \mu\text{m}$) préparés dans les mêmes conditions que les films fins sur PDMS (solution d'acide acétique 1% v/v dans de l'eau pure, $\text{pH}=1$). Les modèles de Hertz et de Oliver et Pharr sont utilisés pour calculer le module d'Young des échantillons. La figure III.6 montre des courbes typiques de microindentation sur un film épais de chitosan. Le modèle de Hertz (courbe noire sur la figure III.6) ne permet pas d'analyser correctement la courbe d'approche au-delà de 150 mN en raison de la plasticité importante du matériau. En revanche, le modèle d'Oliver et Pharr permet de prendre cette plasticité en compte et donne des valeurs d'élasticité cohérentes avec le modèle Hertzien jusqu'à une indentation de $1 \mu\text{m}$. Ainsi, le module élastique du chitosan dans les conditions expérimentales précédemment décrites est de 3.0 ± 0.2 GPa. Cette valeur est cohérente avec celle

donnée dans la littérature pour un chitosan dissout dans une solution d'acide acétique à pH=1 (3147 MPa, Alekseeva et al. [72]).

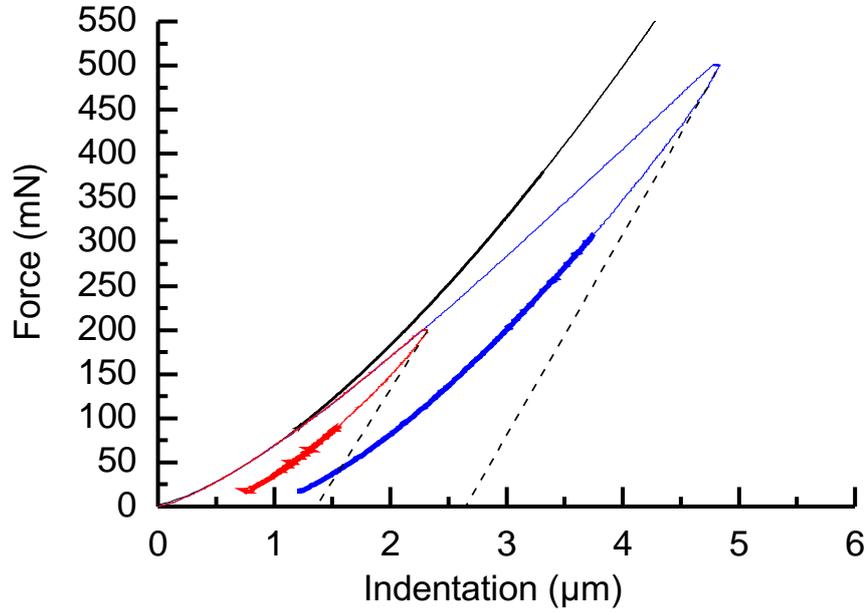


FIGURE III.6 – Microindentations (indenteur Rockwell, $R \approx 200\mu\text{m}$) d'un film épais de chitosan. Deux forces maximales ont été utilisées : 200 mN en rouge et 500 mN en bleu. La courbe noire représente le fit Hertzien avant que la plasticité ne soit trop importante. Les deux tangentes (lignes discontinues) aux courbes de retour sont utilisées pour calculer le module d'Young par le modèle d'Oliver et Pharr. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

III.1.3 Système PDMS Oxydé

L'oxydation du PDMS par un plasma O_2 permet d'augmenter son énergie de surface et donc de le rendre plus hydrophile [73]. La surface de PDMS ainsi traitée a été décrite dans la littérature comme une fine couche de silice. Cependant, cette description est à nuancer et l'hypothèse selon laquelle la couche oxydée est un état intermédiaire entre le PDMS et le verre est crédible [74]. La spectrométrie photoélectronique X (XPS) confirme la formation d'une surface riche en SiO_x [75]. Plusieurs études ont estimé le module élastique intrinsèque de la surface oxydée. Le tableau III.1 présente quelques valeurs issues de la littérature. L'élasticité du film d'oxyde est dépendante à la fois de la méthode d'oxydation mais aussi du temps d'exposition. Il est à noter que certaines études [76] considèrent la couche d'oxyde comme du verre ayant un module de 70 GPa.

Référence	Méthode de mesure	Module d'Young	Méthode d'oxydation
Mills et al. [77]	AFM et FEM	12 - 37 MPa	Plasma (air)
Bar et al. [78]	AFM	220 MPa	Plasma air
Song et al. [79]	AFM / ATD	110 MPa / 13 MPa	UV/ozone
Efimenko et al. [80]	Stress induced buckling	15 - 87 MPa	UV ozone
Bowden et al. [81]	Thermal induced buckling	790 MPa	Plasma O_2
Béfahy et al. [82]	Stress induced buckling	1.5 GPa	Plasma O_2

TABLE III.1 – Modules d'Young du PDMS oxydé dans la littérature.

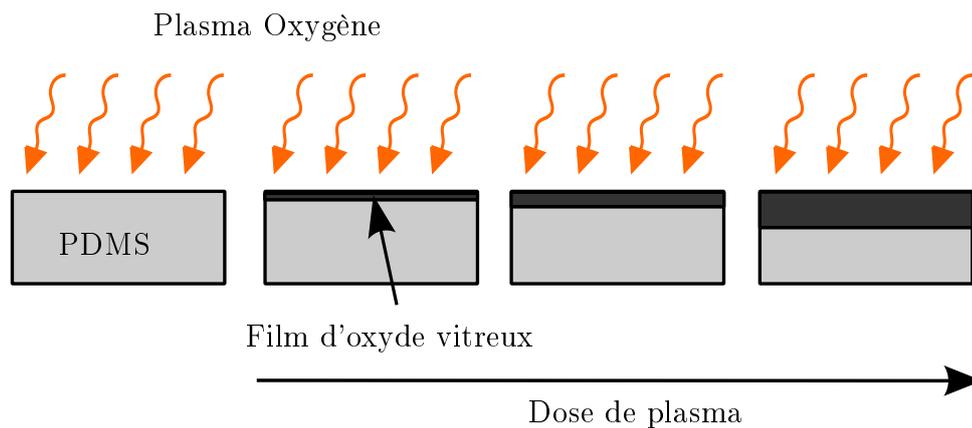


FIGURE III.7 – Représentation schématique de la croissance du film d'oxyde sur un substrat de PDMS exposé à un plasma d'oxygène. Le film d'oxyde vitreux croît avec la dose de plasma (dose = puissance \times temps) en se propageant dans le PDMS.

Du fait de sa nature et de son mode de croissance (figure III.7), l'épaisseur et l'élasticité de la couche d'oxyde sont particulièrement difficiles à déterminer. La microscopie électronique permet de se faire une idée de son épaisseur mais la résolution et le contraste sont assez faibles [82]. La

réflectométrie de rayons X a aussi été utilisée pour déterminer l'épaisseur de la couche d'oxyde [76]. Notons ici que l'hypothèse selon laquelle la couche d'oxyde est homogène semble l'emporter sur l'hypothèse d'un gradient d'oxydation. Cela est supporté par l'homogénéité du contraste en microscopie électronique et des données en réflectométrie des rayons X [82, 76]. La méthode d'analyse du flambage de PDMS oxydé pré-contraint permet de déterminer le module d'Young de la couche d'oxyde en connaissant son épaisseur ou inversement [80, 76]. Cette technique consiste à contraindre un film épais de PDMS de manière uniaxiale et à l'oxyder. La contrainte est ensuite relâchée et un flambage persiste en raison de la rigidification de la couche oxydée.

Béfahy et al. [82] utilisèrent cette technique du flambage pour estimer le module élastique de la couche oxydée (figure III.8). Les épaisseurs sont mesurées par microscopie électronique en transmission (figure III.8(a)). L'image III.8(b) montre la structure typique du flambage du PDMS oxydé pré-contraint. La longueur d'onde λ_0 des rides et l'épaisseur de la couche d'oxyde T sont utilisés pour calculer le module élastique de la couche d'oxyde selon la relation :

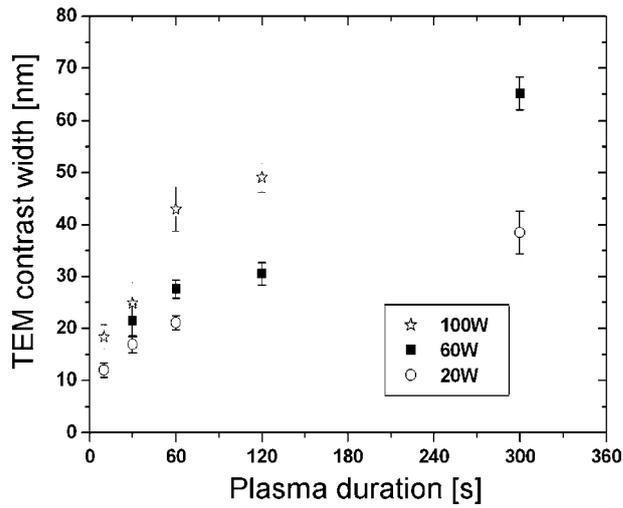
$$E_{oxyde} = E_{PDMS} \left(\frac{\lambda_0}{4.36T} \right)^3 \left(\frac{1 - \nu_{oxyde}^2}{1 - \nu_{PDMS}^2} \right) \quad (\text{III.2})$$

Les résultats de l'étude de Béfahy et al. sont résumés dans le tableau de la figure III.8(c). La méthode du flambage est limitée par les fissures micrométriques qui apparaissent après un certains temps d'exposition au plasma (figure III.9). Cet effet de "fissuration" permet la relaxation des contraintes au sein du substrat de PDMS qui se rigidifie au cours de l'oxydation. Ainsi, la valeur de l'élasticité de la couche d'oxyde déterminée par Béfahy et al. lorsque la surface est craquelée (0.4 GPa) est sous-estimée et donc à exclure. Par ailleurs, les valeurs les plus importantes (7.8 et 4.8 GPa) sont obtenues pour des puissances faibles (5W) et des temps courts (10 s), ce qui peut sembler étonnant. Béfahy et al. suppose que dans les conditions de faible exposition au plasma (dose faible = temps court ou puissance faible), la couche d'oxyde n'est pas homogène. De plus, l'équation III.2 suppose une contrainte limite au début du flambage de 0.1 à 0.15, ce qui correspond à un module élastique de 18 et 10 MPa. Les conditions de doses faibles ne remplissent pas ces conditions, ce qui peut expliquer la surestimation de l'élasticité de la couche d'oxyde. Les valeurs de 1.3, 1.5 et 1.7 GPa données par Béfahy et al. (figure III.8(c)) sont donc les seules crédibles.

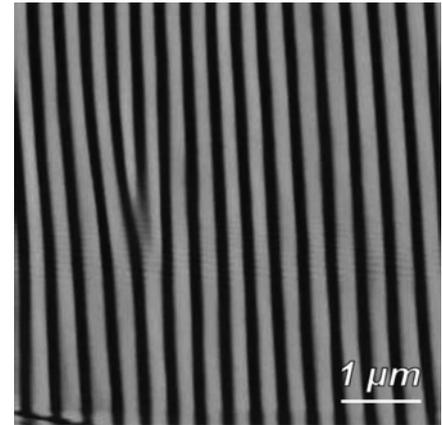
Par une étude du flambage du PDMS, Bayley et al. [76] propose une évolution logarithmique de l'évolution de l'épaisseur de la couche d'oxyde en fonction de la dose de plasma délivrée dans le matériau et de la fraction de conversion du PDMS en PDMS oxydé $\phi(z, t)$, z étant la profondeur et t le temps d'exposition (figure III.10). La dose d est définie comme :

$$d \equiv I \times t \quad (\text{III.3})$$

avec I la puissance du plasma en W et t le temps. Cette étude, basée sur des données indirectes et sur l'hypothèse d'une conversion du PDMS en PDMS oxydé de la forme $\phi(z, t)$, est à notre connaissance la plus complète à ce jour. Elle nous servira de repère dans l'évaluation de nos résultats issus de l'indentation des bicouches PDMS-PDMS oxydé.



(a)



(b)

		λ_0 [nm]	t [nm]	E_v [GPa]	cracks	contact angle
power at 60 s and 0.7 mbar	5 W	440.1	6	7.1	no	$20^\circ \pm 4.5^\circ$
	20 W	434.8	10.6	1.3	no	$< 5^\circ$
	60 W	439.8	15.3	0.4	yes	$< 5^\circ$
time at 20 W and 0.7 mbar	10 s	386.6	6	4.8	no	$60.7^\circ \pm 7.4^\circ$
	60 s	434.8	10.6	1.3	no	$< 5^\circ$
	300 s	544.2	18.9	0.4	yes	$13.6^\circ \pm 4.2^\circ$
pressure at 20 W and 60 s	0.3 mbar	512.3	11.4	1.7	no	$< 5^\circ$
	0.7 mbar	434.8	10.6	1.3	no	$< 5^\circ$
	1.1 mbar	413.6	9.6	1.5	no	$< 5^\circ$

(c)

FIGURE III.8 – (a) Épaisseur de la couche d'oxyde (mesurée par microscopie électronique en transmission) en fonction du temps d'exposition et de la puissance du plasma. (b) Image AFM des rides de flambage d'un substrat de PDMS oxydé (20W, 60s, 0.7 mbar) pré-contraint de 10 % de sa longueur initiale. (c) Résultats expérimentaux de Béfahy et al. décrivant l'élasticité de la couche d'oxyde dans différentes conditions d'exposition au plasma (temps, puissance, pression). (Figures extraites de l'article de Béfahy et al. [82])

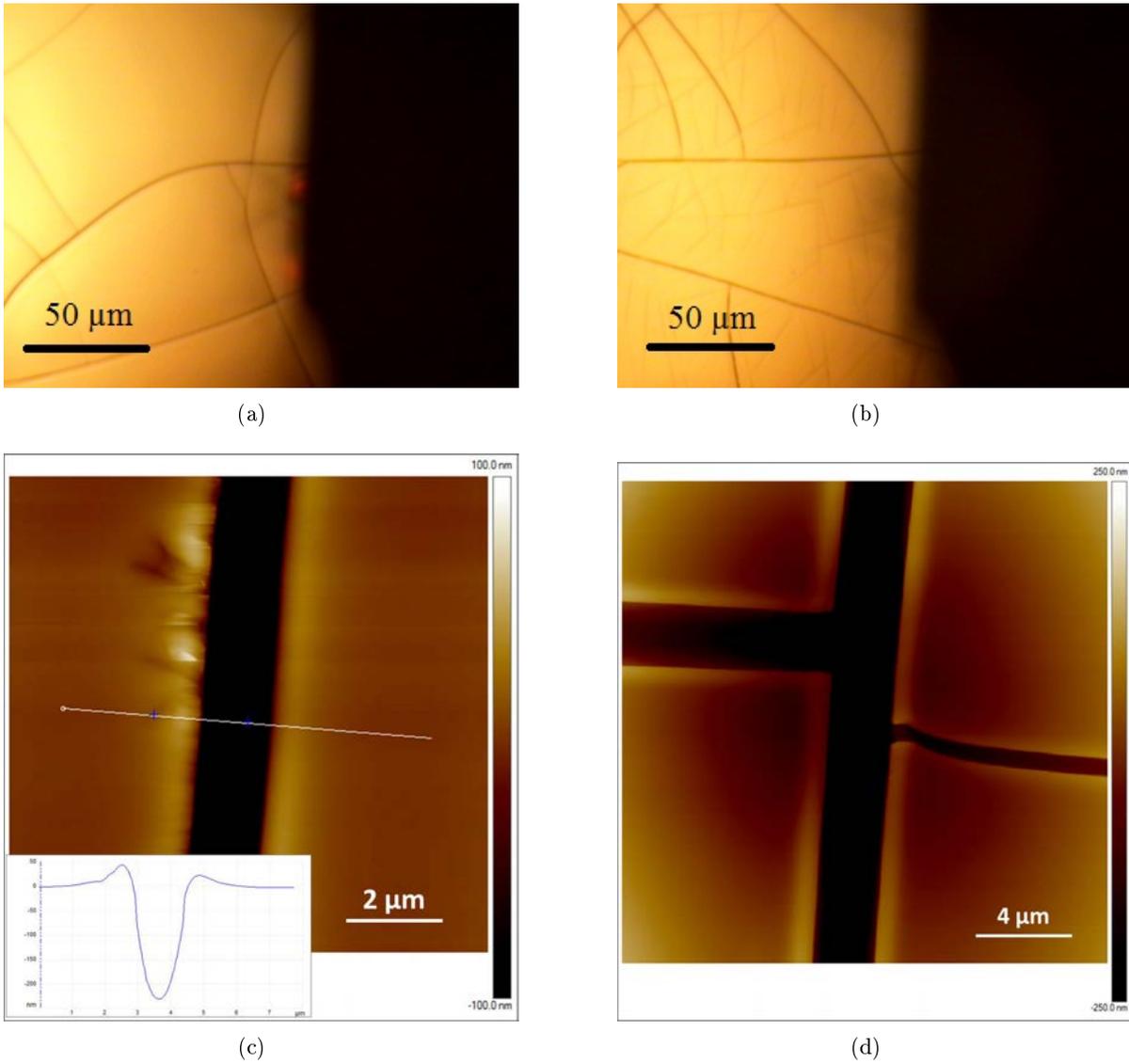


FIGURE III.9 – Fissurations d’une surface de PDMS : (a) après 1h d’exposition au plasma, (b) après 3h d’exposition au plasma (microscope optique couplée de l’AFM). Images topographiques AFM de craquelures sur une surface de PDMS : (c) après 30 min d’exposition au plasma, (d) après 1h d’exposition au plasma. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

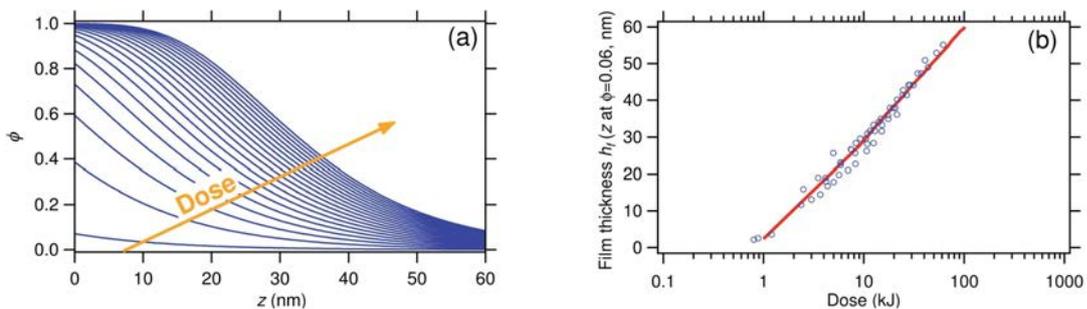


FIGURE III.10 – (a) Profil de conversion du PDMS en PDMS oxydé pour des incréments de dose de 7.56 kJ (premier profil à 1.35 kJ). (b) Épaisseur de la couche d’oxyde (distance z à laquelle le taux de conversion $\phi = 0.06$) en fonction de la dose délivrée. Figures extraites de l’article de Bayley et al. [76].

III.2 Nanoindentation de films sur substrat de PDMS

III.2.1 Film de chitosan sur substrat de PDMS

De multiples courbes de force ont été effectuées sur différentes épaisseurs de chitosan reposant sur des substrats épais de PDMS. La figure III.11 présente un ensemble de courbes de force (approche uniquement) en fonction de l'épaisseur de chitosan. L'indentation δ est mesurée comme décrit dans la partie II.1.2. Le point de contact est ici supposé être l'équilibre des forces attractives et répulsives de la courbe d'approche. Le paramètre de Tabor μ du chitosan s'avère être faible (0.1 à 1) par rapport à celui du PDMS (40 à 5000 [27]). En effet, l'adhésion est faible sur le film de chitosan. La force adhésive lors du contact pointe-échantillon est comprise entre 1 et 10 % de la force maximale appliquée. Dans ces conditions, l'emploi du modèle JKR n'est pas préconisé car les forces élastiques sont prédominantes. Un contact de type Maugis-Dugdale (cf. cartographie adhésive du contact, figure II.16) serait plus adaptée. Cependant, la force appliquée est suffisamment importante pour négliger l'adhésion ($F_{max}/F_{po} > 10^2$) et un modèle Hertzien peut être utilisé.

Outre l'augmentation de la pente avec l'épaisseur de chitosan, la première constatation est la linéarité des courbes obtenues. La dépendance hertzienne semble perdue du fait de l'hétérogénéité de l'échantillon, comme prévu par le modèle de Perriot et Barthel [83]. Le graphique de la figure III.12 simule grâce au modèle CHIMER l'évolution du module d'Young, plus précisément de la fonction poids ϕ décrite dans la partie II.2.2, en fonction du rapport δ/T .

Cette simulation montre que cette évolution suit une loi de puissance d'exposant ≈ -0.5 . La variation du module élastique réduit peut ainsi s'écrire :

$$E^* = \psi \delta^{-1/2} \quad (\text{III.4})$$

La sonde utilisée étant de forme sphérique, l'équation III.4 est injectée dans la relation Hertzienne (eq. II.10), ce qui donne :

$$F = \left(\frac{4}{3} \sqrt{R\delta} E_{eq}^*(\delta) \right) \delta \quad (\text{III.5})$$

Cette relation permet d'expliquer la linéarité apparente des courbes de force obtenues sur les surfaces hétérogènes PDMS-chitosan. La dépendance hertzienne $F \propto \delta^{3/2}$ est perturbée en raison de l'hétérogénéité de l'échantillon, la compliance du substrat de PDMS diminuant l'élasticité équivalente de l'échantillon au fur et à mesure de l'indentation. Cette modification du contact hertzien peut s'écrire sous la forme :

$$\begin{aligned} F &= S\delta \\ S &= \frac{4}{3} \sqrt{R\delta} E_{eq}^* \end{aligned} \quad (\text{III.6})$$

avec S la pente de la courbe de force qui ne dépend pas de δ . Cette relation semble particulièrement intéressante dans la mesure où le module élastique réduit équivalent E_{eq}^* est dépendant de l'indentation. La pente S ainsi déterminée peut être injectée dans le modèle CHIMER pour

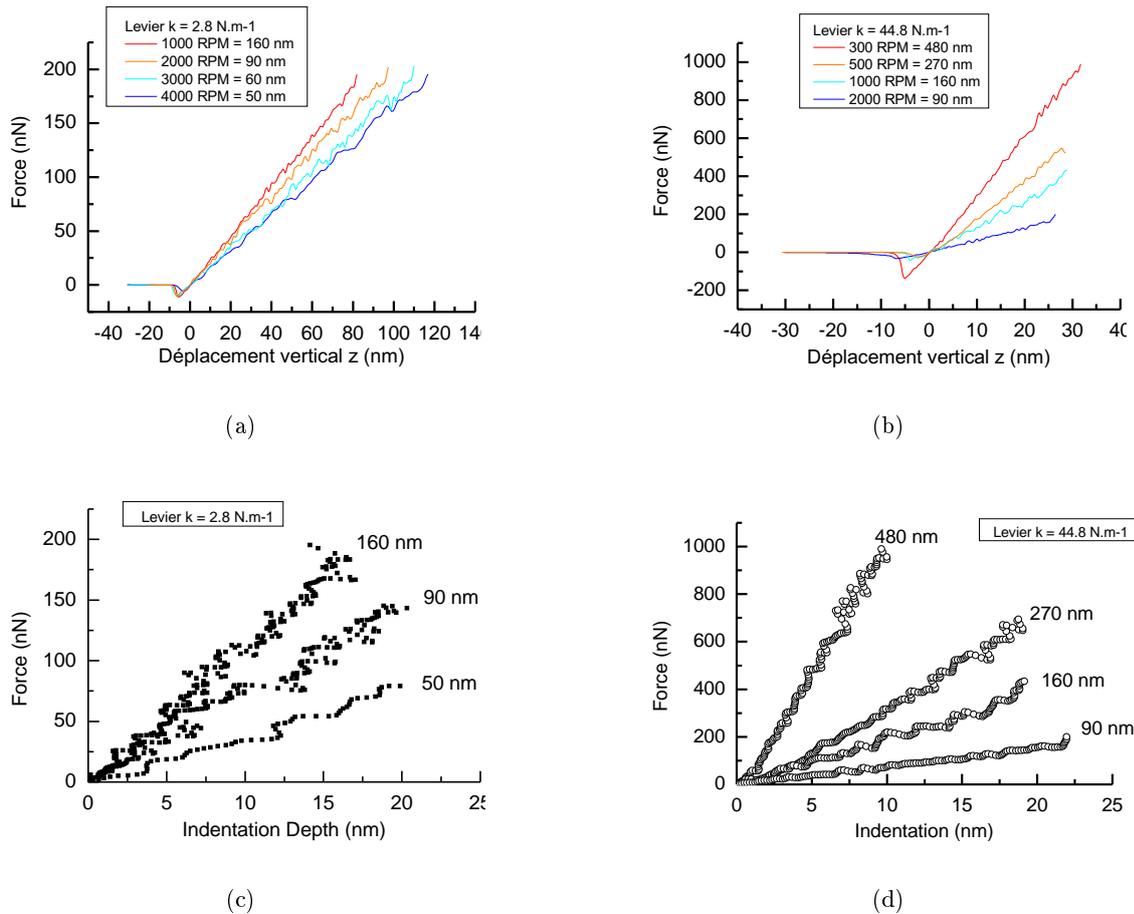


FIGURE III.11 – F - Z et F - δ sur différentes épaisseurs de chitosan reposant sur un substrat épais de PDMS avec : (a) et (c) un levier mou ($k = 2.8 \text{ N.m}^{-1}$), (b) et (d) un levier raide ($k = 44.8 \text{ N.m}^{-1}$). Résultats B. Sarrazin et R. Brossard, CEA LIONS.

retrouver les épaisseurs de chitosan attendues. Il est important de noter que ce modèle linéaire décrit par l'équation III.6 considère le point de contact comme étant unique, au point d'équilibre entre les forces attractives et répulsives, tout comme le modèle de Hertz canonique. Cela fera l'objet d'une discussion plus détaillée par la suite.

La figure III.13 présente une courbe de force sur un film de chitosan de 160 nm d'épaisseur (1000 RPM) supporté par un substrat épais de PDMS. Cette courbe est ajustée par une fonction linéaire (pente S) et par un modèle de Hertz linéarisé décrit dans la partie II.1.2. Le point de contact est ajusté pour que ce dernier s'accorde au mieux à la gamme comprise entre $0.1 \delta_{max}$ et $0.7 \delta_{max}$. Bien que ne s'accordant pas aux premiers nanomètres d'indentation de la courbe de force, le modèle de Hertz linéarisé constitue un ajustement raisonnable des données expérimentales dans la gamme d'ajustement.

La première méthode pour retrouver l'épaisseur des films consiste à utiliser le modèle linéaire décrit par l'équation III.6. Cette méthode prédit une dépendance du module élastique équivalent

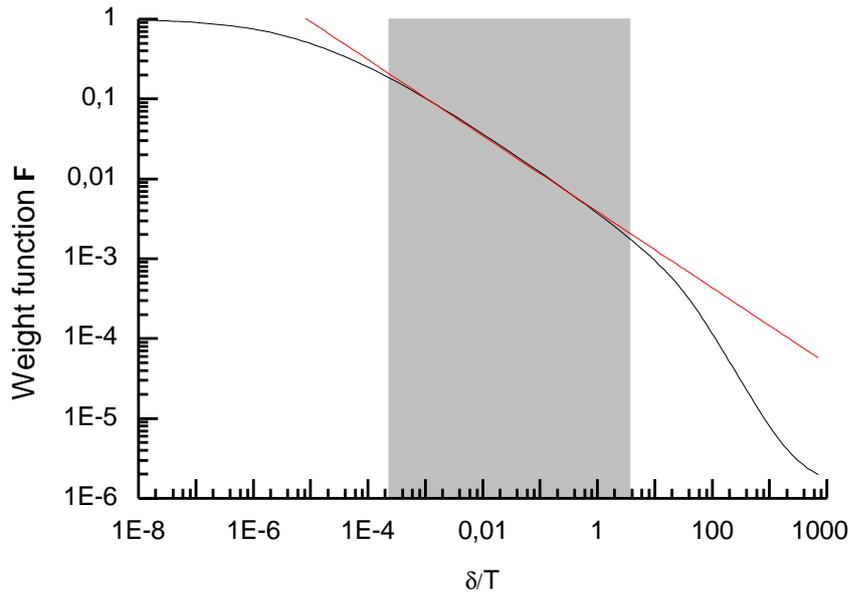


FIGURE III.12 – Simulation de l'évolution du module équivalent en fonction de l'indentation ($T = 12 \text{ nm}$ et $R = 20 \text{ nm}$). La zone grise représente la gamme de δ/T sondée expérimentalement. La droite rouge représente une pente de puissance -0.48 . Résultats B. Sarrazin et R. Brossard, CEA LIONS.

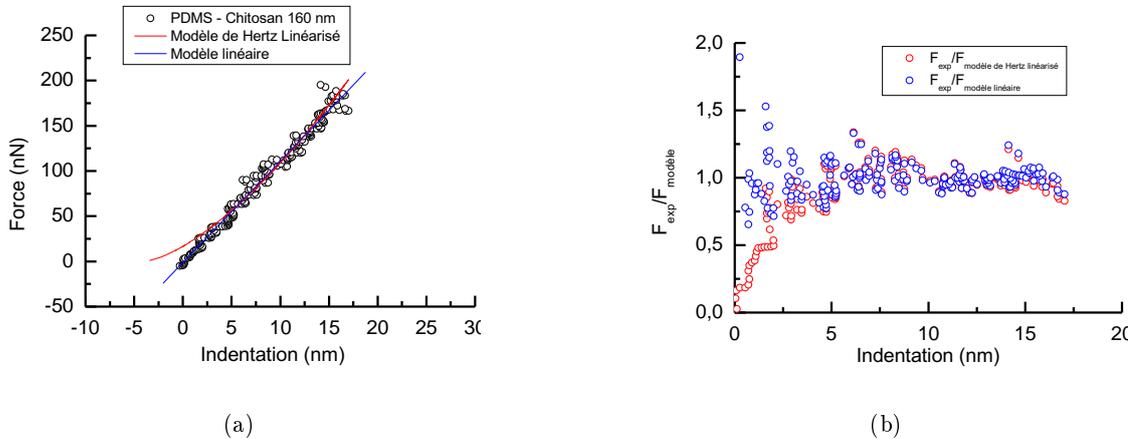


FIGURE III.13 – (a) Courbe de force - indentation sur un film de chitosan (160 nm d'épaisseur) supporté par un substrat épais de PDMS. La courbe rouge représente l'ajustement par le modèle de Hertz linéarisé avec $\delta_0 = -3.5 \text{ nm}$, $E^{eq} = 450 \text{ MPa}$. La courbe bleue représente l'ajustement par une fonction linéaire avec $S = 11.2 \text{ N.m}^{-1}$. (b) Qualité des ajustements linéaire et Hertz linéarisé. Résultats B. Sarrazin et R. Brossard, CEA LIONS.

telle que $E_{eq} \propto 1/\sqrt{\delta}$. La figure III.14 présente le module élastique équivalent du système PDMS-chitosan extrait d'un ajustement linéaire. À chaque point d'indentation δ correspond un module élastique équivalent E_{eq} . Par exemple, l'indentation $0.5\delta_{max}$ (correspondant à la moitié de l'indentation maximale) donne une élasticité équivalente de 820 MPa. Pour retrouver les épaisseurs des films, il suffit alors d'interpréter les couples $[\delta; E_{eq}]$ avec le modèle CHIMER via l'algorithme

décrit dans l'annexe 1.

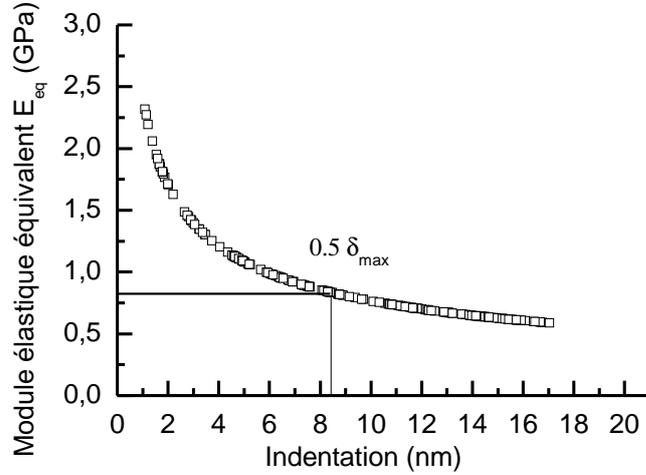


FIGURE III.14 – Module élastique équivalent d'un film de chitosan (160 nm d'épaisseur) supporté par un substrat épais de PDMS décrit par le modèle linéaire issue de la simulation du modèle CHIMER. Le module élastique équivalent à $0.5\delta_{max}$ est de 820 MPa. Résultats B. Sarrazin et R. Brossard, CEA LIONS.

Une seconde méthode consiste à interpréter le module élastique obtenu par l'ajustement du modèle de Hertz linéarisé. Ce module noté \bar{E} peut être interprété comme la moyenne des modules élastiques équivalents $E_{eq}(\delta)$ dans la gamme d'ajustement du modèle de Hertz linéarisé. Pour interpréter ce module \bar{E} via CHIMER, il est indispensable de déterminer une indentation moyenne correspondante, notée $\bar{\delta}$. Le modèle de Hertz linéarisé est ajusté sur la courbe expérimentale grâce à la méthode des moindres carrés, les résidus à minimiser sont de la forme :

$$\Pi = \left\langle \left(F_i^{2/3} - \left(\frac{4}{3} \sqrt{R} \right)^{2/3} \bar{E}^{*2/3} \delta \right)^2 \right\rangle \quad (\text{III.7})$$

où $\langle . \rangle$ est la moyenne sur la gamme d'ajustement. En minimisant cette expression pour des indentations expérimentales δ_i uniformément distribuées, on obtient :

$$\begin{aligned} \bar{E}^* &= E_{eq}^* \left(\left[\frac{\langle \delta^2 \rangle}{\langle \delta^{5/3} \rangle} \right]^3 \right) = E_{eq}^*(\bar{\delta}) \\ \bar{\delta} &= \left[\frac{\langle \delta^2 \rangle}{\langle \delta^{5/3} \rangle} \right]^3 \end{aligned} \quad (\text{III.8})$$

La gamme d'ajustement choisie étant $[0.1\delta_{max}; 0.7\delta_{max}]$ (à la fois pour éliminer la partie la plus adhésive et la partie la plus plastique), l'équation III.8 donne $\bar{\delta} \approx 0.5\delta_{max}$. Notons dès à présent que le décalage du point de contact δ_0 ajusté par le modèle de Hertz linéarisé doit être pris en compte dans le calcul de $\bar{\delta}$. Dans le cas de la courbe de force de la figure III.13, ce décalage est de 3.5 nm pour une indentation totale de 20 nm. Le couple $[\bar{\delta}; \bar{E}]$ est ensuite introduit dans le modèle CHIMER pour obtenir l'épaisseur du film.

La table III.2 présente les résultats obtenus sur différentes épaisseurs de chitosan supportées par un substrat de PDMS. Les modules élastiques équivalents à mi-indentation $E_{eq}(0.5\delta_{max})$ issus du modèle linéaire sont en moyenne 1.52 ± 0.08 fois plus importants que les modules équivalents \bar{E} fournis par le modèle de Hertz linéarisé. Cette régularité du rapport $E_{eq}(0.5\delta_{max})/\bar{E}$ semble indiquer qu'il existe un lien entre les deux modèles.

Vitesse de rotation (RPM)	Modèle Linéaire S ($N.m^{-1}$)	Modèle Linéaire $E_{eq}(0.5\delta_{max})$ (MPa)	Hertz Linéarisé \bar{E} (MPa)	Indentation maximale δ_{max} (δ_0)(nm)
1000	10.2 ± 0.8	756 ± 78	507 ± 63	19 (2.5)
2000	6.4 ± 0.4	392 ± 62	241 ± 12	25 (5)
3000	4.4 ± 0.2	205 ± 45	135 ± 12	40 (12)
4000	3.9 ± 0.1	175 ± 26	113 ± 5	45 (11)
5000	3.7 ± 0.3	148 ± 81	105 ± 11	50 (20)

TABLE III.2 – Résultats expérimentaux issus des courbes de force sur des films de chitosan reposant sur un substrat de PDMS. Chaque valeur d'élasticité et de raideur est la moyenne calculée sur un échantillonnage de 20 à 50 nanoindentations.

Les données de la table III.2 sont ensuite implémentés dans l'algorithme CHIMER afin de calculer les épaisseurs de chitosan et de les comparer aux épaisseurs mesurées. Outre les données de la table III.2, les paramètres utilisés sont les modules élastiques du chitosan (3 GPa) et du PDMS (2.6 MPa). Il est à noter que l'incertitude sur le module élastique du PDMS (cf. III.1.1), n'influe pas sur ces résultats étant donné l'importance du module élastique du chitosan. La figure III.15 et la table III.3 présentent l'épaisseur de chitosan en fonction de la vitesse de rotation et du modèle choisi. L'approche par le modèle de Hertz linéarisé est en très bon accord avec les valeurs attendues alors que le modèle linéaire surestime les épaisseurs d'environ 72 %. Ce résultat est surprenant dans la mesure où l'approche linéaire est mathématiquement issue du modèle de Perriot et Barthel implémenté dans CHIMER. Cependant, l'approche linéaire étant indépendante du point de contact, il est probable qu'elle soit très sensible aux effets adhésifs qui interviennent à faible indentation et qui ne sont jamais totalement négligeables devant les forces élastiques. Quant au modèle de Hertz linéarisé, l'approximation selon laquelle le module élastique mesurée \bar{E} est la moyenne des modules élastiques équivalents E_{eq} est crédible. En effet, l'ajustement du point de contact permet de compenser les effets adhésifs des premiers nanomètres d'indentation.

La table III.3 présente deux interprétations par le modèle CHIMER du module \bar{E} ajusté par le modèle de Hertz linéarisé. La première associe \bar{E} à $\bar{\delta} = 0.5\delta_{max}$ comme décrit ci-avant. La seconde associe \bar{E} à $\bar{\delta} = 0.3\delta_{max}$, choisi arbitrairement pour mettre en évidence l'importance du choix de l'indentation moyenne dans l'interprétation du modèle de Hertz linéarisé par CHIMER. En effet, alors que le premier cas donne un très bon accord avec les épaisseurs mesurées, le second donne des épaisseurs sous estimées d'environ 15 %.

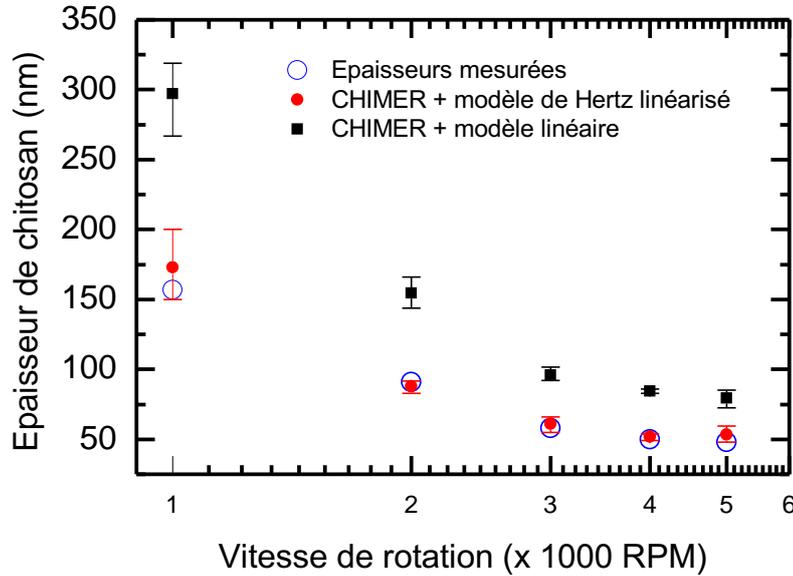


FIGURE III.15 – Comparaison des valeurs mesurées et calculées des épaisseurs de chitosan reposant sur un substrat de PDMS. Les cercles bleus représentent les mesures d'épaisseurs effectuées par topographie AFM sur substrat de silicium. CHIMER est utilisé pour calculer les épaisseurs par l'approche de Hertz linéarisé avec une indentation $0.5\delta_{max}$ (ronds rouges) et par l'approche linéaire (S) qui ne nécessite pas d'indentation équivalente (carrés noirs).

Vitesse de rotation (RPM)	T mesurées (nm)	T via CHIMER + ML (nm)	T via CHIMER + MHL (nm) ($\bar{\delta} = 0.5\delta_{max}$)	T via CHIMER + MHL (nm) ($\bar{\delta} = 0.3\delta_{max}$)
1000	157 ± 2	297 ± 30	173 ± 27	141 ± 23
2000	91 ± 2	154 ± 12	88 ± 5	70 ± 4
3000	58 ± 2	96 ± 6	61 ± 6	49 ± 5
4000	50 ± 2	84 ± 2	52 ± 3	42 ± 3
5000	48 ± 3	79 ± 6	53 ± 6	42 ± 5
Accord moyen	x	172 ± 10%	105 ± 6%	85 ± 5%

TABLE III.3 – Épaisseurs T de chitosan issues de l'interprétation par CHIMER des courbes de force sur des films reposant sur un substrat de PDMS. ML = modèle linéaire, MHL = modèle de Hertz linéarisé. L'accord moyen est la moyenne des (T_{CHIMER}/T_{mesure}) pour chaque modèle.

La méthode la plus fiable pour obtenir les épaisseurs des films est donc celle qui interprète via CHIMER l'élasticité moyenne \bar{E} ajustée par le modèle de Hertz linéarisé, associé à une indentation moyenne $\bar{\delta} = 0.5\delta_{max}$. Cette méthode sera ainsi utilisée par la suite pour calculer les épaisseurs des couches d'oxyde de PDMS en interprétant les courbes de nanoindentation AFM.

III.2.2 Oxydation du PDMS

La nanoindentation AFM est utilisée pour déterminer l'épaisseur des couches d'oxyde d'un substrat de PDMS exposé à un plasma O_2 de 30 secondes à 120 minutes, à une puissance constante de 29.6 W. La figure III.16 présente une série de courbes de force effectuées sur ces substrats de PDMS oxydés. Deux leviers ont dû être utilisés afin d'obtenir une résolution en force suffisante pour mesurer une large gamme d'élasticité. Il est clairement visible que les surfaces sont de plus en plus dures au fur et à mesure de leur exposition au plasma. De plus, dès les premières secondes d'oxydation, les courbes de force présentent un saut de la pointe au contact (*jump-in*) moins important que sur le PDMS natif. Cela traduit une diminution du caractère adhésif du PDMS oxydé en raison de la rigidification de la surface.

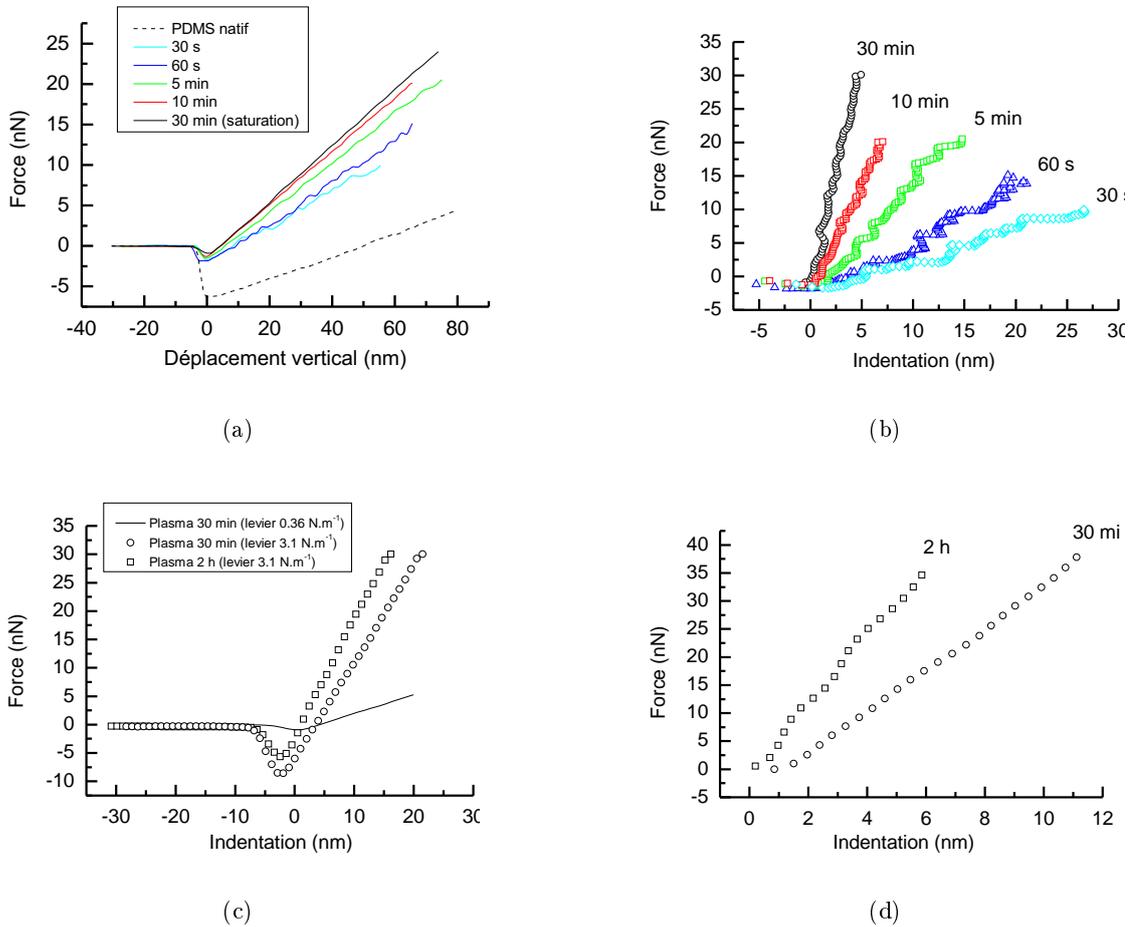


FIGURE III.16 – $F - Z$ et $F - \delta$ sur différents substrats de PDMS exposés à un plasma O_2 de 30 s à 2 h avec : (a) et (b) un levier mou ($k = 0.36 N.m^{-1}$), (d) un levier plus raide ($k = 3.1 N.m^{-1}$), (c) après 30 min d'exposition au plasma, l'échantillon atteint une raideur qui sature le levier mou. Au-delà de 30 min d'exposition, le levier raide est donc utilisé. Résultats B. Sarrazin et R. Brossard.

Tout comme pour le système PDMS-chitosan, les courbes de force présentent une dépendance

linéaire $F \propto \delta$ du fait de leur caractère composite. Les ajustements par le modèle linéaire et par le modèle de Hertz linéarisé des données expérimentales (pour $\delta > 2$ nm) sont de qualité équivalente, comme il est montré pour un substrat de PDMS exposé 5 min au plasma (figure III.17).

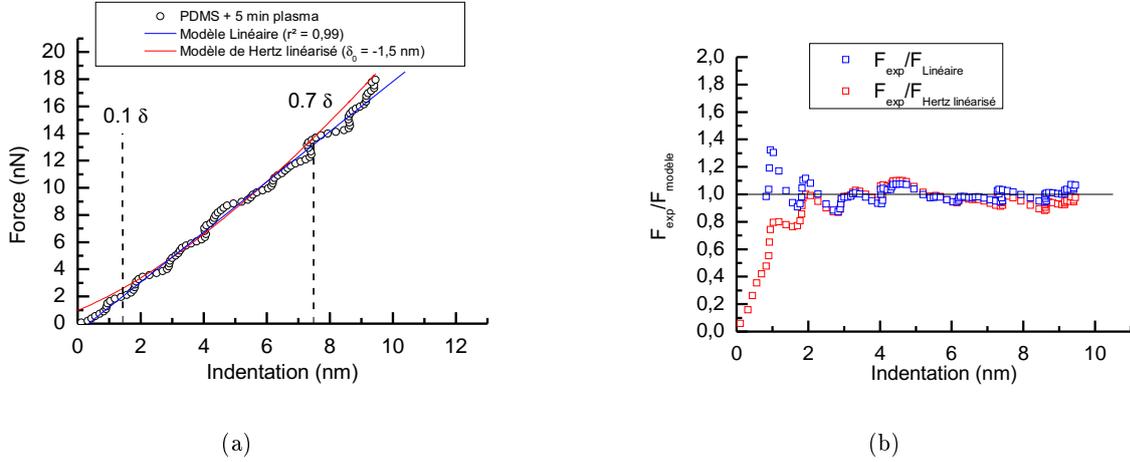


FIGURE III.17 – (a) Courbe de force - indentation sur PDMS exposé 5 min à un plasma O_2 . La courbe rouge représente l'ajustement par le modèle de Hertz linéarisé avec $\delta_0 = -1.5$ nm, $E_{eq} = 84.6$ MPa. La courbe bleue représente l'ajustement par une fonction linéaire avec $S = 1.85$ N.m $^{-1}$. (b) Qualité des ajustements linéaire et Hertz linéarisé. Résultats B. Sarrazin et R. Brossard.

L'interprétation par le modèle CHIMER des modules obtenus souffre ici de l'incertitude quant à l'élasticité volumique du PDMS oxydé. Nous avons vu dans la partie III.1.3 (table III.1) que la littérature donne des valeurs très variables de cette élasticité. Il est cependant évident que les valeurs d'élasticité du PDMS oxydé par un plasma à l'air et par UV/ozone sont trop faibles pour être utilisées (12-220 MPa [77, 78, 79, 80]) car elles sont rapidement inférieures à celles des élasticités équivalentes calculées par le modèle de Hertz linéarisé. L'oxydation est plus importante en présence d'oxygène et l'UV/ozone développe une puissance moins importante que le plasma, ce qui peut expliquer ces valeurs faibles de l'élasticité du PDMS oxydé dans la littérature. En revanche, la valeur donnée par Béfahy et al. [82] (1.5 GPa) semble être crédible, comme décrit dans la partie III.1.3. Il est aussi possible d'effectuer des mesures d'indentation sur des substrats de PDMS oxydés pendant plusieurs dizaines d'heures en faisant l'hypothèse que l'intégralité du PDMS est oxydée. Cependant, les fissurations de la surface deviennent très importantes après deux heures d'exposition et la mesure d'indentation n'est plus reproductible car les fissures nuisent à la qualité du contact.

La table III.4 résume les résultats des nanoindentations effectuées sur à la surface du PDMS oxydé. Le modèle de Hertz linéarisé est utilisé pour calculer les modules équivalents moyens \bar{E} et l'algorithme CHIMER est utilisé pour calculer les épaisseurs des couches d'oxyde. La figure III.18 présente ces épaisseurs en fonction du temps d'exposition au plasma. Le module volumique du PDMS oxydé est choisi à 1.5 GPa et celui du PDMS natif est toujours fixé à 2.6 MPa.

Temps d'exposition (s)	Raideur du levier AFM k ($N.m^{-1}$)	Module élastique (MPa) \bar{E}	T via CHIMER + MHL (nm) ($\bar{\delta} = 0.5\delta_{max}$)
30	0.390	18.3 ± 2.4	9.4 ± 1.4
	0.365	14.5 ± 1.7	9.0 ± 1.3
60	0.390	22.7 ± 2.0	11.9 ± 1.2
	0.365	24.4 ± 1.5	11.5 ± 0.9
120	0.390	38.0 ± 2.7	15.7 ± 1.4
300	0.365	77.7 ± 7.0	27.1 ± 2.8
600	0.390	171.1 ± 13.7	54.3 ± 5.5
	0.390	124.7 ± 21.8	51.7 ± 11.1
1200	3.1	273.9 ± 41.1	77.5 ± 15.5
1800	0.365	340.3 ± 54.5	216.9 ± 31.3
	3.1	365.8 ± 40.2	214.0 ± 21.2
	101.6	349.4 ± 24.5	216.9 ± 59.7
2400	101.6	533.3 ± 128.0	325.3 ± 136.7
3600	101.6	913.6 ± 173.6	724.2 ± 353.4

TABLE III.4 – Résultats expérimentaux issus des courbes de force sur des substrats de PDMS oxydés. Chaque valeur d'élasticité est la moyenne calculée sur un échantillonnage de 20 à 50 nanoindentations. L'épaisseur T de la couche d'oxyde est issues de l'interprétation par CHIMER des modules élastiques \bar{E} ajustés par le modèle de Hertz linéarisé. Résultats B. Sarrazin et R. Brossard.

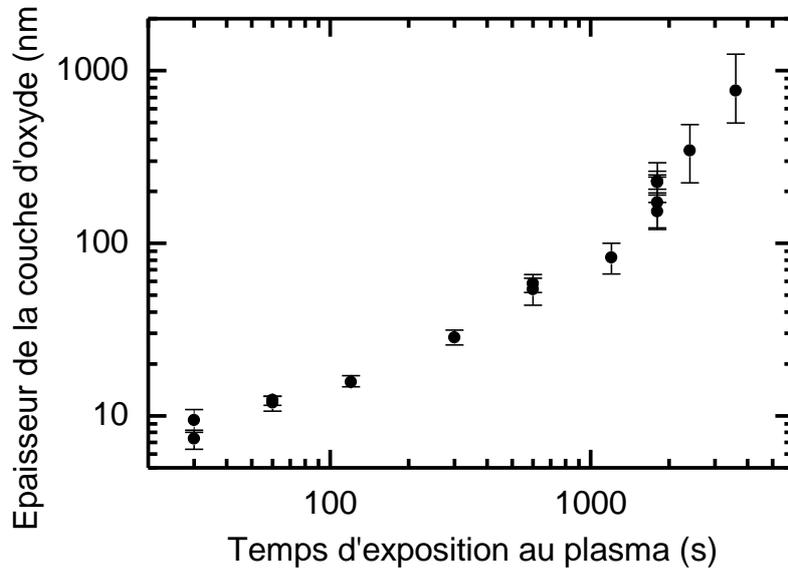


FIGURE III.18 – Épaisseur de la couche d'oxyde calculée via CHIMER en fonction du temps d'exposition au plasma O_2 . Le module d'Young de la couche d'oxyde est ici considéré comme étant 1.5 GPa.

Les épaisseurs de la couche oxydée calculées avec CHIMER sont comparables à celles déterminées dans la littérature [82, 76] pour des temps allant jusqu'à 300 secondes. Bayley et al. [76] prédit une progression logarithmique de l'épaisseur de la couche d'oxyde en fonction de la dose. Cependant, pour des temps d'exposition supérieurs à 300 secondes, le graphique de la figure

III.18 montre plutôt une loi de puissance $T \propto t^{0.63}$. De plus, au-delà de 80 minutes d'exposition, le module équivalent dépasse 1.5 GPa, valeur choisie de l'élasticité de la couche d'oxyde. L'hypothèse d'une seconde réaction, plus lente que la première, accrédirait cette augmentation du module dans les temps les plus longs. De plus, il est à noter que l'augmentation importante de la fissuration de la surface de l'échantillon conduit à une instabilité des courbes de force, ce qui rend caduque la méthode de mesure de l'élasticité par indentation après 90 minutes d'exposition.

III.2.3 Pertinence du modèle de Hertz linéarisé interprété par CHIMER

L'interprétation des courbes de force directement via le modèle CHIMER se confronte à la faiblesse de la gamme d'indentation élastique due à l'adhésion à faible indentation et à la sortie du régime élastique quand la déformation devient trop importante. De plus, l'ajustement des courbes Force / Indentation par CHIMER nécessite un temps de calcul très important et peut s'avérer fastidieux si les courbes sont bruitées.

Nous avons vu précédemment, grâce à une simulation dans le cas d'une bicouche par le modèle CHIMER (figure III.12), que la dépendance hertzienne $E \propto F/\delta^{3/2}$ est perturbée par l'inhomogénéité du système et une dépendance linéaire $E(\delta) \propto F/\delta$ est observée. Le modèle linéaire $F \propto E_{eq}^*(\delta)\delta^{3/2}$ est cohérent avec la théorie du modèle CHIMER, c'est-à-dire qu'il décrit une évolution du module élastique équivalent en fonction de la profondeur d'indentation. Cependant, l'interprétation du modèle linéaire par CHIMER pour le calcul des épaisseurs T est en désaccord avec les mesures *in situ* de T . Cette discordance met en évidence l'inexactitude du modèle CHIMER, notamment en ce qui concerne l'adhésion et la versatilité du point de contact à l'échelle nanométrique.

À ce stade, il est important de discuter de la pertinence et de la signification physique de l'interprétation du modèle de Hertz linéarisé par CHIMER. L'approximation d'une variation faible du module élastique équivalent est rendue possible en raison des échelles mises en jeu et le modèle CHIMER permet de les interpréter en introduisant les paramètres liés à l'inhomogénéité du système : le module élastique du substrat, le module élastique et l'épaisseur du film. Dans le cas d'un matériau homogène, le modèle de Hertz linéarisé ajuste aussi bien le module élastique que le point de contact, compensant notamment l'effet de l'adhésion à faible indentation. En revanche, dans le cas d'un échantillon composite comme une bicouche plane, ces paramètres deviennent dépendants de la profondeur d'indentation. Ainsi, le point de contact ajusté est un point de contact virtuel noté δ_0^{eq} qui n'a plus rien à voir avec le point de contact physique. Nous avons vu précédemment que le modèle de Hertz linéarisé fournit un module élastique moyen noté \bar{E}^* mais il donne aussi une moyenne du point de contact virtuel $\bar{\delta}_0$.

Le modèle linéaire – issu de CHIMER et décrit dans la partie III.2.1 – prend les variations de $E_{eq}^*(\delta)$ en compte mais ne dépend pas du point de contact. Plus précisément, ce modèle suppose que le point de contact est le même pour toute indentation δ , comme le ferait le modèle de Hertz canonique. Ceci est très certainement à l'origine du désaccord entre le modèle linéaire et les résultats expérimentaux. Ainsi, l'adaptation d'un modèle de contact classique (pour lequel E ne

dépend pas de δ) à un système composite, comme une bicouche plane, doit faire varier à la fois l'élasticité mais aussi le point de contact en fonction de la profondeur d'indentation. Ce point de contact virtuel $\delta_0^{eq}(\delta)$ permet de compenser l'adhésion et la diminution du module élastique équivalent. La table III.5 donne un aperçu des variations du modèle de Hertz utilisées dans cette étude. Le développement d'un modèle plus complet permettrait de comprendre la variation de $\delta_0^{eq}(\delta)$.

Système homogène	Bicouche
Modèle de Hertz (canonique) $F \propto E^*(\delta)^{3/2}$	Modèle de Hertz linéarisé $F \propto \bar{E}^*(\delta - \bar{\delta}_0)^{3/2}$
Modèle de Hertz linéarisé $F \propto E^*(\delta - \delta_0)^{3/2}$	Modèle linéaire (CHIMER) $F \propto E_{eq}^*(\delta)\delta^{3/2}$
	Modèle complet $F \propto E_{eq}^*(\delta)(\delta - \delta_0^{eq}(\delta))^{3/2}$

TABLE III.5 – Modification du modèle de contact Hertzien pour l'interprétation du module élastique équivalent de matériaux composites.

III.3 Conclusion sur l'élasticité de couches fines sur substrat de PDMS

La microscopie à force atomique a été utilisée pour sonder l'élasticité de deux couches fines sur substrat de PDMS :

- des films de chitosan déposés par *spin-coating*, dont l'épaisseur et le module élastique sont connus,
- des couches de PDMS oxydé générées par exposition à un plasma O_2 , dont les épaisseurs et le module élastique sont difficiles d'accès.

Les courbes de force obtenues sur les films de chitosan reposant sur un substrat de PDMS se caractérisent par une linéarité de l'indentation en fonction de la force. Ce phénomène, lié à l'inhomogénéité de l'échantillon, est expliquée par la diminution progressive du module élastique équivalent sondé en fonction de la profondeur d'indentation. Ainsi, la dépendance Hertzienne ($F \propto \delta^{3/2}$) est perdue et une nouvelle relation peut être écrite faisant varier le module élastique équivalent en fonction de la profondeur d'indentation. Le modèle CHIMER décrit au chapitre II est mis à contribution pour simuler un contact entre une sonde sphérique et une bicouche plane. Nous avons ainsi mis en évidence une dépendance linéaire ($F \propto \delta$) dans les gammes d'indentation et d'épaisseur expérimentales, expliquant ainsi l'aspect linéaire des courbes de force.

Deux méthodes ont été mises en place pour décrire l'élasticité des films de chitosan reposant sur des substrats de PDMS et retrouver leurs épaisseurs grâce au modèle CHIMER :

1. un modèle linéaire, cohérent avec les simulations, permettant le calcul des modules élastiques équivalents et leur interprétation via CHIMER,
2. une méthode plus fastidieuse *à priori* reposant sur le modèle de Hertz linéarisé. Ce dernier est utilisé pour calculer un module élastique équivalent moyen et l'indentation moyenne correspondante. Ces données sont ensuite interprétées par le modèle CHIMER.

Les épaisseurs ainsi obtenues par les deux méthodes sont comparées aux épaisseurs mesurées expérimentalement. La seconde méthode montre un très bon accord avec les épaisseurs expérimentales et décrit donc très bien l'élasticité des films de chitosan sur un substrat de PDMS. En revanche, la première méthode, pourtant plus cohérente avec le profil linéaire des courbes de force, présente un biais conséquent dans son calcul des épaisseurs des films de chitosan. La justification de ce désaccord est certainement à rechercher dans la différence fondamentale entre les deux méthodes. En effet, la méthode de Hertz linéarisé ajuste le point de contact alors que la méthode linéaire considère le point de contact comme étant le point de contact physique (équilibre des forces d'attraction et de répulsion). Dans ces conditions, le modèle linéaire peut être fortement perturbée par une adhésion, même mineure, alors que le modèle de Hertz linéarisé ne tient pas compte des premiers nanomètres d'indentation et néglige tout ou partie des effets adhésifs. L'intégration dans le modèle CHIMER de paramètre adhésif pourrait certainement améliorer l'interprétation de l'élasticité équivalente des couches minces reposant sur un substrat élastique.

La méthode 2 (Hertz linéarisé) a été mise en œuvre pour interpréter les courbes de force issues de la nanoindentation de substrats de PDMS exposés à diverses doses de plasma O_2 . Deux

inconnues – le module élastique du PDMS-oxydé et les épaisseurs des couches d'oxyde selon la dose de plasma – ne permettent pas l'interprétation par le modèle CHIMER. Une étude bibliographique nous a permis d'estimer le module élastique de l'oxyde de PDMS comme étant d'environ 1.5 GPa. Les épaisseurs de la couche d'oxyde en fonction de la dose de plasma a pu ainsi être calculé grâce à CHIMER. Ces épaisseurs sont comparables à celles déterminées dans la littérature par des méthodes comme la microscopie électronique en transmission, qui s'avère toutefois peu précise. La détermination de l'épaisseur de la couche supérieure par l'interprétation de l'élasticité équivalente des bicouches s'avère donc être une méthode prometteuse, non destructive et relativement précise par rapport à l'imagerie optique ou électronique.

L'étude de couche mince reposant sur des substrats de PDMS nous a permis d'appréhender le comportement élastique d'échantillons composites. En particulier, la souplesse du substrat par rapport à la rigidité de la couche supérieure rend caduque les modèles de contact classique et un traitement particulier doit être fait pour pouvoir donner du sens aux courbes de force obtenues sur de tels échantillons. La méthode consistant à interpréter les modules calculés par le modèle de Hertz linéarisé via CHIMER est en excellent accord avec les données expérimentales mais pose aussi la question des manquements de CHIMER, notamment en ce qui concerne l'adhésion. Un modèle plus complet, prenant en compte l'adhésion et donnant du sens à l'ajustement du point de contact par le modèle de Hertz linéarisé, constitue une solide perspective pour la compréhension de l'élasticité des systèmes composites.

Chapitre IV

Propriétés mécaniques du PLGA

Sommaire

IV.1 L'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA)	82
IV.2 Préparation des échantillons de PLGA	84
IV.3 Nanoindentation AFM de films de PLGA	87
IV.3.1 Élasticité du PLGA	87
IV.3.2 Peak Force et élasticité à haute fréquence	90
IV.4 Visco-élasticité du PLGA à l'échelle nanométrique	91
IV.4.1 Relaxation du PLGA	91
IV.4.2 Mesure du fluage par AFM	96
IV.5 Microindentation des palets de PLGA	97
IV.5.1 Indentation et fluage	97
IV.5.2 Dureté et tenacité	100
IV.6 Conclusion sur les propriétés mécaniques du PLGA	102

Préalablement à l'étude des capsules polymères, le PLGA (acide poly(lactic-co-glycolic)) a fait l'objet d'une analyse mécanique approfondie. En effet, ce polymère forme la partie rigide et élastique des capsules étudiées au chapitre suivant, le cœur étant constitué d'un liquide fluoré incompressible. Ce chapitre traite donc de la visco-élasticité du PLGA homogène aux échelles nano et micrométriques. La première partie traitera de la préparation des échantillons de PLGA qui diffère selon l'échelle étudiée. La seconde partie présentera les résultats des mesures de nanoindentation AFM. Au-delà de la mesure du module élastique du PLGA, l'AFM permet d'appréhender sa viscosité et sa relaxation. Nous verrons ainsi que la relaxation du PLGA est en parfait accord avec une description analytique des films visqueux soumis à la capillarité. Enfin, la dernière partie de ce chapitre présentera les résultats issus des expériences de microindentation. Cette technique permet de s'affranchir de certains effets de l'AFM liés à l'échelle nanométrique (*pile-up*, cisaillement...) et facilite la mesure du fluage et son ajustement par les modèles visco-élastiques. Elle permet aussi d'avoir accès à des paramètres de résistance des matériaux tels que la dureté et la ténacité.

IV.1 L'acide poly(lactique-co-glycolique) (PLGA)

L'acide poly(lactide-co-glycolide) (PLGA, figure V.2(a)) est un copolymère biocompatible et biodégradable [84, 85] certifié par la FDA (*Food and Drug Administration*). La synthèse des copolymères d'acide lactique et glycolique s'effectue par l'ouverture de cycles lactides et glycolides (figure IV.1), généralement catalysé par un alcanolate d'étain.

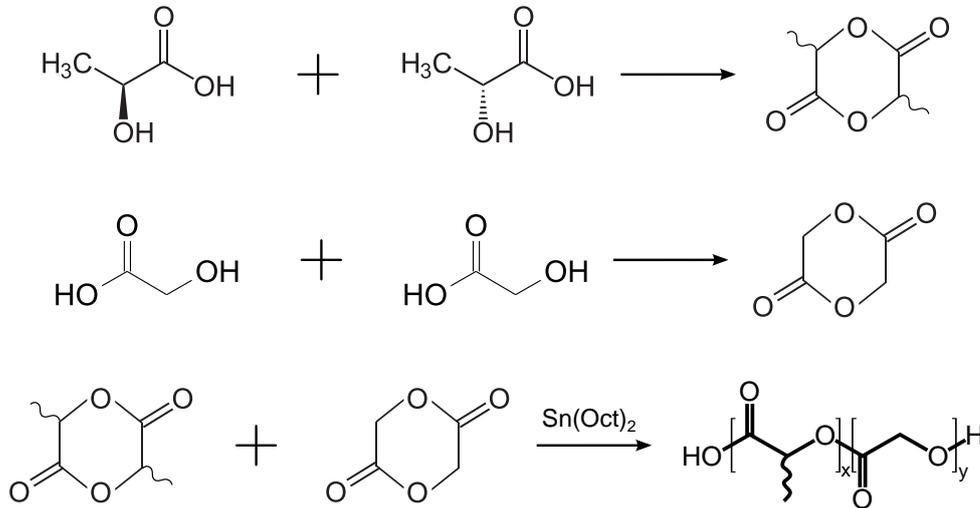


FIGURE IV.1 – Synthèse de l'acide poly(D,L-lactique-co-glycolique).

La composition du copolymère est généralement précisée par le rapport molaire de monomères entrant dans sa composition. Dans notre cas, le copolymère utilisé est un copolymère statistique équimolaire (poly(D,L-lactide-co-glycolide), RESOMER[®] PLGA 50 :50, masse molaire : 7000-17 000, terminaison ester). Du fait de la distribution aléatoire des énantiomères D et L de l'acide lactique, ce copolymère est vitreux à température ambiante et forme donc un enchevêtrement de chaînes désordonnées [86]. Les propriétés mécaniques des polymères sont notamment liées à leur degré de cristallinité et à leur masse moléculaire. Le même polymère a donc été utilisé pour la synthèse des capsules et pour la préparation des échantillons ayant servis à l'étude de l'élasticité du PLGA.

La température de transition vitreuse du PLGA (T_g) est la température à laquelle le polymère passe de l'état vitreux solide à un état caoutchouteux, c'est-à-dire que sa viscosité diminue fortement et les molécules acquièrent une plus grande mobilité relative. Il s'agit d'un paramètre important dans notre cas puisque la T_g va induire un changement important des propriétés visco-élastiques et donc de la tenue mécanique du polymère. Il est donc nécessaire que cette température soit supérieure à la température physiologique. La température de transition vitreuse dépend de nombreux facteurs comme la vitesse de chauffage / refroidissement. Ainsi, plus cette vitesse est importante, plus la T_g est importante et inversement. Classiquement, la T_g est mesurée par DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) qui permet la mesure des échanges de chaleur entre un échantillon et une référence. La figure IV.2 présente un thermogramme d'un échantillon de PLGA. Trois cycles de chauffage / refroidissement permettent de tester la reproductibilité de l'analyse thermique. La température de transition vitreuse est ainsi mesurée à $42.2 \pm 0.5^\circ \text{C}$ (point d'inflexion), ce qui est cohérent avec les valeurs de la littérature ($T_g = 42.6 \pm 0.5^\circ \text{C}$ [87]).

Dans la suite de ce manuscrit, nous nous intéresserons principalement au comportement mécanique du PLGA à l'état vitreux. En effet, ces analyses de la visco-élasticité constituent une étape préliminaire à l'étude des capsules thérapeutiques de PLGA. L'objectif de ces capsules étant une utilisation *in vivo*, il semble évident que le comportement mécanique du PLGA au-delà de 40 °C est hors du champ de cette étude.

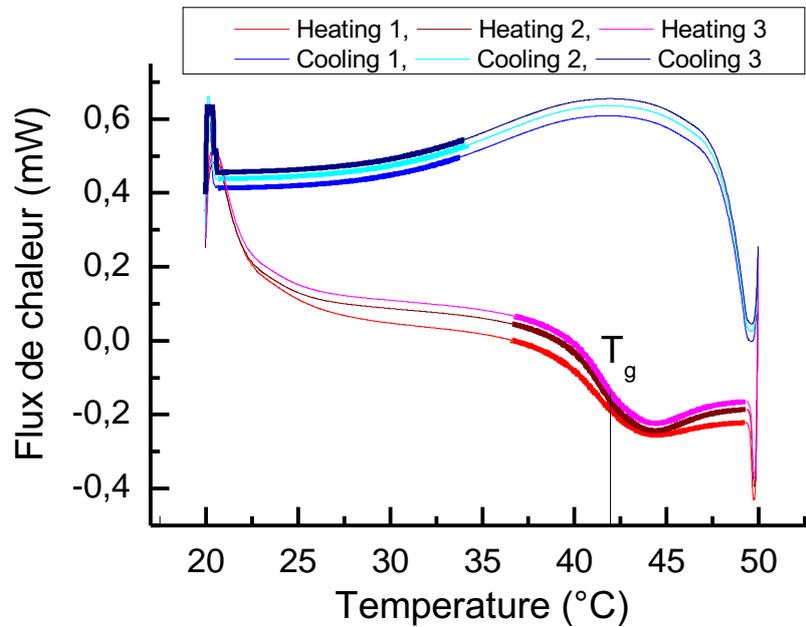


FIGURE IV.2 – Thermogramme du PLGA ($5^{\circ} \text{C} / \text{min}$). La température de transition vitreuse est mesurée à $42.2 \pm 0.5^{\circ} \text{C}$ (point d'inflexion de la transition vitreuse).

IV.2 Préparation des échantillons de PLGA

Dans le cadre de l'étude mécanique du PLGA, trois paramètres ont été étudiés – l'élasticité, la viscosité et la plasticité – en employant deux méthodes principales, la nanoindentation AFM et la microindentation. Ces techniques correspondent à deux échelles distinctes, nanométriques et micrométriques, qui nécessitent la préparation de deux types d'échantillons. Dans le cas de la nanoindentation AFM, des films de PLGA ont été élaborés par la méthode du *spin-coating* (dépôt centrifuge, figure IV.3). Leur épaisseur varie de 10 à 1000 nm pour une rugosité très faible ($< 1 \text{ nm} / 1 \mu\text{m}^2$). Ces films sont adaptés à la mesure de nanoindentation AFM qui déforme la surface sur quelques nanomètres. En revanche, ils sont inutilisables dans le cas de déformations micrométriques. La microindentation nécessite donc des échantillons plus épais. Une pastilleuse a donc été employée pour fabriquer des palets de PLGA de quelques centaines de microns d'épaisseurs. Ces échantillons sont en revanche inexploitable en nanoindentation AFM car leur rugosité est de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres.

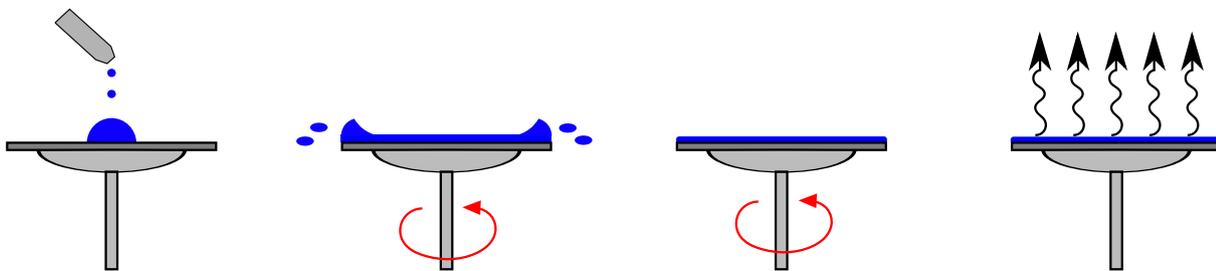


FIGURE IV.3 – Schéma des différentes étapes du *spin-coating* : après dépôt de la solution sur le substrat, la rotation permet la formation d'une couche mince par effet centrifuge tout en éliminant le solvant.

Les films fins sont préparés en déposant par *spin-coating* des gouttes de PLGA solubilisé dans le dichlorométhane à différentes concentrations. Le dichlorométhane étant un solvant particulièrement volatile, il est plus efficace de faire varier la concentration plutôt que la vitesse de rotation pour obtenir une large gamme d'épaisseur. Dès l'étape de déposition des gouttes sur le wafer de silicium, l'évaporation du solvant induit la formation d'un film de polymère. La rotation permet alors de lisser ce dernier tout en éliminant le solvant restant. Ainsi, à concentration égale et en faisant varier la vitesse ou l'accélération de rotation, l'épaisseur du film varie peu. À 8 g.L^{-1} , l'épaisseur de PLGA est ainsi de $130 \pm 11 \text{ nm}$ pour des vitesses de rotation de 500 à 4000 RPM. La figure IV.4 présente les épaisseurs de PLGA obtenues par *spin-coating* avec différentes concentrations (500 RPM , 2000 RPM/s^{-1}). Les épaisseurs sont mesurées par AFM en imageant une marche effectuée en rayant la surface de polymère avec une lame de rasoir (figure IV.7(a)).

La rugosité joue un rôle important dans la mécanique du contact [88]. En effet, elle détermine en partie l'aire de contact, ce qui peut modifier considérablement les effets d'adhésion et la mesure de l'élasticité à faible indentation. La figure IV.5 montre la rugosité typique de la surface d'un film de PLGA obtenu par *spin-coating*. Cette rugosité est de l'ordre du nanomètre sur une surface micrométrique, ce qui est suffisamment faible pour pouvoir effectuer des mesures

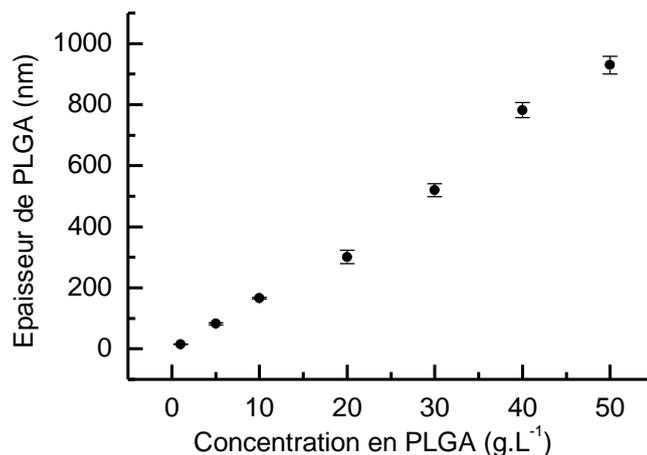


FIGURE IV.4 – Épaisseur du film de PLGA obtenu par spin-coating en fonction de la concentration de PLGA dans la solution déposée. La vitesse et l'accélération de rotation reste inchangée : 500 RPM, 2000 RPM/s⁻¹.

d'indentation AFM.

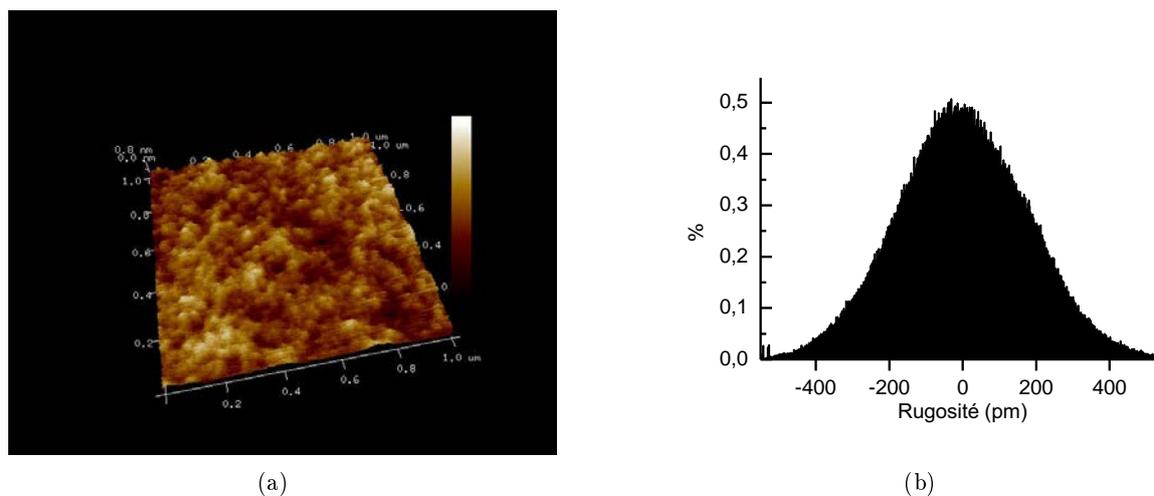


FIGURE IV.5 – (a) Image topographique AFM de la surface d'un film de PLGA obtenu par spin-coating (1 μm²). (b) Histogramme de la rugosité du film de PLGA (statistique sur 1 μm²). La rugosité de la surface est inférieure à 1 nm. B. Sarrazin, CEA LIONS.

Les échantillons épais de PLGA sont préparés à l'aide d'une pastilleuse. Le PLGA sous forme de poudre est directement placé dans un culot de 13 mm de diamètre sur lequel est appliquée une pression de 10 tonnes. La poudre se compacte jusqu'à former un palet homogène de quelques centaines de micromètres d'épaisseur (64 mg⁻¹ de polymère pour environ 400 μm d'épaisseur). Des inclusions d'air peuvent subsister au sein du palet de PLGA. Ces inclusions sont visibles sous la forme de traces blanches (figure IV.7(b)). Afin de les éliminer et de rendre l'échantillon plus homogène, les palets de PLGA sont chauffés au-dessus de la température de transition vitreuse, typiquement à 45 °C pendant 10 minutes. Ce recuit permet aussi d'améliorer la rugosité de la

surface du palet de PLGA, mais elle reste supérieure à celle des films formés par *spin-coating* (figure IV.6).

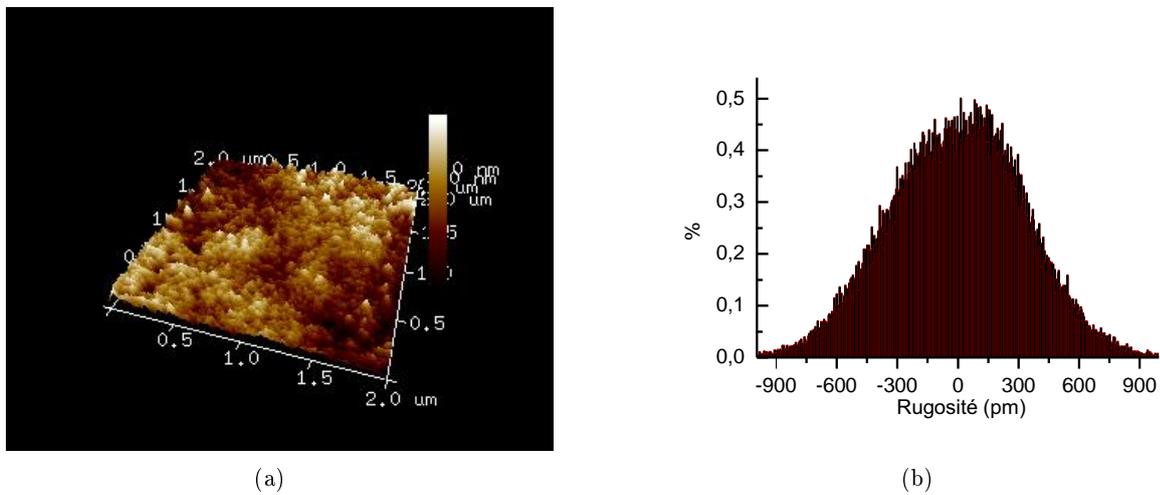


FIGURE IV.6 – (a) Image topographique AFM de la surface d'un palet de PLGA. (b) Histogramme de la rugosité du palet de PLGA (statistique sur $1 \mu\text{m}^2$). La rugosité de la surface est plus importante que celle du film obtenue par *spin-coating* ($\approx 2\text{nm}$). B. Sarrazin, CEA LIONS.

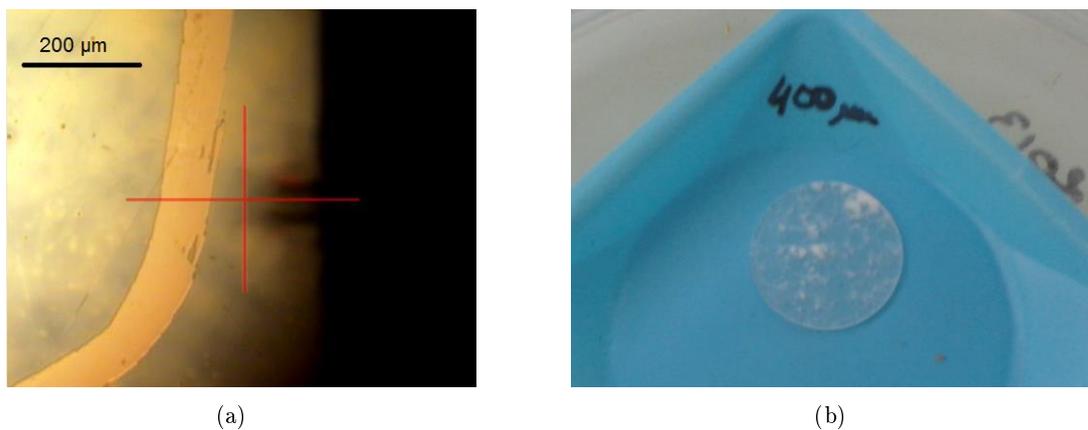


FIGURE IV.7 – (a) Image de microscopie optique (couplée à l'AFM) d'un film de PLGA. Une rayure sur le film permet la mesure de son épaisseur par topographie AFM. (b) Un palet de PLGA ($400 \mu\text{m}$ d'épaisseur) sortant de la pastilleuse après avoir imposé une pression de 10 T à $50 \mu\text{g}$ de poudre de PLGA. Des inclusions de poudre (zones blanches opaques) sont encore visibles et peuvent être éliminées en partie en chauffant le polymère à 45°C pendant 10 min. B. Sarrazin, CEA LIONS.

IV.3 Nanoindentation AFM de films de PLGA

IV.3.1 Élasticité du PLGA

Les films de PLGA obtenus par *spin-coating* sont indentés par AFM en appliquant des forces maximales variables (0.5 à $2 \mu\text{N}$) à des fréquences de 0.5 à 2 Hz. La figure (IV.9) présente des courbes de force typiques ($F_{\text{max}} = 1 \mu\text{N}$ et $2 \mu\text{N}$). La méthode du "*Point and Shoot*" permet une très grande précision dans le choix de la zone à indenter (figure IV.8). Il est ainsi possible d'effectuer un nombre important de courbes de force espacées de manière régulière et cette possibilité offerte par la microscopie à force atomique s'avèrera d'autant plus intéressante dans le cas de l'indentation de nano et micro objets individuels.

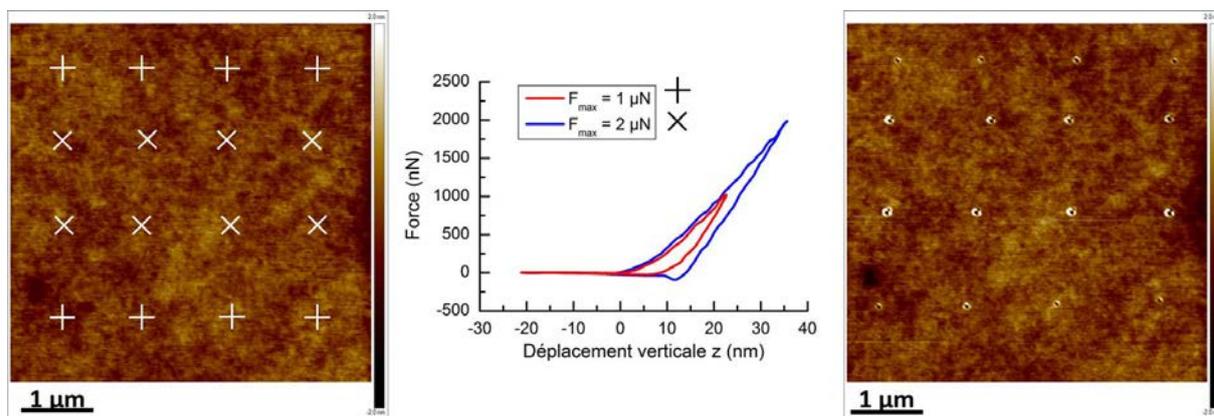


FIGURE IV.8 – Nanoindentation d'un film de PLGA par la méthode du "*Point and Shoot*". À gauche, image topographique AFM d'un film mince de PLGA vierge. Le pointage des indentations est effectuée en choisissant une force maximale ($\times = 2 \mu\text{N}$ et $+$ = $1 \mu\text{N}$). À droite, image topographique AFM du film après indentation. Les indentations à $2 \mu\text{N}$ présentent clairement une déformation résiduelle plus importante que celle à $1 \mu\text{N}$. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

Le module d'Young du PLGA est calculé grâce au modèle de Hertz. Dans les cas des polymère vitreux, l'adhésion est très faible, même sans contrôle du taux d'humidité, et l'emploi d'un modèle élastico-adhésif n'est pas nécessaire. La figure IV.9 présente l'ajustement par le modèle de Hertz d'une courbe de force typique sur un film fin de PLGA d'environ 500 nm d'épaisseur. La procédure d'ajustement est décrite dans la partie II.1.2 de ce manuscrit. Le modèle de Hertz donne ainsi un module d'Young du PLGA de 3.0 ± 0.2 GPa. Au-delà de 10 nm d'indentation (pour une force de 750 nN avec un rayon de pointe d'environ 50 nm), la déformation plastique devient non-négligeable et le modèle de Hertz n'ajuste plus la courbe expérimentale (figure IV.9(b)).

Cet effet visco-plastique est illustré par les déformations résiduelles observées après indentation (figure IV.10). L'accumulation de matière à la périphérie de l'indenteur (*sink-in* ou *pile-up effect* [61]) devient trop importante et augmente l'aire de contact prévue par le modèle de Hertz. De plus, la compression du polymère peut induire une densification du matériau et augmenter son module élastique. Il est clair qu'une mesure quantitative n'est pas garantie malgré un soin particulier de la calibration et des méthodes d'ajustement. Néanmoins, l'imagerie des déformations résiduelles offre la possibilité d'évaluer la plasticité des échantillons après indentation. Il

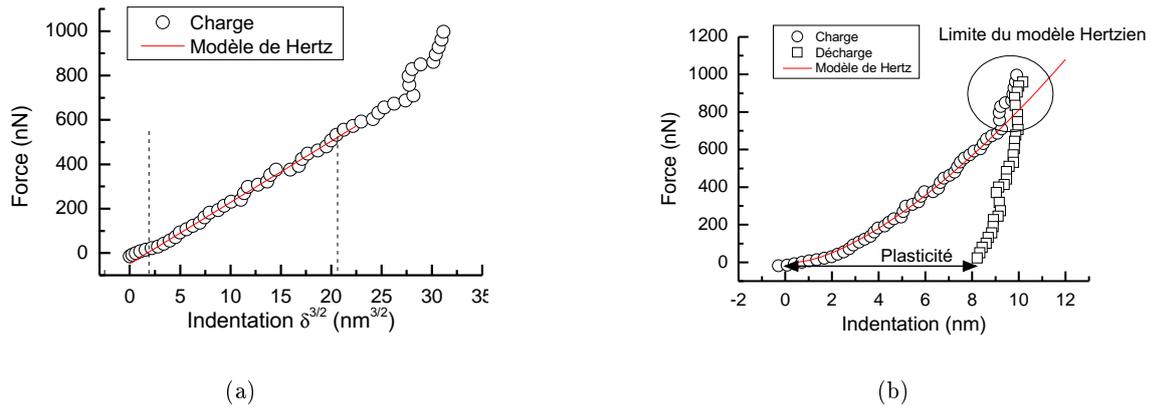


FIGURE IV.9 – Courbe de force obtenue par nanoindentation d’un film de PLGA (rayon de pointe $R = 55 \text{ nm}$, $k = 100 \text{ N.m}^{-1}$). (a) Le modèle de Hertz ajuste correctement la courbe expérimentale dans une gamme d’indentation de 2 à 8 nm. (b) L’hystérésis des courbes d’approche et de rétraction est la preuve d’une déformation résiduelle qui peut être visqueuse ou plastique. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

n’est pas impérativement nécessaire de se cantonner à déformer les échantillons dans un régime purement élastique. En effet, chaque courbe de force n’étant effectuée qu’une seule et unique fois en un point donné, la courbe d’approche passera fatalement par un régime élastique, l’essentiel étant de limiter l’ajustement des modèles de contact à ce régime. Ainsi, la sortie du régime hertzien observée sur la courbe de la figure IV.9 est cohérente avec les déformations plastiques observées sur les images de la figure IV.10. Une indentation avec une force de $1 \mu\text{N}$ avec un pointe de 50 nm de rayon engendre un col circulaire d’environ 4 nm par rapport au niveau de la surface pour une indentation de -10 nm, induisant de fortes erreurs dans l’estimation hertzienne.

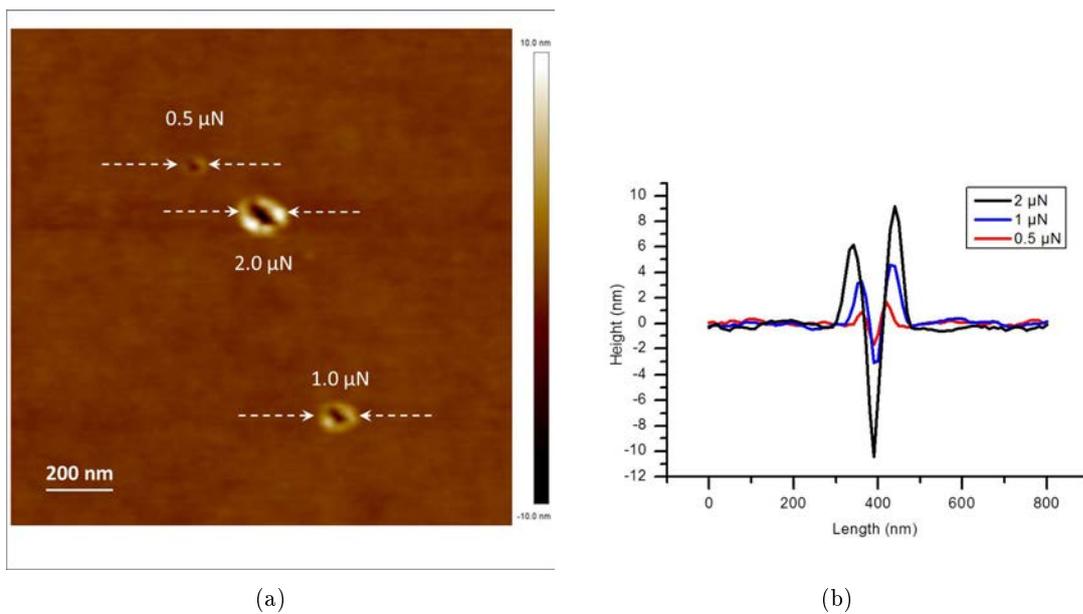


FIGURE IV.10 – Image topographique AFM (a) et coupes transversales (b) de déformations résiduelles d’un film de PLGA après nanoindentations. Le rayon de la pointe est de 55 nm, les déformations résiduelles sont négligeables en deçà de 500 nN. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

Afin de conforter l'élasticité du PLGA obtenue ci-dessus et la comparer à une mesure de référence, un film mince de polystyrène (PS) a été indenté par AFM. L'élasticité du PS a largement été étudiée dans la littérature, notamment par indentation AFM au moyen de sondes colloïdales micrométriques [8] permettant d'éviter les contraintes très importantes (et donc le *pile-up*) générées par le contact avec une pointe AFM fine (10 - 100 nm). La figure IV.11 permet de comparer l'élasticité du PLGA et du PS. Le module d'Young du PS est ici estimé à 2.4 ± 0.1 GPa avec une pointe de 40 nm de rayon (pour une déformation de 10 nm), ce qui est parfaitement cohérent avec la valeur donnée par Lin et Kim [8] et obtenue avec une sonde colloïdale de $18 \mu\text{m}$ de rayon (2.6 GPa pour une déformation de 1.7 nm). Au-delà de conforter la mesure de l'élasticité du PLGA, cela permet de concevoir favorablement l'utilisation de pointe AFM fine (10-100 nm) pour l'imagerie et l'indentation des capsules PLGA/PFOB.

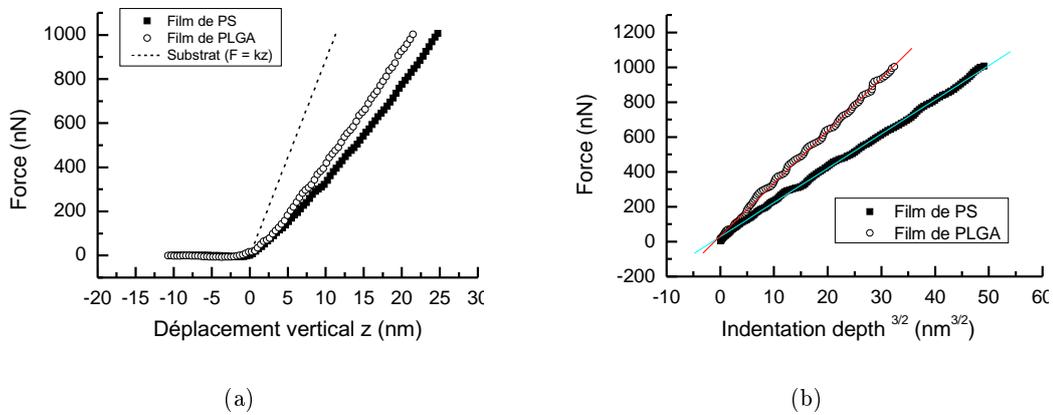


FIGURE IV.11 – (a) Comparaison des courbes de force sur des films de PLGA et de PS ($R = 40 \text{ nm}$, $k = 80 \text{ N.m}^{-1}$). (b) Ajustement par le modèle de Hertz. Qualitativement, le PLGA est clairement plus dur que le PS. La mesure quantitative de l'élasticité du PS ($2.4 \pm 0.1 \text{ GPa}$) étant en accord avec la littérature, la mesure de l'élasticité du PLGA est ainsi confortée. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

IV.3.2 Peak Force et élasticité à haute fréquence

Le mode *Peak Force* permet d'augmenter la fréquence et la densité de mesure des courbes de force. La figure IV.12 montre l'image topographique et la cartographie en module élastique d'un film de PLGA. La fréquence d'acquisition est de 2 kHz. À cette fréquence, le module élastique du PLGA est calculé via un ajustement par le modèle de Hertz comme étant 3.08 ± 0.35 GPa. Cette valeur est très proche de celle de l'élasticité quasi-statique, ce qui tend à montrer que le comportement élastique du PLGA ne varie pas avec la fréquence dans la gamme $[10^0 Hz; 10^3 Hz]$. De plus, les valeurs de l'élasticité du PLGA déterminées à très hautes fréquences par spectroscopie Brillouin (1-10 GHz) [89] sont elles aussi de l'ordre de quelques GPa (4.3 GPa avec $\nu = 0.36$). La spectroscopie acoustique montre que la vitesse du son dans le PLGA ne diffère pas dans la gamme 1-10 GHz ($\approx 2400 m.s^{-1}$ [90, 91]), indiquant une stabilité de l'élasticité à hautes fréquences.

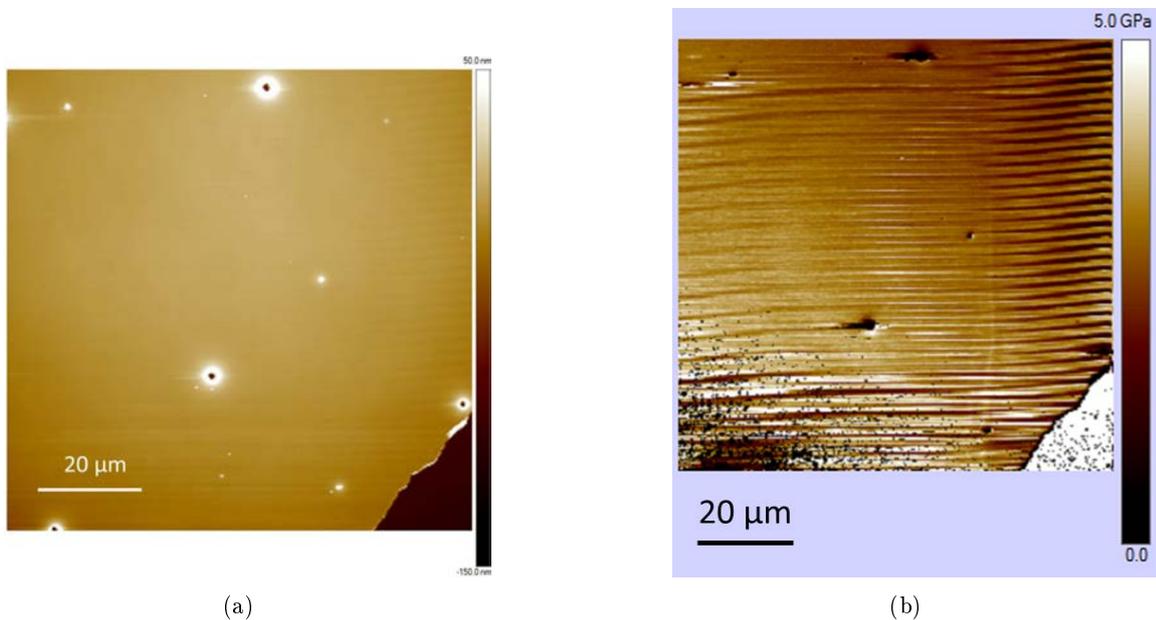


FIGURE IV.12 – (a) Image topographique d'un film de PLGA sur un substrat de silicium en mode *Peak Force QNM* (2kHz). Le substrat est visible dans le coin inférieur droit de l'image. (b) Élasticité du film de PLGA obtenue par ajustement du modèle de Hertz en chaque point de l'image. Les points noirs (faible module élastique) dans la partie inférieure gauche de l'image sont certainement dus à une souillure de la pointe au cours du balayage de la surface (de haut en bas). Le substrat est en revanche bien considéré comme étant infiniment dur. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

IV.4 Visco-élasticité du PLGA à l'échelle nanométrique

IV.4.1 Relaxation du PLGA

Au vu des déformations résiduelles après nanoindentation, la question de la visco-plasticité du PLGA se pose. Bäumchen et al. [92] ont décrit la relaxation d'une tranchée d'un film fin de polymère visqueux guidée par les effets capillaires (figure IV.13). La description de ce problème est basée sur les équations de Stokes (approximation des écoulements hautement visqueux). La condition limite de non-glisement de l'interface liquide-substrat et la condition limite de non-contrainte de l'interface liquide-air conduisent à l'expression de l'écoulement de Poiseuille le long de l'axe z .

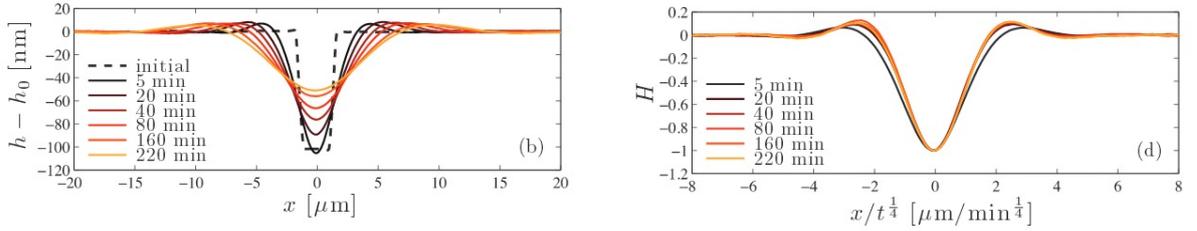


FIGURE IV.13 – Section d'une surface expérimentale de polystyrène en fonction du temps ($5 \leq t \leq 220$ min), recuite à 140°C . La tranchée rectangulaire initiale, de largeur $1.6 \mu\text{m}$ est représentée par une ligne discontinue. L'axe des ordonnées représente (a) la hauteur de la tranchée normalisée par l'épaisseur du film h_0 , (b) $H = [h(x,t) - h_0] / [h_0 - h(0,t)]$. Figure issue de l'article de Bäumchen et al. [92].

En invoquant la conservation du volume, on obtient l'équation de l'écoulement d'un film mince guidé par les effets capillaires (*capillary-driven thin film equation (TFE)*) :

$$\partial_t h + \frac{\gamma}{3\eta} \partial_x (h^3 \partial_x^3 h) = 0, \quad (\text{IV.1})$$

où η est la viscosité du film. Le rapport γ/η est le terme de *vélocité capillaire*. L'équation IV.1 est non-linéaire et n'a pas de solution générale analytique connue. En revanche, Benzaquen et al. [93] ont avancé une linéarisation de l'équation TFE dans le cas particulier où la hauteur de la déformation d_0 est proche de l'épaisseur du film h_0 . Dans ce cas, les solutions convergent vers un attracteur auto-similaire :

$$h(x,t) \xrightarrow{t \rightarrow +\infty} h_0 + 2(d_0 - h_0) \mathcal{G}(U, T), \quad (\text{IV.2})$$

avec $\mathcal{G}(U, T)$ la fonction de Green définie par :

$$\mathcal{G}(U, T) = \frac{1}{2\pi T^{1/4}} \int_{-\infty}^{\infty} d\mathcal{Q} e^{-\mathcal{Q}^4} e^{i\mathcal{Q}U} \quad (\text{IV.3})$$

avec U et T les variables sans dimensions définies comme :

$$\begin{aligned} U &= \frac{x}{t^{1/4}} \left(\frac{3\eta}{\gamma h_0^3} \right)^{1/4}, \\ T &= \frac{\gamma h_0^3 t}{3\eta l^4} \end{aligned} \quad (\text{IV.4})$$

avec l la largeur de la tranchée initiale. Ainsi, cette linéarisation de l'équation TFE prédit une auto-similarité en $x/t^{1/4}$ des profils de relaxation. La figure IV.13 présente le profil de surface de la relaxation d'une tranchée de $1.6 \mu\text{m}$ dans un film de polymère visqueux. Ces données expérimentales sont en excellent accord avec la théorie.

J'ai effectué un travail similaire en indentant par AFM un film de PLGA de 50 nm d'épaisseur avec un pointe de 150 nm de rayon et une force importante ($F_{max} = 10 \mu\text{N}$) à température ambiante. Cela induit une déformation résiduelle d'environ 50 nm de profondeur et un col circulaire de 20 à 30 nm de hauteur (col circulaire). Une pointe fine ($R = 2 \text{ nm}$) a été employée pour imager topographiquement les déformations résiduelles au cours du temps. Cette analyse a d'abord été effectuée au-delà de la température de transition vitreuse du PLGA (45°C). L'échantillon est chauffé pendant un temps donné puis repassé à température ambiante, ce qui fige la déformation (figure IV.15). À cette température, l'écoulement de la surface est visible au cours du temps et la déformation est résorbée en environ une heure. Une légère dissymétrie de la déformation est à noter, malgré une compensation de l'effet de *plowing* (labour = glissement de la pointe vers l'avant à grande indentation en raison de l'angle naturel du levier avec la surface au moment du contact). Cette compensation, de l'ordre de 12° , permet un recul du scanner dans l'axe x pour compenser le glissement de la pointe. La dissymétrie de la déformation finale est plutôt à imputer à la dissymétrie naturelle de la pointe AFM, qui est ici une pointe en diamant relativement grossière (voire image I.9 de microscopie électronique au chapitre I). Le profil des indentations est mesuré au cours du temps avec une pointe fine (figure IV.14).

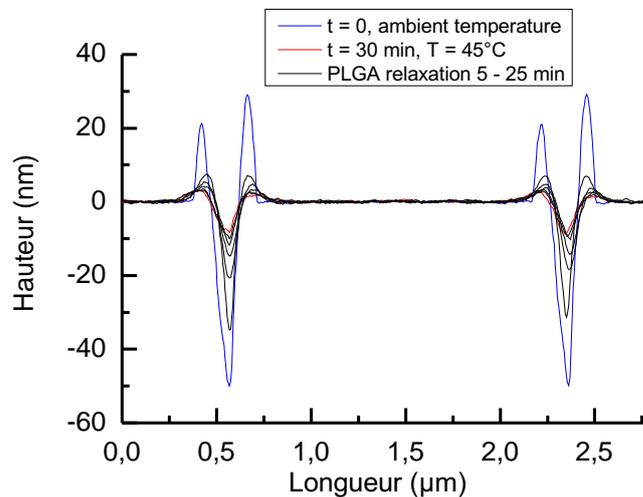


FIGURE IV.14 – Profils de deux déformations d'un film de PLGA relaxé à 45°C pendant 30 min . Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

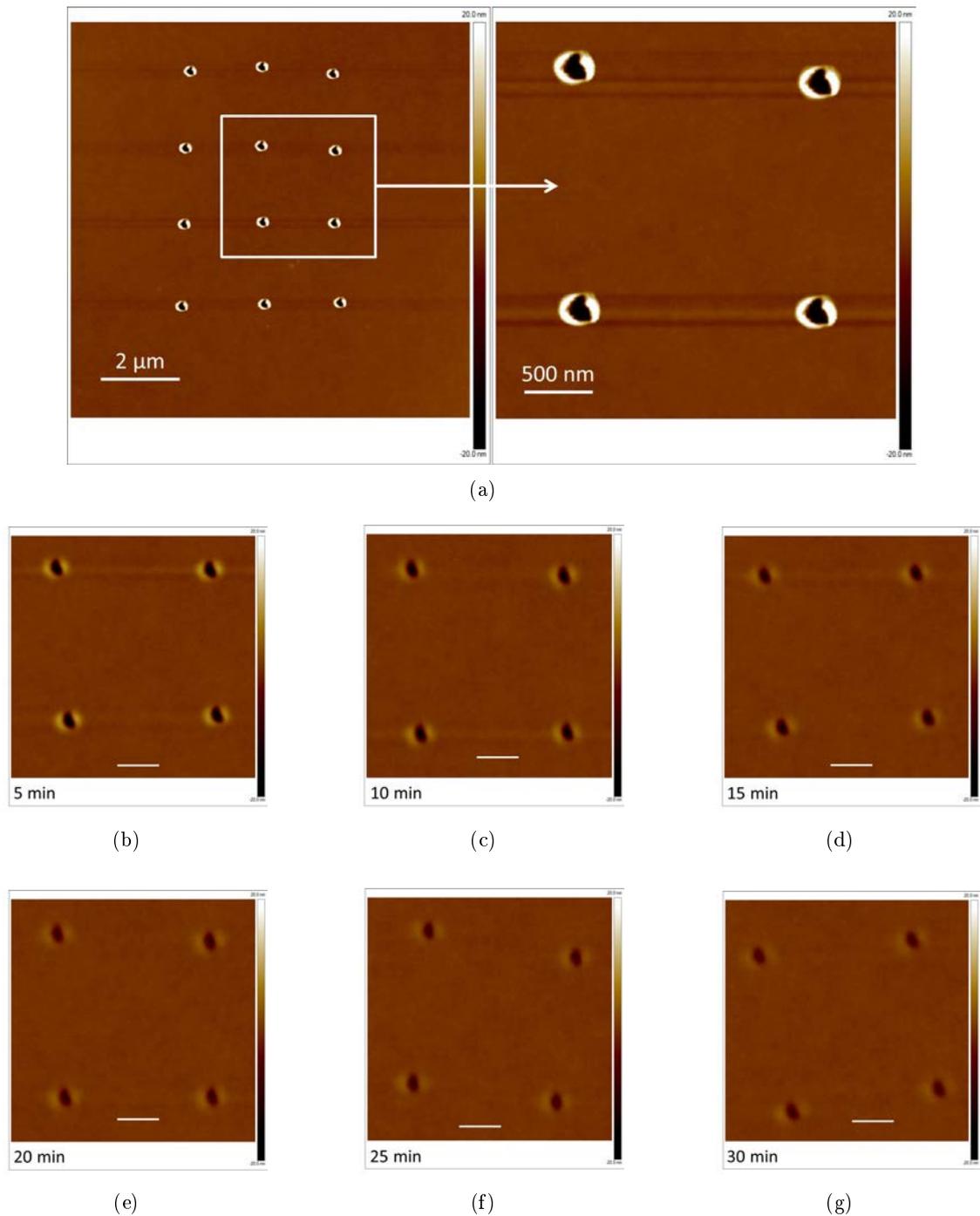


FIGURE IV.15 – Relaxation d'un film de PLGA à 45°C pendant 30 min. Chaque image est effectuée à température ambiante et la déformation est ainsi figée. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

La figure IV.16 montre que l'auto-similarité en $x/t^{1/4}$ décrite précédemment est parfaitement en accord avec la relaxation des nanoindentation du film de PLGA. La normalisation de l'axe des ordonnées est $H_n = h(x,t)/h(0,t)$. La géométrie de la déformation n'étant pas idéale vis à vis de la théorie de Baümchen et al. [92], il est difficile d'ajuster la fonction de Green sur les données expérimentales pour en extraire le rapport γ/η . Néanmoins, l'accord obtenu entre les données expérimentales et le comportement de scaling de la TFE (*capillary-driven thin film equation*) indique un comportement très semblable du PLGA avec le polystyrène décrit par Baümchen et al. [92].

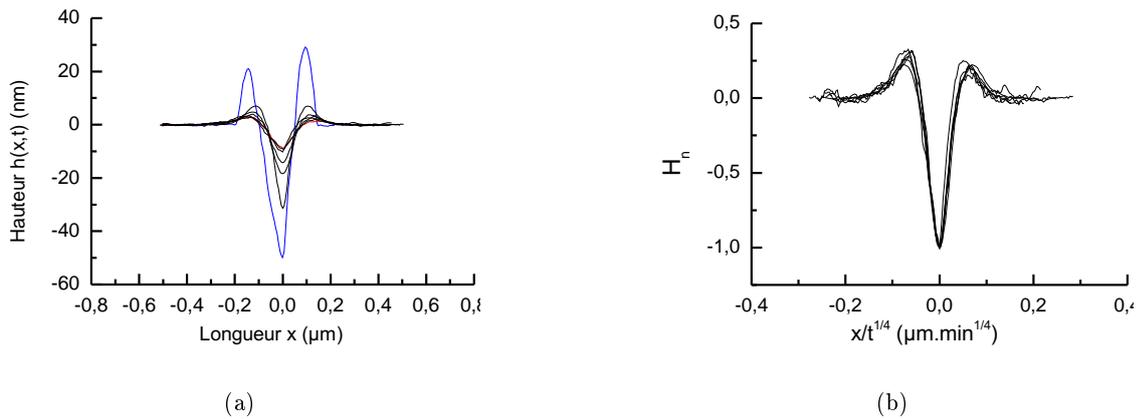


FIGURE IV.16 – (a) Profils de l'indentation d'un film de PLGA recuit à 45°C à des temps variés ($0 \leq t \leq 30\text{min}$). La courbe bleue représente $t = 0$, la rouge $t = 30\text{ min}$. (b) La normalisation du profil de la déformation est en excellent accord avec la théorie [92]. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

La même expérience a été effectuée à 37.5°C , c'est-à-dire en deçà de la température de transition vitreuse du PLGA. La figure IV.17 montre la relaxation de déformation d'un film de PLGA de 50 nm d'épaisseur à 37.5°C . Les variations de la profondeur d'indentation ne sont pas très nettes. En revanche, la diminution de la hauteur des cols dus à l'accumulation de la matière est flagrante, avec des temps caractéristiques de relaxation relativement courts, de l'ordre de la dizaine de minute.

Ces résultats tendent à prouver que le PLGA s'écoule naturellement en dessous de la T_g . Ce phénomène a notamment été décrit par Qi, Fakhraai et Forrest [94, 95] qui rapportent une relaxation visqueuse du polystyrène très peu dépendante de la température en deçà de la T_g . Cela est notamment imputé à une mobilité moléculaire accrue à la surface. Appliqué aux polymères en milieu biologique à l'échelle nanométrique, ce phénomène de relaxation sous la température de transition vitreuse est potentiellement à prendre en compte dans leur évolution au cours du temps. Concernant les capsules PLGA/PFOB, ce phénomène, limité à quelques nanomètres, n'est pas critique. L'écoulement du polymère en-deçà de la T_g est aussi en accord avec le scaling de la TFE et présente la même auto-similarité en $x/t^{1/4}$. Cependant, dans ce cas, seul le col circulaire dû au *pile-up* suit cette tendance, la déformation de l'indentation proprement dite n'évoluant que très peu dans des temps de l'ordre de quelques dizaines de minutes à une

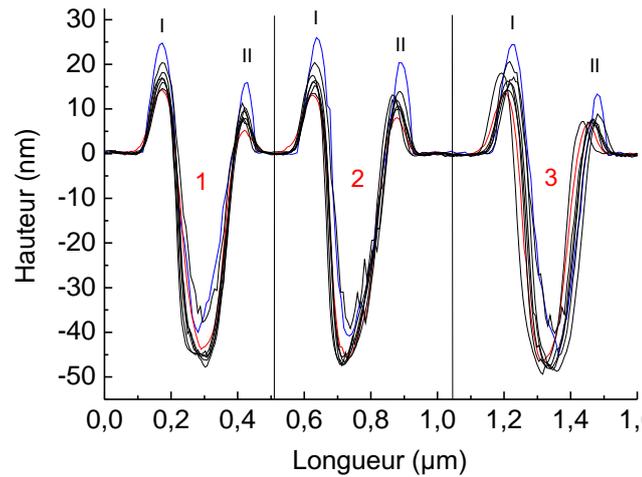


FIGURE IV.17 – Profils de trois déformations d'un film de PLGA relaxé à 37.5°C pendant 35 min. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

heure. La compression du polymère dans l'aire d'indentation est probablement à l'origine de cette différence de comportement, à moins que cette variabilité des temps caractéristiques ne soient dus à des contraintes géométriquement différentes, et donc à des conditions limites dissemblables.

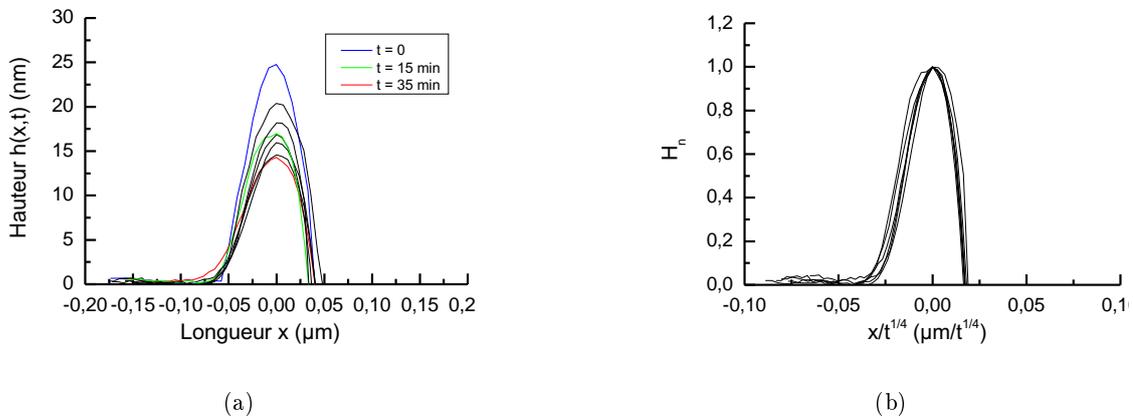


FIGURE IV.18 – (a) Profils d'une déformation d'un film de PLGA (moitié d'un col circulaire de pile-up) recuit à 37.5°C à des temps variés ($0 \leq t \leq 35\text{min}$). (b) La normalisation du profil de la déformation est en excellent accord avec la théorie [92], et ce même en deçà de la T_g du polymère. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

IV.4.2 Mesure du fluage par AFM

La mesure du fluage constitue une méthode plus directe de l'appréciation de l'écoulement d'un polymère. Sous l'action d'une force constante, la plupart des matériaux continuent à s'écouler à des vitesses plus ou moins importantes selon leur visco-élasticité. La microscopie à force atomique permet d'effectuer une pseudo-mesure de fluage en maintenant la hauteur z du scanner constante après application d'une force donnée. La figure IV.19 présente une nanoindentation avec une force maximale de 200 nN. Après application de la force, la position du scanner est maintenue constante (cf. insert de la figure IV.19(a)). En fluant autour de la sonde, le polymère induit une pénétration passive (i.e. sans augmentation de la force appliquée) de la pointe dans le film de PLGA. La déflexion du levier diminue donc avec le temps et il est alors possible de mesurer la pénétration de la pointe due à l'écoulement du polymère (figure IV.19(b)). Il ne s'agit pas à proprement parler d'une mesure de fluage étant donné que la force n'est pas maintenue constante mais diminue avec la déflexion du levier lorsque la position z du scanner est figée. En revanche, cette pseudo-mesure de fluage permet d'affirmer que le PLGA s'écoule à l'échelle nanométrique dans des temps relativement courts. Le graphique de la figure IV.19(b) est une première approche visco-élastique du PLGA. La viscosité, de l'ordre de 10^{12} Pa.s (cohérente avec un polymère vitreux comme le polystyrène [96]) et l'élasticité précédemment mesurée donnent une bonne approximation de la visco-élasticité du PLGA à l'échelle nanométrique par le modèle de Kelvin-Voigt.

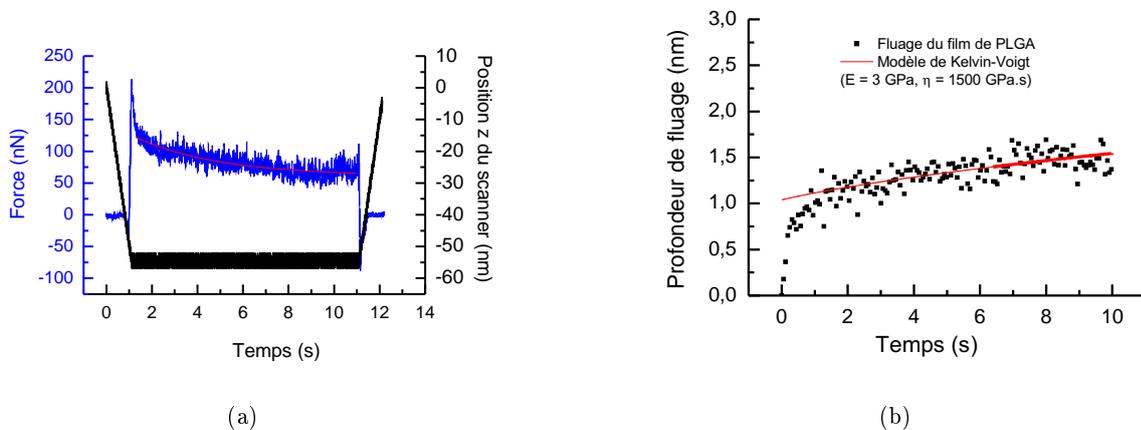


FIGURE IV.19 – (a) Mesure de fluage du PLGA par microscopie à force atomique. Après application d'une force de 200 nN, la position z du scanner est maintenue constante et la déflexion du levier diminue en raison de l'écoulement du PLGA, induisant une pénétration passive de la pointe dans le film de polymère (b). Le modèle de Kelvin-Voigt n'est pas un ajustement de la courbe expérimentale mais permet d'estimer le comportement visco-élastique du polymère. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

Néanmoins, une mesure plus précise du fluage du PLGA s'impose et le passage à l'échelle micrométrique facilite cette mesure (en éliminant les problèmes de *pile-up* et la calibration des leviers). De plus, la comparaison de la visco-élasticité du PLGA aux échelles nano et micrométrique n'est pas évidente, comme nous le verrons par la suite.

IV.5 Microindentation des palets de PLGA

IV.5.1 Indentation et fluage

La microindentation permet à la fois une mesure de l'élasticité en prenant en compte la plasticité (modèle de Oliver et Pharr II.1.3) mais aussi une mesure du fluage et donc une estimation de la visco-élasticité à basse fréquence (modèles visco-élastiques II.1.4). L'élasticité quasi-statique ($f \approx 1\text{Hz}$) peut aussi être mesurée via le modèle de Hertz (indenteur Rockwell) ou le modèle de Sneddon adapté à une pyramide à base carrée (indenteur Vickers). La figure IV.20 présente une courbe de fluage typique sur un palet de PLGA. Typiquement, la force appliquée est de l'ordre de 100 mN. Le rayon de la sonde Rockwell étant de $200\ \mu\text{m}$, il est possible de mesurer des indentations de $5\ \mu\text{m}$ sans sortir des conditions du contact hertzien. Cependant, au-delà de 200 mN, la plasticité devient importante et la déformation résiduelle est supérieure à 80% de l'indentation effectuée.

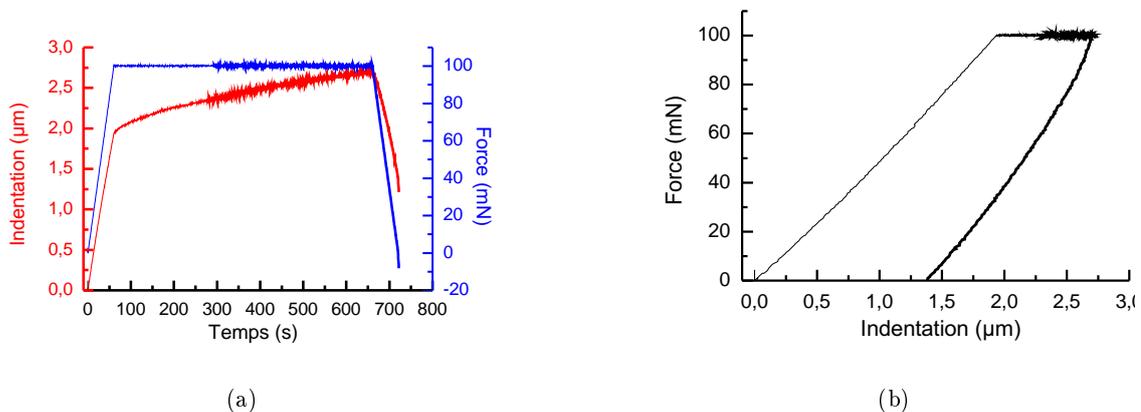


FIGURE IV.20 – Courbe de microindentation sur un palet de PLGA. La vitesse de charge/décharge est de $100\ \text{mN}\cdot\text{min}^{-1}$ et la force est maintenue constante à 100 mN pendant 10 min pour mesurer le fluage du polymère.

Les courbes de force de microindentation sont ajustées successivement par la méthode de Oliver et Pharr et par le modèle de Hertz et donne des valeurs de l'élasticité du PLGA de $2.1 \pm 0.4\ \text{GPa}$ et $2.2 \pm 0.5\ \text{GPa}$ respectivement. Ces valeurs de l'élasticité du PLGA ne sont pas en parfait accord avec celle obtenue par nanoindentation AFM. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cela. Premièrement, la pression exercée en microindentation est moins importante qu'en nanoindentation. L'analyse dimensionnelle indique que la pression exercée en nanoindentation AFM est de l'ordre du GPa alors que celle exercée en microindentation est dix fois moins élevée. Les contraintes de cisaillement de la nanoindentation AFM ne sont pas à négliger et sont traduites notamment par les déformations résiduelles. De plus, la fréquence d'acquisition des courbes de force est sensiblement différente, de l'ordre du Hz en AFM et 0.1 Hz en microindentation. En outre, comme indiqué précédemment, les palets de PLGA préparés sous presse à l'aide d'une pastilleuse peuvent contenir des inclusions de poudre, et donc de gaz, qui tendent à diminuer la rigidité de l'échantillon. Enfin, la technique du spin-coating et le confinement d'un film de polymère sur un substrat peut être à l'origine des valeurs plus importantes de l'élasticité du polymère obtenues

par AFM. O’Connell et McKenna [97] rapportent ainsi que la réponse thermoviscoélastique d’un film ultrafin de polymère, et notamment sa température de transition vitreuse, peut varier en fonction de l’épaisseur du film. Cet effet est possiblement lié à un changement de conformation des chaînes du polymère ou encore à cause d’une densification du matériau imposé par l’épaisseur faible des films [97].

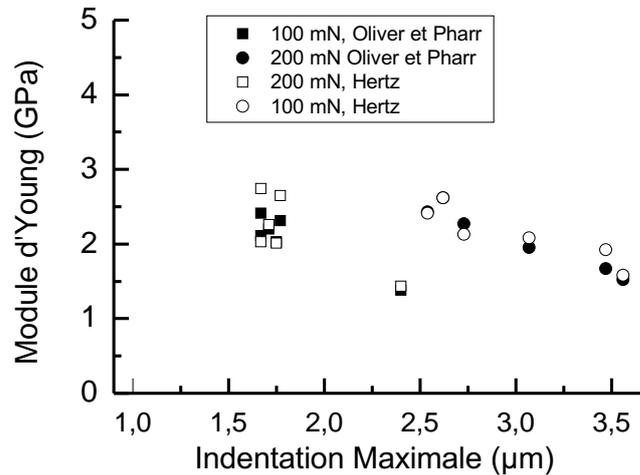
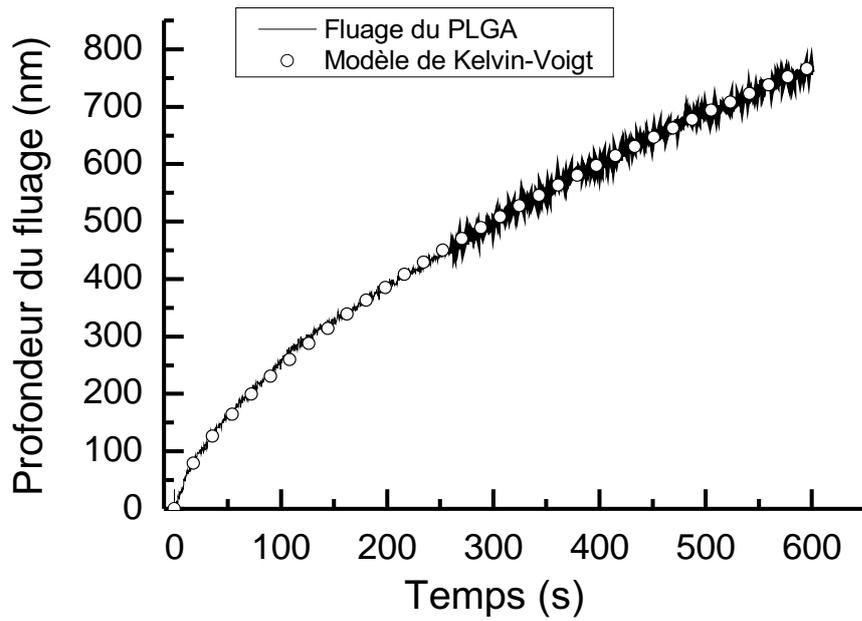
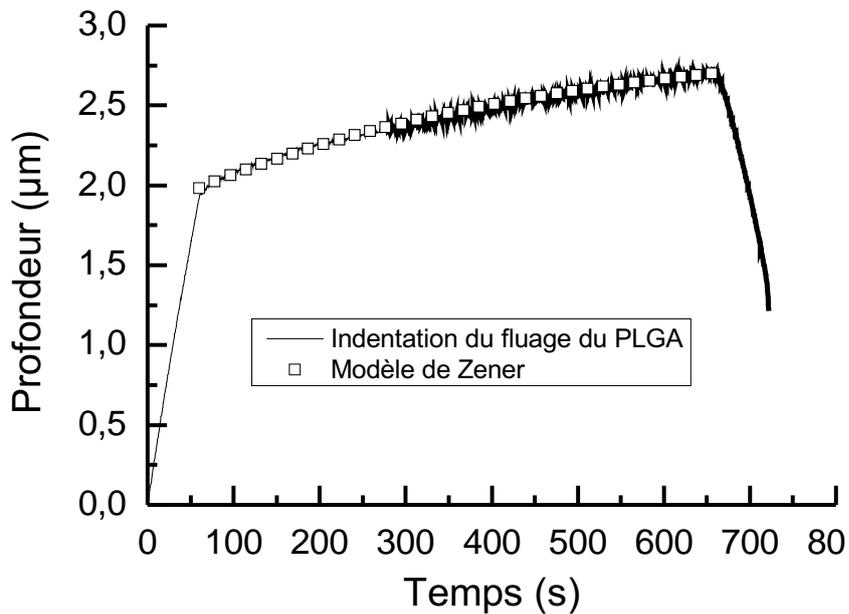


FIGURE IV.21 – Module élastique (Young) du PLGA en fonction de la force appliquée et du modèle utilisé.

Le fluage du PLGA est étudié en utilisant les modèles visco-élastiques de Kelvin-Voigt et de Zener. Les deux modèles ajustent parfaitement les courbes expérimentales (figure IV.22). L’ajustement du modèle de Kelvin-Voigt (figure IV.22(a)) s’effectue en fixant le module élastique du ressort hookéen à la valeur de l’élasticité déterminée précédemment par la méthode d’Oliver et Pharr. Seule la viscosité du piston newtonien η est donc à ajuster. La valeur de la viscosité calculée via le modèle de Kelvin-Voigt est donc d’environ $5000 \text{ GPa}\cdot\text{s}$ pour des temps caractéristiques $\tau = \eta/E$ de l’ordre de 2500 secondes, soit environ 40 min. Cette valeur n’est pas étonnante puisqu’elle est caractéristique des polymères vitreux, avec η de l’ordre de $10^{13} \text{ GPa}\cdot\text{s}$ [96]. Cependant, comme il a été décrit dans la partie II.1.4, le modèle de Kelvin-Voigt ne semble pas absolument rigoureux dans la mesure où il ne tient pas compte de l’élasticité à temps court mise en jeu lors de la charge initiale. Le modèle de Zener est alors ajusté aux courbes de microindentation. Le module élastique instantané E_0 est fixé à la valeur déterminée par la méthode d’Oliver et Pharr et la viscosité η et l’élasticité à temps long E_∞ sont ajustés (figure IV.22(b)). La viscosité calculée par le modèle de Zener est sensiblement inférieure à celle déterminée par le modèle de Kelvin-Voigt ($\approx 1200 \text{ GPa}\cdot\text{s}$) mais l’élasticité retardée est très proche de l’élasticité instantanée ($2.2 \pm 0.5 \text{ GPa}$). Cela indique que le comportement élastique du PLGA à basses fréquences est aussi stable que celui décrit précédemment à hautes fréquences.



(a)



(b)

FIGURE IV.22 – (a) Ajustement du modèle de Kelvin-Voigt sur une courbe de fluage. La profondeur de fluage est la profondeur de la déformation induite à partir du moment où la force est maintenue constante. (b) Ajustement du modèle de Zener sur la courbe de microindentation. Le modèle de Zener prend en compte la force initialement appliquée grâce au module élastique instantané E_0 .

IV.5.2 Dureté et ténacité

La mesure de la ténacité (ou dureté de fracture) permet de décrire la capacité d'un matériau à résister à la propagation d'une fissure. Il faut distinguer ténacité et dureté. La dureté représente la résistance qu'oppose une surface à la pénétration d'un poinçon. Ainsi, le diamant est le matériau le plus dur (dureté élevée) mais est peu tenace, c'est-à-dire qu'il se casse facilement dans certains axes cristallin.

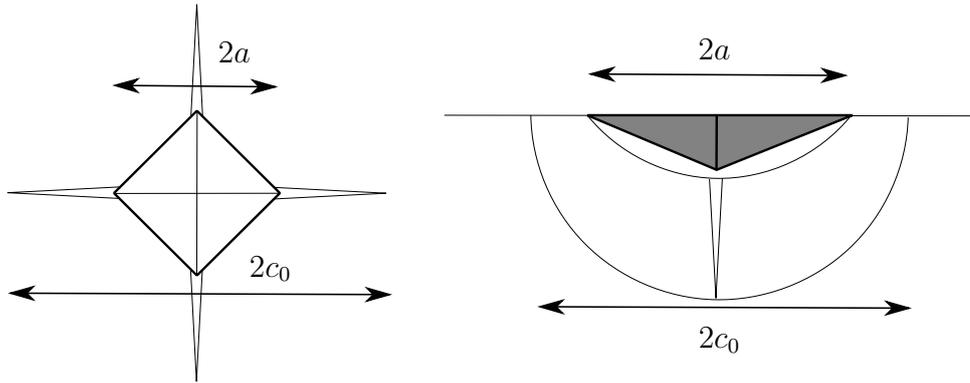


FIGURE IV.23 – Schéma d'une indentation Vickers. À gauche, vue de dessus, à droite, vue de profil.

La microindentation Vickers permet d'atteindre ces deux paramètres qui sont la dureté H et la ténacité K_c . Elle consiste en une déformation de la surface par une pyramide à base carrée (indenteur Vickers). La dureté Vickers notée H_V est exprimée comme :

$$H_v = \frac{2F \sin(\theta/2)}{(2a)^2} \quad (\text{IV.5})$$

avec F , la force appliquée, θ l'angle d'ouverture de l'indenteur Vickers (généralement $\theta = 136^\circ$) et $2a$ la moyenne des diagonales de l'empreinte. La dureté Vickers H_V permet de comparer la dureté des matériaux et des abaques sont facilement disponibles.

La littérature donne de nombreuses expressions de la ténacité [98]. La plus utilisée est la relation d'Anstis et al. [99] prenant en compte la dureté Vickers :

$$K_c = \alpha \left[\frac{E}{H_v} \right]^{1/2} \left[\frac{F}{c_0^{1/5}} \right] \quad (\text{IV.6})$$

où E est le module d'Young du matériau, c_0 la longueur moyenne des fractures radiales générées par l'indentation et α est une constante de calibration déterminée empiriquement par Anstis et al. [99] ($\alpha = 0.016 \pm 0.004$).

La figure IV.24 présente les déformations résiduelles après indentation par une sonde Vickers. Trois forces différentes (100 mN, 200 mN et 500 mN) sont appliquées à la surface. L'application de l'équation IV.5 permet d'obtenir la dureté du PLGA : celle-ci est très stable quelle que soit la force appliquée ($H = 202 \pm 12$ MPa). Cette valeur est cohérente puisqu'elle est caractéristique

des polymères vitreux [100]. De même, la ténacité de fracture K_c du PLGA est calculée via l'équation de Anstis et al. et donne une valeur de $40 \pm 6 \text{ kPa.m}^{1/2}$. À titre de comparaison, cette valeur est cinq à dix fois inférieure à celles données dans la littérature pour des polymères comme le polycarbonate ($3.0 \text{ MPa.m}^{1/2}$), le polystyrène ($2.2 \text{ MPa.m}^{1/2}$), le nylon ($4.1 \text{ MPa.m}^{1/2}$) ou le polyméthacrylate de méthyl ($1.7 \text{ MPa.m}^{1/2}$) [101]. Ces valeurs montrent que le PLGA est particulièrement fragile et peu résistant à la fracturation ce qui est un élément important dans l'optique d'une destruction des coques par ultrasons.

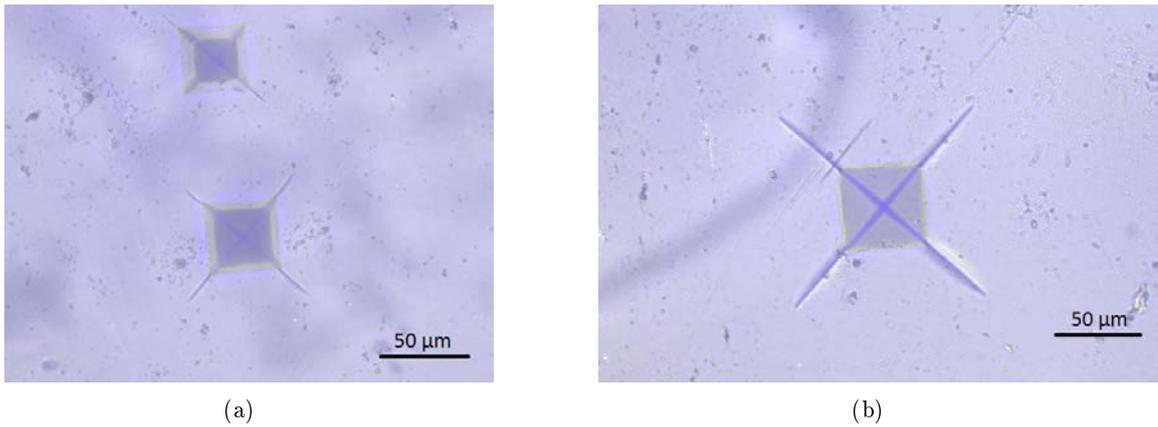


FIGURE IV.24 – Déformations résiduelles typiques des indentations Vickers avec des forces (a) 100 mN et 200 mN, (b) 500 mN.

IV.6 Conclusion sur les propriétés mécaniques du PLGA

L'étude de la visco-élasticité et les mesures de la fracture du PLGA nous donnent un certain nombre d'indices sur le comportement que nous observerons au chapitre suivant sur les propriétés mécaniques des micro et nanocapsules polymères à usages théranostiques :

1. Le module d'Young du PLGA mesurée par nanoindentation AFM est de 3.0 ± 0.2 GPa.
2. La nanoindentation AFM sur le PLGA induit des effets visco-plastiques (*pile-up*) et ce même à faible profondeur d'indentation (< 5 nm), indiquant que le PLGA ne peut être uniquement décrit comme un matériau élastique.
3. L'écoulement du PLGA a été observé à l'échelle nanométrique, au-delà et en deçà de sa température de transition vitreuse ($T_g = 42.6 \pm 0.5$ °C), indiquant un écoulement nanométrique du polymère à la température physiologique et en des temps caractéristiques de l'ordre de la dizaine de minutes. Ce comportement est parfaitement décrit par l'équation d'un film mince soumis à un écoulement de Poiseuille.
4. Le fluage par microindentation nous indique que l'élasticité du PLGA à temps courts (quasi-statique) et à temps longs (10^{-4} Hz) sont semblables (2.2 ± 0.5 GPa) et que sa viscosité η est de l'ordre de 5000 GPa.s pour des temps caractéristiques de relaxation de l'ordre de 40 min.
5. Les mesures de fracture du PLGA par microindentation ont mis en évidence sa faible ténacité. Malgré une rigidité relativement importante (module d'Young et dureté élevées en comparaison d'un autre polymère vitreux comme le polystyrène), la faible ténacité du PLGA illustre sa fragilité et sa faible résistance à la plasticité liée aux contraintes de cisaillement.

Ces informations permettent de dresser un premier portrait de la mécanique des microcapsules PLGA/PFOB étudiées au chapitre suivant. Celles-ci seront relativement dures ($E \approx$ GPa) par rapport aux objets classiquement observés dans le domaine de la matière molle (cellules - $E \approx$ kPa, élastomères - $E \approx$ MPa...). Leurs propriétés visco-élastiques seront semblables à celles observées par AFM sur les films minces de PLGA. Enfin, nous nous attendons à une certaine fragilité des coques et des ruptures sont à prévoir, divergeant ainsi avec le simple comportement visco-élastique du polymère.

Chapitre V

Propriétés mécaniques de capsules polymères

Sommaire

V.1 Microcapsules PLGA/PFOB	105
V.1.1 Description du système et enjeux de la mesure élastique	105
V.1.2 Synthèse et caractérisation	108
V.2 Élasticité des microcapsules PLGA/PFOB	113
V.2.1 Nanoindentation AFM de microcapsules PLGA/PFOB	113
V.2.2 Interprétation de l'élasticité apparente des MCs PLGA/PFOB par le modèle CHIMER	118
V.2.3 Visco-plasticité et rupture des MCs PLGA/PFOB	122
V.2.4 Effet de la température sur l'élasticité des microcapsules	125
V.3 Nanocapsules PLA-PEG/PFOB	128
V.3.1 Description des nanocapsules PLA-PEG/PFOB	128
V.3.2 Préparation des échantillons pour l'indentation en milieu aqueux	129
V.3.3 Indentations de NPs et NCs en milieu aqueux	132
V.4 Conclusion sur l'indentation des capsules polymères	135

Ce chapitre traite de l'élasticité de capsules polymères entourant un cœur liquide fluoré. Ces objets complexes, aussi bien du fait de leur composition que de leur géométrie, présentent de nombreux intérêts thérapeutiques. Ainsi, ils permettent d'augmenter le contraste en imagerie ultrasonore et en IRM du fluor tout en étant de potentiels vecteurs de médicaments [102] si des ligands appropriés y sont attachés, ciblant de manière précise l'organe à traiter. Les applications biomédicales de ces capsules se heurtent à une méconnaissance de leur comportement mécanique. En effet, l'utilisation de ces capsules comme vecteurs aéroportés (administration pulmonaire), comme agent de contraste ultrasonore (administration intraveineuse), leur destruction par cavitation pour la libération de drogue, mais aussi leur simple circulation en milieu biologique, sont autant de situations mettant en jeu les propriétés mécaniques de ces objets.

La première partie de ce chapitre traitera brièvement de la synthèse et de la caractérisation (taille, épaisseur de coque) des capsules PLGA/PFOB. La seconde partie traitera de l'élasticité de capsules micrométriques ($\varnothing \approx 1 \mu m$). Le modèle CHIMER, qui a fait ses preuves précédemment sur des bicouches planes, sera utilisé pour interpréter les modules élastiques apparents mesurés sur des microcapsules ayant des épaisseurs de coques variables. Nous discuterons du comportement mécanique à haute fréquence et de la contribution de la forme sphérique à leurs propriétés mécaniques. Ces résultats prometteurs nous conduiront à l'étude de l'élasticité de capsules polymères nanométriques ($\varnothing \approx 100 \text{ nm}$) dont le diamètre, du même ordre de grandeur que celui de l'indenteur, entre dans la gamme de tailles pertinentes pour la vectorisation. L'approximation d'un contact sphère/plan étant alors caduque, nous verrons que l'interprétation des courbes de force par le modèle CHIMER n'est plus valable et nous proposerons des pistes pour élargir son champ d'application.

V.1 Microcapsules PLGA/PFOB

V.1.1 Description du système et enjeux de la mesure élastique

Le mot *théranostique* désigne la capacité d'un système à coupler le *diagnostic* et la *thérapeutique*. Ce néologisme anglo-saxon a pris une importance particulière dans la recherche médicale ces dernières années, notamment en ce qui concerne les thérapies anti-cancéreuses. L'émergence des nanotechnologies dans le monde de la médecine a introduit l'idée d'un système intelligent, permettant à la fois la localisation de la cible, la vectorisation, la libération et le suivi d'un traitement. De nombreux systèmes ont ainsi été développés, prenant des formes variées comme des arrangements de nanoparticules d'or [103], des micelles ou des vésicules lipidiques [104], des nanoparticules d'oxydes supramagnétiques [105] ou encore des nanocapsules polymères [106].

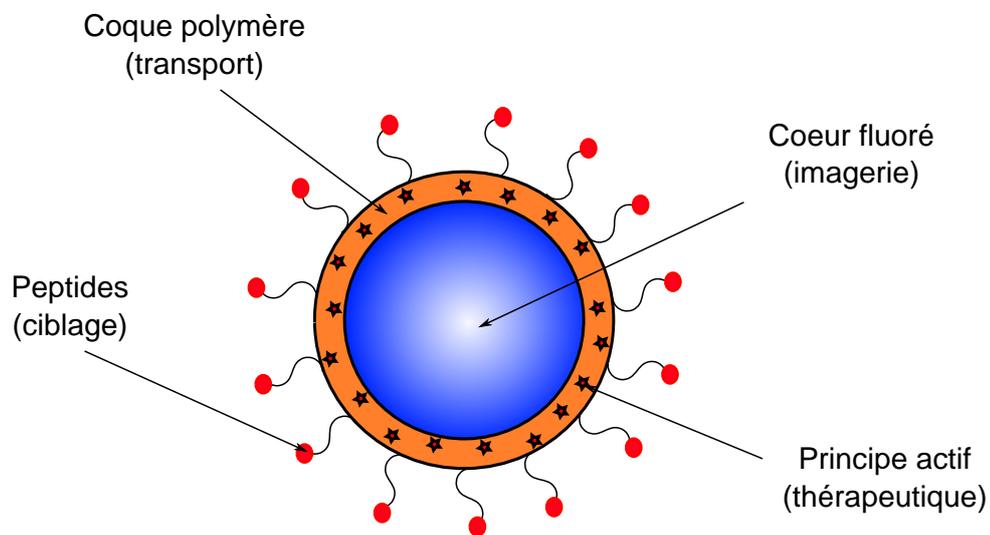


FIGURE V.1 – Schéma d'une coque polymère contenant un cœur liquide fluoré. La conception de ces nanoparticules à but théranostique tend à atteindre trois buts : le ciblage, l'imagerie et la thérapeutique.

En 2006, E. Pisani et al. [106] décrivent une méthode de synthèse permettant d'obtenir des nano et des microcapsules polymères contenant un cœur liquide fluoré. Le polymère composant la coque est l'acide poly(D,L-lactique-co-glycolique) (figure V.2(a)) biocompatible et biodégradable [84, 85]. Le cœur liquide est constitué d'un perfluorocarbène, le bromure de perfluorooctyle (PFOB) (figure V.2(b)), dont l'absence de toxicité a été rapportée dans la littérature [107, 108].

Les microcapsules (MCs) ou nanocapsules (NCs) polymères comportant un cœur liquide fluoré sont des particules prometteuses dans le champ de la théranostique (schéma V.1). En effet, ces particules réunissent des propriétés intéressantes à la fois pour l'imagerie diagnostique, la vectorisation de nanomédicaments et le suivi *in situ* de leur transport et de leur libération contrôlée.

Tout d'abord, le cœur fluoré des capsules PLGA/PFOB induit un contraste à l'IRM du fluor (^{19}F RMN) lorsqu'elles sont injectées dans la circulation sanguine (figure V.3(a)) [106, 109, 110].

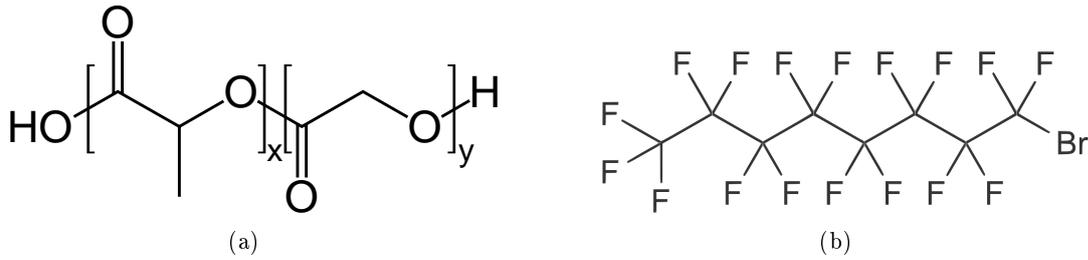


FIGURE V.2 – Structures chimiques du l'acide poly(L-lactide-co-glycolide) PLGA (a) et du bromure de perfluorooctyle (Perflubron) PFOB (b).

Sous leur forme nanométrique (50 - 100 nm de diamètre), il a été montré que les capsules PLGA/PFOB sont des agents de contraste ultrasonore (figure V.3(b)) [109] qui peuvent être employés comme vecteurs thérapeutiques intraveineux. La décoration de la coque par des peptides spécifiques permet le ciblage de cellules cancéreuses ou d'un organe particulier. Une drogue peut être intégrée dans la coque polymère et leur destruction localisée induit la libération contrôlée du médicament, limitant ainsi les risque d'effets indésirables touchant les organes sains. La destructions des particules par ultrasons focalisés s'avère être une technique prometteuse. L'imagerie permet le suivi *in situ* de la libération des drogues. La cavitation ultrasonore induit des contraintes thermo-mécaniques localisées dans la zone ciblée par les particules [111, 112]. La destruction des coques est alors provoquée par la vaporisation du liquide fluoré induisant l'augmentation de leur pression interne. Notons aussi que, sous leur forme micrométrique (1-3 μm de diamètre), ces capsules peuvent être administrées par voies pulmonaires afin de délivrer une molécules thérapeutiques [113].

Contrairement à la plupart des agents de contraste ultrasonore qui comportent un cœur fluoré gazeux, les capsules PLGA/PFOB à cœur liquide sont peu compressibles. Guédra et al. [114] ont étudié l'influence de la compressibilité de la coque sur les propriétés ultrasonores des suspensions polydisperses de gouttelettes encapsulées. La propagation des ultrasons dans un tel milieu est modélisée en combinant :

- un mode de dilatations oscillantes en faisant l'hypothèse que les coques sont incompressibles et ont un comportement visco-élastique de type Kelvin-Voigt, Maxwell ou Zener,
- un mode de translations oscillantes induisant une inertie due à la viscosité du fluide environnant,
- une polydispersité en terme de rayon et d'épaisseur de coque.

Cette étude propose donc une description de la mécanique collective des particules en suspension (figure V.4) mais n'apporte pas d'information quant à la mécanique des particules isolées.

Que ce soit pour le transport au sein d'un environnement biologique par voies intraveineuse ou pulmonaire, l'imagerie échographique ou encore la libération d'un principe actif par les ultrasons, la mécanique de ces particules est hautement mise à contribution. L'élasticité, la raideur, la plasticité et la viscosité des coques sont des paramètres qui interviennent durant toutes les étapes du processus théranostique. Une particule trop fragile risque ainsi d'être détruite avant d'avoir pu

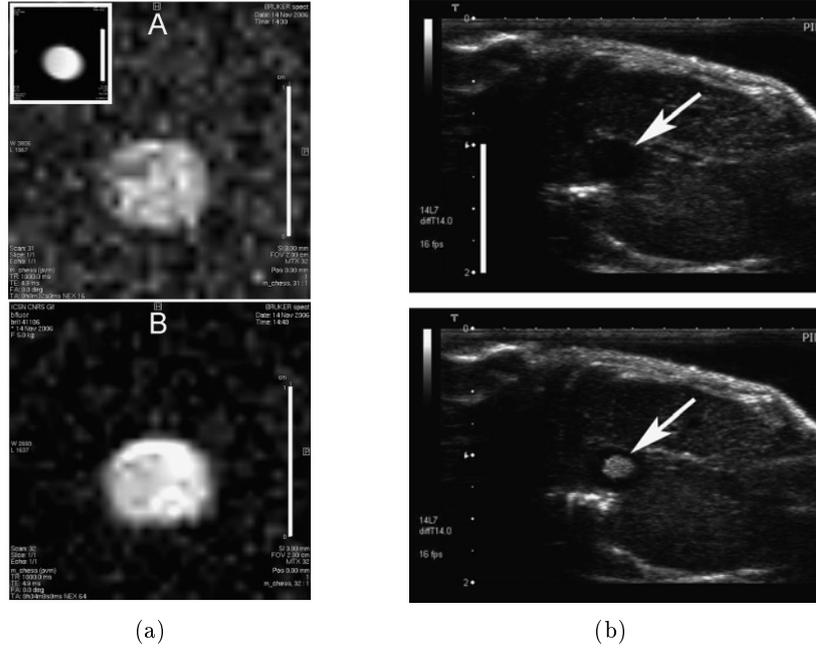


FIGURE V.3 – (a) Image de Résonance Magnétique Nucléaire du fluor (^{19}F RMN) spin-echo de nanocapsules PLGA/PFOB (en haut 8 min, en bas 34 min, 150 nm de rayon, 50 mg.mL^{-1} en suspension aqueuse). L’encart de l’image supérieure présente l’image de PFOB pur. La barre d’échelle est de 1 cm. (b) Image échographique d’un foie de souris avant (en haut) et après (en bas) l’injection de $200 \mu\text{L}$ de nanocapsules PLGA/PFOB (150 nm de rayon, 50 mg.mL^{-1}). La veine cave inférieure (désignée par la flèche blanche) présente une augmentation importante de son contraste après injection.

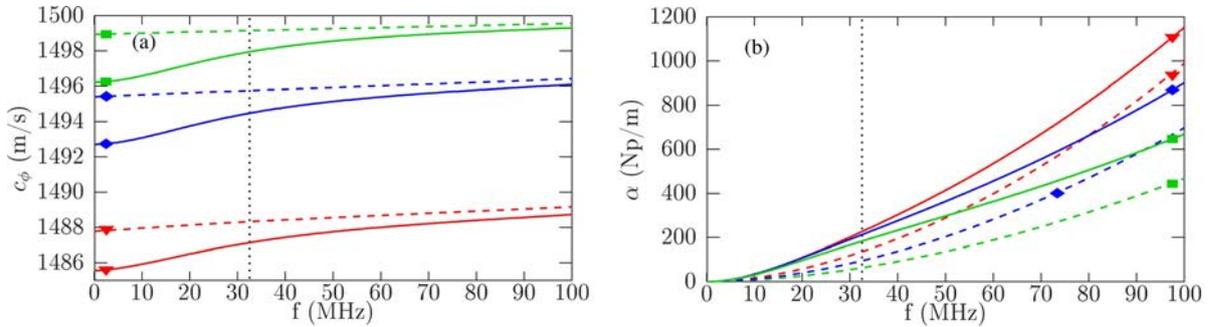


FIGURE V.4 – Vitesse du son (a) et coefficient d’absorption (b) de suspension de coques avec trois rapports T/R : ∇ : $T/R = 0.1$, \diamond : $T/R = 0.25$, \square : $T/R = 0.4$. Ligne continue/discontinue : coque compressible/incompressible. Les paramètres élastiques sont : module de cisaillement $G^s = 1 \text{ GPa}$, module volumique $K^s = 6.4 \text{ GPa}$, $\nu = 0.43$. La ligne pointillée verticale indique la fréquence caractéristique $f_{ch} = 1/(2\pi\tau)$, avec τ le temps caractéristique de relaxation issu des modèles visco-élastiques. Figures extraites de l’article de Guédra et al. [114].

se fixer à l’organe ciblé. Inversement, une particule trop rigide serait plus difficile à détruire dans une gamme de puissance ultrasonore raisonnablement invasive pour le patient. L’amélioration des performances théranostiques des capsules polymères est donc un enjeu important de leur étude mécanique. Par ailleurs, la compréhension de la mécanique d’une coque à l’échelle micro et nanométrique est un enjeu en soi, certe plus fondamental, mais qui peut s’inscrire dans le champ des travaux portant sur la mécanique des objets composites.

V.1.2 Synthèse et caractérisation

Les capsules PLGA/PFOB sont préparées selon le protocole décrit par Pisani et al. [106]. Les particules étudiées dans ce manuscrit ont été synthétisées à l'Institut Galien de l'Université Paris Sud (L. Mousnier et N. Tsapis). Le protocole peut être résumé de la façon suivante (figure V.5) : la quantité voulue de polymère (10, 25, 50 ou 100 mg en fonction du rapport T/R recherché) est dissoute dans 4 mL de dichlorométhane et 60 μL de PFOB (ou sans PFOB pour les particules pleines). Pour obtenir des microcapsules / microparticules, la solution organique est émulsifiée dans 20 mL d'une solution aqueuse de cholate 1.5 % (w/v) en utilisant un Ultra-Turrax (8000 à 24 000 RPM pour obtenir des diamètres de particules de 1 à 5 μm). Le dichlorométhane est ensuite évaporé sous agitation magnétique pendant 3 heures à 20 °C. Ce processus permet d'obtenir des gouttelettes de PFOB à l'intérieur desquelles le polymère va précipiter. Le PLGA contenu dans les gouttelettes de PFOB migre alors à l'interface eau / huile, formant ainsi les microcapsules.

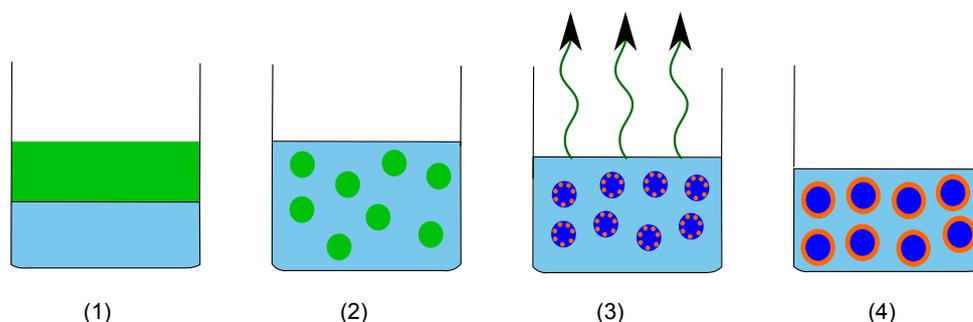


FIGURE V.5 – Schéma de la synthèse des capsules PLGA (orange) / PFOB (bleu sombre). (1) Phase organique (vert : PLGA + PFOB + dichlorométhane) et phase aqueuse (bleu clair : eau + cholate de sodium). (2) Émulsification de la phase organique dans la phase aqueuse. (3) Évaporation du dichlorométhane et précipitation du PLGA dans les gouttelettes de PFOB. Migration du PLGA à l'interface eau / PFOB. (4) Capsules formées en solution aqueuse. [106].

Pour améliorer la monodispersité des particules (figure V.6), un appareil équipé d'une membrane SPG (Shirazu Porous Glass) est utilisé. Cette méthode consiste à appliquer une pression légèrement supérieure à la pression critique à laquelle l'émulsion native commence à pénétrer au travers de la membrane (80-100 kPa).

Le diamètre des microcapsules est mesuré par diffusion dynamique de la lumière (DLS : *Dynamic Light Scattering*). Le passage par la membrane SPG permet d'obtenir des particules dont la dispersité est assez faible (figure V.7). Alors que le diamètre final dépend de l'émulsification et du passage par la membrane SPG, le ratio T/R (i.e. l'épaisseur de la coque) est déterminé par le rapport en volume du PLGA et du PFOB. Une mesure directe de l'épaisseur des coques est possible par microscopie confocale. Du rouge Nil est ajouté au moment de la mise en solution organique et l'échantillon final est mélangé à du glycérol pour minimiser le mouvement des coques. Pour obtenir une précision maximale, seules les capsules les plus grosses ($> 4 \mu\text{m}$) sont utilisées pour effectuer la mesure de l'épaisseur des coques (figure V.8). Ces mesures confirment que le ratio T/R est guidé par le rapport des volumes de PLGA et de PFOB et on supposera donc que c'est aussi le cas pour les capsules plus petites.

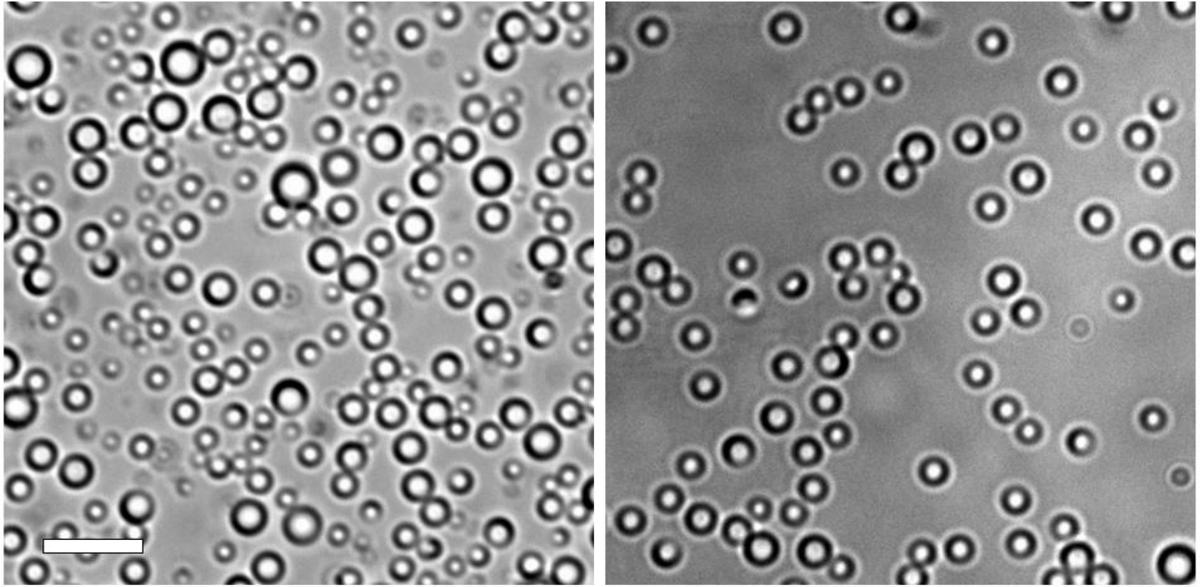


FIGURE V.6 – Images de microscopie optique d’une suspension de MCs $T/R = 0.25$ préparées après émulsification avec un Ultra-Turrax (à gauche) et après le passage à travers une membrane SPG (à droite). L’échelle est de $5\ \mu\text{m}$.

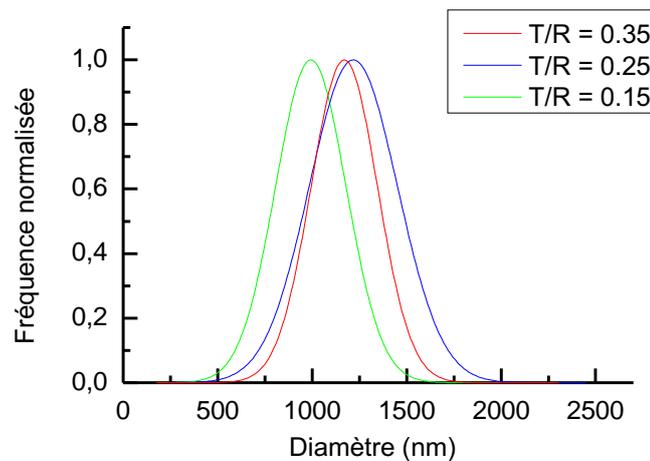


FIGURE V.7 – Diamètre des microcapsules PLGA/PFOB en fonction du rapport T/R . $T/R = 0.35$: 1170 ± 176 , $T/R = 0.25$: 1218 ± 234 , $T/R = 0.15$: 993 ± 187 . Résultats de DLS, B. Sarrazin, CEA LIONS.

Morphologie des MCs : Images topographiques AFM Des gouttes de 20 à 100 μL de solution de MCs sont séchées à la surface d’une lame de mica (fraichement clivée) ou de silicium (lavée en suivant les protocoles RCA [115]). Le séchage s’effectue dans un dessiccateur pendant 2 à 4 heures. Afin d’améliorer le dépôt des MCs à la surface et obtenir des monocouches, un rinçage à l’eau pure peut être nécessaire et l’échantillon est à nouveau séché pendant 2 heures. Cette étape permet d’éliminer le cholate en excès. En effet, la présence de tensioactif induit l’aggrégation

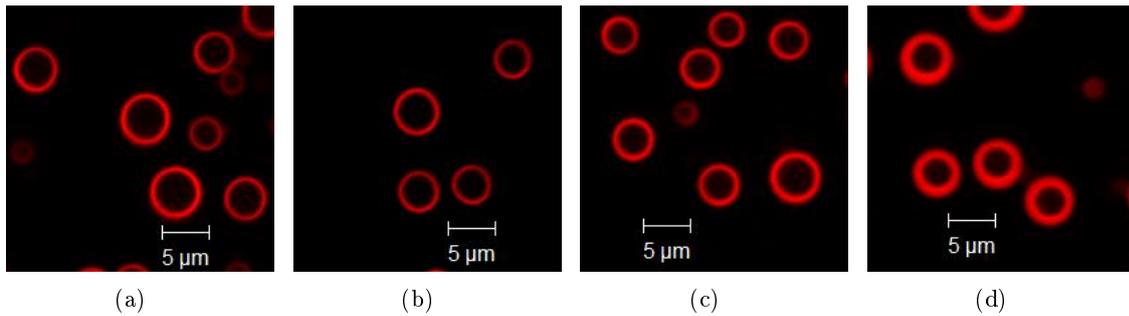
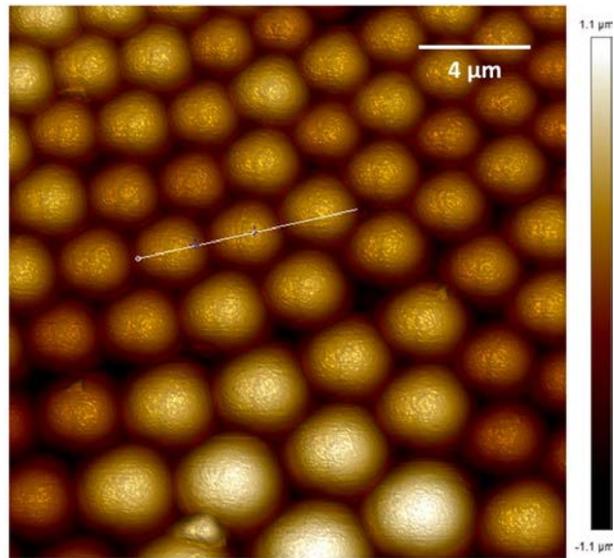


FIGURE V.8 – Images de microscopie confocale de MCs synthétisées avec différentes quantités de PLGA afin d’obtenir les rapports T/R suivants : (a) $T/R = 0.025$ (10 mg) , (b) $T/R = 0.15$ (25 mg), (c) $T/R = 0.25$ (50 mg) and (d) $T/R = 0.35$ (100 mg). Résultats L. Mousnier, N. Tsapis, Université Paris Sud.

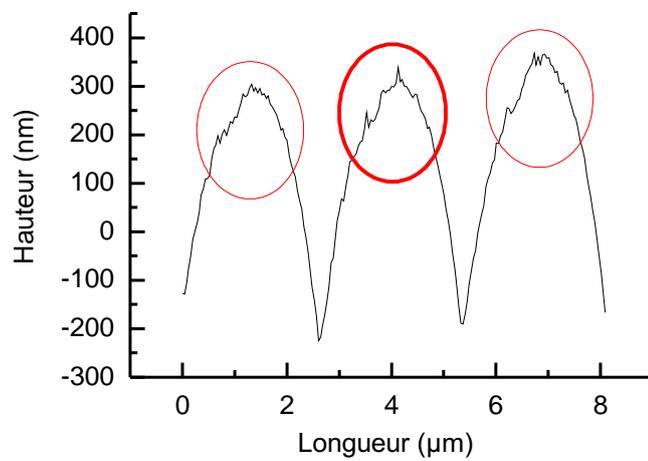
des particules à la surface et empêche la formation d’une couche unique. Les microcapsules sont ensuite étudiées par topographie AFM. La figure V.10 présente des clichés topographiques de MCs ayant des rapport T/R différents. Notons dès à présent qu’une forte convolution entre la pointe et les MCs est à prendre en compte du fait de leur forme sphérique et de leur diamètre micrométrique. Cela explique l’apparence trompeuse de facettage des MCs (visible sur l’image de la figure V.10(d)). La pointe ne pouvant pas décrire l’espace entre les capsules (cf. page 23 à propos de la convolution pointe-échantillon), il en résulte un artefact qui augmente le diamètre des particules dans le plan et induit un facettage des coques lorsqu’elles sont collées les unes aux autres.

La surface et la morphologie des microcapsules diffèrent selon l’épaisseur des coques. Les microparticules pleines ($T/R = 1$) et les capsules les plus épaisses ($T/R = 0.35$ et 0.25) présentent une rugosité à leur surface. La figure V.9 met en évidence la rugosité de surface des particules de PLGA. Cette rugosité peut être due à l’hydrolyse du PLGA en solution aqueuse [116]. Les coques les plus fines ($T/R = 0.15$ et 0.025) sont relativement plus lisses. En revanche, ces dernières sont aussi plus fragiles du fait de leur finesse et sont parfois frippées (figure V.10(f)). Ce flambage spontanée est potentiellement aggravé par le séchage et par l’agitation des MCs en solution.

Ces éléments morphologiques sont liés aux propriétés mécaniques de ces particules. La fragilité des particules fines est qualitativement visible en raison du nombre important de capsules brisées. La partie suivante traite de la nanoindentation de ces capsules PLGA/PFOB et de leur élasticité en fonction de l’épaisseur de leurs coques.



(a)



(b)

FIGURE V.9 – Image topographique (a) de microparticules de PLGA ($T/R = 1$). Le profil (b) met en évidence la rugosité de surface des particules (5-20 nm). Résultat B. Sarrazin

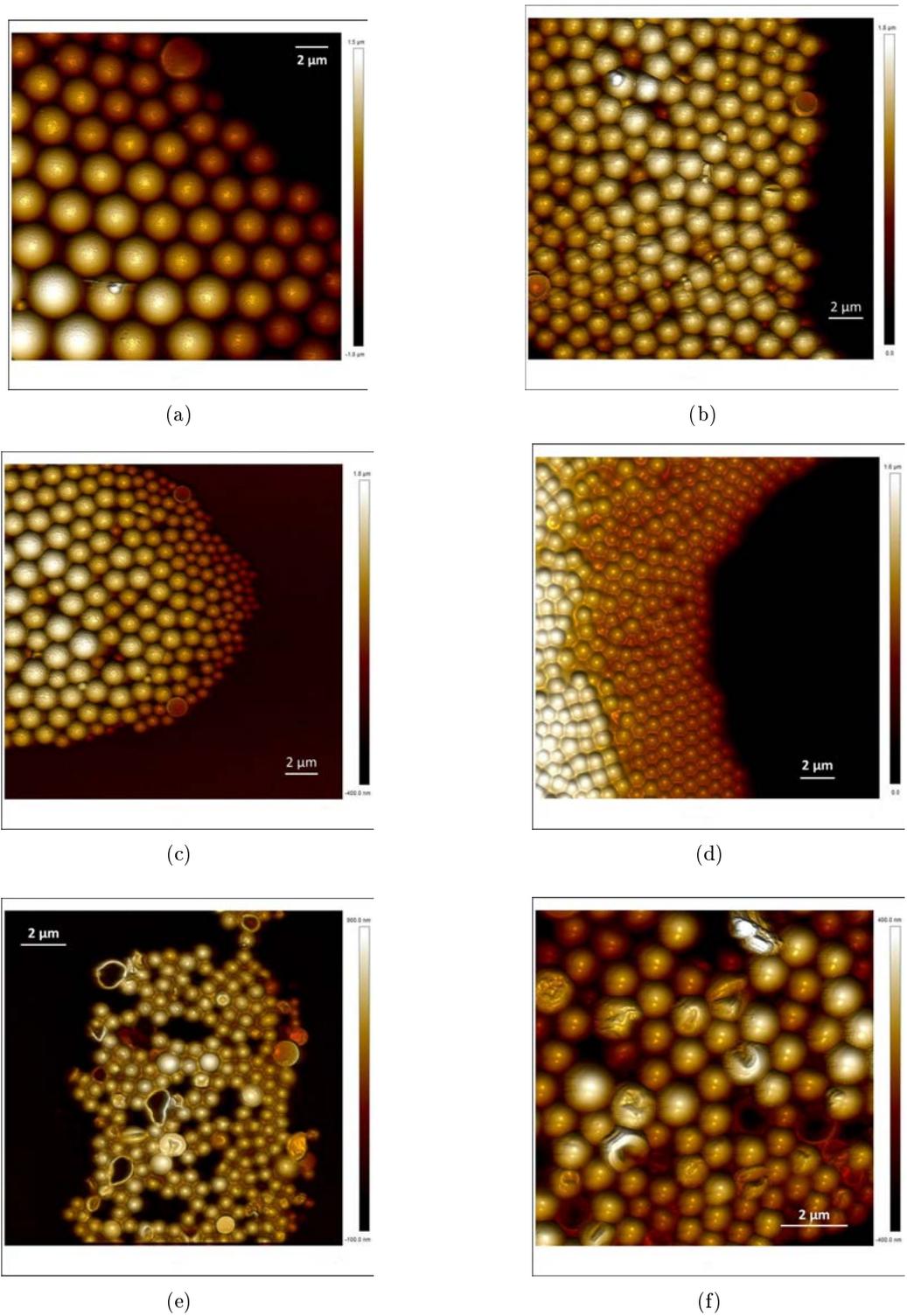


FIGURE V.10 – *Microparticules de PLGA (a). Microcapsules PLGA/PFOB : (b) $T/R = 0.35$, (c) $T/R = 0.25$, (d) $T/R = 0.15$, (e) et (f) $T/R = 0.025$. Résultat B. Sarrazin, CEA LIONS.*

V.2 Élasticité des microcapsules PLGA/PFOB

V.2.1 Nanoindentation AFM de microcapsules PLGA/PFOB

Les microcapsules PLGA/PFOB ont fait l'objet d'une étude systématique de leur élasticité. Nous avons fait le choix d'étudier des capsules ayant un diamètre constant d'environ $1 \mu\text{m}$ et une gamme d'épaisseur de coques contrôlée, afin d'étudier l'influence de cette épaisseur sur l'élasticité des capsules. Le choix du diamètre des capsules est aussi liée à la facilité de synthèse et à la plus large gamme d'épaisseurs de coques disponible.

L'indenteur utilisé est une pointe AFM de quelques dizaines de nanomètres de rayon (20 - 50 nm). La compression d'objets isolés à l'échelle nanométrique présuppose la visualisation précise desdits objets. La microscopie optique étant trop peu résolue, le moyen le plus simple est donc d'imager les objets et de les indenter par le même moyen, à savoir la microscopie à force atomique. De fait, cela exclue l'utilisation de sondes colloïdales ou de pointes AFM trop épaisses qui rendraient impossible la localisation précise des objets, notamment de leur sommet. L'utilisation de pointes fines s'impose donc, le traitement en carbone haute densité permettant de les protéger contre l'usure.

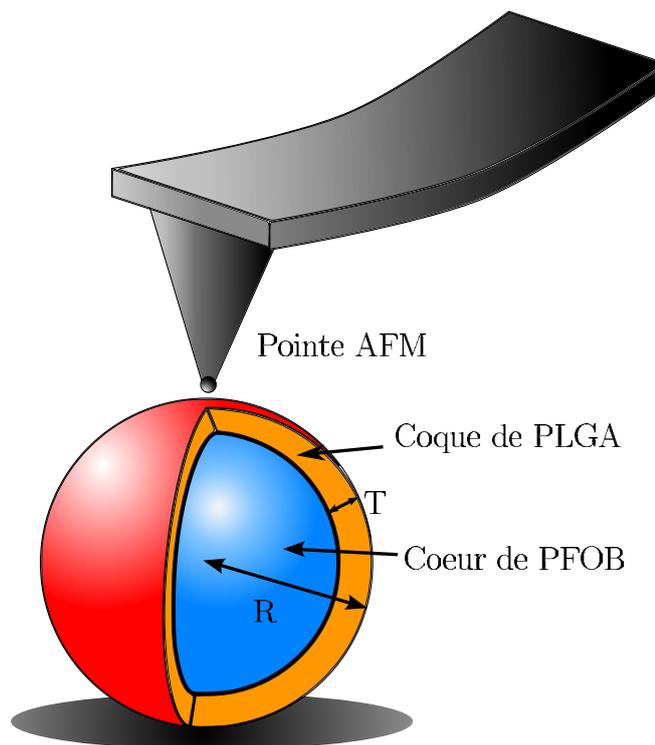


FIGURE V.11 – Schéma de l'approche d'une microcapsule PLGA/PFOB par une pointe AFM. Les tailles relatives de l'apex de la pointe et de la microcapsule ($R = 500 \text{ nm}$, $R_{tip} = 50 \text{ nm}$, $T/R = 0.35$) sont respectées.

La nanoindentation AFM des microparticules (MPs) de PLGA et des microcapsules (MCs) PLGA/PFOB a été effectuée en utilisant la méthode du "Point and Shoot" décrite précédemment

et permettant de cibler le sommet de chaque objet avec une précision de 5 ± 3 nm (estimation de la dérive temporelle au cours du *shoot* dans le plan xy). Le schéma V.11 permet de se représenter à l'échelle l'approche d'une MC ($T/R = 0.35$) avec une pointe de rayon 50 nm. Les échelles de l'apex de la pointe et de la MC sont respectées, mais il est à noter que les dimensions de la partie distale de la pointe et du levier AFM sont en réalité beaucoup plus importantes (plusieurs dizaine de microns). La figure V.12 présente une configuration très favorable de ciblage des microcapsules. Une monocouche d'objets monodisperses permet de multiplier les courbes de force. La force maximale appliquée est de 200 à 500 nN en fonction de l'épaisseur des coques, pour des indentations de 10 à 50 nm.

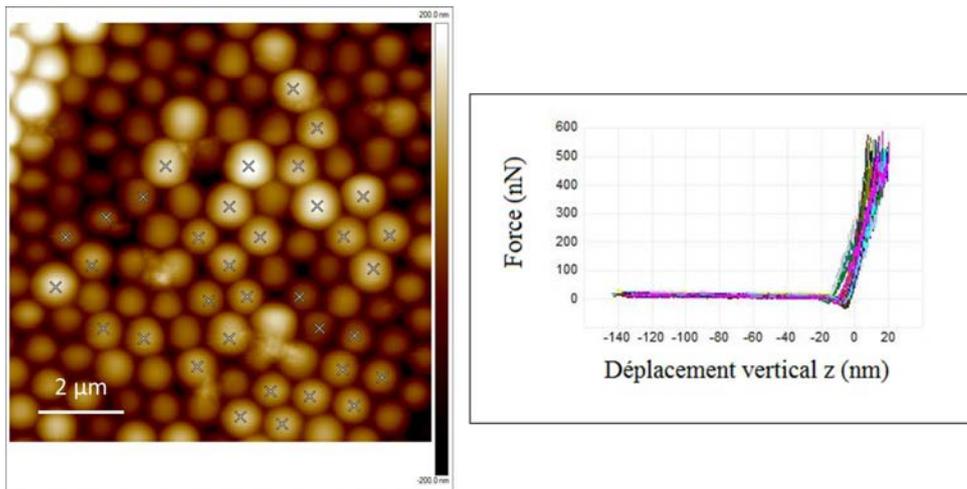
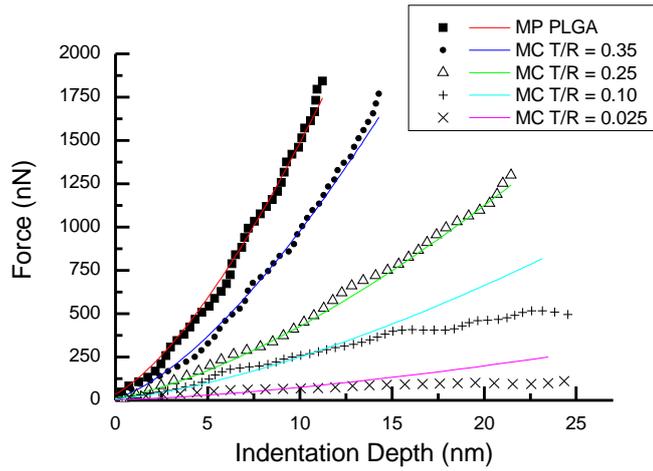


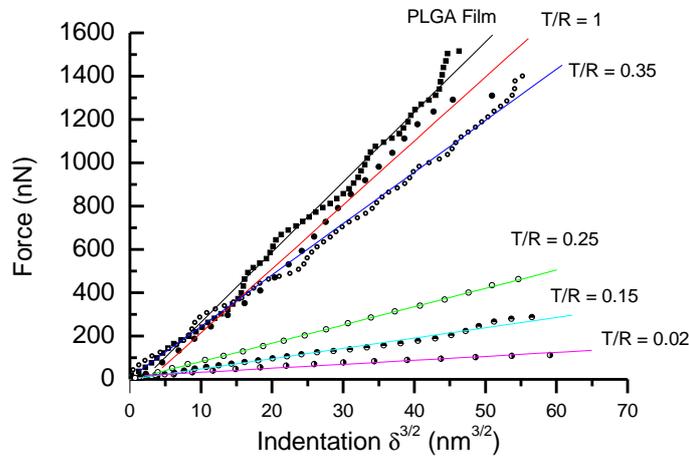
FIGURE V.12 – "Point and Shoot" d'une monocouche de MCs PLGA/PFOB avec $T/R = 0.15$. La faible dispersité en taille des objets permet une bonne reproductibilité de l'approche des courbes de force. Résultats B. Sarrazin, CEA LIONS.

Le modèle de Hertz linéarisé est utilisé pour ajuster l'approche des courbes de force sur les MCs (figure V.13). Le système présenté au chapitre III a permis de montrer que les courbes de force sur une bicouche peuvent présenter, dans une certaine gamme d'indentation, un comportement linéaire malgré une forme de sonde sphérique. Dans le cas des coques, la gamme de δ/T est très semblable à celle décrite dans le cas des bicouches à base de PDMS (cf. chapitre III, figure III.12). Une linéarité des courbes pouvait donc être attendue. Cependant, on constate que les courbes de force sur les MCs ont un comportement en $E_{app} \propto \delta^\alpha$ avec $1.3 \leq \alpha \leq 1.5$. Cette différence entre les systèmes précédemment décrits et les MCs est probablement liée à la forme sphérique de ces dernières. Nous discuterons ultérieurement de la contribution élastique de la forme sphérique. Néanmoins, la tendance de l'élasticité apparente en fonction de l'épaisseur des coques est cohérente avec le comportement élastique des bicouches planes, la couche supérieure étant composée de PLGA et la couche inférieure étant une couche composite molle que l'on définira plus précisément par la suite. Ainsi, le module élastique apparent décroît quand l'épaisseur des coques diminue.

La table V.1 et la figure V.14 font la synthèse des modules élastiques équivalents des MCs de 1 ± 0.2 μm de diamètre ayant des épaisseurs de coques de 10 à 200 nm et pour des indenta-



(a)



(b)

FIGURE V.13 – Courbes de force (approche) sur un film de PLGA, des particules pleines de PLGA et des microcapsules PLGA/PFOB de différentes épaisseurs. Les droites représentent les ajustements du modèle hertzien linéarisé sur chaque courbe de force.

tions de l'ordre de 5 à 20 nm et un rayon de sonde de 50 nm. Ces modules ont été obtenus par ajustement du modèle de Hertz linéarisé sur la courbe d'approche. La dispersité des résultats est principalement liée à la qualité du contact entre la pointe et les capsules. En effet, si le contact pointe - échantillon ne s'effectue pas exactement au sommet de l'objet, une légère rotation de la particule peut avoir lieu, biaisant à la fois la mesure de l'indentation mais aussi la forme du contact prévue par le modèle de Hertz. La dispersité des résultats obtenues sur les microparticules de PLGA, objets sphériques homogènes, illustre la dispersité liée à cette précision de contact. Cette variabilité est d'environ 16 %. La variabilité des résultats obtenues sur les capsules est plus importante, de 18 à 38 % lorsque l'épaisseur de la coque croît. Aux variabilités du contact pointe - échantillon décrites précédemment s'ajoute la dispersité de l'épaisseur des coques. Celle-ci n'est pas uniquement liée au diamètre des capsules. En effet, une excentricité du cœur de PFOB au sein de la coque de PLGA a été rapportée. Cette dissymétrie, liée aux coefficients de diffusion de chaque phase lors de la synthèse des microcapsules, a été décrite par Pisani et al. [106] et induit

	T/R = 1	T/R = 0.35	T/R = 0.25	T/R = 0.1	T/R = 0.025
Young Modulus (GPa)	2.80 ± 0.47	2.27 ± 0.56	1.25 ± 0.23	0.57 ± 0.22	≈ 0.10

TABLE V.1 – Module élastique (Young) apparent des microcapsules PLGA/PFOB en fonction du rapport T/R. Le rapport T/R = 1 correspond à des particules pleines de PLGA (sans PFOB).

la formation de particules en forme de gland. Cet effet est probablement moins important dans le cas où la quantité de PLGA est faible (coque fine) car une dissymétrie du PFOB empêchera la formation de la capsule (fuite du PFOB et/ou séparation du PFOB et du PLGA).

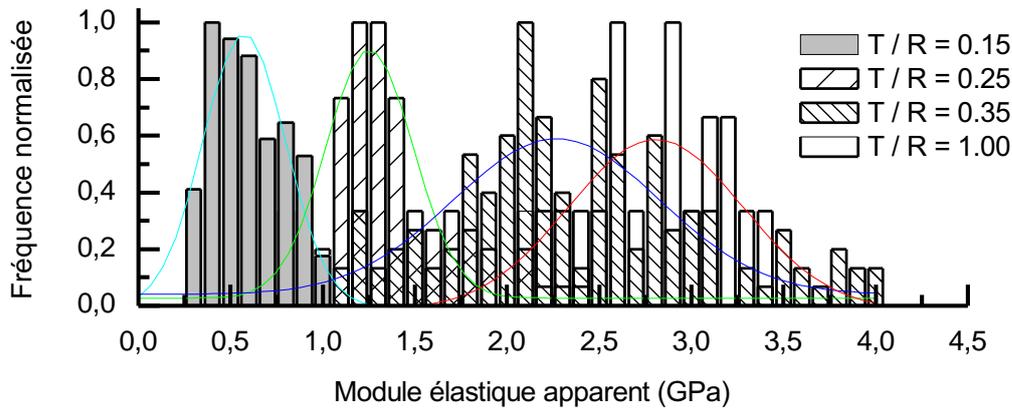


FIGURE V.14 – Statistique des modules élastiques mesurés par nanoindentation sur les capsules PLGA/PFOB de différentes épaisseurs. Les courbes sont des ajustements gaussiens.

La figure V.15 présente une image en mode Peak Force d'un tapis de capsules PLGA/PFOB T/R = 0.25. Chaque pixel de l'image (512 x 512) est le résultat d'une courbe de force effectuée à une fréquence de 2 kHz et l'image de droite est une cartographie élastique de l'échantillon. Le substrat est infiniment rigide (blanc) et le tapis de capsules présente une multitude de modules élastiques calculés via le modèle de Hertz. La variabilité du contact pointe/échantillon sur le tapis de capsules induit des modules élastiques dispersés compris entre 0 GPa (lorsque la pointe plonge entre deux coques) et 2 GPa (lorsque la pointe n'appuie pas au sommet des coques et que le contact s'effectue sur le bord de l'indenteur). Seuls les pixels situés aux sommets des capsules sont pertinents et les modules élastiques ainsi mesurés sont de l'ordre de 1.5 GPa, ce qui est cohérent avec les mesures quasi-statiques (1 Hz) effectuées précédemment. Cela indique que le comportement élastique des microcapsules n'est pas drastiquement modifié dans la gamme 10^1 à 10^3 Hz.

Ces mesures de l'élasticité apparente, issues du modèle de Hertz linéarisé, permettent une première approche qualitative de la rigidité des coques en fonction de leurs épaisseurs. Néanmoins, nous verrons dans la partie suivante que la prise en compte de la complexité des objets (épaisseurs des coques, modules élastiques volumiques...) est indispensable à l'interprétation de la mécanique des microcapsules.

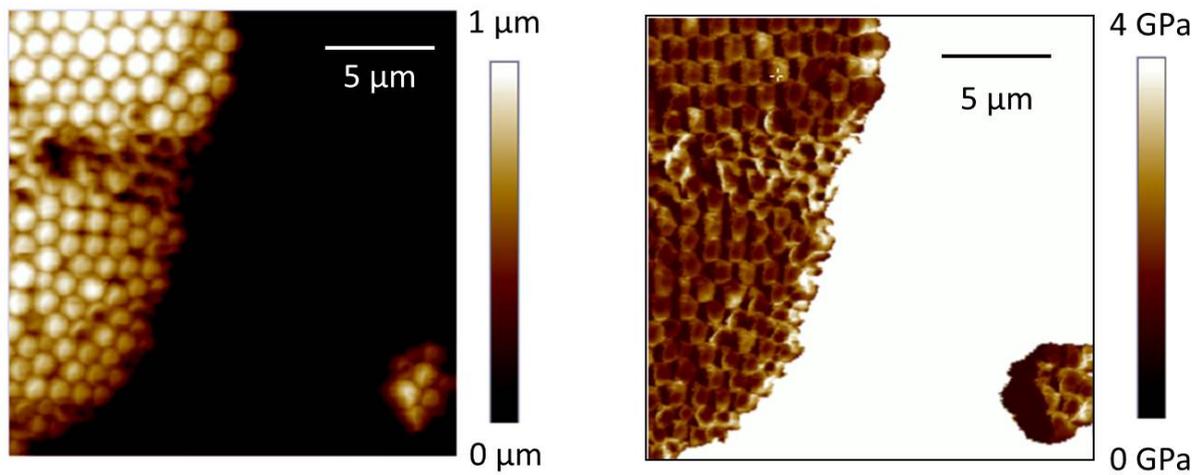


FIGURE V.15 – *Imagerie Peak Force d'une monocouche de MCs PLGA/PFOB ($T/R = 0.25$). Le mode Peak Force permet de construire une cartographie élastique de l'échantillon en ajustant par le modèle de Hertz chaque courbe de force (un pixel = une courbe de force).*

V.2.2 Interprétation de l'élasticité apparente des MCs PLGA/PFOB par le modèle CHIMER

Les modules élastiques équivalents obtenus précédemment grâce au modèle de Hertz linéarisé ne permettent pas d'appréhender complètement l'élasticité des MCs. En effet, ces modules ne sont valables que pour une profondeur d'indentation et un rayon de pointe donnés et ne prennent pas en compte le caractère composite des échantillons. Au mieux, ils permettent de rendre compte qualitativement que les coques les plus minces fournissent une élasticité plus faible. Le modèle CHIMER issu des travaux de Perriot et Barthel [61] et décrit dans la partie II.2.2 a été validé précédemment pour l'interprétation de l'élasticité apparente des bicouches planes (cf. chapitre III). L'utilisation de ce modèle dans le cas d'une enveloppe se confronte à deux problèmes majeurs. Premièrement, la sphéricité de l'échantillon n'est pas prise en compte et le comportement élastique des plaques et des enveloppes peuvent différer fortement, si l'on s'en tient à la description élastique de Landau et Lifchitz [62] (cf. partie II.2.3). Le second problème soulevé par l'application du modèle CHIMER à l'élasticité des MCs est l'état liquide du cœur fluoré qui n'a donc pas à proprement parler de comportement élastique.

Afin d'interpréter les modules élastiques équivalents obtenus précédemment, une première approche consiste à considérer le contact pointe/microcapsule comme un contact entre une sphère (la pointe) et un film plan reposant sur un substrat infiniment mou (élasticité nulle). L'hypothèse d'un contact sphère/plan est guidée par le fait que le rayon de la pointe est faible devant celui des capsules ($R_{MC}/R_{pointe} \approx 10$). La figure V.16 présente une simulation par le modèle CHIMER du rayon de contact a en fonction de l'épaisseur T des capsules et de la profondeur d'indentation δ en considérant le contact pointe / MCs comme un contact sphère / plan. Cette simulation montre que la gamme expérimentale d'indentation induit une faible variation du rayon de contact (7-11 nm pour des indentations de 5 à 50 nm, un rayon de pointe de 50 nm, $E_1 = 3$ GPa et $E_0 = 0$). Cela explique qu'une seule mesure de nanoindentation par AFM ne puisse pas sonder une gamme a/T suffisante pour faire varier de manière importante le module élastique apparent (cf. figure II.26, chapitre II). L'interprétation du modèle de Hertz linéarisé par CHIMER est donc raisonnable puisque l'on peut considérer que les mesures de force sur les MCs ne sondent qu'une seule et unique élasticité apparente.

De manière heuristique, Perriot et Barthel [83] proposent une expression simple se rapprochant du modèle CHIMER :

$$E_{app} \left(\frac{a}{T} \right) = E_1 + \frac{(E_0 - E_1)}{1 + \left(\frac{T x_0}{a} \right)^n} \quad (\text{V.1})$$

où E_0 et E_1 sont respectivement les modules élastiques du substrat et de la couche supérieure, x_0 et n sont des paramètres ajustables. La courbe rouge de la figure V.17 présente l'ajustement du modèle heuristique avec $E_0 = 0$ et $E_1 = 3.0$ GPa (module d'Young du PLGA), $x_0 = 0.05$ et $n = 1.3$. Le rayon de contact a est obtenue via la simulation du modèle CHIMER décrite précédemment. De manière notable, la valeur de x_0 (qui caractérise la position de la gamme de transition) est représentative d'un rapport E_0/E_1 faible (de l'ordre de 10^{-2}) et celle de n (qui caractérise la

largeur de la gamme de transition) est en très bon accord avec la théorie de Perriot et Barthel [83] qui prévoit $n = 1.27$ à 1.32 pour tout rapport $E_0/E_1 < 1$. Cette première approche suggère que le modèle CHIMER est un cadre d'interprétation raisonnable en considérant le cœur liquide fluoré comme infiniment mou par rapport à la coque polymère ($E_0 \ll E_1$) et $R_{pointe} \ll R_{MC}$.

L'approche heuristique ne permet pas de rendre compte de manière physique de la contribution élastique de la couche inférieure. Le modèle CHIMER est alors utilisé pour ajuster les modules élastiques apparents des MCs. Notons ici qu'un module $E_0 = 0$ est impossible dans le cadre de ce modèle, car cela constitue une condition interdite pour laquelle la couche supérieure se déplace verticalement sans se déformer. Les épaisseurs des coques et le module d'Young du PLGA étant connus, il est alors possible d'ajuster la valeur du module E_0 de la couche inférieure. Ce module est alors lui même un module apparent / équivalent traduisant la contribution élastique du PFOB et de la forme sphérique. Cet ajustement par le modèle CHIMER est représenté sur le graphique de la figure V.17. Le module E_0 ainsi ajusté est d'environ 80 MPa. Ce module est donc très inférieur à celui du PLGA, ce qui explique que le bon accord des résultats expérimentaux avec l'interprétation heuristique considérant $E_0 \ll E_1$.

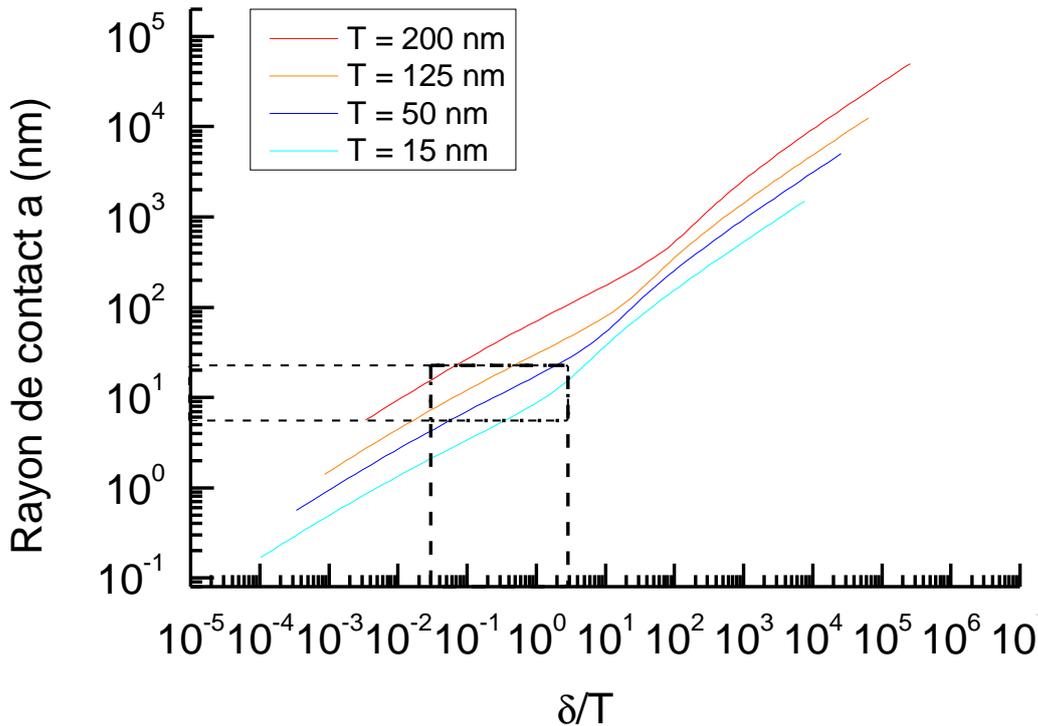


FIGURE V.16 – Simulation par le modèle CHIMER de l'évolution du rayon de contact a en fonction de l'épaisseur des capsules T et de la profondeur d'indentation δ . La gamme expérimentale d'indentation induit une faible variation du rayon de contact durant les mesures (7 à 11 nm). Cela conforte l'utilisation du modèle de Hertz et de CHIMER pour caractériser et interpréter l'élasticité des MC PLGA/PFOB.

Dans le cadre de l'utilisation des capsules polymères comme agents de contraste ultrasonore,

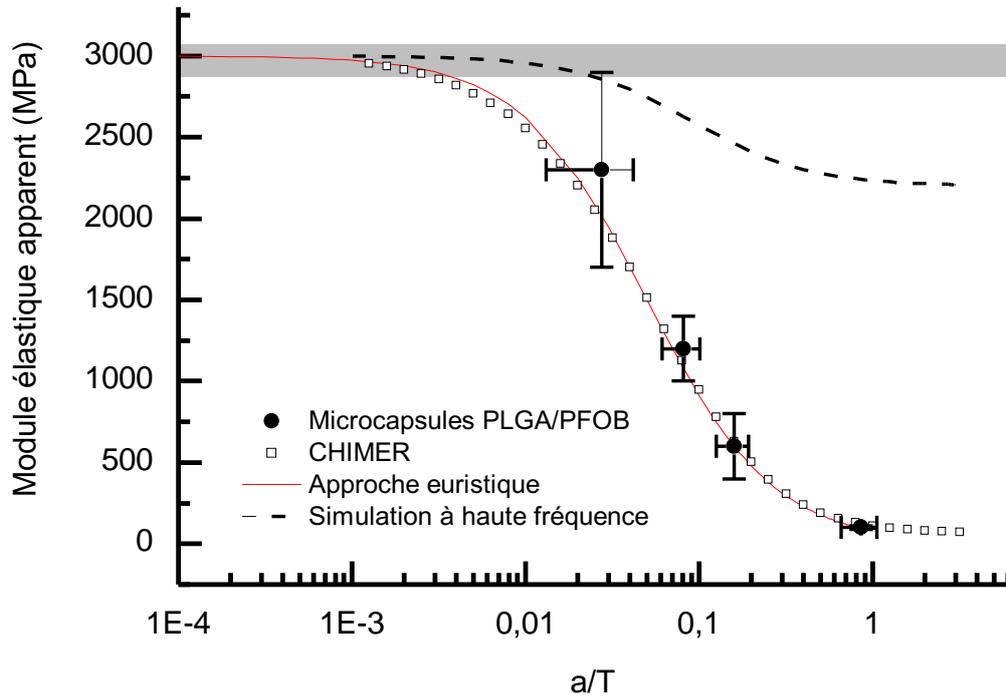


FIGURE V.17 – *Module élastique apparent en fonction du rapport du rayon de contact a et de l'épaisseur T des MCs. La courbe rouge représente l'ajustement des points expérimentaux par le modèle euristique avec $x_0 = 0.05$ et $n = 1.3$ et en considérant $E_{PLGA} \gg E_{PFOB}$. \square : ajustement des points expérimentaux par le modèle CHIMER (algorithme de Perriot et Barthel [83]). La courbe discontinue représente la simulation du comportement élastique des MCs à hautes fréquences (5MHz) avec $E_{PFOB}/E_{PLGA} \approx 0.73$. La zone grise représente le module d'Young des microparticules pleines de PLGA.*

les fréquences mises en jeu sont de l'ordre du MHz. Les mesures de force AFM ne peuvent pas atteindre de telles fréquences. Tout au plus, le mode Peak Force nous a permis d'atteindre des fréquences de l'ordre du kHz (cf. page 90) En revanche, les mesures quasi-statiques (1 Hz) et les mesures de l'élasticité du PLGA effectuées par spectroscopie Brillouin (GHz) [89] nous donnent suffisamment d'informations pour simuler le comportement à haute-fréquence des MCs grâce au modèle CHIMER. Comme nous l'avons vu précédemment (cf. partie IV.3.2), l'élasticité du PLGA ne semble pas dépendre fortement de la fréquence. En revanche, André et al. [117] ont effectué des mesures de spectroscopie acoustique et rapportent que le PFOB acquiert un comportement élastique à haute fréquence. Ainsi, à 5 MHz, le PFOB présente un module élastique volumique de 2.18 GPa. Cela peut être expliqué en supposant que le PFOB suit le modèle de Maxwell. À haute fréquence, le piston Newtonien ne peut pas répondre à la sollicitation et dissipe peu l'énergie. Seul le ressort Hookéen sera alors sollicité et un liquide peut ainsi acquérir un comportement élastique. La courbe discontinue de la figure V.17 présente la simulation du comportement élastique des MCs à haute fréquence par le modèle CHIMER avec $E_0 = 2.18$ GPa et $E_1 = E_{PLGA} = 3$ GPa. Cette simulation considère donc les MCs comme un film de PLGA reposant sur un substrat de PFOB à haute fréquence. La contribution de la forme sphérique décrite et ajustée précédemment

est ici négligée. En effet, cette contribution, de l'ordre de 80 MPa est relativement faible par rapport aux modules du PLGA et du PFOB à haute fréquence. Alors que l'élasticité apparente des coques dépend fortement de leur épaisseur à fréquence quasi-statique (1 Hz), cette dépendance est beaucoup moins forte à hautes fréquences en raison de la rigidité acquise par le PFOB. Ainsi, il est intéressant de constater que le comportement des MCs soumises à une onde acoustique à haute fréquence tend à être semblable à celui d'un objet homogène. La complexité mécanique de l'objet quasi-statique s'efface donc au profit d'un comportement élastique plus simple qui n'est plus drastiquement influencé par l'épaisseur de la coque de PLGA.

V.2.3 Visco-plasticité et rupture des MCs PLGA/PFOB

La visco-plasticité des MCs PLGA/PFOB est observée en imageant les capsules après indentation. La figure V.18 présentent des images topographiques de MCs avant et après application d'une force de 500 nN. Deux types de déformations résiduelles sont visibles. Premièrement, pour des profondeurs d'indentation faibles, les déformations résiduelles sont semblables à celles observées sur les films de PLGA et sont dues à l'accumulation de matière au bord de l'indenteur (image V.18(b)). À ce stade, les coques sont localement déformées et la méso-déformation (i.e. changement de diamètre dans le plan xy) et la déformation normale (i.e. changement de diamètre dans l'axe z) sont négligeables par rapport à la déformation locale de la coque. Ce type de déformations résiduelles, liées à la viscosité importante du PLGA, sont ainsi comparables aux déformations des films de PLGA décrites précédemment (page 87).

Au-delà de ces déformations visqueuses, il est possible de rompre les capsules pour des forces variant en fonction de l'épaisseur des coques de PLGA. Les courbes de force présentées à la figure V.19 sont typiques de la rupture plastique des coques. Un brusque changement de régime est mis en évidence et la force n'augmente plus alors que la pointe pénètre dans le cœur de PFOB. En raison de la polydispersité en taille des microcapsules qui n'ont pas passé la membrane SPG (cf. partie V.1.2), il est possible d'obtenir un dépôt de MCs ayant une large gamme de diamètre et un rapport T/R identique. L'image V.19(a) présente donc des MCs de diamètres et d'épaisseur de coque différents, les plus grandes MCs ayant une coque plus épaisse et inversement. L'indentation de ces MCs avec une force dépassant le régime élastique montre que la rupture plastique intervient pour des indentations de l'ordre de $0.4 T$, ce qui est bien inférieur au changement de régime élastique décrit par Pauchard et Rica [63] intervenant pour $\delta \approx 2 T$ (pour une balle élastique macroscopique). Cela est principalement dû à la forme et aux dimensions de l'indenteur qui induisent un cisaillement et une pression importante. De plus, la fissuration des capsules rompue est notable (image V.18(d) et V.19(c)). Le module élastique relativement élevé du PLGA ainsi que sa faible ténacité mise en évidence en microindentation Vickers (cf. partie IV.5.2) permet de se figurer les MCs comme de petites sphères creuses, dures et cassantes.

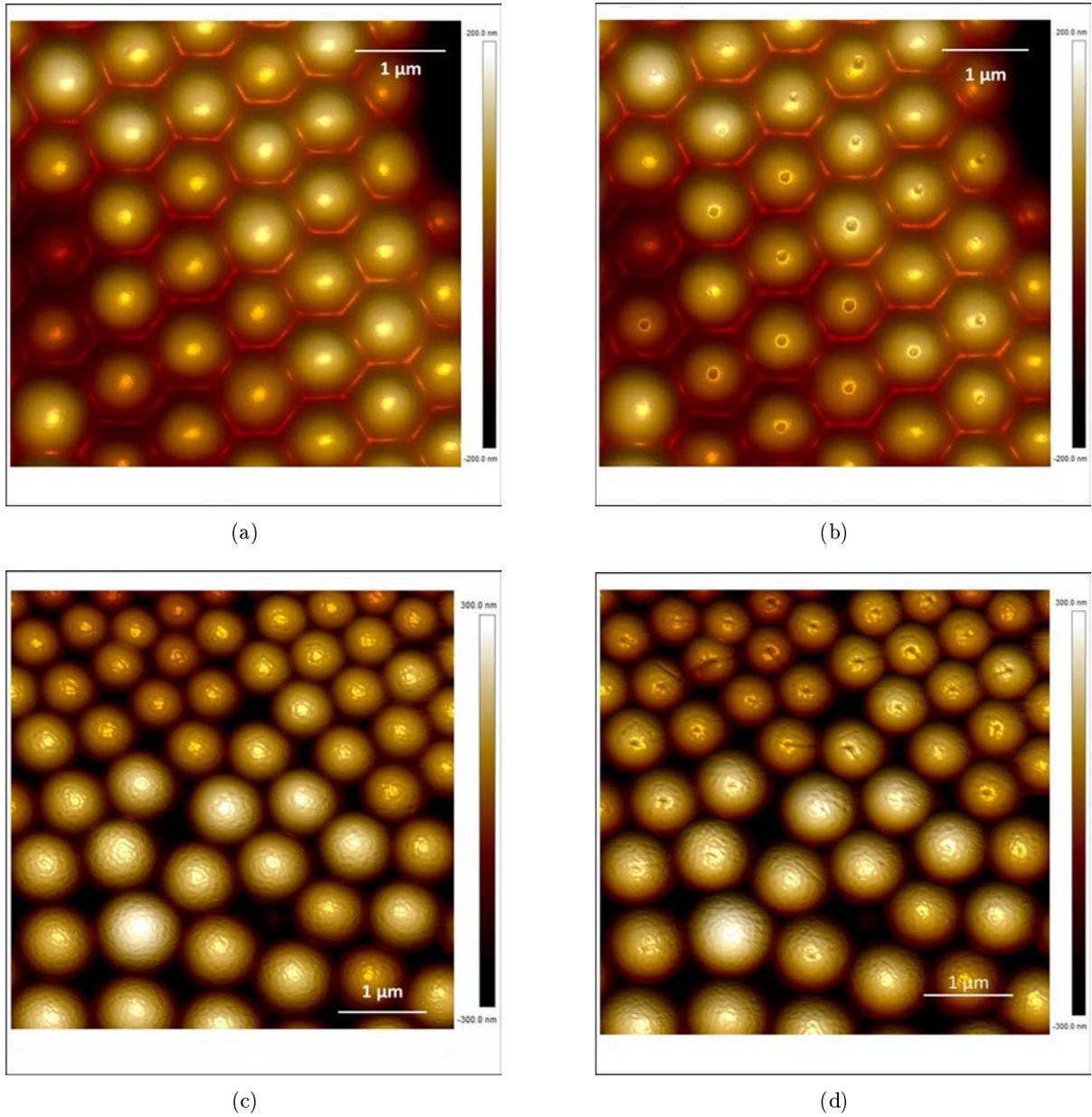


FIGURE V.18 – Image de microscopie à force atomique de MCs PLGA/PFOB $T/R = 0.15$ (a et b) et $T/R = 0.25$ (c et d) avant et après nanoindentation. Les déformations plastiques sont visibles et on observe des fissures sur certaines coques.

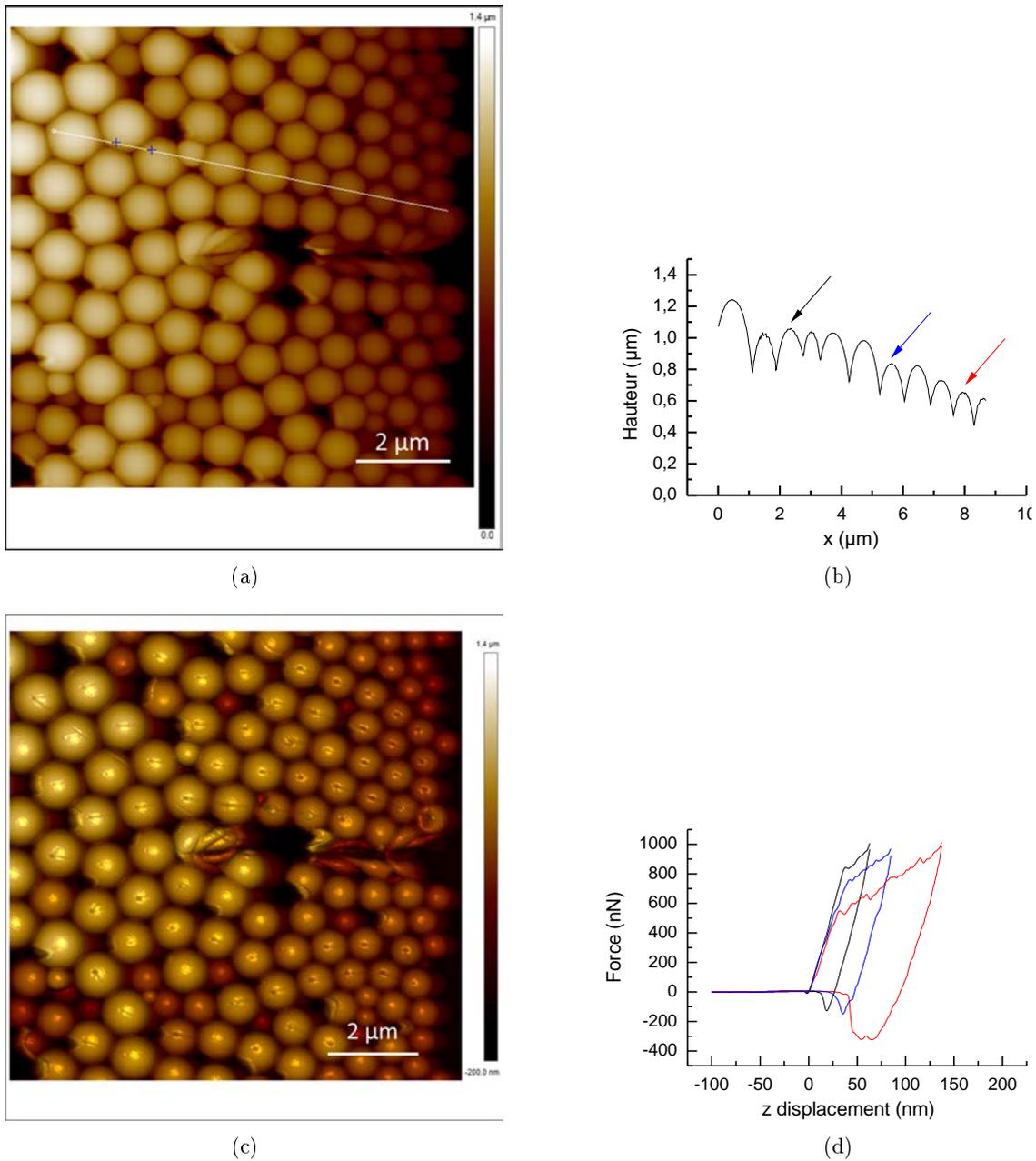


FIGURE V.19 – Ruptures plastiques de MCs PLGA/PFOB ($T/R = 0.25$). Des capsules de diamètre 1.0, 0.82 et 0.65 μm (l'épaisseur de la coque est donc respectivement 125, 100 et 80 nm) sont indentées avec une force de 1 μN. Après un comportement élastique hertzien, les coques sont rompues. Plus la coque est fine, plus la force et l'indentation) nécessaires à la rupture sont faibles. Avec une pointe de 20 nm de rayon, la rupture des coques intervient pour $\delta = 0.4T$.

V.2.4 Effet de la température sur l'élasticité des microcapsules

Les capsules PLGA/PFOB ayant pour objet le transport et l'interaction en milieu biologique, il est important de s'intéresser à l'effet de la température sur leurs propriétés mécaniques. En effet, les MCs doivent être injectées plusieurs heures avant d'atteindre l'organe ciblé. Rappelons ici que la température de transition vitreuse du PLGA (i.e. température à laquelle le polymère passe de l'état vitreux solide à un état caoutchouteux caractérisé par une chute de la viscosité) est aux alentours de $42\text{ }^{\circ}\text{C}$, ce qui se situe au-delà de la température corporelle $37.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Néanmoins, la température de transition vitreuse est un paramètre qui peu varier fortement, notamment pour des raisons cinétiques. Ainsi, nous avons vu précédemment que le PLGA s'écoulait à l'échelle nanométrique en deçà de la T_g , à $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ (cf. partie IV.4).

L'indentation des MCs est effectuée à sec et à température ambiante après incubation en milieu aqueux à différentes température, $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h et $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 60 min. On observe une nette diminution du module élastique des MCs après incubation. Après 24 h à $38\text{ }^{\circ}\text{C}$, le module d'Young des MCs PLGA/PFOB ayant un rapport T/R = 0.25 est de $0.89 \pm 0.24\text{ GPa}$ ce qui est 30 % inférieur à la valeur obtenue avant incubation. Cette valeur est relativement proche de celle obtenue après une heure d'incubation à $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. La même tendance est observée pour les capsules ayant une coque plus épaisse (T/R = 0.35). Étant donné que ces mesures sont effectuées à l'air et à température ambiante, on peut exclure une diminution du module élastique du PLGA. Il semblerait donc que cette diminution du module élastique des MCs après incubation soit due à une diminution de leurs épaisseurs. Les images AFM (figure V.21) montrent des sphères relativement lisses et la surface visible entre les MCs comporte un film qui est probablement constitué de PLGA libre. Ainsi, la capsule de PLGA est progressivement amincie lors de l'incubation et le PLGA se libère dans le solvant. Cela explique à la fois la présence de PLGA libre à la surface des substrats après séchage d'une goutte de solution mais aussi la diminution du module élastique en raison de l'amincissement des coques. Pisani et al. [106] ont décrit la stabilité des capsules PLGA/PFOB à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ en solution aqueuse et montrent au contraire une augmentation du diamètre des capsules après 4h d'incubation. Cette augmentation en solution est probablement due à l'hydrolyse du polymère qui induit un gonflement de la coque. En effet, le PLGA se dégrade par hydrolyse de ses liaisons esters en présence d'eau. Il a été montré que le temps requis pour cette dégradation est relatif au ratio de monomères (glycolide/lactide) [118]. Ainsi, plus la concentration en unité glycolide est importante, plus la dégradation est rapide. Le copolymère 50 :50 présente une dégradation par hydrolyse d'environ 100 jours (perte de 100 % de la masse sèche du polymère) à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dans notre cas, le PLGA hydrolysé se détache des coques lors du séchage, ce qui explique leur amincissement et la diminution de leurs modules élastiques équivalents.

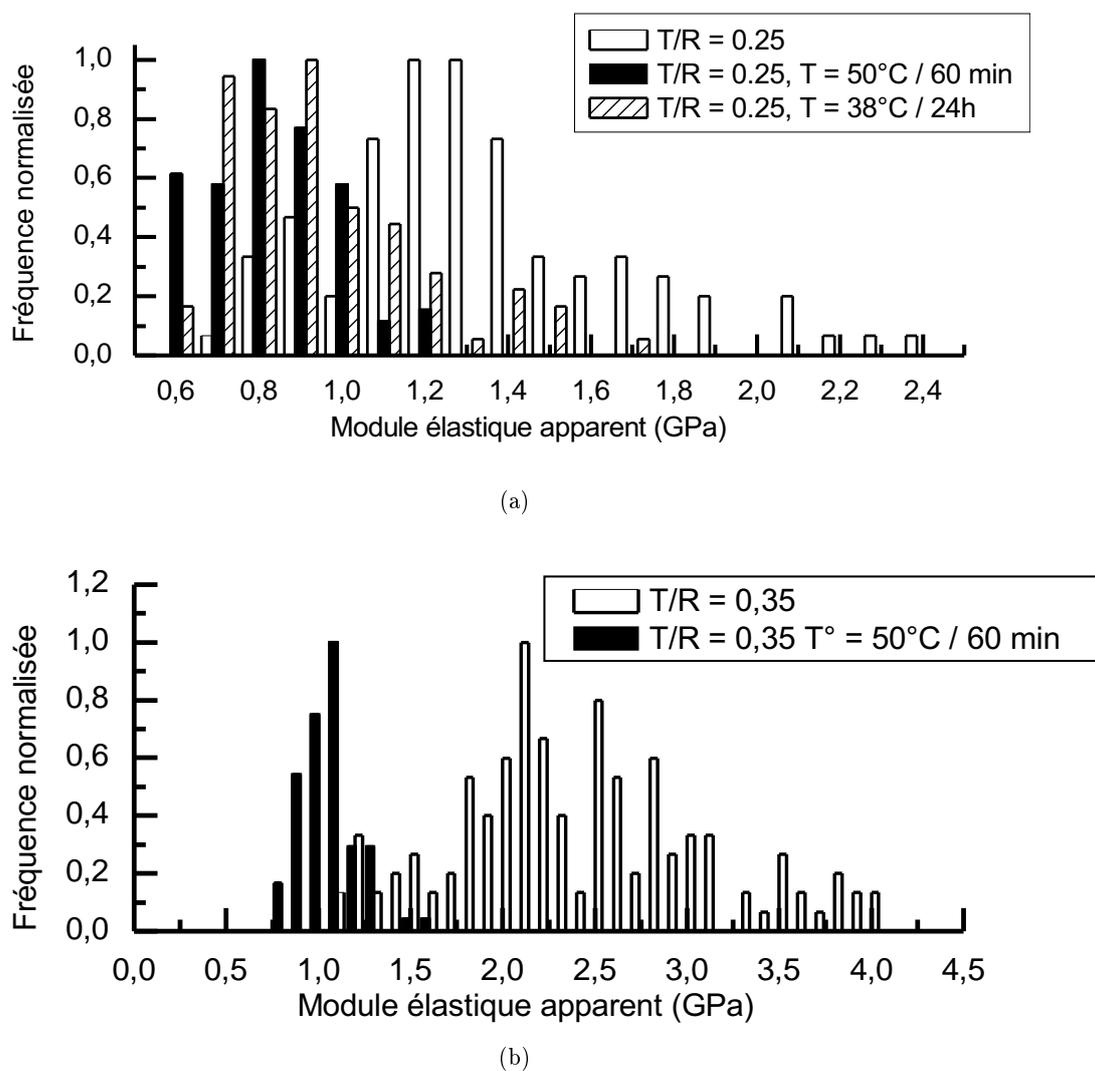


FIGURE V.20 – Statistique des modules élastiques de microcapsules PLGA/PFOB après recuit à 38° C (24h) et 50° C (60 min) : (a) MC T/R = 0.25 et (b) MC T/R = 0.35. Les mesures de force sont effectuées à température ambiante.

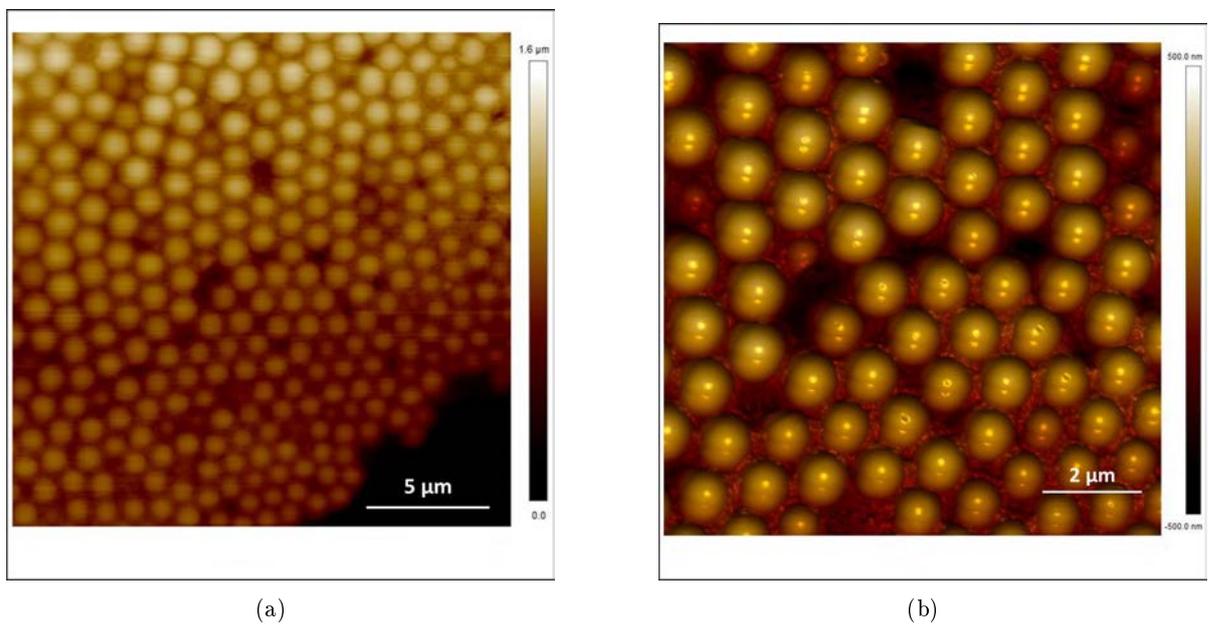


FIGURE V.21 – Image topographique AFM de MC PLGA/PFOB ($T/R = 0.25$) après recuit en solution aqueuse à $38^{\circ}C$ pendant 24h. Du polymère libre est visible à la surface sous la forme d'une couche irrégulière.

V.3 Nanocapsules PLA-PEG/PFOB

V.3.1 Description des nanocapsules PLA-PEG/PFOB

L'administration de nanomédicaments par voie intraveineuse suppose que les objets soient suffisamment petits pour être extravasés et atteindre les cellules cibles. En-deçà de 10 nm de diamètre, les nanoparticules sont rapidement filtrées hors de la circulation sanguine à travers les capillaires glomérulaires des reins. Au-delà de 500 nm de diamètre, l'opsonisation¹ peut se produire, suivie de l'absorption par des macrophages et la ségrégation dans les organes tels que le foie, la rate et le thymus. Ainsi, une taille de 100 nm de diamètre paraît optimale pour l'application médicale par voie intraveineuse [102].

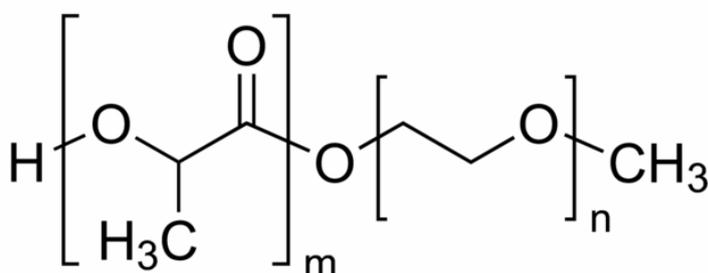


FIGURE V.22 – Formule chimique du PLA-PEG, poly(éthylène glycol)-block-poly(D,L-lactide).

L'étude de l'élasticité de ces nanocapsules théranostiques constitue le point d'orgue de ce manuscrit. En prenant en compte les résultats encourageants obtenus sur les microcapsules PLGA/PFOB ayant des épaisseurs de coques variables, nous avons analysé les courbes de force obtenues en milieu aqueux sur des nanocapsules qui sont très proches des particules théranostiques par voie intraveineuse. La coque des nanocapsules étudiée dans ce chapitre est constituée d'un copolymère à bloc PLA-PEG, poly(éthylène glycol)-block-poly(D,L-lactide). Le PLA participe à la rigidité de la coque – comme le PLGA dans le cas précédent des microcapsules – et le PEG permet de réduire l'opsonisation et donc de rendre les particules furtives au processus immunitaire. Notons ici que le PLA-PEG constituant les nanocoques se comporte comme un polymère vitreux et ne présente pas forcément d'orientation privilégiée des chaînes PEG vers l'extérieur. Nous ferons donc l'hypothèse d'une isotropie des chaînes polymères au sein des coques. La synthèse de telles particules s'effectue soit par nanopréciipitation soit par un processus d'émulsion-évaporation semblable à celui décrit pour les microcapsules PLGA-PFOB. Le protocole de ces synthèses est décrit dans l'article de Diou et al. [119]. Pour des raisons de stabilité, un seul rapport $T/R = 0.4$ est disponible pour les nanocapsules PLA-PEG/PFOB. Des nanoparticules (NPs) pleines de PLA/PEG ont aussi été synthétisées et seront indentées pour obtenir une élasticité de référence.

1. Opsonisation : processus biochimique par lequel une molécule (opsonine) recouvre un objet indésirable pour favoriser la phagocytose par une cellule dotée de récepteurs pour l'opsonine

V.3.2 Préparation des échantillons pour l'indentation en milieu aqueux

Afin de s'approcher au mieux des conditions physiologiques, l'élasticité des nanoparticules PLA-PEG et des nanocapsules PLA-PEG/PFOB a été testée en milieu aqueux. Une cellule AFM spéciale permet d'immerger entièrement l'échantillon, le levier et la pointe dans une goutte d'eau (figure V.23). Cette manipulation peut s'avérer particulièrement délicate si le dioptre air/eau induit une réfraction importante du laser et une perte de signal sur la photodiode. Bien que la raideur des leviers AFM ne soit pas modifiée par le passage en milieu aqueux, il est préférable d'effectuer une calibration dans l'eau, notamment pour la mesure du spectre de bruit thermique. En effet, comme il a été montré au chapitre I, partie I.2.1, l'amortissement de l'amplitude et de la fréquence de résonance du levier induit un décalage du pic de la première harmonique et le calcul de la raideur du levier par la méthode du *Thermal Tune* en liquide permet de s'assurer de la similarité de la raideur du levier à l'air et dans l'eau.

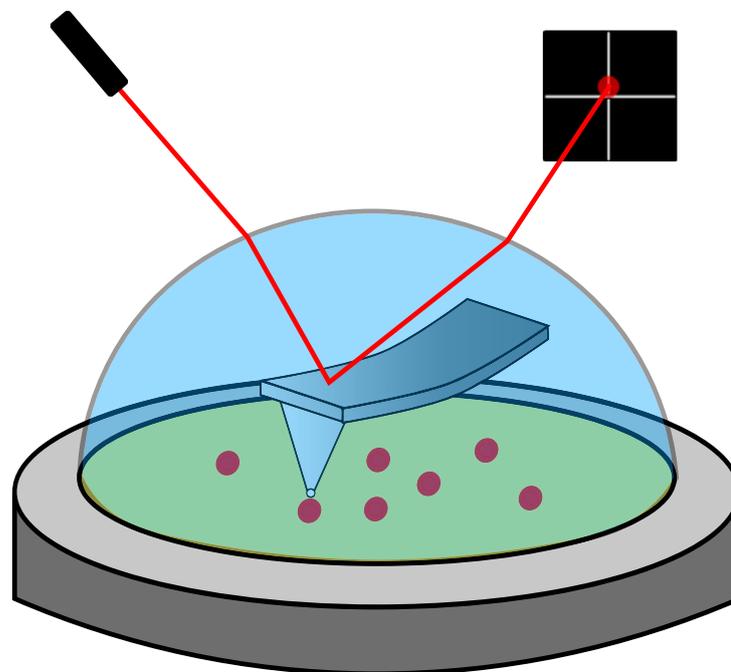


FIGURE V.23 – Schéma de la cellule liquide permettant la nanoindentation des NCs en solution aqueuse.

Une des difficultés majeures de l'indentation d'objets isolés en milieu liquide est la fixation de ces objets sur le substrat. En effet, l'approche du levier AFM, même à vitesse très faible ($< 1 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) induit un effet hydrodynamique important à l'échelle des objets étudiés. Il n'est donc pas rare d'observer des objets se mouvoir à la surface et dans la goutte, même après plusieurs dizaines de minute de sédimentation. La fixation des NCs par un greffage chimique au substrat s'impose donc comme le meilleur moyen d'obtenir une couverture stable de particules sur une surface en milieu aqueux. La contrainte majeure consiste à développer un greffage n'ajoutant pas de couches élastiques épaisses qui influenceraient les résultats de nanoindentation. Ce cahier des charges nous a conduit à choisir un greffage des NCs sur des surfaces d'or aminées commerciales (Xantex Sensorchips®) comportant une couche d'or aminée de 5 à 20 nm d'épaisseur.

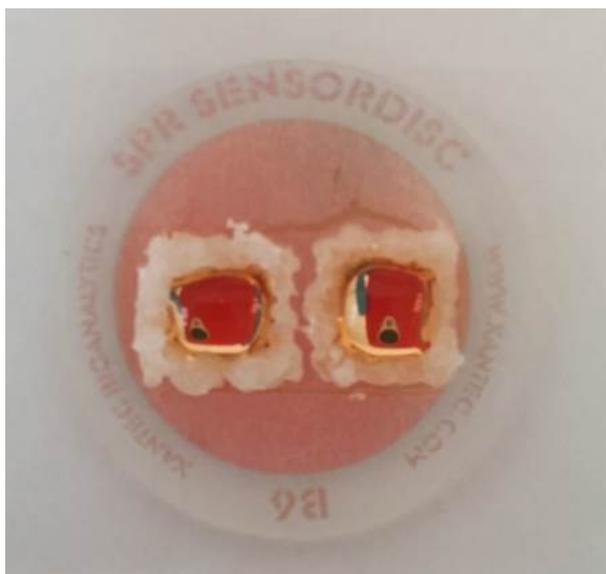


FIGURE V.24 – Substrat d’or lors du greffage des NCs PLA-PEG/PFOB. Deux puits de paraffine délimitent deux zones de greffage distinctes.

Deux puits de paraffine sont formés sur ces surfaces. Ces puits permettent le dépôt et le séchage des solutions de greffage (cf. figure V.24). Dans un premier temps, les NCs sont placées dans une solution aqueuse (tampon acétate pH 5.0) à une concentration de 10 mM. Un volume de 200 μL de suspension $\text{NCs}/\text{H}_2\text{O}$ est placé sous agitation pendant 10 min avec 100 μL de NHS (N-hydroxy succinimide) (0.1 M) et 100 μL d’EDC (1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride) (0.4 M). L’EDC permet de catalyser la formation d’une liaison entre le groupe carboxy du PEG des NCs et le groupe amine du NHS. Le couplage des NCs avec la surface d’or aminée s’effectue en plaçant une goutte de 5 μL de NCs activées dans un puit de paraffine. Le NHS est alors remplacé par les fonctions amines présentes à la surface du substrat et le greffage est ainsi obtenu (figure V.25). Après 10 min, le puit est rincé avec 40 μL de tampon phosphate salin (PBS). Les puits de paraffine sont ensuite retirés de la surface et celle-ci est conservée dans un dessiccateur.

La surface est imagée en liquide (eau pure) par microscopie à force atomique pour évaluer la couverture de NCs obtenue après greffage (figure V.26). Deux constatations peuvent être faites en observant ces images. Premièrement, la répartition des NCs à la surface est optimale pour une étude de nanoindentation : les objets sont nombreux et forment une seule et unique couche. De plus, ils sont stables à la surface pendant l’imagerie, ce qui est encourageant pour les mesures de force. Deuxièmement, une polydispersité importante du diamètre des NCs est observée. L’histogramme de la figure V.27 présente la dispersion du diamètre des NCs sur une surface de 10 μm^2 . Le diamètre est mesuré comme étant la hauteur de chaque objet car les dimensions dans l’axe xy souffrent de la convolution avec la pointe AFM. Par la suite, nous nous intéresserons uniquement aux nanocapsules comprises entre 100 nm et 150 nm de diamètre afin d’améliorer la qualité et la précision du contact à leur sommet.

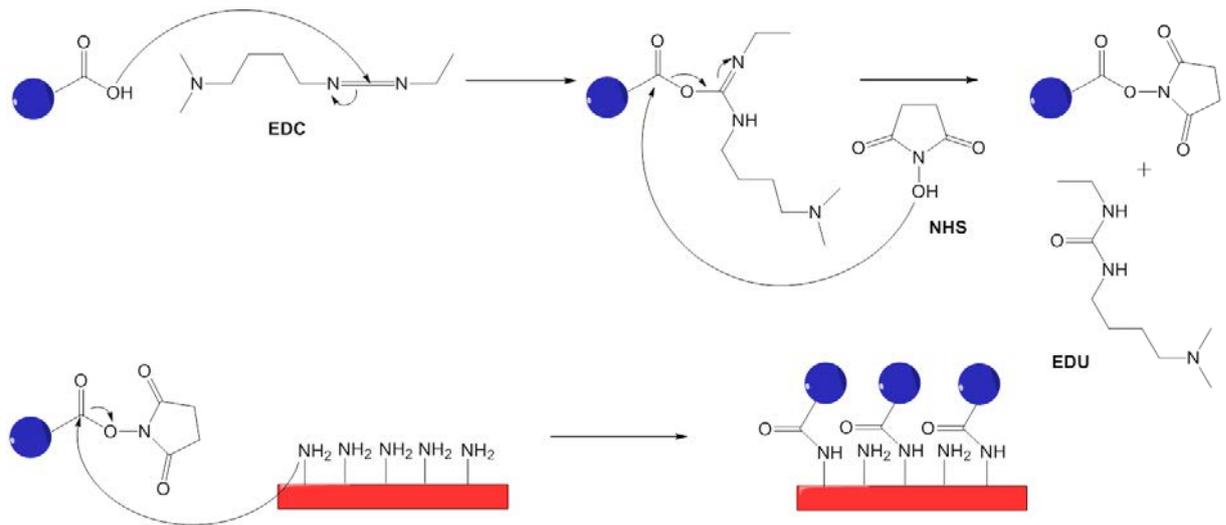


FIGURE V.25 – Schéma du greffage des nanocapsules PLA-PEG/PFOB sur un substrat d'or aminé.

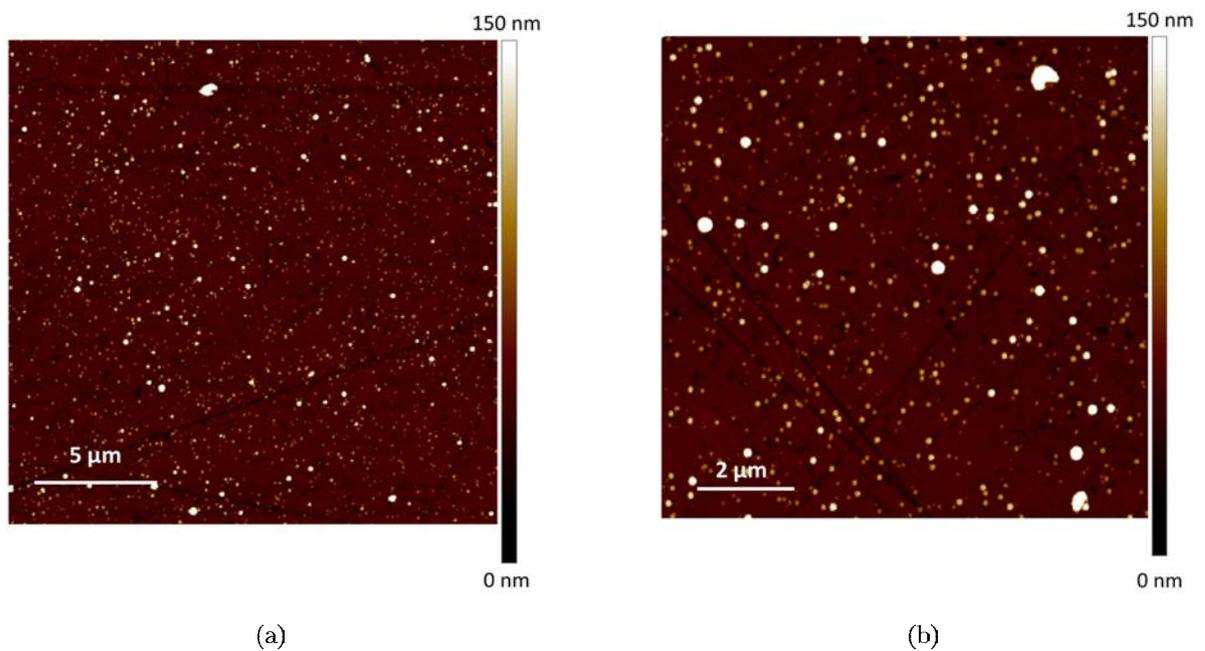


FIGURE V.26 – Images AFM en milieu aqueux de NCs PLA-PEG/PFOB greffées sur une surface d'or.

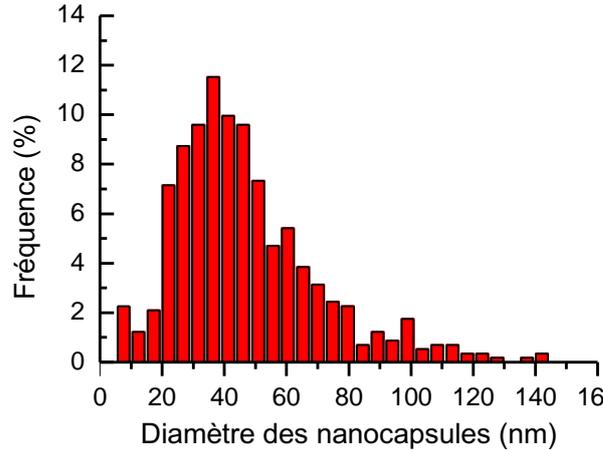


FIGURE V.27 – Dispersion du diamètre des NCs sur une surface de $10 \mu\text{m}^2$ (573 particules comptées).

V.3.3 Indentations de NPs et NCs en milieu aqueux

Les nanoparticules (NPs) de PLA-PEG et les nanocapsules de PLA-PEG à coeur de PFOB ont été indentées en milieu aqueux par la méthode du *Point and Shoot* décrite précédemment (page 87). À notre connaissance, le module d'Young du PLA-PEG n'a pas de valeur de référence étant donné qu'il dépend à la fois de la taille des blocs PLA et de celle des blocs PEG. Cependant, la littérature rapporte un module d'Young du PLA de l'ordre de 2 GPa [120] alors que le module d'Young du PEG est de l'ordre de quelques MPa [121]. L'élasticité du copolymère PLA-PEG sera donc naturellement comprise entre ces deux valeurs, le PLA contribuant à la rigidité du matériau alors que le PEG est beaucoup plus mou. Dans notre cas, les mesures effectuées sur les NPs feront office de référence de l'élasticité du PLA-PEG. On constate un très bon accord avec le modèle de Hertz ($F \propto \delta^{3/2}$), ce qui est cohérent avec le type de contact sphère-sphère. Notons que le rayon effectif R est influencé par le rayon des particules car celui-ci n'est pas négligeable devant celui de la sonde. Ainsi, pour un rayon de sonde de 15 nm et un rayon de nanoparticules de 50 nm, le rayon effectif R est de l'ordre de 11.5 nm. Le module d'Young des NPs ainsi mesuré est de 652 ± 50 MPa (figure V.28).

La figure V.29(a) présente les courbes de force effectuées sur des NCs de 116 à 160 nm de diamètre. Celles-ci présentent un comportement en loi de puissance (figure V.29). Grossièrement, les premiers nanomètres d'indentation (0-8 nm) décrivent une loi de puissance 1.2 alors que les indentations de 8 à 30 nm décrivent une loi de puissance 0.6 (figure V.29(b)). Ces valeurs sont comparables à celles que rapportent Pauchard et al. [63] pour le régime de déformation plane et le régime de flambage. À ce stade, il serait prématuré de considérer les nanocapsules comme une bicouche plane telle que décrite par le modèle CHIMER. En effet, le rapport des dimensions des coques et des pointes utilisées n'est plus favorable à l'approximation d'un contact sphère - plan ($R_{\text{pointe}}/R_{\text{NCs}} \approx 20\%$).

La figure V.30 présente une image AFM en milieu aqueux de NCs PLA-PEG soumises à des indentations avec une pointe fine ($R = 15$ nm) et des forces de 200 nN. On constate que les

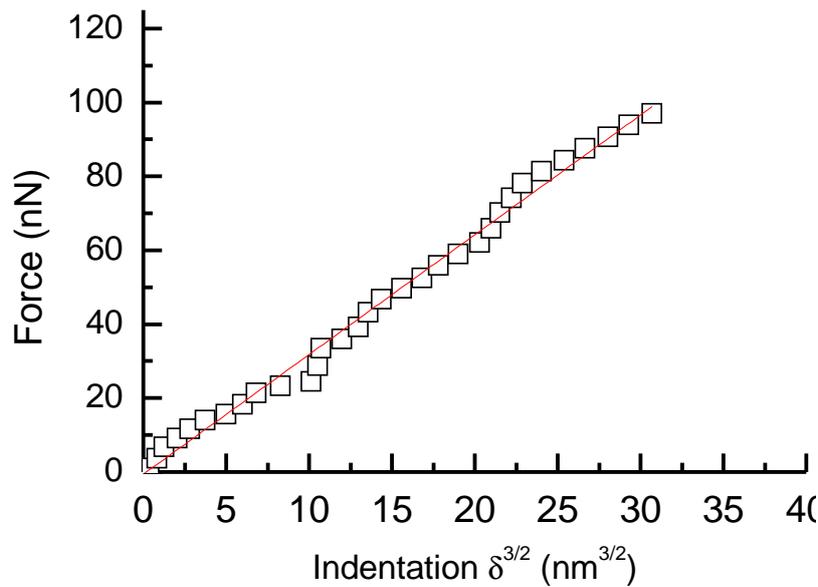


FIGURE V.28 – Courbe de force sur une nanoparticule PLA-PEG de 140 nm de diamètre. La courbe rouge est un ajustement Hertzien donnant $F/\delta^{3/2} = 3.24 \pm 0.04 \text{ nN.nm}^{-3/2}$ soit une module d'Young calculé par le modèle de Hertz de $E = 652 \text{ MPa}$ ($R = 11.5 \text{ nm}$, $\nu = 0.3$)

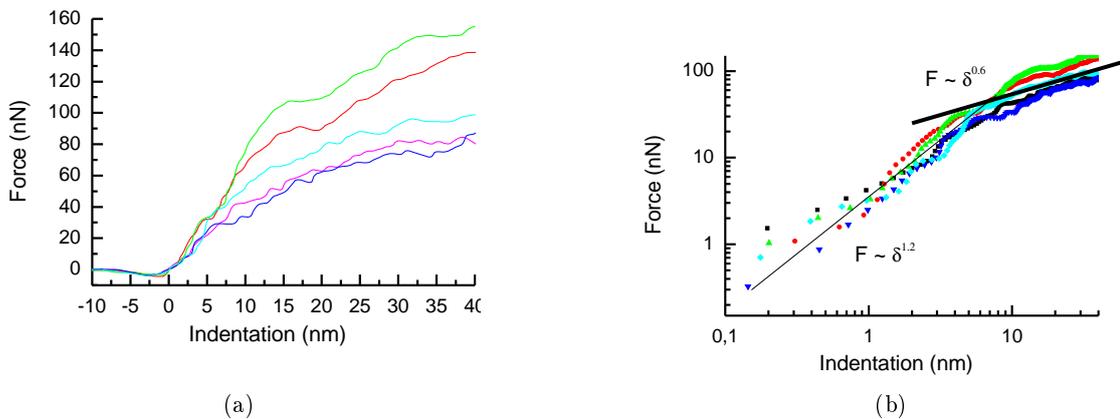


FIGURE V.29 – (a) Courbe de force sur différentes NCs de 116 à 150 nm de diamètre. (b) Représentation des courbes de force en échelle logarithmique. On observe une décroissance de la puissance en fonction de la profondeur d'indentation. Deux régimes peuvent être grossièrement distingués. Un premier régime correspondant à une déformation quasi-Hertzienne ($F \propto \delta^{1.2}$) et un second régime, combinant certainement flambage et plasticité ($F \propto \delta^{0.6}$).

NCs sont déformées de manière irréversible. Les NCs PLA-PEG/PFOB ($T/R = 0.4$) ont des épaisseurs de coque de 20 à 30 nm (pour des diamètres de 100 à 150 nm). Si l'on se réfère aux résultats obtenus sur les microcapsules PLGA/PFOB (page 122), la rupture des coques intervient pour une indentation δ de l'ordre de $0.4 T$. Dans le cas des NCs, la rupture des coques interviendrait donc pour des indentations de l'ordre de 8 à 12 nm. Or, nous n'observons pas de comportement de rupture franche comme illustré page 124 pour les capsules micrométriques. Au contraire, il semble que les courbes de force décrivent une diminution continue de l'élasticité en

fonction de la profondeur d'indentation. De plus, la dispersion des courbes est importante bien que leur comportement général en loi de puissance soit toujours présent (figure V.29(b)).

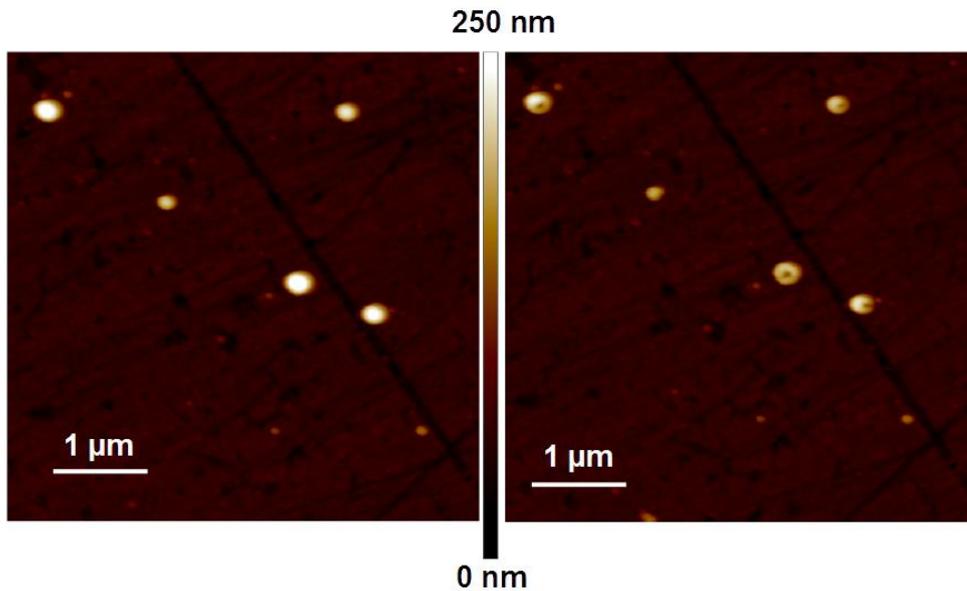


FIGURE V.30 – Images topographiques AFM en milieu aqueux de nanocapsules PLA-PEG/PFOB greffées sur une surface d'or avant (à gauche) et après (à droite) nanoindentation. Les nanocapsules sont déformées de manière irréversible mais n'ont pas été déplacées pendant l'indentation.

L'utilisation du modèle de Hertz, cohérent au premier ordre avec les premiers nanomètres d'indentation (régime de déformation dit "quasi-Hertzien") est rendue difficile par le bruit important des courbes de force. Cependant, de manière qualitative, il est à noter que les pentes décrites pour les NCs à faibles indentations sont plus faibles que celles décrites sur les nanoparticules pleines de PLA-PEG, indiquant que les NCs sont plus molles que les NPs. Cette constatation est cohérente avec la description élastique des microcapsules effectuée précédemment.

V.4 Conclusion sur l'indentation des capsules polymères

L'étude des capsules polymères par nanoindentation nous a montré que leur comportement mécanique ne peut pas être seulement appréhendé par les descriptions théoriques de l'élasticité des enveloppes telles que présentées par Pauchard et al. [63] (cf. partie II.2.3). En effet, dans le cas des microcapsules PLGA/PFOB, un seul et unique régime est visible avant la rupture plastique des coques qui intervient pour des indentations de l'ordre de 0.4 fois leurs épaisseurs. Le rapport des dimensions des coques et des pointes utilisées est favorable à l'approximation d'un contact de type sphère/plan et le modèle CHIMER permet une bonne description du système en considérant la microcapsule comme un substrat très mou sur lequel repose un film mince et rigide. Par ailleurs, l'ajustement du modèle CHIMER sur les données expérimentales montre que le module d'Young de la couche inférieure est trente fois inférieur à celui du film de PLGA, confortant ainsi l'hypothèse précédente. La nature du module de la couche inférieure est discutable. En effet, il s'agit probablement d'un module élastique apparent prenant en compte la contribution élastique de la forme sphérique. Cette interprétation est sujette à caution mais représente une bonne description au premier ordre du système étudié. L'intégration de la sphéricité et des phénomènes de traction au sein d'un modèle plus complet permettrait certainement de rendre compte de manière plus précise de l'élasticité des coques.

Néanmoins, l'accord du modèle CHIMER avec les résultats expérimentaux nous permet de disposer d'un algorithme prédictif pour simuler le comportement élastique des MCs à haute-fréquence. En faisant de nouveau l'hypothèse que le contact entre les MCs et la pointe AFM est de type sphère-plan (MCs = film plan sur un substrat semi-infini) et en prenant en considération les modules élastiques à haute fréquence des matériaux composant les capsules, nous avons mis en évidence que leur comportement élastique ne dépendait plus aussi drastiquement de l'épaisseur des coques. En effet, à des fréquences de l'ordre du MHz, le liquide fluoré acquiert un comportement élastique relativement identique à celui du polymère composant la coque. La simulation montre donc que le comportement élastique des MCs à haute fréquence tend à s'homogénéiser et dépend de moins en moins de l'épaisseur de la coque polymère. Cette information est d'une importance capitale, notamment dans le cadre d'une exposition des MCs à des ultrasons pour l'imagerie médicale ou pour la destruction par cavitation (MHz), puisque les objets ne seront plus à considérer comme des coques mais comme des particules sphériques relativement homogènes.

L'étude des nanocapsules PLA-PEG/PFOB en milieu aqueux a représenté un défi important. La nanoindentation de ces particules a nécessité leur greffage à la surface. Cependant, ce greffage se confrontait à un cahier des charges contraignant. La couche de greffage devait être suffisamment fine pour ne pas perturber la mesure de l'élasticité des NPs et NCs. Le choix d'un greffage sur une fine surface d'or a permis à la fois la fixation des coques et l'obtention d'un substrat qui restait très rigide par rapport aux objets indentés. La nanoindentation des nanocapsules PLA-PEG/PFOB s'est avérée être un cas intéressant. Les dimensions des sondes étant du même ordre que celui des NCs, l'hypothèse d'un contact sphère-plan n'est plus acceptable. Dans ce cas, le modèle CHIMER n'est pas adapté sans profondes modifications. Les courbes de force obtenues décrivent des lois de puissance laissant entendre que l'élasticité diminue avec la profondeur d'indentation. Notamment,

il est possible de faire un rapprochement entre la diminution de la loi de puissance décrite par les courbes de force sur les NCs et la description de l'élasticité des coques de Pauchard et al. [63]. Cela indiquerait qu'un régime de flambage pour les fortes indentations suivrait un régime de déformation quasi-Hertzien à faible indentation. Des investigations plus poussées devraient être faites en ce sens afin de pouvoir interpréter avec précision l'élasticité apparente des NCs en fonction de la profondeur d'indentation.

Conclusion générale et perspectives

L'étude du comportement mécanique des nanotechnologies est un enjeu majeur de leur optimisation. Confronté à la diversification exponentielle de leurs champs d'application, les objets nano et micrométriques prennent des formes et des compositions de plus en plus variées. Tubes, sphères, capsules, films minces, cristaux, les nanotechnologies exploitent les formes géométriques autant que les matériaux. La plupart de ces objets profitent des propriétés de la matière molle (polymères, colloïdes, tensioactifs, cristaux liquides, protéines...) et s'inscrivent donc à la frontière entre la physique des solides et celles des liquides. L'étude du comportement mécanique est rendue difficile par cette hétérogénéité de composition et de forme, mais aussi et avant tout par l'échelle d'étude. La microscopie à force atomique permet la mesure de force à l'échelle nanométrique. Nous avons vu qu'il est indispensable d'opérer un protocole de calibration rigoureux afin d'obtenir des résultats quantitativement pertinents. Ces difficultés expérimentales ne sont pas à négliger et les paramètres que sont la géométrie de la pointe et la raideur du levier vont être déterminants pour effectuer une mesure fiable de la force et de la profondeur d'indentation.

Durant cette thèse, deux systèmes ont été principalement étudiés : des films plans (plaques) et des capsules remplies d'un liquide (enveloppes). Deux types de polymères constituent ces systèmes : un élastomère mou, le polydiméthylsiloxane (PDMS) et trois polymères amorphes relativement durs, le chitosan, l'acide poly(lactic-co-glycolic) (PLGA) et le poly(éthylène glycol)-block-poly(D,L-lactide) (PLA-PEG). Nous avons mis en évidence les difficultés expérimentales et théoriques inhérentes à la caractérisation de l'élasticité d'objets complexes. Les modules élastiques mesurés de ces systèmes complexes ne sont qu'apparents car ils dépendent de la profondeur d'indentation ou de l'aire de contact, de la forme de l'indenteur et de l'élasticité volumique des matériaux mis en jeu. Ainsi, il a été indispensable de développer des outils permettant l'interprétation de ces modules élastiques dits *équivalents*.

Le modèle CHIMER (Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response) est un outil semi-analytique permettant de décrire la réponse élastique d'un film plan reposant sur un substrat semi-infini et déformé par un indenteur. CHIMER modélise l'évolution du module élastique équivalent en fonction de l'aire de contact et de l'épaisseur du film. L'élasticité équivalente est ainsi comprise entre l'élasticité de la couche inférieure et celle de la couche supérieure. Le modèle CHIMER implique donc qu'une seule et unique expérience d'indentation (une seule et unique courbe de force) sonde une multitude d'élasticités en fonction de la profondeur de la déformation.

Pour valider le modèle CHIMER, nous avons choisi d'étudier l'élasticité d'un film de chito-

san reposant sur un substrat de PDMS. Les épaisseurs et le module d'Young du chitosan et du PDMS sont connus et CHIMER est alors utilisé pour interpréter les courbes de force. Une linéarité des courbes de force est observée et confirmée par la simulation du modèle CHIMER. Ainsi, la dépendance Hertzienne ($E \propto F/\delta^{3/2}$) liée à la forme sphérique de l'indenteur est perturbée par l'hétérogénéité élastique de l'échantillon. L'interprétation des courbes de force directement via le modèle CHIMER se confronte à la faiblesse de la gamme d'indentation élastique en raison de l'adhésion à faible indentation et de la plasticité hors du régime élastique. Il devient alors nécessaire d'introduire dans le modèle CHIMER des modules élastiques provenant d'un modèle de contact connu. Deux modèles dérivés du contact Hertzien ont été utilisés. Le premier est une modification du contact de Hertz intégrant la linéarité décrite précédemment. Ce modèle est cohérent avec la théorie de CHIMER et montre une évolution du module élastique équivalent en fonction de la profondeur d'indentation. Cependant, nous avons montré que le modèle linéaire, à cause de son indépendance vis-à-vis du point de contact, n'est pas en mesure de décrire les perturbations à faible indentation liées notamment à l'adhésion et prédit des films 72% plus épais que les mesures *in situ*. Le second est un modèle de Hertz linéarisé qui ajuste une gamme d'indentation (typiquement $0.1\delta_{max}$ à $0.7\delta_{max}$) en laissant le point de contact libre. Cette approche naïve permet de négliger les effets adhésifs à faibles indentations et de mesurer un module élastique équivalent moyen \bar{E}_{eq} correspondant à une indentation moyenne $\bar{\delta}$. Le modèle CHIMER permet alors d'interpréter ce couple $[\bar{E}_{eq}, \bar{\delta}]$ et donne des épaisseurs en très bon accord avec les mesures. Cela confirme l'importance de l'adhésion, non prise en compte par CHIMER, et qui perturbe durablement les courbes de force. L'interprétation des courbes de force par le modèle de Hertz linéarisé et l'algorithme CHIMER constitue donc une méthode semi-empirique donnant de très bons résultats. Néanmoins, la pertinence du modèle de Hertz linéarisé n'est pas bien comprise, notamment en ce qui concerne la variation du point de contact.

La méthode développée précédemment a été utilisée pour interpréter l'élasticité de substrat de PDMS exposés à diverses doses de plasma O_2 . L'épaisseur de la couche d'oxyde est inconnue et difficile à mesurer par des moyens d'imagerie classiques (optique, électronique...). Après une étude bibliographique, nous avons pu calculer les épaisseurs de PDMS oxydé en fonction de la dose de plasma grâce à l'interprétation par le modèle CHIMER de l'élasticité des échantillons. Nous avons ainsi pu mettre en évidence que la croissance de la couche d'oxyde suit une loi de puissance (contrairement à la progression logarithmique présentée habituellement dans la littérature). L'interprétation de l'élasticité équivalente des bicouches se révèle être une méthode prometteuse pour la mesure de l'épaisseur de couches fines difficiles d'accès par des méthodes d'imagerie classiques.

Préalablement à l'étude de l'élasticité des microcapsules, nous nous sommes intéressés aux propriétés mécaniques d'un polymère vitreux, l'acide poly(lactic-co-glycolique) (PLGA). En effet, le PLGA constitue la partie élastique des microcapsules et l'élasticité de celles-ci est fondamentalement liée à celle du polymère qui les compose. L'élasticité du PLGA a été mesurée aux échelles nanométrique (nanoindentation AFM) et micrométrique (microindentation), à des fréquences de 5.10^{-4} Hz (fluage), 1 Hz (nanoindentation AFM quasi-statique) et 2.10^3 Hz (Peak Force AFM).

Une stabilité de l'élasticité du PLGA en fonction de la fréquence a été soulignée. De plus, l'aspect visqueux de ce polymère a pu être mis en évidence grâce à l'interprétation des courbes de microindentation par des modèles rhéologiques et grâce à l'étude de l'écoulement du polymère à l'échelle nanométrique en-deçà et au-delà de sa température de transition vitreuse. L'équation de l'écoulement des films minces guidé par les forces capillaires (*Thin Film Equation* TFE) est en accord avec la relaxation du PLGA. En dessous de la température de transition vitreuse, le PLGA continue de s'écouler, mettant en évidence une potentielle mobilité accrue de la surface du polymère. Enfin, la plasticité du PLGA a été sondée par fracturation avec un indenteur Vickers. Les paramètres de ténacité ainsi mesurés montre que le PLGA est un matériau relativement fragile.

L'élasticité équivalente de microcapsule de PLGA ayant un coeur fluoré liquide a été étudiée grâce au modèle CHIMER. Les dimensions de la pointe AFM étant 10 à 25 fois inférieures à celles des coques, la surface des capsules a été considérée comme étant plane. Les modules élastiques équivalents ont été analysés par le modèle de Hertz linéarisé et interprétés par CHIMER. La connaissance du module d'Young du PLGA et de l'épaisseur des coques a permis de vérifier que la sphéricité de l'objet pouvait être négligée. L'élasticité équivalente des capsules PLGA/PFOB a pu ainsi être décrite en fonction de la profondeur d'indentation et de l'épaisseur des coques. Ainsi, les coques épaisses sont très dures et les coques fines sont molles et fragiles. De plus, nous pouvons affirmer que les capsules exposées en milieu aqueux à une température de 38 ° C ont tendance à devenir de plus en plus molles, certainement en raison de l'hydrolyse du polymère causant l'amincissement des coques. Ces résultats sont particulièrement décisifs du point de vue de l'application thérapeutique. L'épaisseur optimale des coques doit être choisie dans une gamme intermédiaire entre les plus épaisses, très dures, et les plus fines, molles et fragiles.

Des nanocapsules (NCs) PLA-PEG contenant du PFOB ont été étudiées par nanoindentation AFM en milieu aqueux. Dans ce cas, l'approximation d'un contact sphère-plan n'est plus acceptable, le rayon des NCs étant de l'ordre 50 nm pour des rayons de sonde de l'ordre de 10 nm. L'utilisation du modèle CHIMER est donc caduque. Un comportement en loi de puissance est observé et comparé à la théorie de l'élasticité des coques. Deux régimes sont à relever, le premier régime (0-8 nm d'indentation) correspondant à un régime de déformations dites "quasi-Hertziennes", le second correspondant à un régime de flambage (inversion de la courbure) ou de déformation plastique. L'intégration de la sphéricité dans le modèle CHIMER permettrait d'interpréter de manière plus précise les courbes de force sur de tels échantillons.

Les perspectives de cette étude sont nombreuses. Tout d'abord, les résultats obtenus montrent l'efficacité du modèle CHIMER pour décrire l'élasticité équivalente des matériaux complexes. Cependant, nous avons aussi mis en avant ses limitations, notamment en ce qui concerne l'adhésion et l'étude d'échantillons sphériques. La poursuite de cette étude nécessiterait donc le développement d'un modèle plus complet permettant de décrire une plus grande variété de systèmes. La prise en compte de l'adhésion est un élément crucial qui permettrait de s'affranchir de l'ajustement de Hertz linéarisé, empirique et mal compris. Des premières pistes peuvent être avancées,

comme l'implémentation au sein de l'algorithme CHIMER des équations décrites par Barthel et Perriot [122]. Cette approche numériquement plus exigeante permettrait certainement d'améliorer l'interprétation des modules élastiques équivalents sur les bicouches planes. Pour les objets sphériques, la prise en compte des effets de traction du premier ordre et l'imagerie instantanée des objets lors de l'indentation permettraient d'aller plus loin dans nos conclusions, notamment sur les phénomènes de flambage, de plasticité et de rupture.

Du point de vue de l'application, les mesures de l'élasticité de films reposant sur un substrat de PDMS constituent des données d'intérêts dans le domaine de la microfluidique. En particulier, l'auto-enroulement de films fins de PDMS, guidé par une hétérogénéité mécanique du système, permet la fabrication de micro-canaux. Ces capillaires de quelques dizaines de microns de diamètre peuvent ainsi être fonctionnalisés sous forme de film (*patterning*, *Self-Assembled Monolayer*, *spin-coating*...) puis enroulés grâce à une hétérogénéité mécanique (oxydation, film polymère rigide...). La compréhension mécanique de ces systèmes permet une optimisation des paramètres d'enroulement et ouvre la voie à une nouvelle génération de canaux microfluidiques.

En ce qui concerne la mécanique du PLGA, les mesures de micro et nanoindentation ont pu mettre en évidence son caractère à la fois rigide et peu tenace. De plus, l'étude de sa relaxation en-dessous de sa température de transition vitreuse nous a fourni des données particulièrement intéressantes, confirmant que les propriétés des polymères amorphes sont difficiles à cerner.

Enfin, les conclusions sur l'élasticité des capsules polymères à but théranostique ont permis de dresser quelques recommandations permettant d'obtenir des propriétés mécaniques optimales pour l'application médicale. La rigidité importante des polymères vitreux, comparée à celle des vésicules lipidiques par exemple, est un gage de stabilité au sein d'un environnement dans lequel les propriétés mécaniques sont hautement mises à contribution. Cependant, cette rigidité importante peut aussi s'avérer contraignante dans l'optique d'une libération d'un nanomédicament. Ainsi, la destruction des coques par vaporisation du cœur fluoré ne peut avoir lieu si la pression de vapeur saturante n'excède pas la pression critique permettant la rupture plastique de la paroi. Inversement, la faible ténacité du PLGA conduit à une fragilité des coques les plus fines. Ces données mécaniques sont donc cruciales pour la formulation optimale de nanocapsules théranostiques performantes.

Annexe A : Algorithme CHIMER

Dans le cadre de l'étude de l'élasticité des coques et des films polymères, le modèle CHIMER a été implémenté en langage Python. Ce travail a principalement été effectué par R. Brossard sur la base de l'article de Perriot et Barthel [83]. Le noyau de l'algorithme ayant permis l'interprétation des modules élastiques équivalents est reproduit ci-dessous. Notez que les valeurs des variables libres sont ici données à titre d'exemple. L'utilisation de cet algorithme nécessite simplement la création d'un programme appelant les diverses fonctions du noyau et permettant l'ajustement de la variable choisie. Il est ainsi possible d'ajuster E_0 , le module d'Young de la couche inférieure, E_1 le module d'Young de la couche supérieure ou encore T l'épaisseur du film. Pour les courbes de force par AFM, l'ajustement de l'intégralité des courbes de force - indentation est possible mais se heurte souvent au bruit important et à une adhésion non prévue par le modèle CHIMER. L'utilisation de la méthode faisant intervenir le modèle de Hertz linéarisé s'impose donc. L'organigramme de la figure A.1 donne un aperçu de la démarche à suivre pour interpréter les modules élastiques équivalents obtenus grâce au modèle CHIMER et pour ajuster la variable d'intérêt.

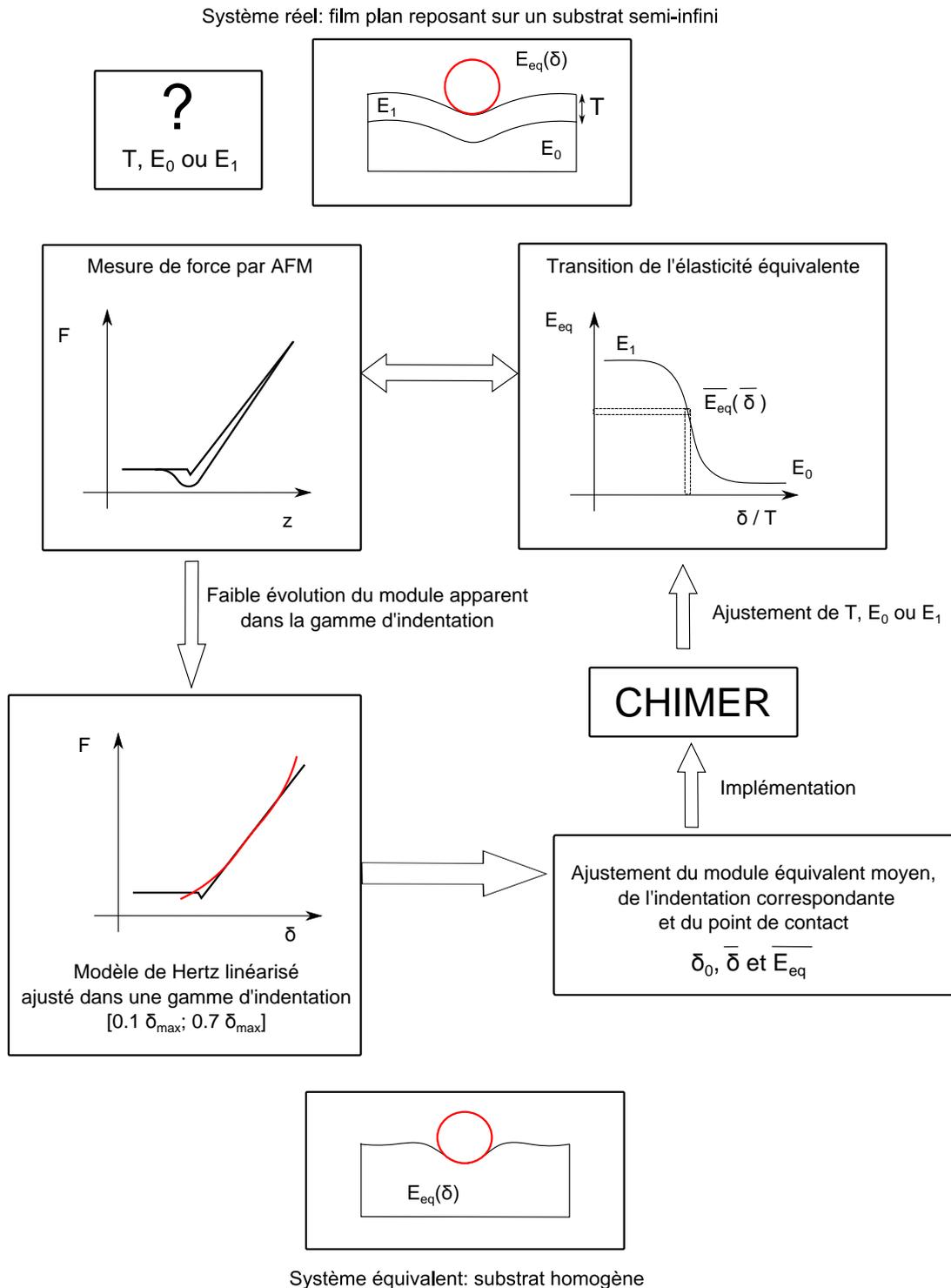


FIGURE A.1 – Diagramme présentant la méthode d'analyse de l'indentation AFM d'un film reposant sur un substrat semi-infini. Le modèle de Hertz linéarisé est utilisé pour obtenir un couple $[\bar{E}_{eq}; \bar{\delta}]$ qui est implémenté au sein du modèle CHIMER pour ajuster le paramètre d'intérêt (T, E₀ ou E₁). L'utilisation de cette méthode implique que les courbes de force obtenues aient une dépendance $E \propto F/\delta^\alpha$ avec $1.0 < \alpha < 1.5$. Pour $\alpha < 1.0$, le modèle de Hertz linéarisé ne peut plus être utilisé raisonnablement dans la gamme $[0.1\delta_{max}; 0.7\delta_{max}]$.

```

from math import pi,exp,floor
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

#####
# Bilayer Parameters
#####
# Young's modulus & Poisson coefficient of the layer (MPa):
E1=3000
v1=0.3
# Layer thickness (nm):
T=10.
# Young's & Poisson's modulus of the half-space (Mpa):
E0=2.6
v0=0.5

#####
# Indentation free parameter
#####
a=0.01

#####
# Tip parameters
#####
# Shape (available: SPHERE, CONIC, FLAT):
shape='FLAT'
#Radius for the sphere or the flat punch (nm):
R=20.
# tan(w) of the cone (radian):
tanw=2.8

#####
# Reduced Normalized variables
#####
# tau=T/a:
tau=0.002
# E0*/E1*:
ratioEr=0.01

#####
# System size:

```

```
n=200
# FFT cut off B/2 and points number 2^k:
B=300
vT=19

#####
# Tables
#####
G=np.array([0,1])
ZF=[]
M=np.eye(n)
V=np.array([0,1])
X=np.array([0,1])

#####
# Inner variables
#####

delta=1.
DELTA=0.1

k=0.1
eta=0.5

r=1.
rho=0.5

P=1.
PI=4.

# REDUCED modulus :
e_eq=0.1
E_eq=1.0

vMax=1.

#####

# Z function of Perriot and Barthel article :
def GreenNormal(kt):
    gamma1=3-4*v1
    gamma3=3-4*v0
```

```

alpha=E1*(1+v0)/(E0*(1+v1))
A=(alpha*gamma3-gamma1)/(1+alpha*gamma3)
B=(alpha-1)/(alpha+gamma1)
denominator=1-(A+B+4*B*(kt**2))*exp(-2*kt)+A*B*exp(-4*kt)
C=(1+4*B*kt*exp(-2*kt)-A*B*exp(-4*kt))/denominator
return C-1

```

```
#####
```

```
# A smooth periodic approximation:
```

```

def makeZforFFT():
    global vMax
    vMax=float(B)/tau
    l=2**vT
    table=[1.2]*l
    dx=float(vMax)/(l-1)
    for i in range(l/2):
        x=i*float(dx)
        val=GreenNormal(x*tau)
        table[i]=val
        table[-i-1]=val
    return table

```

```
#####
```

```
# Cosine transform:
```

```

def makeTFC():
    global ZF
    Tinput=makeZforFFT()
    T_FFT=np.fft.rfft(Tinput)
    l=2**vT
    ZF=[x/2*vMax/l for x in T_FFT.real]

```

```
#####
```

```
# Generates the coefficients of linear system:
```

```

def generateMatrixTerms():
    global M
    makeTFC()
    bufferM=np.eye(n+1)
    for i in range(n+1):
        for j in range(n):

```

```
        s=float(i)/n
        r=float(j)/n
        index_r_moins_s=abs(int((r-s)*vMax/(2*pi)))
        index_r_plus_s=abs(int((r+s)*vMax/(2*pi)))
        bufferM[i,j]+=(ZF[index_r_moins_s]+ZF[index_r_plus_s])/(n*pi)
    bufferM[i,0]/=2.
    if shape=='FLAT':
        bufferM[i,n]/=2.
    else:
        bufferM[i,n]=-1.
M=bufferM
```

```
#####
```

```
# Right hand vector:
```

```
def generateRightVector():
    global V
    Ar=[0]*(n+1)
    if shape=='CONIC':
        for k in range(n+1):
            Ar[k]=-float(k)/n
    elif shape=='SPHERE':
        for k in range(n+1):
            Ar[k]=-float(k)/n**2
    elif shape=='FLAT':
        for k in range(n+1):
            Ar[k]=1
    V=Ar
```

```
#####
```

```
# Calculate force with G:
```

```
def getPI():
    global PI,P
    PI=4./n*np.sum(G)
    if shape == 'CONIC':
        P=(pi/4)*(a**2*(E1/(1-v1**2))/tanw)*PI
    elif shape=='SPHERE':
        P=0.5*(a**3*(E1/(1-v1**2))/R)*PI
```

```
#####
```

```

# Run CHIMER:
def runFEBM():
    global X,G,DELTA,delta ,e_eq ,E_eq
    generateMatrixTerms()
    generateRightVector()

    X=np.linalg.solve(M,V)
    G=np.array([0.0]*(n+1))
    for k in range(n):
        G[k]=X[k]
    getPI()
    DELTA=X[-1]
    if shape == 'CONIC':
        delta=(pi/2)*(a/tanw)*DELTA
        e_eq=PI/(2*DELTA**2)
        E_eq=E1*e_eq/(1-v1**2)
    elif shape=='SPHERE':
        delta=(a**2/R)*DELTA
        e_eq=(3./8.)*PI/(DELTA**(1.5))
        E_eq=E1*e_eq/(1-v1**2)
    elif shape=='FLAT':
        delta=1.
        e_eq=PI/4.
        E_eq=E1*e_eq/(1-v1**2)

```


Annexe B : Séchage de particules colloïdales

La conception de nouveaux matériaux de type céramique passe par la transition liquide-solide causée par l'évaporation d'une solution de particules solides dans un solvant volatil. F. Boulogne et al. [123] ont montré que le séchage de solutions aqueuses de particules colloïdales induit une anisotropie du matériau final. Cette anisotropie est due aux contraintes uniaxiales liées au flux de l'eau à travers le front de séchage (i.e. front de solidification). Une partie des contraintes est relaxée et une autre partie est stockée au sein du matériau, ce qui a des conséquences sur ces propriétés mécaniques (fractures, zone de cisaillement...) et optiques (biréfringence...).

Dans le cadre d'une collaboration avec Ludovic Pauchard du laboratoire "Fluide, Automatique et Système Thermiques" (FAST) de l'Université Paris-Sud / Orsay, j'ai été amené à étudier par imagerie AFM l'organisation de nanoparticules de silice (Ludox[®] TM-50 ($\varnothing \approx 22$ nm) et SM-30 ($\varnothing \approx 7$ nm)) en fonction des conditions de séchages de solutions colloïdales.

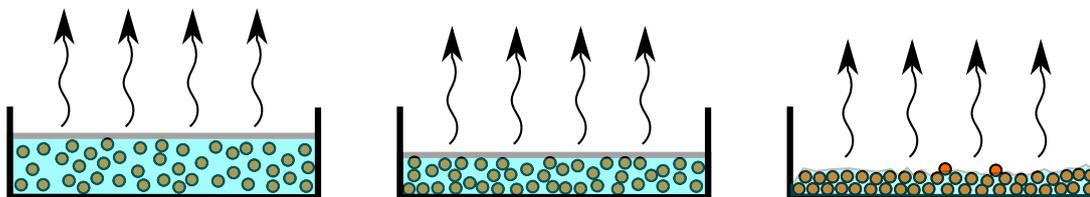


FIGURE B.1 – Schéma du séchage d'une solution colloïdale. L'évaporation induit la concentration des particules qui vont se rapprocher par effet capillaire. Les particules vont ainsi plus ou moins s'organiser selon la vitesse du séchage.

Une solution aqueuse de Ludox[®] (50 % en masse) est déposée au fond d'une boîte de Petri en verre et placée dans une enceinte climatique permettant une gestion précise de l'hygrométrie. En fonction du taux d'humidité, le séchage des nanoparticules de silice est plus ou moins rapide (figure B.1). Les boîtes de Petri sont extraites de l'enceinte climatique lorsque le film formé par les particules se craquèle et commence à délaminer (figure B.2).

Dans un premier temps, la surface des films de colloïdes séchés a été imagée par AFM afin de déterminer les conditions hygrométriques favorables à son organisation. Afin de distinguer des particules de 7 à 20 nm de diamètre, nous avons utilisé des pointes ultra-fine ayant un rayon inférieur à 5 nm. La figure B.3 présente les images topographiques de la surface de film de Ludox[®]



FIGURE B.2 – *Film de Ludox[®] délaminé après séchage.*

TM-50 après séchage dans des conditions variables d'hygrométrie. Les spectres de Fourier 2D permettent de rendre compte du degré d'organisation des surfaces. Alors que la solution qui a été exposée à une forte hygrométrie (90 %, i.e. séchage lent) présente une organisation hexagonale parfaite (images 3(a) et 3(b)), la solution ayant été soumise à une faible hygrométrie (20 %, i.e. séchage rapide) présente une organisation plus faible. Une orientation des particules est à noter sur l'image 3(e). Cette anisotropie est probablement liée à une orientation du front de séchage dans le plan horizontal en raison des effets de bord dus à la boîte de Petri. En effet, l'aspect macroscopique du film de colloïdes délaminé après séchage présente des fractures radiales qui sont certainement liées à une orientation du séchage (figure B.2).

La décroissance de l'organisation avec la vitesse de séchage a été décrite par Marin et al. [124] dans le cas du séchage d'une goutte de colloïdes dispersés dans l'eau. Dans ce cas, une transition ordre-désordre liée à la vitesse du front de séchage est clairement mesurable et modélisable (figure B.5). Quand la vitesse de séchage est faible, les particules ont le temps de s'organiser grâce au mouvement Brownien. En revanche, si la vitesse de séchage est trop importante, les particules n'ont pas le temps de se réarranger et forment donc des phases désordonnées.

Les images de la figure B.4 montrent que les Ludox[®] SM-30 ne s'organisent pas à la surface et ce même avec un séchage très lent (90 % d'humidité). La surface disponible étant plus grande que dans le cas des Ludox[®] TM-50, la cohésion entre les particules, liée aux interactions ioniques entre elles et à la capillarité due à l'eau résiduelle, est plus importante et s'oppose certainement à leur organisation. De fait, la transition ordre/désordre n'est pas atteinte.

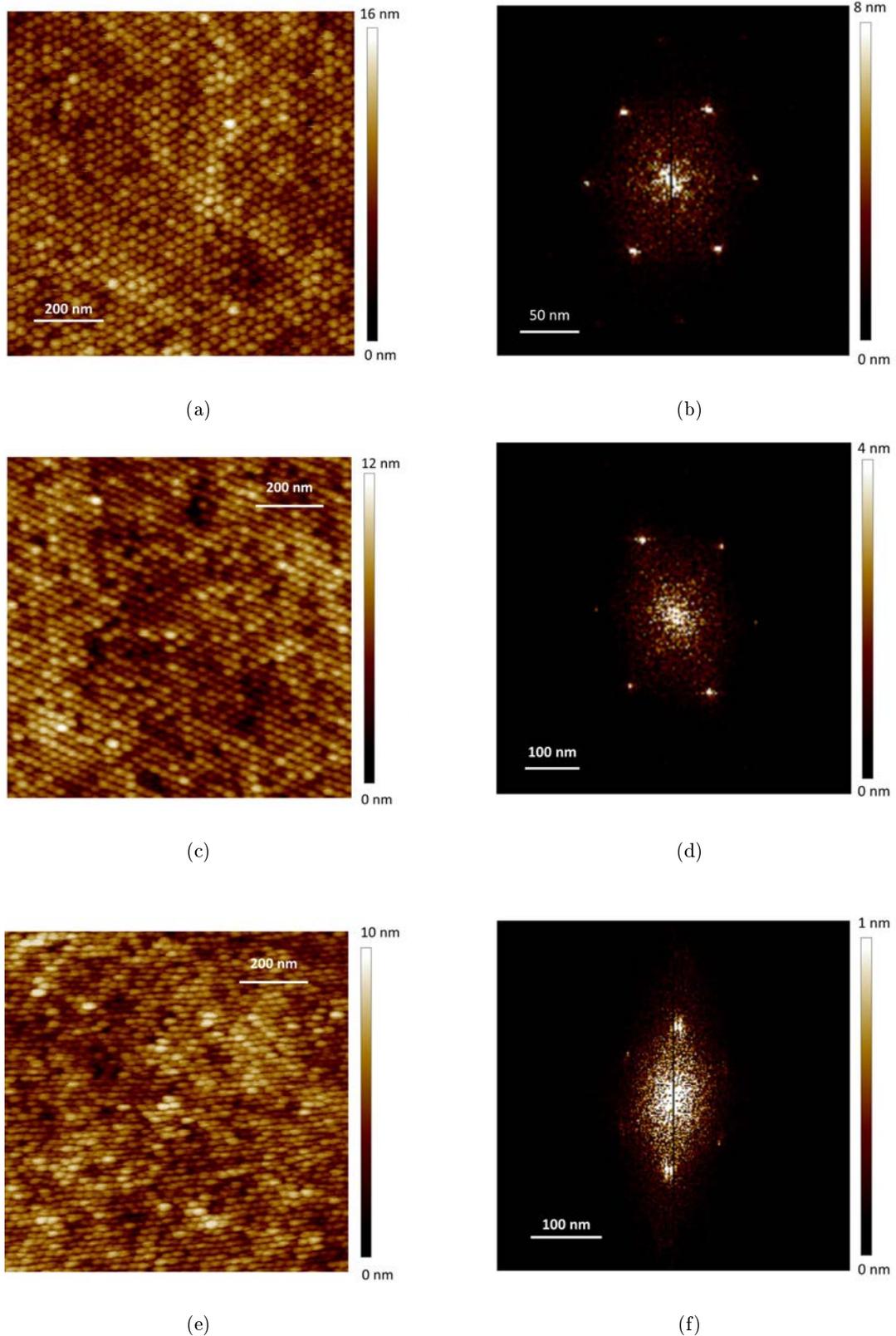


FIGURE B.3 – Images topographiques AFM de la surface d'un film de Ludox[®] TM-50 obtenue après séchage dans une boîte de Petri dans différentes conditions d'hygrométrie (a) : 90% d'humidité, (c) : 50% d'humidité et (e) : 20% d'humidité. Les spectres de Fourier permettent d'observer la décroissance de l'ordre hexagonale avec les conditions de séchage.

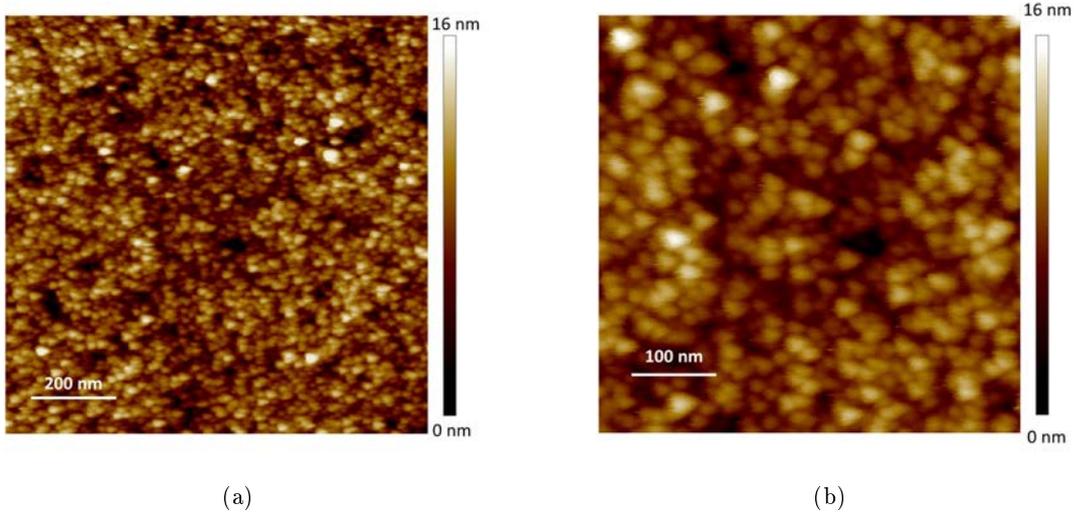


FIGURE B.4 – Images topographiques AFM de la surface d'un film de Ludox[®] SM-30 obtenue après séchage dans une boîte de Petri à 90% d'humidité. Contrairement aux particules TM-50, les particules SM-30, plus petites, ne sont pas organisées en surface même pour un séchage très lent.

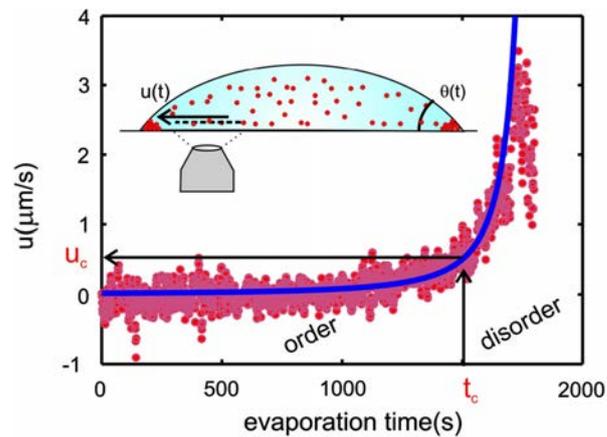


FIGURE B.5 – Origine de la transition ordre-désordre lors du séchage d'une goutte de solution colloïdale (particules de polystyrène de 0.5 à 2 μm de diamètre). u est la vitesse radiale des particules mesurée à 174 μm de la ligne de contact. u_c et t_c sont la vitesse et le temps critique au-delà desquels les particules sont désordonnées. La courbe bleue est un modèle donnant la vitesse radiale $u(r, t)$ en fonction de $\theta(t)$ l'angle de contact, D le coefficient de diffusion de la vapeur dans l'air et R le rayon de la goutte. Pour plus de précision, voir l'article de Marìn et al. [124].

Dans le cas du séchage en boîte de Petri, la transition ordre-désordre est plus difficile d'accès car la vitesse du front de séchage n'est pas accessible. Un montage permettant l'imagerie de la tranche des films colloïdaux par AFM a été mis en place afin de mesurer un potentiel gradient d'ordre dans l'axe vertical (figure B.6). Un fragment de film délaminé est déposé dans un mors permettant de le maintenir à la verticale.



FIGURE B.6 – Porte-échantillon permettant l'approche par AFM de la tranche d'un film, ici, un film colloïdal de $100\ \mu\text{m}$ d'épaisseur. Montage réalisé par C. Blot, LIONS, CEA-Saclay.

La figure B.7 présente une image AFM de la tranche d'un film de colloïdes (séchage à 50 % d'humidité). La surface du film est dans la partie inférieure droite de l'image. La section du film étant due à la fragmentation du film de colloïdes délaminé, la découpe n'est pas régulière et présente de nombreux plans de particules. Aucune organisation n'est visible et la méthode ne peut être employée sous cette forme pour estimer l'organisation des particules en profondeur. Pour poursuivre cette étude, une découpe nette par microtomie pourrait être envisagée si l'échantillon n'est pas trop friable et cassant.

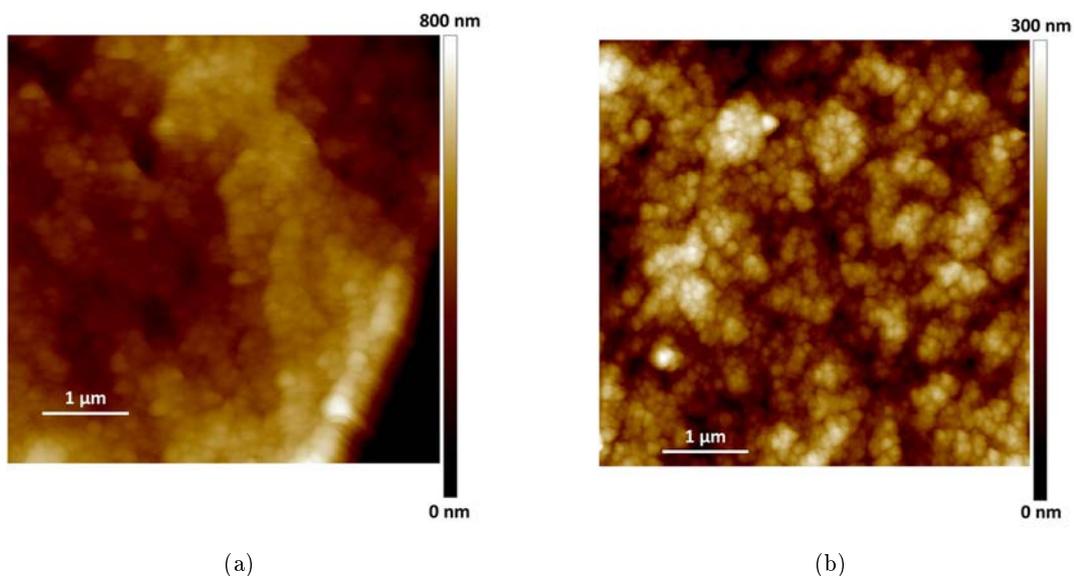


FIGURE B.7 – Images topographiques AFM de la tranche d'un film de $100\ \mu\text{m}$ de Ludox[®] TM-50 séché à 50 % d'hygrométrie. La surface est visible dans le coin inférieur droit de l'image de gauche. L'image de droite est prise au centre de la tranche.

Annexe C : Publications

Les chapitres III et V ont chacun fait l'objet d'une publication. Celles-ci sont reproduites dans les pages qui suivent.

Cite this: DOI: 10.1039/xxxxxxxxxx

Investigation of PDMS based bi-layer elasticity via interpretation of apparent Young's modulus

Baptiste Sarrazin[†], Rémy Brossard[†], Patrick Guenoun[†], Florent Malloggi^{†*}

Received Date

Accepted Date

DOI: 10.1039/xxxxxxxxxx

www.rsc.org/Journalname

As the need of new methods for the investigation of thin films on various kinds of substrates becomes greater, a novel approach based on AFM nanoindentation is explored. Substrates of polydimethylsiloxane (PDMS) coated by a layer of hard material are probed with an AFM tip in order to obtain the force profile as a function of the indentation. The equivalent elasticity of those composite systems are interpreted using a new numerical approach, the Coated Half-Space Indentation Model of Elastic Response (CHIMER), in order to extract the thicknesses of the upper layer. Two kinds of coating are investigated. First, chitosan films of known thicknesses between 30 and 200 nm were probed in order to test the model. Second type of samples are produced by oxygen plasma oxidation of the PDMS substrate, which results in the growth of a relatively homogeneous oxide layer. The local nature of this protocol enables measurements at long oxidation time, where the apparition of cracks prevents other kinds of measurements.

1 Introduction

With the rise of micro and nanotechnology, thin films on a substrate are used increasingly in technological applications. In particular, the controlled alteration of surfaces has been extensively studied as a promising tool for the development of new systems. One famous example is the surface oxidation of polydimethylsiloxane (PDMS), which is used to change the wetting and adhesion properties of the surface¹ and to bond covalently the material to another one, as in soft lithography techniques². The chemical state of such an altered system has been studied by many methods, such as contact angle measurement or X-ray spectroscopy^{3–5}. Yet, although the mechanical properties of these submicrometer thin films are of utmost importance – for their stability and direct use in microfabrication⁶ – the dimensional and mechanical characterization is difficult due to the influence of the substrate^{7,8}.

In the case of a soft substrate coated or covered with a harder surface, wrinkling technique has been implemented to investigate the layer properties like the thickness^{9–11}. If a mechanically expanded soft material is coated by a harder material, wrinkles will form at the surface when the stress is released as the lower layer shrinks. The wavelength of these wrinkles is directly related to the ratio of the elastic moduli of the materials and its measurement enables one to deduce the thickness of the top layer. A

first issue of the method is the soundness of the perfect bilayer assumption on a quite large scale (compared to the wavelength of the wrinkles). In the case of oxidized PDMS for example, the apparition of surface cracks prevents the use of that method for plasma exposure times larger than ten minutes at 30 W⁹. A second problem is that the wrinkles method cannot be used as a preliminary to another experiment. Indeed, the samples have to be dedicated to these measurements as they will keep the wrinkles stigmata.

A alternative non destructive method for the nanoscale investigation of homogeneous materials is AFM nanoindentation¹² often coupled to the use of Hertz model¹³. In particular, AFM nanoindentation has been demonstrated to be a valid approach in the case of thin homogeneous polymer films^{14–16}. During the last twenty years, it has been also used to study materials properties for non-planar geometries and various non-homogeneous systems such as microbubbles^{17–20}, microcapsules^{21–23}, hollow colloidal particles^{24,25}, nanotubes²⁶, thin virus shell²⁷, polymer brushes^{28,29} and even living cells^{30–32}. Nevertheless, the composite nature of the materials, either due to their shapes or the multiplicity of their compounds, complicates the interpretation of these measurements. In that respect, computed elasticities determined from force-indentation curves are only effective values, that need to be carefully interpreted.

The case of hard coating of a soft substrates has been mainly study in the field of biological system like for cells³³. However those approach rely only on the existence of an initial regime, when the surface is probed alone, and a final regime, when the bulk is probed alone. Thus, every pieces of information con-

* CEA-Saclay, Bâtiment 125, Gif-sur-Yvette, France ; Tel: 01 69 08 63 28; E-mail: florent.malloggi@cea.fr

[†] Interdisciplinary Laboratory on Nanoscale and Supramolecular Organizations, CEA-Saclay, IRAMIS/NIMBE/LIONS, UMR CNRS 3299, Gif-sur-Yvette, France

tained in the transition are lost. Hence, an easy way to interpret this apparent modulus remains the critical challenge for the AFM nanoindentation reliability.

On theoretical grounds, finite element analysis has proved itself to be valid for the investigation of bilayers, coated materials or membranes, but this method can be awkward and demanding to implement for experimental purpose^{34,35}. However, the particular case of a thin layer material on a thick substrate indented by an axisymmetric indenter is simple enough to be theoretically approached and compared to experiments. Perriot and Barthel³⁶ proposed an exact integral formulation of the problem based on the work of Li and Chou³⁷ which can be semi-analytically solved. This CHIMER (Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response) model provides a relation between the geometrical parameters of the system (tip geometry and film thickness), indentation depth and elastic moduli of the materials. One can in principle extract the hard layer thickness from an indentation profile. The advantages of the method are the non-necessity of dedicated samples and the easiness and repeatability of measurements after a proper calibration is performed. Moreover the relevant scale of the measurement is the nanometer which remains often a limit for the classic imaging methods.

In the present work, we demonstrate how to interpret the effective elastic moduli from force-indentation curves and make use of that technique for the study of two different bi-layer samples. The common thread within both systems is a PDMS thick substrate ($\approx 10\mu\text{m}$, Young's modulus $E_{PDMS} = 2.6\text{ MPa}$ and Poisson's ratio $\nu = 0.5$) which is topped with a harder and thin layer. First, chitosan films of known thicknesses between 30 and 200 nm were probed in order to test and qualify the model. Chitosan^{38,39} is a linear polysaccharide which is used for biomedical application. Elasticity values of chitosan span a relatively large range in literature depending on the solvent used for film preparation and the drying conditions used for making bulk samples. In order to match our experimental conditions, microindentation has been performed on bulk sample. The chitosan films were made by spin-coating parameters and the thicknesses were checked afterward by AFM. As a result, the analysis of equivalent elasticities thanks to CHIMER is shown to retrieve the chitosan thicknesses with a satisfying precision. In a second part, the properties of plasma oxidized PDMS (Young's modulus 1 to 100 GPa and Poisson's ratio $\nu \approx 0.3$)^{9,10} have been investigated by the same CHIMER approach. In particular, the evolution of the thickness of the oxide layer upon long exposure times (above ten minutes at 30W) has been probed. The thickness of the oxidized layer is shown to evolve as a power law of plasma exposure time. This result expands previous studies which showed a slower evolution of the layer, hinting at a hardening of the upper material.

2 Theoretical considerations

2.1 AFM nanoindentation of bilayered sample

When performing AFM nanoindentation, an AFM cantilever is used as a force probe, deflecting itself by interaction with the surface and indenting the sample if the latter is soft enough. Typically, AFM nanoindentation provides deflection (D) vs. displacement (z) curves. Indentation (δ) is calculated from equation (1):

$$\delta = |z - z_0| - |D - D_0| \quad (1)$$

where z and D are the piezo-displacement and the cantilever deflection respectively and z_0 and D_0 are the piezo-displacement and the cantilever deflection at the position where the tip-surface contact occurs, respectively. The loading force F is determined from the Hookean equation (2) :

$$F = k(D - D_0) \quad (2)$$

where k is the spring constant of the AFM cantilever. On homogeneous materials and in absence of adhesion, Hertz model – which describes the purely elastic deformation of two spherical bodies in contact – is commonly used to interpret the elastic modulus E (Young's modulus in the case of compressive experiment) from the force-indentation curve. Flat-sphere Hertz contact model is expressed as follow:

$$F = \frac{4}{3}\sqrt{RE^*}\delta^{3/2} \quad (3)$$

$$E^* = \frac{E}{1 - \nu^2} \quad (4)$$

where R is the radius of the tip, F is the applied force, δ is the indentation depth, ν is the Poisson ratio of the sample and E^* is the reduced elastic modulus. Usually, the equation 3 to the power $2/3$ is used and the contact point δ_0 (origin of δ) is shifted to improve the fit. This approach is mathematically equivalent to a fit of both the modulus and the contact point. In this study, ν is set to 0.5 for the 1:10 cross linked PDMS⁴⁰ and 0.3 for the chitosan (glassy polymer). Concerning the oxidized PDMS layer, Poisson ratio is assumed to be 0.3 that is in between 0.5 (ν_{PDMS}) and 0.18 (ν_{SiO_2})⁴¹.

2.2 Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response (CHIMER)

We consider the case of a semi-infinite substrate covered by a layer of thickness T of different elastic moduli. The force measured as a function of mechanical displacement of a material probed by a well-defined tip can be interpreted in term of an equivalent modulus E_{eq}^* i.e. the modulus measured for a given indentation δ with Hertz formula (eq. 3) for the system considered as homogeneous as in figure 1. The three dimensional nature of such system allows tangential dissipation of the stress in the two materials, so that if the top layer is infinitely thick all the effort is released in it and the equivalent modulus amounts to the reduced modulus $E_{surface}^*$ of the top layer. On the opposite, if it is extremely thin, most of the effort is dissipated in the underlying material and the equivalent modulus is the reduced modulus E_{bulk}^* of the bulk underlying material. Hence, the measurement of an effective modulus is in fact an evaluation of the ratio δ/T , i.e. an interpolation between the two bulk moduli. Those values can be calculated thanks to a numerical model proposed by Perriot and Barthel³⁶ as a function of δ/T or a/T . This model is referred to as a Coated Half-space Indentation Model of Elastic Response

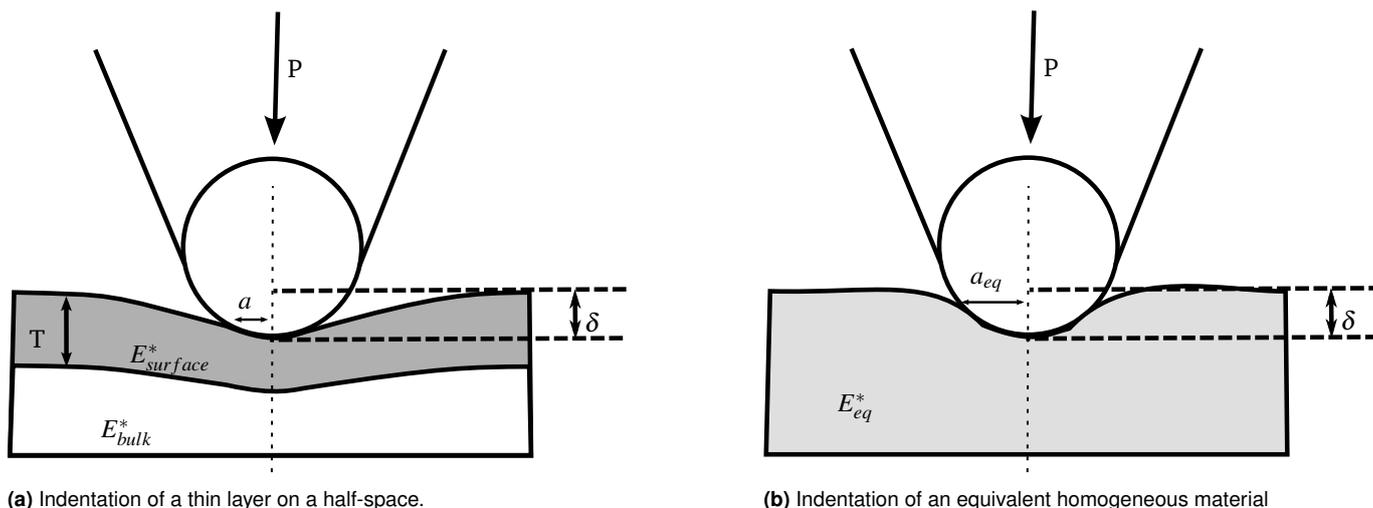


Fig. 1 Indentation of the real layered system and its equivalent homogeneous system. The latter is defined by an equivalent modulus *and* a new contact radius, as the compliance of the surface is different. The latter radius follows the standard Hertzian relation $a_{eq} = \sqrt{\delta R}$

(CHIMER).

The basis of this model is then to introduce a weight function Φ defined as:

$$E_{eq}^* = E_{bulk}^* + \Phi(E_{surface}^* - E_{bulk}^*) \quad (5)$$

With the hypothesis of Hertz model (normal displacement field), Li and Chou³⁷ solved the punctual elastic response function of a coated half-space system. However, due to the mixed boundary conditions, the solution could not be integrated for a real tip geometry. Perriot and Barthel solved this integration problem by introducing auxiliary fields, turning the problem into an integral system of equations that can be solved numerically. This model reproduces the transition of the equivalent modulus as the ratio between the contact radius a and surface thickness T evolves (see figure 2). This is a practical problem as when performing AFM nanoindentation, the natural *experimental* parameter is the indentation δ and not the real contact radius a and the Hertzian relation between the *physical* parameter a and *experimental* parameter δ ($a = \sqrt{\delta R}$) does not hold anymore. In order to make this method practically relevant, the numerical relation was now computed with δ/T as its variable. Inset of figure 2 displays the non-Hertzian relation between a and δ . Ultimately, if the surface modulus is known, the layer thickness can be obtained with the knowledge of E_{eq}^* , the tip radius R , and the corresponding indentation depth δ .

3 Experimental Section

3.1 Atomic Force Microscopy

We used an AFM Dimension V (Digital Instruments / Veeco-Bruker, Santa Barbara, CA, USA) mounted with an optical microscope. Particular attention is paid to cantilever calibration and tip geometry measurement as described in the following section. Two different AFM cantilevers have been used in order to probe mechanical properties from 1 MPa to 10 GPa. Cantilever stiffness are 3 and 40 $N.m^{-1}$. Tip dimension is chosen to be approximately

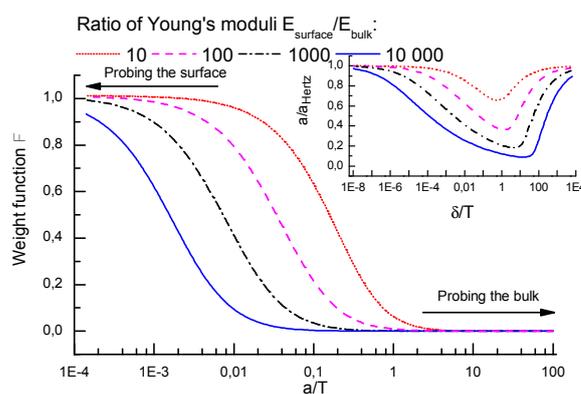


Fig. 2 Main plot: Transition of the weight function Φ for different modulus mismatches. Inset: Computed correction of the Hertzian relation $a_{Hertz} = \sqrt{\delta R}$.

10 to 20 nm and precisely characterized using deconvolution algorithm.

3.2 Sample Preparation

Silicon wafer substrates are cleaned by UV-Ozone, plasma and acid technique⁴² to get reproducible wetting and surface state. Sylgard polydimethylsiloxane is mixed with the furnished cross-linker with a ratio 10:1 and spin-coated on the substrate at 3000 *RPM* for one minute with an acceleration on 500 $RPM.s^{-1}$. The samples are then placed on a hot plate at 150 °C for 15 minutes to ensure a complete cross-linking of the material.

Oxidized PDMS samples are prepared in a *Harrick's* plasma cleaner. Oxygen is supplied to the chamber where the pressure is regulated by the equilibrium between the oxygen entrance flow rate (monitored with a microvalve) and a fixed outflow. The pressure is set to 4.10^{-1} mbar and the plasma is powered on at 29.6 W

for a measured time.

Chitosan from Sigma Aldrich is dissolved in chlorhydric acid ($pH = 1$). The dissolution process is slow and can be accelerated by extended sonication. In order to prepare chitosan on PDMS samples, those are exposed to plasma for one minute to make the surface hydrophilic. The chitosan solution can then be spin-coated on the substrate for one minute with an acceleration on $500 \text{ RPM} \cdot \text{s}^{-1}$ and adapted rotational speeds. The samples are then dried for one hour at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ on a hot plate.

3.3 Thickness control

The thickness of the substrate PDMS layer has been measured to be $10 \mu\text{m} \pm 2 \mu\text{m}$ with an optical interferometer. As the surface of oxidized PDMS resembles that of silica, the thickness of a spin-coated layer of chitosan is not expected to change much if the substrate is clean silicon or oxidized PDMS. Hence, chitosan was spin-coated on clean silicon wafers with relevant parameters. A scratch was formed on the film with a razor blade and the thickness of the layer was measured by AFM.

3.4 Calibration of the Cantilever Spring Constant k

Measurement of mechanical response of the cantilever to thermal noise is used to compute spring constant (Lorentzian fit of the frequency spectrum). The cantilever stiffness calibration procedure can be describe as follow: force curve on hard surface is performed and the slope of approaching curve is measured to know the sensitivity of the cantilever. Then thermal tune is made far from the surface and the frequency spectrum is fitted around the peak which is at the resonant frequency.

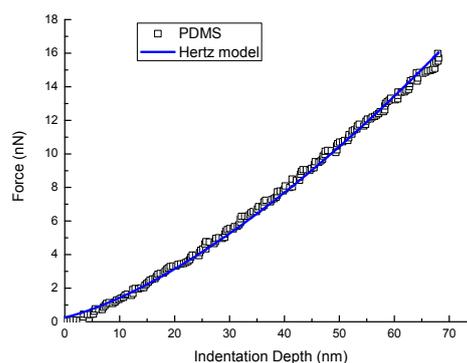
3.5 AFM Tip Geometry

Indirect measurement using deconvolution algorithm has been used to determine the radii of AFM tips. This procedure can be considered as reverse imaging. Indeed, it consists in a characterization surface imaging with the tip of interest. Blind deconvolution algorithm⁴³ is applied to this picture and allows to get back to the tip shape. Deconvolution is computed using Gwyddion software (David Nečas and Petr Klapetek, Department of Nanotechnology, Czech Metrology Institute). Characterization surface used for blind deconvolution of our tips consists of pyramidal hard sharp nanostructures (PA series from Mikromasch, NanoAndMore GmbH).

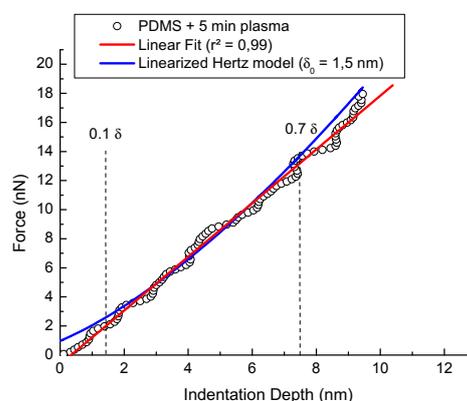
4 Results and Discussion

4.1 Curve interpretation

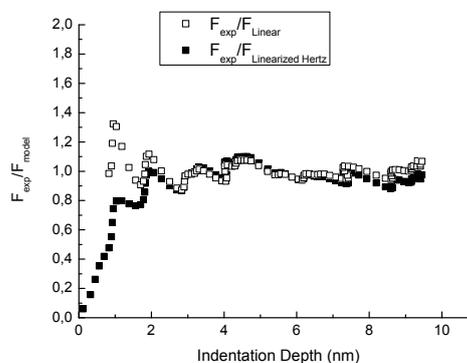
As the effective modulus drops with the indentation depth, the force is expected to deviate from the $\delta^{3/2}$ behavior predicted on an homogeneous sample. This was observed for hard coatings on a soft substrate for example by Kaushik et al.⁴⁴ where two limiting Hertz-like behaviors are observed corresponding successively to the probing of the hard coating and then to the soft substrate. In our case, this is illustrated in figure 3. The indentation of an homogeneous sample displays a $F \propto \delta^{3/2}$ behavior while a coated sample is closer to a linear behavior. Indeed, as displayed in figure



(a) Homogeneous PDMS



(b) Oxidized PDMS (5 min plasma exposure)



(c) Fit quality of the heterogeneous system force curve.

Fig. 3 Force-indentation curves on homogeneous and bilayered samples. In the case of the heterogeneous sample, the linearized Hertz model (fitted between $0.1 \delta_{max}$ and $0.7 \delta_{max}$) is compared to the linear fit.

4, CHIMER simulation predicts that in our experimental range (in grey) the effective modulus decreases as the inverse square-root of indentation so that a linear behavior is expected.

The Tabor parameter μ of the PDMS is about 40 to 5000⁴⁵ because of the adhesion extent, giving the Johnson-Kendall-Roberts model⁴⁶ as the more appropriate. By contrast, the Tabor param-

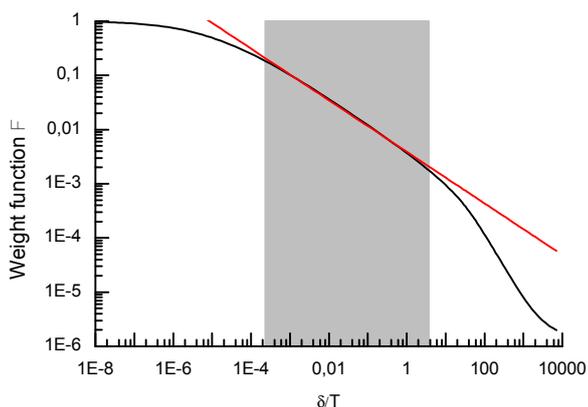


Fig. 4 Power dependance of E_{eq}^* as a function of δ . Simulated evolution of the apparent modulus with a top layer thickness $T = 12 \text{ nm}$ and radius of tip $R = 20 \text{ nm}$. All measurements were performed in the gray zone where the fitted power (slope) is -0.48 .

eters of the oxidized PDMS and chitosan-PDMS bilayer are far smaller because the adhesion is decreased and the elasticity is increased. Indeed, the jump-in of the approaching curve is about 2 to 15 % of the applied force. A first attempt to interpret the experimental force curves is to perform a linearized Hertz fit where the force curve is fitted to a Hertz function with the elasticity and the contact point as fit parameters on a limited delta range $[0.1 \delta_{max} ; 0.7 \delta_{max}]$. The use of the contact point as a fit parameter makes the model converge quickly toward the purely elastic regime. Hence, it is valid when the adhesion-dominated regime is small. The use of this limited range enables one, within the CHIMER framework, to interpret the fitted elasticity \bar{E}^* as an average of the bilayer equivalent elasticity $E_{eq}^*(\delta)$ on the fit range. Such a fit is shown in Figures 3b and 3c.

Within the CHIMER framework and in order to interpret the fitted moduli, the corresponding average indentations $\bar{\delta}$ has to be properly calculated. The linearized Hertz model is a least square linear regression of the linear relation obtained with eq. 3 to the power $2/3$. The residual to be minimized is :

$$\Pi = \left\langle \left(F_i^{2/3} - \left(\frac{4}{3} \sqrt{R} \right)^{2/3} \bar{E}^{*2/3} \delta^2 \right)^2 \right\rangle \quad (6)$$

where $\langle \cdot \rangle$ is the average on the fit range. Minimizing this expression for experimental δ_i uniformly distributed and $E_{eq}^* \propto \delta^{-1/2}$, we obtain:

$$\begin{aligned} \bar{E}^* &= E_{eq}^* \left(\left[\left(\frac{\langle \delta^2 \rangle}{\langle \delta^{5/3} \rangle} \right)^3 \right] \right) = E_{eq}^*(\bar{\delta}) \\ \bar{\delta} &= \left[\left(\frac{\langle \delta^2 \rangle}{\langle \delta^{5/3} \rangle} \right)^3 \right] \end{aligned} \quad (7)$$

In order to avoid problems of adhesion and plasticity and to ensure a good fit quality (see Fig 3c.), the fit range is taken between $0.1 \delta_{max}$ and $0.7 \delta_{max}$, so that the average indentation depth is

$\bar{\delta} = 0.5 \delta_{max}$. One has to note that as the contact point is also fitted in that model, the shift in origin has to be taken into account when calculating $\bar{\delta}$. Using CHIMER, the couple of values $\bar{E}^*, \bar{\delta}$ can be finally used to recover the thickness of the top layer.

As shown in figures 3b and 3c, a linear fit of the force curve is of an even better quality, as expected. This can be interpreted by taking variations of E_{eq}^* directly into account, which leads to the modified Hertz equation:

$$F = S \delta \quad \text{with} \quad S = \frac{4}{3} \sqrt{R} \bar{E}^* \quad (8)$$

where S is now a constant in δ . The S value can be used with CHIMER to obtain the value of the thickness of the top layer. This method is all the more attractive that there is no need of calculating an equivalent indentation. However, one has to note that this model is completely contact point independent. We will elaborate on this aspect later.

4.2 Chitosan-coated PDMS elasticity

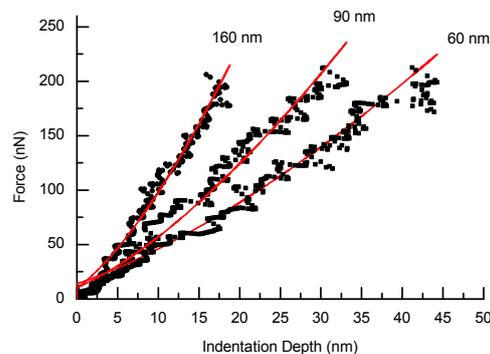


Fig. 5 Multiple force-displacement curves obtained on chitosan-coated PDMS. The solid lines are the linearized Hertzian fit realized on each curve between 10% and 70%

To test the models, chitosan films are spin-coated on PDMS thick samples. The thicknesses of chitosan films are previously measured on silicon wafers as a reference. It has to be noted that the surface of PDMS shortly exposed to plasma is chemically close to that of glass or silicon, so that the thickness of chitosan films shall only depend of the spin coating parameters. Microindentation experiments are performed on thick chitosan film which is dried on a glass slide and bulk elastic modulus $E_{surface}$ of chitosan is found to be $3.0 \pm 0.1 \text{ GPa}$. AFM nanoindentation is then performed on chitosan-PDMS samples for different capping thicknesses. Multiple force-displacement curves are displayed in figure 5.

Both approaches detailed in the previous paragraph are implemented and displayed on figure 6 along with the expectations. The linearized Hertz approach calculations exhibit an excellent agreement with the expected thicknesses, giving a good confidence in the CHIMER algorithm. Although providing the qualitative correct tendency, the linear relation interpretation leads on the contrary to an overestimation of approximately 70% of the

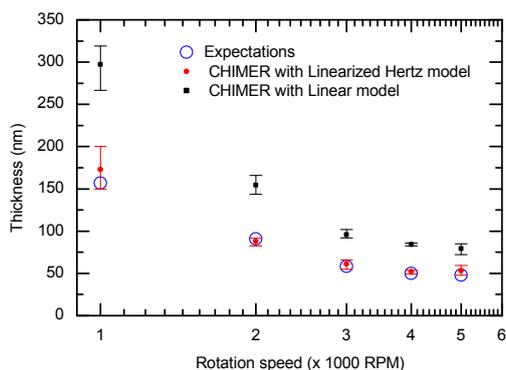


Fig. 6 Expected and calculated thicknesses of a chitosan layer on PDMS. Expected values (blue circles) are previously measured on silicon wafers. CHIMER is used to calculate thicknesses from measured apparent modulus using linearized Hertz model with indentation $0.5 \delta_{max}$ (red circles) and linear model which does not require indentation (black squares).

thicknesses. The differences between the models are summed up in figure 7.

On homogeneous materials, linearized Hertz model fits both the elastic modulus and the contact point, thus compensating experimental effects like adhesion. When indenting a composite material, those parameters become functions of indentation. In particular the relevant contact point (the fit-relevant origin of indentation) is only a virtual value which is not related to the actual physical contact point. When performing linearized Hertz fit on a narrow range of indentation, we obtain an average elastic modulus \bar{E}^* and an average of the virtual instantaneous contact point $\bar{\delta}_0$. The linear model takes the variations of $E_{eq}^*(\delta)$ into account, but this model is contact point independent. More precisely, it assumes the contact point to be the same for each δ and well-defined. In our opinion, the failure of the linear model is a strong hint that in order to adapt a standard contact model to a composite system, both the mechanical properties and contact point must evolve during indentation (See figure 7). For instance, if a first-order development of the contact point with indentation holds $\delta_0^{eq}(\delta) \approx C + \alpha\delta$, the slope X is biased and becomes $X = S(1 - \frac{3}{2}\alpha)$ where S is the slope of equation 8. We plan to elaborate on such a better model in a next publication.

4.3 Plasma oxidized PDMS elasticity

The linearized Hertz method was used to determine the thickness of an oxidized layer of PDMS for plasma exposure time between 30 s and 90 min at 29.6 W. On figure 8 are displayed the result with a surface modulus of 1.5 GPa as found in literature⁹. The values of thickness at short time matches well values previously found in literature with wrinkling methods^{9,10}. However, although Bayley and coll.¹⁰ predicted a logarithmic progression of the thickness as a function of dose (or time at fixed power), at long time exposure the oxidized layer thickness exhibits a power

Homogeneous

Linearized Hertz
 $F \propto E^*(\delta - \delta_0)^{3/2}$

Bilayer

Linearized Hertz
 $F \propto \bar{E}^*(\delta - \bar{\delta}_0)^{3/2}$

Linear Model
 $F \propto E_{eq}^*(\delta)\delta^{3/2}$

Hypothetic Model
 $F \propto E_{eq}^*(\delta)(\delta - \delta_0^{eq}(\delta))^{3/2}$

Fig. 7 Different routes for the conversion of the Hertzian contact model on homogeneous material for a use on composite materials indentation interpretation.

law $T \propto t^{0.63}$. Apparent modulus larger than 1.5 GPa were found for exposure larger than 160 kJ which corresponds to 80 minutes of exposition (not displayed on figure 8). Thus, an increase of the surface modulus is suspected to occur. In particular, a second slower reaction could take place, generating another harder layer. This conjecture is supported by SEM pictures of a slice of PDMS previously oxidized for a very long time (data not shown). However, deeper investigation are required to support this assertion which are beyond the scope of this article.

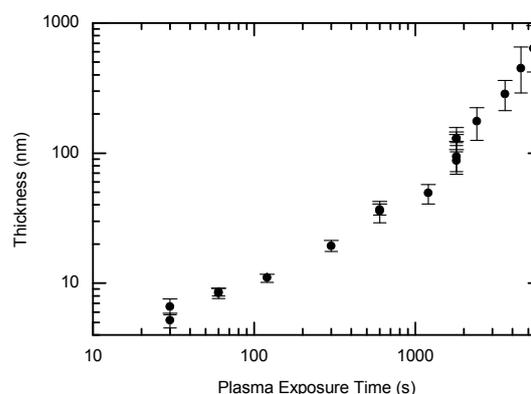


Fig. 8 Thickness of oxidized PDMS films using CHIMER.

5 Conclusion

AFM nanoindentation experiments were performed on PDMS soft substrates covered by two kinds of hard materials: chitosan and PDMS oxide. The so-called apparent measured modulus of these composite samples can be interpreted using a new semi-analytical approach called CHIMER. Two different methods have been used to obtain the equivalent elasticities which are then interpreted into CHIMER.

The chitosan layer thickness is measured by other means, so that the relevance of the models can be put at test. A very good agreement between measured and expected thicknesses is found with the linearized Hertz method. On the other hand, the linear model displays an overestimation of approximately 70% of the

thicknesses. This systematic bias can be imputed to the contact point independence of this method. This mismatch of the linear model through CHIMER may be an interesting field of investigation, especially concerning the necessity to depict a virtual contact point during multilayer indentation experiments. In the oxidized PDMS case, the thicknesses are unknown and the nanoscale feature of this method is used to measure the oxide layer thickness at longer time scale than possible with other methods. The counter-intuitive increase of the growth speed hints at a hardening of the surface material, that is suspected to take origin in the growth of a second harder layer.

AFM nanoindentation is a very tempting route for the investigation of the properties of thin films or coatings. However, the influence of the substrate is a major problem that is practically hard to avoid. The CHIMER approach is a potentially viable option as it can decorrelate the contribution of the layer from that of the substrate.

Acknowledgement

This work was supported by the French National Research Agency, Grant n° ANR-13-IS09-0002, the RTRA Triangle de la Physique (Université Paris-Saclay) and the University Versailles Saint Quentin en Yvelines. The authors would like to thank E. Barthel from the SIMM laboratory (UMR 7615, ESPCI, Paris, France) for his help to understand and use the CHIMER model. L. Pauchard (FAST laboratory (UMR 7608, Université Paris-Sud, Orsay, France), is acknowledged for his help in microindentation experiment of bulk chitosan.

References

- 1 D. Bodas and C. Khan-Malek, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2007, **123**, 368–373.
- 2 Y. Xia and G. M. Whitesides, *Angewandte Chemie International Edition*, 1998, **37**, 550–575.
- 3 B. Schnyder, T. Lippert, R. Kötz, A. Wokaun, V.-M. Graubner and O. Nuyken, *Surface Science*, 2003, **532-535**, 1067–1071.
- 4 H. Hillborg, J. Ankner, U. Gedde, G. Smith, H. Yasuda and K. Wikström, *Polymer*, 2000, **41**, 6851–6863.
- 5 M. Morra, E. Occhiello, R. Marola, F. Garbassi, P. Humphrey and D. Johnson, *Journal of Colloid and Interface Science*, 1990, **137**, 11–24.
- 6 L. P. Chia Gómez, P. Bollgruen, A. I. Egunov, D. Mager, F. Malloggi, J. G. Korvink and V. A. Luchnikov, *Lab on a Chip*, 2013, **13**, 3827.
- 7 S. Chen, L. Liu and T. Wang, *Surface and Coatings Technology*, 2005, **191**, 25–32.
- 8 R. Saha and W. D. Nix, *Acta Materialia*, 2002, **50**, 23–38.
- 9 S. Béfahy, P. Lipnik, T. Pardoën, C. Nascimento, B. Patris, P. Bertrand and S. Yunus, *Langmuir*, 2010, **26**, 3372–3375.
- 10 F. A. Bayley, J. L. Liao, P. N. Stavrinou, A. Chiche and J. T. Cabral, *Soft Matter*, 2014, **10**, 1155.
- 11 B. A. Glatz, M. Tebbe, B. Kaoui, R. Aichele, C. Kuttner, A. E. Schedl, H.-W. Schmidt, W. Zimmermann and A. Fery, *Soft Matter*, 2015, **11**, 3332–3339.
- 12 H.-J. Butt, B. Cappella and M. Kappl, *Surface Science Reports*, 2005, **59**, 1–152.
- 13 H. R. Hertz, *Ueber die Beruehrung elastischer Koerper (On Contact Between Elastic Bodies)*, 1895, vol. 1.
- 14 J. Domke and M. Radmacher, *Langmuir*, 1998, **14**, 3320–3325.
- 15 P. A. O'Connell, *Science*, 2005, **307**, 1760–1763.
- 16 B. Du, O. K. C. Tsui, Q. Zhang and T. He, *Langmuir*, 2001, **17**, 3286–3291.
- 17 E. Buchner Santos, J. K. Morris, E. Glynos, V. Sboros and V. Koutsos, *Langmuir*, 2012, **28**, 5753–5760.
- 18 R. H. Abou-Saleh, S. A. Peyman, K. Critchley, S. D. Evans and N. H. Thomson, *Langmuir*, 2013, **29**, 4096–4103.
- 19 M. Poehlmann, D. Grishenkov, S. V. V. N. Kothapalli, J. Härmann, H. Hebert, A. Philipp, R. Hoeller, M. Seuss, C. Kuttner, S. Margheritelli, G. Paradossi and A. Fery, *Soft Matter*, 2014, **10**, 214.
- 20 C. A. Grant, J. E. McKendry and S. D. Evans, *Soft Matter*, 2012, **8**, 1321.
- 21 M. Ghorbanzadeh Ahangari, A. Fereidoon, M. Jahanshahi and N. Sharifi, *Composites Part B: Engineering*, 2014, **56**, 450–455.
- 22 C. de Loubens, J. Deschamps, M. Georgelin, A. Charrier, F. Edwards-Levy and M. Leonetti, *Soft Matter*, 2014, **10**, 4561.
- 23 C. Ye, I. Drachuk, R. Calabrese, H. Dai, D. L. Kaplan and V. V. Tsukruk, *Langmuir*, 2012, **28**, 12235–12244.
- 24 C. Zoldesi, I. Ivanovska, C. Quilliet, G. Wuite and A. Imhof, *Physical Review E*, 2008, **78**, year.
- 25 J. Yin, M. Retsch, J.-H. Lee, E. L. Thomas and M. C. Boyce, *Langmuir*, 2011, **27**, 10492–10500.
- 26 E. P. S. Tan and C. T. Lim, *Applied Physics Letters*, 2005, **87**, 123106.
- 27 M. Gibbons and W. Klug, *Physical Review E*, 2007, **75**, year.
- 28 X. Sui, Q. Chen, M. A. Hempenius and G. J. Vancso, *Small*, 2011, **7**, 1440–1447.
- 29 Z. Zhang, A. J. Morse, S. P. Armes, A. L. Lewis, M. Geoghegan and G. J. Leggett, *Langmuir*, 2013, **29**, 10684–10692.
- 30 M. Horimizu, T. Kawase, T. Tanaka, K. Okuda, M. Nagata, D. M. Burns and H. Yoshie, *Micron*, 2013, **48**, 1–10.
- 31 P. Carl and H. Schillers, *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 2008, **457**, 551–559.
- 32 D. Vella, A. Ajdari, A. Vaziri and A. Boudaoud, *Journal of The Royal Society Interface*, 2011, **9**, 448–455.
- 33 M. R. Bonilla, J. R. Stokes, M. J. Gidley and G. E. Yakubov, *Soft Matter*, 2015, **11**, 1281–1292.
- 34 S. Liu, H. Huang and Y. Gu, *Thin Solid Films*, 2012, **526**, 183–190.
- 35 C. Zhang, M. Zhao, Y. Liu and B. Wang, *Journal of Materials Research*, 2013, **28**, 2570–2576.
- 36 A. Perriot and E. Barthel, *Journal of Material Research*, 2004, 600–608.
- 37 J. Li and T.-W. Chou, *International Journal of Solids and Structures*, 1997, **34**, 4463–4478.
- 38 A. Martínez-Camacho, M. Cortez-Rocha, J. Ezquerro-Brauer,

- A. Graciano-Verdugo, F. Rodriguez-Félix, M. Castillo-Ortega, M. Yépiz-Gómez and M. Plascencia-Jatomea, *Carbohydrate Polymers*, 2010, **82**, 305 – 315.
- 39 T. Nishino, R. Matsui and K. Nakamae, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 1999, **37**, 1191–1196.
- 40 R. H. Pritchard, P. Lava, D. Debruyne and E. M. Terentjev, *Soft Matter*, 2013, **9**, 6037.
- 41 R. Limbach, B. P. Rodrigues and L. Wondraczek, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2014, **404**, 124– B4.
- 42 W. Kern, *Journal of the Electrochemical Society*, 1990, **137**, 1887–1892.
- 43 J. Villarrubia, *Surface Science*, 1994, **321**, 287–300.
- 44 G. Kaushik, A. Fuhrmann, A. Cammarato and A. Engler, *Biophysical Journal*, 2011, **101**, 2629–2637.
- 45 Y. Cao, D. Yang and W. Soboyejoy, *Journal of Materials Research*, 2005, **20**, 2004–2011.
- 46 K. L. Johnson, K. Kendall and A. D. Roberts, *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 1971, **324**, 301–313.

Polymeric Microcapsules for Biomedical Applications : AFM Investigation of Shell Elasticity

B. SARRAZIN^a, N. TSAPIS^b, L. MOUSNIER^b, N. TAULIER^c, W. URBACH^d, P. GUENOUN^a

Abstract

Elasticity of polymer microcapsules (MCs) filled with a liquid fluorinated core is studied by atomic force microscopy (AFM). Accurately characterized spherical tips are employed to obtain the Young's moduli of MCs having four different shell thicknesses. We show that those moduli are effective ones because the samples are composite. The strong decrease of the effective MC elasticity (from 3.0 to 0.1 GPa) as the shell thickness decrease (from 200 to 10 nm) is analyzed using a novel numerical approach. This model describes the evolution of the elasticity of a coated half-space according to the contact radius, the thickness of the film and the elastic moduli of bulk materials. This numerical model is consistent with the experimental data and allows simulating the elastic behavior of MCs at high-frequencies (5 MHz). While the quasi-static elasticity of the MCs is found to be very dependent on the shell thickness, the elastic behavior of the core at high-frequency leads to a stable behavior of the MCs (from 2.5 to 3 GPa according to the shell thickness). Finally, the effect of thermal annealing on the MCs elasticity is investigated. A reduction of the shell thickness due to the loss of the polymer evidenced from the modulus decrease.

Keywords

Microcapsule — Atomic Force Microscopy — Nanoindentation — Elasticity

^aCEA-Saclay, IRAMIS/NIMBE/LIONS, UMR CNRS 3299, France

^bUniv Paris-Sud, Institut Galien Paris-Sud, CNRS UMR 8612, LabEx LERMIT, Châtenay-Malabry, France

^cLaboratoire de Physique Statistique de l'École Normale Supérieure, UPMC, CNRS UMR 8550, Paris, France

^dBiomedical Imaging Laboratory, UMR CNRS 7623, Pierre et Marie Curie University, Paris, France

Contents

1	Introduction	1
2	Experimental Section	2
3	Results and discussion	3
3.1	Polymer Films and Microcapsules	3
3.2	PLGA/PFOB Microcapsules	5
4	Conclusion	8
	Acknowledgments	8
	References	8

1. Introduction

Although perfluorinated liquids are relatively inert and interact poorly with hydrogenated molecules [1], they have been successfully encapsulated into biodegradable polymers to yield capsules [2, 3, 4]. Encapsulation was performed because perfluorinated liquids may act as contrast agents both for ultrasound imaging by backscattering ultrasound waves or for fluorine magnetic resonance imaging given their high fluorine content [5, 6].

Capsules can be of micrometric or nanometric size depending on the application for which they are intended for. The efficacy of capsules as ultrasound contrast agents has been

shown to depend on their size, concentration, as well as their geometry. Indeed, the thinner the capsules, the more intense the backscattered ultrasound waves [7]. In addition, capsules may serve as drug carriers by delivering drug localized into the shell to a target tissue, thereby enhancing efficacy while reducing deleterious effect on healthy organs. Ultrasound can be the same trigger to destroy the capsules locally and deliver the drug. This can be achieved either by inducing cavitation bubbles leading to a thermo-mechanical stress or using mild hyperthermia if capsules are thermosensitive [8, 9].

One of the main challenges is to understand and to theoretically describe the capsules mechanical properties and their behavior of capsules subjected to mechanical stresses. Although Guédra et al. [10] proposed several theoretical models for MCs (Church, Rayleigh-Plesset, Kelvin-Voigt, Zener) – which take into account the shell elasticity, stiffness, viscosity or surface tension – to describe the influence of shell mechanics of MCs on the ultrasound effect, there is a crucial lack of experimental data to feed these models. Acoustic spectroscopy [11], consisting in measuring the speed of sound and attenuation as a function of the frequency, can be used to experimentally characterize the physical properties of MCs suspension. Nevertheless, it does not allow characterizing a single particle. The aim of the present study is to measure and to estimate the dispersion of the mechanical properties of

single MCs at the nanometer scale.

Atomic Force Microscopy (AFM) is precisely able to probe such mechanical properties of isolated nanometer scale objects [12]. AFM used as nano indenter allows characterizing single particle using contact model taking into account geometry of the object and the AFM tip. During the last twenty years, it has been used to study mechanical properties of various systems such as thin polymer films [13, 14, 15, 16], microbubbles [17, 18, 19, 20], microcapsules [21, 22, 23], hollow colloidal particles [24, 25], nanotubes [26], thin virus shell [27], polymer brushes [28, 29] and cells [30, 31, 32]. Focusing on hollow spherical objects, several studies [33,34] explored such mechanical properties using micrometric colloidal probes or tipless cantilever. The microparticles can be compressed up to 50 % of their diameter since the dimension of the probe is much larger than the microparticle one. Such an experimental process implies that the entire particle is probed and a compressive elastic modulus (Young's modulus) is computed from force curve using a contact elastic model such as Hertz / Sneddon models [33] or Reissner model [34] for thin spherical shells.

In this study, microcapsules (MCs) consist of a polymer shell (poly(lactide-co-glycolide), PLGA) surrounding a perfluorinated liquid core (perfluorooctylbromide, PFOB). PLGA is a biocompatible and biodegradable polymer [35, 36]. PFOB is chosen as a fluorinated compound and absence of toxicity has been reported [37, 38]. The indentation of individual PLGA MCs filled with liquid PFOB was studied for capsule radii (R) between 400 and 600 nm and for shell thicknesses (T) such that $T/R = 0.025; 0.15; 0.25; 0.35$ and 1 for full PLGA microspheres. Capsules deposited on a hard surface are imaged and subsequently probed by measuring the force-displacement curves with the AFM tip. An inalterable diamond coated tip whose apex dimension is several ten nanometers (20 to 50 nm depending on the batch, see Experimental Section for deconvolution process) was used to probe capsules and full spheres whose diameter is in the order of the micron (Figure 1). Hertz [39] and Johnson-Kendall-Roberts [40] models are employed to analyze the force versus deformation curves and compute compressive effective elastic moduli (Young's modulus) of each MC. Particular attention was paid to the precise calibration of cantilever stiffness and tip geometry which are critical parameters to interpret force curves. PLGA films and full microspheres were also probed for assessing this calibration. A crucial point is to locally deform the shell while limiting the global non-elastic crushing of the capsule. Moreover, frequency and temperature influences have been investigated in order to get closer to real experimental conditions of use for MCs for biomedical application. As a result, it is shown that the Young's modulus is highly dependent on thicknesses at low frequency. A numerical model is used to validate experimental data and describe the evolution of elasticity according to the contact radius and the shell thickness. Subsequently, this model is used to simulate the high frequency mechanical behavior of the MCs. The dependency of the shell elasticity

to the thickness is found to be much less because of the PFOB behavior at high frequency.

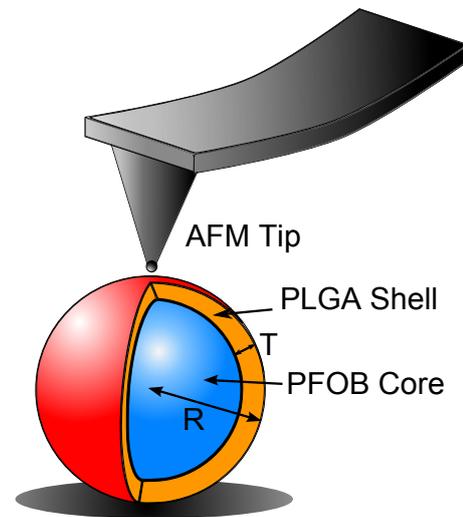


Figure 1. Schematic of PLGA/PFOB Microcapsule normal load by AFM Tip. The tip apex / MC relative scales ($R = 500$ nm, $R_{tip} = 50$ nm, $T/R = 0.35$) are respected.

2. Experimental Section

Materials. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) Resomer RG502 (intrinsic viscosity 0.16-0.24 dl.g⁻¹; $M_n=7000-17000$ g.mol⁻¹; ester terminated) was provided by Evonik Röhm Pharma GmbH (Germany). Sodium cholate (SC) and Nile Red were purchased from Sigma-Aldrich (France). Perfluorooctyl bromide (PFOB) was obtained from Fluorochem (United Kingdom). Methylene chloride RPE-ACS 99.5 % was provided from Carlo-Erba Reactifs (France). Water was purified using a RIOS/Milli-Q system (Millipore, France).

AFM Sample Preparation. Silica substrates are cleaned by UV-Ozone, plasma and acid technique [41] to get reproducible wetting and surface state. In the case of mica substrate, they are cleaned using glue tape to peel off the top atomic layers and to expose fresh mica surface. Freeze-dried MCs and full polymer microparticles are rehydrated in ultrapure deionized MilliQ water (resistivity 18.2 MΩ.cm). A droplet (100 μL) of the obtained solution is deposited on bare silica wafer and dried in vacuum chamber during 1 to 5 hours. To homogenize the distribution of MCs on the substrate, the sample is rinsed with pure water and dried again during 30 to 60 min. PLGA films are performed using spin-coating technique. A droplet of PLGA solution (1 g.l⁻¹ in dichloromethane) is deposited on bare silicon wafer and spun at 500 to 5000 RPM depending on the desired thickness (basically 100 to 1000 nm). Obtained films are very flat (roughness less than 5 nm on 20 μm²). In order to measure film thickness, a medical blade is used to scratch the surface.

Atomic Force Microscopy. Nanoindentation has been

performed using an AFM Dimension V (Digital Instruments / Veeco-Bruker, Santa Barbara, CA, USA) mounted with an optical microscope. AFM probes used to perform force curves is a silicon-nitride cantilever with a diamond coated tip (DT-NCHR, NanoWorld and B1-NCHR, Nanotools). This diamond coat reduces tip wear and damage during force measurements, particularly on hard surface (calibration curves). Cantilever stiffness is about 60 to 90 $N.m^{-1}$ and tip radius is in the range of 20 to 150 nm. This is quite larger than classic sharp silicon nitride AFM tips (about 10 nm radius) which are used for high resolution imaging (RFESPA, Bruker). An AFM Dimension Icon (Bruker Santa Barbara, CA, USA) has been used to probe forces at higher frequency.

Calibration of the Cantilever Spring Constant k . Some procedures are described to measure cantilever stiffness [42]. The most common one is the thermal tune computation [43]. Measurement of mechanical response of the cantilever to thermal noise allows us to compute spring constant (Lorentzian fit of the frequency spectrum). The cantilever stiffness calibration procedure can be described as follow: a force curve is performed on hard surface and the slope of approaching curve is measured to know the sensitivity of the cantilever. Then thermal tune is made far from the surface and the frequency spectrum is fitted around the peak which is at the resonant frequency.

AFM Tip Geometry. Blind deconvolution algorithm [44] is applied to a characterization surface picture and allows to get back to the tip shape. Deconvolution is computed using Gwyddion software (David Nečas and Petr Klapetek, Department of Nanotechnology, Czech Metrology Institute). Characterization surface used for blind deconvolution consists of pyramidal hard sharp nanostructures (PA series from Mikromasch, NanoAndMore GmbH).

3. Results and discussion

3.1 Polymer Films and Microcapsules

In order to measure mechanical properties of the MC's shell main compound, nanoindentations were first performed on thin PLGA films deposited on a hard surface of silicon wafers (100 to 1000 nm thick). Indentation depths (5 to 20 nm depth) were kept much lower than film thicknesses to avoid all influences from the substrate to probe elastic regime and limit viscoplastic deformation.

Figure 1(a) presents typical force curves on PLGA film compared to polystyrene (PS) films (500 nm) and a hard surface (silicon substrate). Mechanical properties of PS are well known and described in literature (15,43), providing a relevant reference to check the AFM calibration accuracy as well as to compare values with our samples data. The approaching force curves are used to calculate the Young's moduli of the sample. First, indentation δ is calculated from equation 1:

$$\delta = |z - z_0| - |D - D_0| \quad (1)$$

where z and D are the piezo-displacement and the cantilever deflection respectively and z_0 and D_0 are the piezo-displacement and the cantilever deflection at which the tip-surface contact occurs, respectively. The loading force F is determined from the Hookean equation 2:

$$F = k(D - D_0) \quad (2)$$

where k is the spring constant of the AFM cantilever. This constant is experimentally measured using the mechanical response to thermal noise.

Two different models are used in this study. The first and the simplest one is the Hertz model that describes the purely elastic deformation of two spherical bodies in contact [39]. The second is Johnson-Kendall-Roberts (JKR) model that describes an elastico-adhesive contact [40].

Hertz theory leads to Young's modulus as equation 3:

$$E = \frac{3(1 - \nu^2)}{4\sqrt{R^*}} \frac{F}{\delta^{3/2}} \quad (3)$$

$$1/R^* = 1/R_{tip} + 1/R_{sample} \quad (4)$$

where R^* is the effective radius of the two bodies in contact, F is the applied force, δ is the indentation depth and ν is the Poisson ratio of the sample. Reduced elastic modulus ($E^* = E/(1 - \nu^2)$) is simply determined from the linear fit of the F vs. $\delta^{3/2}$ experimental data (measured between 10 to 70 % of the full indentation depth) (Figure 1(b)) In this study, ν is assumed to be 0.33 for the PS as well as for the PLGA and the PLGA/PFOB MC (glassy polymer [45]). In the case of polymer film, R_{sample} is infinite so $R^* = R_{tip}$. It is found that PLGA is slightly harder than PS. Young's modulus of PLGA is not modified with an increase of frequency. For 1 Hz (AFM Tapping Mode) and 2 kHz (AFM PeakForce QNM, Bruker) we measured 3.0 ± 0.2 GPa and 3.08 ± 0.35 GPa respectively. This value reaches 4.3 GPa for frequency between 1 to 10 GHz [46].

As adhesion may play a role in the elastic response, an elastico-adhesive model is needed. The Johnson-Kendall-Roberts (JKR) model was the first to incorporate adhesion into Hertzian contact. The traditional equation of JKR model [40] expresses the contact radius a as a function of the applied force F , the surface energy γ , the elastic modulus E and the effective radius R^* :

$$a^3 = \frac{3R^*(1 - \nu^2)}{4E} \left(F + 3\pi\gamma R^* + \sqrt{6\pi\gamma R^* F + (3\pi\gamma R^*)^2} \right) \quad (5)$$

As it has been shown [47], contact radius is difficult to estimate in the case of AFM nanoindentation experiment. Indeed, even for very definite tip geometry, the nanoindentation area

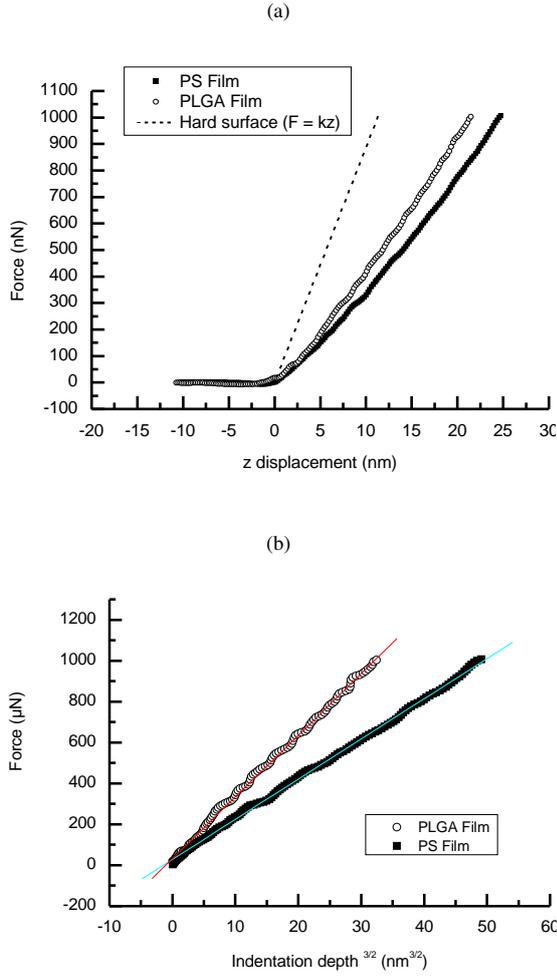


Figure 2. (a) Force vs. displacement curves on PLGA and PS. (b) Hertz plots of PLGA and PS.

can be hard to estimate because of nanoroughness, localized adhesion or Van der Waals forces. Thus schemes where the elastic modulus is expressed as a function of the cantilever deflection (or loading force) and indentation depth have been derived. Lin et al. [48] and Tsukruk et al. [49] reported the following equation derived from JKR model :

$$E = \frac{3F_1(1-\nu^2)}{4\sqrt{R^*}\delta^{3/2}} \left[1 - \frac{2}{3} \left(\frac{6\pi R^* \gamma}{F_1} \right)^{1/2} \right]^{3/2} \quad (6)$$

where

$$F_1 = F + 3\gamma\pi R^* + \sqrt{6\gamma\pi R^* F + (3\gamma\pi R^*)^2} \quad (7)$$

and the adhesion energy γ is determined by the pull-off

force F_{po} needed to detach the tip from the surface by :

$$F_{po} = -\frac{3}{2}\gamma\pi R^* \quad (8)$$

Adhesion energy γ can be a critical parameter for the interpretation of elasticity at low indentation depth. Actually, the pull-off force and the adhesion energy can be highly fluctuating according to humidity, temperature, maximum applied force, tip and surface properties, leading to a large error in the computed elastic moduli. Figure 3 shows the "instantaneous" Young's modulus derived from equation 6 (directly calculated from Hertz and JKR relations using instantaneous F and δ extracted from force curves) during the progression of the indentation. JKR model provides higher Young's moduli than Hertz model at low indentations. Adhesion effect is actually significant when the applied force is low, increasing the effective Young's modulus. However for both models (Hertz and JKR), our results show that Young's modulus at low indentation depth ($< 2-5$ nm) is varying with deformation. This is due to the destabilizing attractive force gradient in the vicinity of surfaces and the possible lower molecular mobility at the interface between the two contacting surfaces [50, 51]. For larger indentation depth, elastic bulk effects are predominant and adhesion effects become negligible against applied force. Hence, in the range of our experimental indentation depths (5 to 10 nm), the convergence of Hertz and JKR models is observed, showing that adhesion effect can be neglected if the elastic modulus determination does not take into account the first few nanometers.

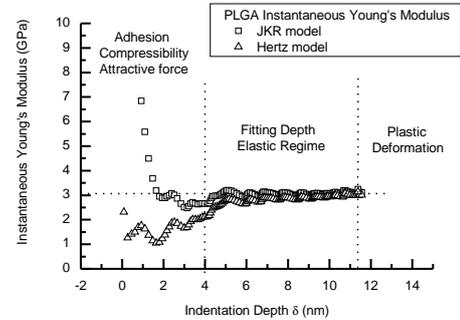


Figure 3. Instantaneous Young's modulus of PLGA vs. Indentation depth computed with JKR and Hertz models. The convergence of both models is the fitting range (elastic behavior) which is limited by a more complex behaviors (attractive forces, adhesion, low molecular mobility...) for low indentation and visco-plastic behavior for high indentation.

It must also be noted that viscoplastic effects occur even for tiny indentation depth (≈ 5 nm). Therefore, after tip withdrawing from the surface, a circular ridge surrounding the residual hole is observed. Indeed, plastic deformation in soft material is mainly associated with piling up effect which is more important at higher yield stress [52]. Although

this behavior seems to be incompatible with the fully elastic approach of the PLGA, we observed that this effect does not critically upset the linearity of the Hertz model ($F/\delta^{3/2}$) mainly because the amount of piled up polymer is tiny when compared to the quantity of displaced material during indentation. This effect can be related to the local mobility close to the surface [53] and the residual deformation is relaxed after several hours at ambient temperature.

Finally microparticles made of PLGA ($T/R = 1$) were probed in order to check the applicability of the above presented measurement procedures to spherical geometries. Figure 3(a) shows PLGA microparticles that appear to be considerably wider than high. This effect is due to the convolution between the tip shape and the particle shape [54]. Nonetheless, AFM topographic images allow determining the top of each particle with an accuracy of 5 to 10 nm. Nanoindentation points are determined on the AFM image and force curves are recorded on the top of each localized particle. Young modulus of PLGA microparticle is found to be 2.8 ± 0.4 GPa. The slightly larger dispersion than in planar case is most probably due to the uncontrolled slight lateral motion of the spherical particle during the tip approach. As expected however, PLGA films and microparticles give very similar responses to normal compressive forces.

3.2 PLGA/PFOB Microcapsules

As microcapsule radii are found to be in between 400 to 600 nm, the shell thicknesses span the following ranges: 140 to 210 nm (for $T/R = 0.35$), 100 to 150 nm (for $T/R = 0.25$), 60 to 90 nm (for $T/R = 0.15$) and 10 to 15 nm (for $T/R = 0.025$). In the following study, indentation depth was limited to several nanometers to avoid visco-plastic deformation and thus satisfy elastic model condition.

AFM pictures are taken on microcapsules monolayer (Figure 4). The surface and morphology of these dried microcapsules differ according to the shell thickness. For $T/R = 0.35$ and 0.25, the surface exhibits a fairly regular morphology – similar to full PLGA microparticles – though some roughness is observed (Figure 3(b) and 3(c)). In the case of the thinnest capsules ($T/R = 0.15$ and 0.025), surface seems to be smoother (Figures 3(d) and 3(e)). For $T/R = 0.025$, shells become very fragile and broken capsules are sometimes observed (Figure 3(e)). Moreover, some of them are clearly wrinkled (Figure 3(f)).

Normal compression is applied at the top of each microcapsule using a trigger force to limit the deformation. This method enables to systematically perform a lot of force curves in order to get statistically reliable results. Figure 4(a) shows that Hertz model fairly describes the mechanical behavior of thickest microcapsules. For the thinnest ones ($T/R = 0.15$ and 0.025), ruptures and plastic deformations of the shells are observed which explain the discrepancy of the experimental force curves with the Hertzian model at high indentation depth. For $T/R = 0.35$ capsules, the Young's modulus ($E_{0.35} = 2.27 \pm 0.56$ GPa) is close to elastic mod-

uli of microparticles ($T/R = 1$) and PLGA film. Microcapsules with thinner shells present significantly smaller Young's moduli: $E_{0.25} = 1.25 \pm 0.23$ GPa, $E_{0.15} = 0.57 \pm 0.22$ GPa, $E_{0.025} = 0.1 \pm 0.05$ for $T/R = 0.25$, 0.15, and 0.025 respectively (Figure 4(b)). For the two thinnest capsules, effective Young's modulus cannot be evaluated with accuracy due to the fragility of the shells and the force resolution of the used cantilever. We observed breaks in several force curve slopes showing the sudden rupture of the shell. Plastic deformation and rupture of the capsules are also observed. This effect is not reproducible in term of indentation depth. However, this is due to the fact that the indentation depth δ is close to the shell thickness and the radius a of contact area.

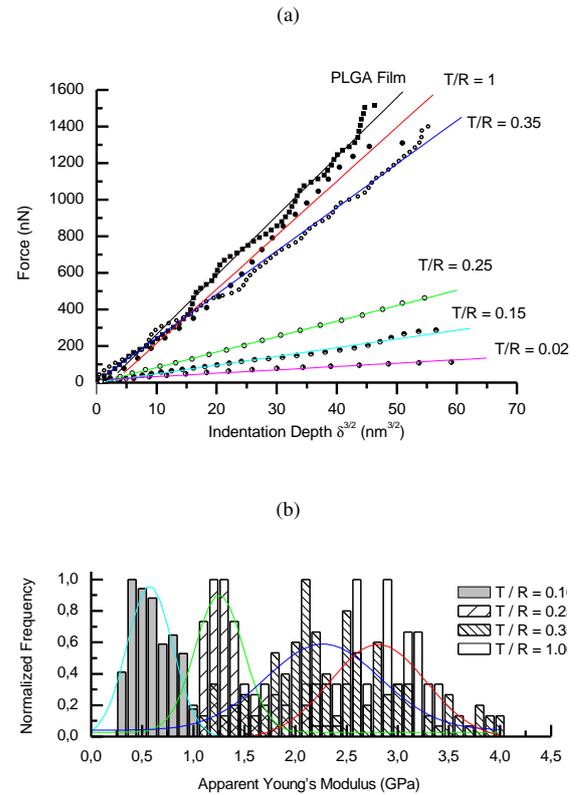


Figure 5. (a) Hertzian fitting (straight lines) of PLGA film, full PLGA microparticles and PLGA / PFOB microcapsules experimental force curves (scatter). (b) Statistical histograms of Young's moduli depending on shell thickness. Unbroken lines are Gaussian fits.

Fully described in literature, the behavior of pure elastic shells under flat compression presents a first-order transition between the flatten deformation and the buckling deformation with the inversion of the curvature. Pauchard et al. [33] reported that such transition occurs at a deformation close to twice the thickness of the shell. In our case, force curves do not present this behavior because of the sharp shape of the indenter, the brittle hallmark of the PLGA and the incompressible PFOB core. Indeed, no flatten deformation occurs and

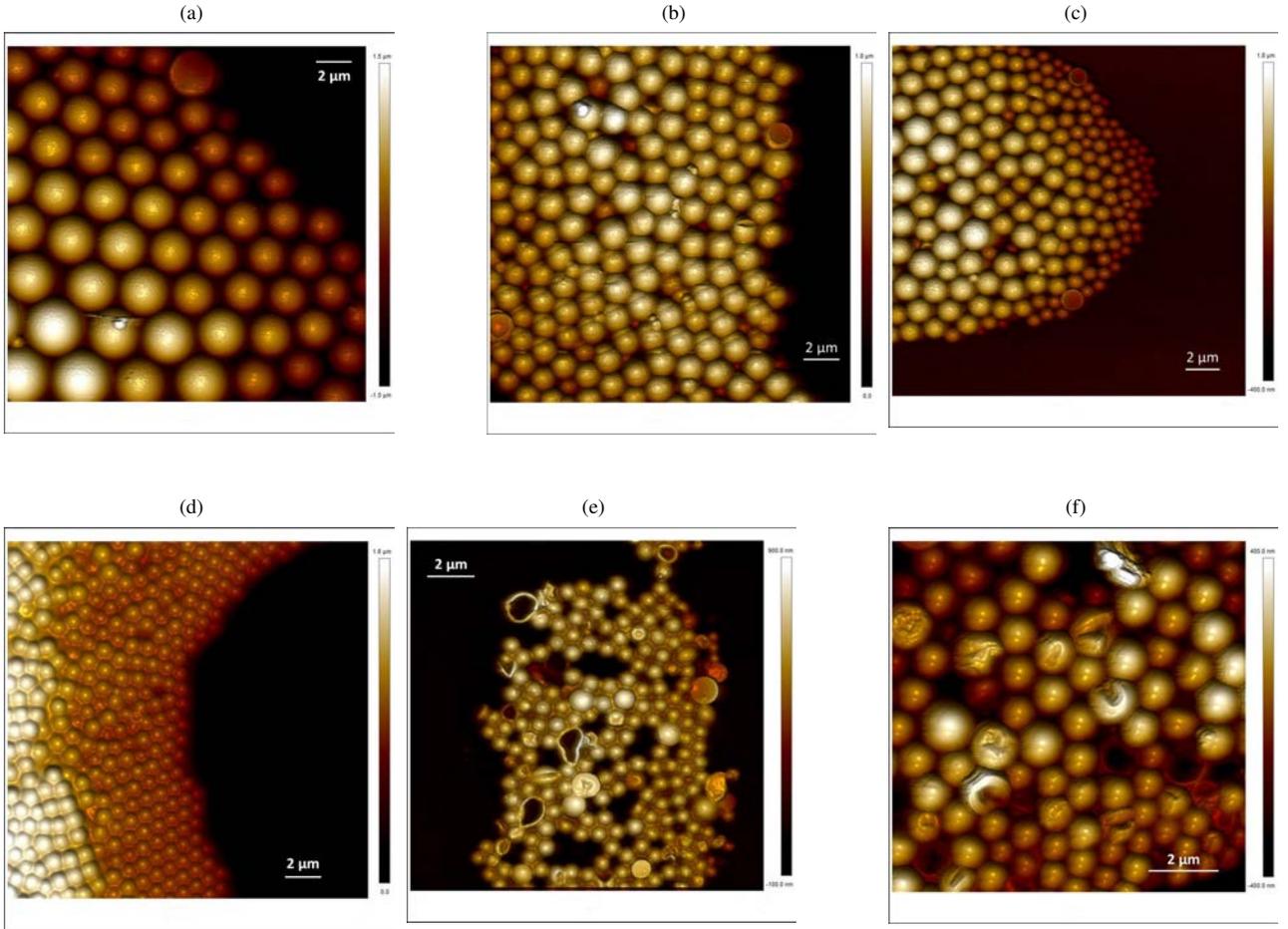


Figure 4. (a) PLGA Microparticles. (b) PLGA/PFOB Microcapsules $T/R = 0.35$ (c) $T/R = 0.25$. (d) $T/R = 0.15$. (e) and (f) $T/R = 0.025$.

local buckling is observed preceding the sudden ruptures of the MCs.

The decreasing measured Young's modulus with the shell thickness is directly related to the composite nature of MCs which are made of a polymer film coated on a liquid core. The measured Young's moduli indeed characterize the elastic behavior of the MCs through an effective modulus (E_{eff}) which describes the local elasticity of the shell/core system. A. Perriot and E. Barthel modelled this elastic contact in the case of a flat coated infinite half-space [55]. They proposed a numerical analysis describing the change of the effective modulus according to the a/T (or δ/T) ratio. This numerical approach can also describe the evolution of the contact radius a according to the indentation depth δ . This evolution is particularly interesting in the case of coated material because the contact radius a is no longer proportional to $\sqrt{\delta}$ (Hertzian contact radius) owing to the compliance of the lower part.

We previously showed that low and high indentation depths are not relevant to describe the mechanical behavior with Hertz model (adhesion and compressive effects below 2-5

nm and visco-plasticity above 10 to 15 nm). In the relevant range of indentation depth (5 – 15 nm), the numerical analysis of Perriot and Barthel shows that the contact radius does not dramatically change with δ/T and remains at about 7 to 11 nm (Figure 5(a)). Hence, this justifies to assume a constant effective elasticity for one AFM nanoindentation experiment. Moreover, the slope in this range of δ/T is 0.39 to 0.45 which is close to the Hertzian dependency $a \propto \delta^{1/2}$. Thus, the Hertzian approximation remains relevant despite the composite aspect of the sample.

In a heuristic approach, Perriot and Barthel proposed a simple expression of the coated half-space indentation model which can be written as follows:

$$E_{eff} \left(\frac{a}{T} \right) = E_1 + \frac{(E_0 - E_1)}{1 + \left(\frac{T x_0}{a} \right)^n} \quad (9)$$

where E_1 is the elastic modulus of the coating and E_0 is the elastic modulus of the lower part. In our case, E_1 and

E_0 are considered to be E_{PLGA} and E_{core} respectively. x_0 and n are adjustable parameters. Approximating the shells as a flat surfaces ($R_{tip} \gg R_{capsule}$) and considering E_{PLGA} as the bulk PLGA elastic modulus and $E_{core} \approx 0$ (PFOB liquid core), experimental data are well fitted to eq. 9 ($x_0=0.05$ and $n=1.3$). Figure 5(b) shows the transition of E_{eff} according to the shell thickness. The effective elastic modulus E_{eff} is close to the bulk PLGA modulus E_{PLGA} for thick shells and tends towards E_{core} for thin shells. This simplified model is a good approximation of the shell behavior. Moreover, it confirms the Hertzian approach as a relevant one.

Using the complete numerical algorithm (see supporting information) enables to fit E_{core} which found to be a finite value of 100 MPa. We interpret this elastic contribution as a result of the spherical shape of the particle. Indeed, for thin enough capsules, the deformation of the liquid is able to induce a long-range stress on the polymer shell, thus invalidating the model. Nevertheless, this “effective” spherical shape contribution remains small, less than 3 % of the PLGA elasticity so the flat model is reasonable, especially for the thickest capsules.

Considering quasi-static mechanical behavior, PFOB is a liquid which is considered as incompressible. In contrast, PFOB exhibits an elastic behavior at high-frequency ($E_{PFOB}=2.18$ GPa at 5 MHz [56]). Concerning PLGA at high frequency, we showed that the elasticity is really close to the quasi-static one at 2 kHz and reaches 4.3 GPa for frequency about 1 to 10 GHz [46]. Widely, it appears that the gap between experimental values of PLGA elasticity is mostly due to the measurement technique and PLGA Young’s modulus is almost not influenced by frequency. Consequently, in the case of ultrasound waves in the MHz range, an increase of the shell elasticity is expected because of the increasing of E_{PFOB} whereas E_{PLGA} is almost unchanged. Using the coated elastic half-space model, the capsule elasticity at high frequency can be estimated (Figure 5(b)). The conclusion of this simulation is that the mechanical behavior of the capsules – contrary to the quasi-static case – depends less on the shell thickness because of the stiffer property of the PFOB at high frequency.

The effect of thermal annealing on MCs mechanical behavior was also investigated (Figure 6). Indeed, MCs should be injected several hours in advance before reaching the targeted organ and the modifications of the shell thickness T and its mechanical properties have to be predicted. After heating MCs in water solution, a droplet of the solution was deposited and dried on mica substrate and force measurements were performed in air at room temperature. Effective Young’s moduli of annealed MCs are found significantly lower than non-annealed MCs ones. Thus, after 24h at 38 °C, Young’s modulus of MC with $T/R = 0.25$ (0.89 ± 0.24 GPa) is about 30 % less than at room temperature. Similarly, after 60 min at 50 °C, Young’s modulus of MCs with $T/R = 0.35$ is 1.02 ± 0.15 GPa (Figure 6(a) and 6(b)). AFM imaging evidences polymer on the surface between the microcapsules. This may be due to polymer hydration and shell partial degradation even under

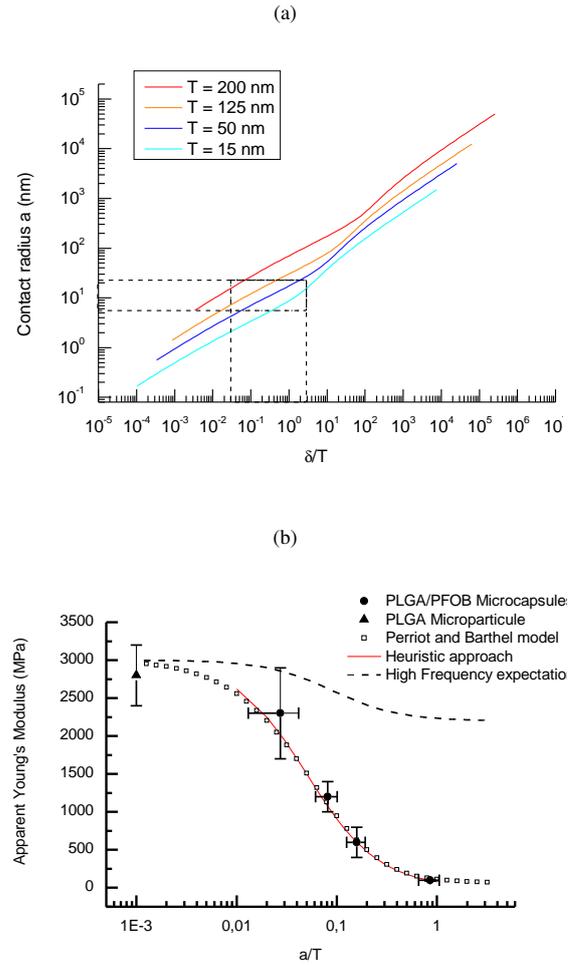


Figure 6. (a) Simulation of the evolution of the contact radius a according to the shell thickness T and the indentation depth δ using the complete numerical algorithm. The range of experimental indentation depth induces slight variation of the contact radius during the measure (7 to 11 nm). (b) Apparent Young’s Modulus versus a/T . Unbroken red line is the fit from heuristic model ($x_0 = 0.05$ and $n = 1.3$) and considering $E_{PFOB} \gg E_{PLGA}$. Squares are the fitting of MCs experimental value using the complete numerical algorithm from Perriot and Barthel [55]. Dashed line is the prediction of the high-frequency (5MHz) apparent elastic modulus of the MCs ($E_{PFOB}/E_{PLGA} \approx 0.73$) and the grey area is the Young’s modulus of bulk PLGA.

the PLGA glass transition temperature ($T_g = 42.6 \pm 0.5$ °C [57]). Some polymer is then deposited on the substrate during the drying process. Thus, a thinning of MCs during heating can be assumed. The loss of polymer can also explain the softening of the MC and the much better homogeneity of the Young’s moduli.

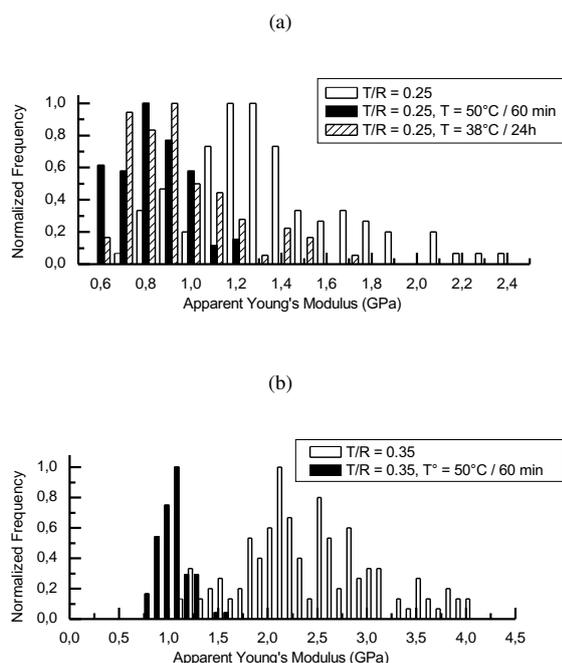


Figure 7. Statistical histograms of Young's moduli depending on annealing temperature : (a) MC T/R = 0.25 and (b) MC T/R = 0.35. Force measurements are performed at room temperature.

4. Conclusion

Polymeric microcapsules (≈ 500 nm radius) have been locally probed using an AFM tip (≈ 20 -50 nm radius). The comparison between Hertz and JKR models showed that adhesive effect can be neglected if the first few nanometers are not taken into account. Using both models as first approaches, Young's modulus of MCs is found to decrease with the shell thickness (200 to 10 nm thick give elastic moduli from 3.0 to 0.1 GPa). Indeed, the composite aspect of the microcapsules leads to the measurement of an effective elastic moduli and bulk polymer elasticity is combined with the core softness. Since the radius of the tip is much smaller than the radius of the MCs, a semi-analytical model – describing the effective Young's modulus of a flat infinite coated half-space – was used to interpret the observed decrease of the MCs effective elasticity. Simulations show that the evolution of the contact radius a is close to the Hertzian dependency ($a \propto \delta^{1/2}$) and varies very little for any given experimental range of indentation. Hence, it is justified to consider a constant effective elasticity during one AFM nanoindentation experiment. Independently obtained Young's moduli are thus introduced into the complete numerical algorithm and we argue that the correction due to the spherical shape is represented by an effective core elasticity. The latter is found to be about 100 MPa ($\approx 3\%$ of the bulk PLGA elasticity), showing that the flat assumption is reasonable for the thickest capsules. Nevertheless, the development of a spherical coated model will be needed in

future for refining the analysis. In the context of using MCs for ultrasound examination and drug delivery, this numerical model has been used to simulate the local compression at high frequency, knowing the elastic modulus of each component of the microcapsule. Thus, the coated half-space model predicts that the PLGA/PFOB microcapsule elasticity depends much less on the shell thickness because of the comparable elasticity of PLGA and PFOB at high frequency (2.5 to 3 GPa). Finally, the effect of thermal annealing on MCs elasticity (below and above glass transition of the polymer) has been investigated. Annealed MCs are found to be softer after ten hours at 38 °C and one hour at 50 °C. This is due to the hydration of the polymer which probably makes the shell thinner and promotes a decrease of the effective elasticity. This work shows that a semi-analytical model can describe the elastic behavior of a complex nano object. Such a method is a promising way to describe, simulate and interpret the effective elasticity of composite materials.

Acknowledgments

We acknowledge the National Institute for Health and Medical Research (INSERM) and the RTRA Triangle de la Physique (Université Paris-Saclay) for funding. This work was also supported by the French National Research Agency under the Program Investing in the Future (Investissements d'Avenir) Grant n° ANR-11-IDEX-0003-02 and Grant n° ANR-10-NANO-06-04. Institut Galien Paris-Sud is a member of the Laboratory of Excellence LERMIT supported by a grant from ANR (ANR-10-LABX-33). The authors thank Cindy Rountree from the SPHYNX laboratory (CEA-Saclay) for allowing and supporting during Peak Force experiments, Etienne Barthel (ESPCI, Paris) for his kind help about the numerical model and Rémy Brossard (PhD Student, LIONS, CEA-Saclay) for programming it.

References

- [1] Riess, J. G. *Journal of Fluorine Chemistry* **114**(2), 119–126 April (2002).
- [2] Pisani, E., Tsapis, N., Paris, J., Nicolas, V., Cattel, L., and Fattal, E. *Langmuir* **22**(9), 4397–4402 April (2006).
- [3] Diou, O., Tsapis, N., Giraudeau, C., Valette, J., Gueutin, C., Bourasset, F., Zanna, S., Vauthier, C., and Fattal, E. *Biomaterials* **33**(22), 5593–5602 August (2012).
- [4] Mousnier, L., Huang, N., Morvan, E., Fattal, E., and Tsapis, N. *International Journal of Pharmaceutics* **471**(1-2), 10–17 August (2014).
- [5] Cosco, D., Fattal, E., Fresta, M., and Tsapis, N. *Journal of Fluorine Chemistry* **171**, 18–26 March (2015).
- [6] Srinivas, M., Morel, P. A., Ernst, L. A., Laidlaw, D. H., and Ahrens, E. T. *Magnetic Resonance in Medicine* **58**(4), 725–734 October (2007).

- [7] Pisani, E., Tsapis, N., Galaz, B., Santin, M., Berti, R., Taulier, N., Kurtisovski, E., Lucidarme, O., Ourevitch, M., Doan, B. T., Beloeil, J. C., Gillet, B., Urbach, W., Bridal, S. L., and Fattal, E. *Advanced Functional Materials* **18**(19), 2963–2971 October (2008).
- [8] Somaglino, L., Bouchoux, G., Mestas, J.-L., and Lafon, C. *Ultrasonics Sonochemistry* **18**(2), 577–588 March (2011).
- [9] Coussios, C. C. and Roy, R. A. *Annual Review of Fluid Mechanics* **40**(1), 395–420 January (2008).
- [10] Guédra, M., Valier-Brasier, T., Conoir, J.-M., Coulouvrat, F., Astafyeva, K., and Thomas, J.-L. *The Journal of the Acoustical Society of America* **135**(3), 1044–1055 March (2014).
- [11] Challis, R. E., Povey, M. J. W., Mather, M. L., and Holmes, A. K. *Reports on Progress in Physics* **68**(7), 1541–1637 July (2005).
- [12] Butt, H.-J., Cappella, B., and Kappl, M. *Surface Science Reports* **59**(1-6), 1–152 October (2005).
- [13] Domke, J. and Radmacher, M. *Langmuir* **14**(12), 3320–3325 June (1998).
- [14] O’Connell, P. A. *Science* **307**(5716), 1760–1763 March (2005).
- [15] Du, B., Tsui, O. K. C., Zhang, Q., and He, T. *Langmuir* **17**(11), 3286–3291 May (2001).
- [16] Sun, Y., Akhremitchev, B., and Walker, G. C. *Langmuir* **20**(14), 5837–5845 July (2004).
- [17] Buchner Santos, E., Morris, J. K., Glynos, E., Sboros, V., and Koutsos, V. *Langmuir* **28**(13), 5753–5760 April (2012).
- [18] Abou-Saleh, R. H., Peyman, S. A., Critchley, K., Evans, S. D., and Thomson, N. H. *Langmuir* **29**(12), 4096–4103 March (2013).
- [19] Poehlmann, M., Grishenkov, D., Kothapalli, S. V. V. N., Härmark, J., Hebert, H., Philipp, A., Hoeller, R., Seuss, M., Kuttner, C., Margheritelli, S., Paradossi, G., and Fery, A. *Soft Matter* **10**(1), 214 (2014).
- [20] Grant, C. A., McKendry, J. E., and Evans, S. D. *Soft Matter* **8**(5), 1321 (2012).
- [21] Ghorbanzadeh Ahangari, M., Fereidoon, A., Jahanshahi, M., and Sharifi, N. *Composites Part B: Engineering* **56**, 450–455 January (2014).
- [22] De Loubens, C., Deschamps, J., Georgelin, M., Charrier, A., Edwards-Levy, F., and Leonetti, M. *Soft Matter* **10**(25), 4561 (2014).
- [23] Ye, C., Drachuk, I., Calabrese, R., Dai, H., Kaplan, D. L., and Tsukruk, V. V. *Langmuir* **28**(33), 12235–12244 August (2012).
- [24] Zoldesi, C., Ivanovska, I., Quilliet, C., Wuite, G., and Imhof, A. *Physical Review E* **78**(5) November (2008).
- [25] Yin, J., Retsch, M., Lee, J.-H., Thomas, E. L., and Boyce, M. C. *Langmuir* **27**(17), 10492–10500 September (2011).
- [26] Tan, E. P. S. and Lim, C. T. *Applied Physics Letters* **87**(12), 123106 (2005).
- [27] Gibbons, M. and Klug, W. *Physical Review E* **75**(3) March (2007).
- [28] Sui, X., Chen, Q., Hempenius, M. A., and Vancso, G. J. *Small* **7**(10), 1440–1447 May (2011).
- [29] Zhang, Z., Morse, A. J., Armes, S. P., Lewis, A. L., Geoghegan, M., and Leggett, G. J. *Langmuir* **29**(34), 10684–10692 August (2013).
- [30] Horimizu, M., Kawase, T., Tanaka, T., Okuda, K., Nagata, M., Burns, D. M., and Yoshie, H. *Micron* **48**, 1–10 May (2013).
- [31] Carl, P. and Schillers, H. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* **457**(2), 551–559 May (2008).
- [32] Vella, D., Ajdari, A., Vaziri, A., and Boudaoud, A. *Journal of The Royal Society Interface* **9**(68), 448–455 August (2011).
- [33] Pauchard, L. and Rica, S. *Philosophical Magazine B* **78**(2), 225–233 (1998).
- [34] Reissner, E. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* **7**(4), 242–246 October (1959).
- [35] Yamaguchi, K. and Anderson, J. M. *Journal of Controlled Release* **24**(1-3), 81–93 May (1993).
- [36] Reed, A. and Gilding, D. *Polymer* **22**(4), 494–498 April (1981).
- [37] Leese, P. T., Noveck, R. J., Shorr, J. S., Woods, C. M., Flaim, K. E., and Keipert, P. E. *Anesthesia & Analgesia* **91**(4), 804–811 October (2000).
- [38] Noveck, R. J., Shannon, E. J., Leese, P. T., Shorr, J. S., Flaim, K. E., Keipert, P. E., and Woods, C. M. *Anesthesia & Analgesia* **91**(4), 812–822 October (2000).
- [39] Hertz, H. R. *Ueber die Beruehrung elastischer Koerper (On Contact Between Elastic Bodies)*, volume 1 of *Gesammelte Werke (Collected Works)*. Leipzig, Germany, (1895).
- [40] Johnson, K., Kendall, K., and Roberts, A. *Proceeding of The Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical* **324**(1558), 301–313 (1971).
- [41] Kern, W. *Journal of The Electrochemical Society* **137**(6), 1887 (1990).
- [42] Burnham, N. A., Chen, X., Hodges, C. S., Matei, G. A., Thoreson, E. J., Roberts, C. J., Davies, M. C., and Tendler, S. J. B. *Nanotechnology* **14**(1), 1–6 January (2003).
- [43] Butt, H. J. and Jaschke, M. *Nanotechnology* **6**(1), 1–7 January (1995).
- [44] Villarrubia, J. *Surface Science* **321**(3), 287–300 December (1994).

- [45] Lee, M. H. and Lee, D. *Soft Matter* **6**(18), 4326 (2010).
- [46] Astafyeva, K. (2014, <https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-00960290/document>).
- [47] Kopycinska-Müller, M., Geiss, R. H., and Hurley, D. C. *Ultramicroscopy* **106**(6), 466–474 April (2006).
- [48] Lin, L.-Y. and Kim, D.-E. *Polymer Testing* **31**(7), 926–930 October (2012).
- [49] Tsukruk, V. V., Huang, Z., Chizhik, S. A., and Gorbunov, V. V. *Journal of Materials Science* **33**(20), 4905–4909 October (1998).
- [50] Grierson, D. S., Flater, E. E., and Carpick, R. W. *Journal of Adhesion Science and Technology* **19**(3-5), 291–311 January (2005).
- [51] Salez, T., Benzaquen, M., and Raphaël, E. *Soft Matter* **9**(45), 10699 (2013).
- [52] Felder, E. and Ramond-Angélélis, C. *Philosophical Magazine* **86**(33-35), 5219–5230 November (2006).
- [53] Forrest, J., Dalnoki-Veress, K., Stevens, J., and Dutcher, J. *Physical Review Letters* **77**(19), 4108–4108 November (1996).
- [54] Hübner, U., Morgenroth, W., Meyer, H., Sulzbach, T., Brendel, B., and Mirandé, W. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* **76**(6), 913–917 April (2003).
- [55] Perriot, A. and Barthel, E. *Journal of Material Research* , 600–608 (2004).
- [56] André, M., Nelson, T., and Mattrey, R. *Invest Radiol* **25**(9), 983–987 September (1990).
- [57] Passerini, N. and Craig, D. Q. *J Control Release* **73**(1), 111–115 May (2001).

Bibliographie

- [1] Daniel Rugar and Paul Hansma. Atomic Force Microscopy. *Physics Today*, October 1990.
- [2] G. Binnig, C. F. Quate, and Ch. Gerber. Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters*, 56(9) :930–933, March 1986.
- [3] G Binnig, Ch Gerber, E Stoll, T. R Albrecht, and C. F Quate. Atomic Resolution with Atomic Force Microscope. *Europhysics Letters (EPL)*, 3(12) :1281–1286, June 1987.
- [4] Hans-Jürgen Butt, Brunero Cappella, and Michael Kappl. Force measurements with the atomic force microscope : Technique, interpretation and applications. *Surface Science Reports*, 59(1-6) :1–152, October 2005.
- [5] A L Weisenhorn, M Khorsandi, S Kasas, V Gotzos, and H J Butt. Deformation and height anomaly of soft surfaces studied with an AFM. *Nanotechnology*, 4(2) :106–113, April 1993.
- [6] U. Landman, W. D. Luedtke, N. A. Burnham, and R. J. Colton. Atomistic Mechanisms and Dynamics of Adhesion, Nanoindentation, and Fracture. *Science*, 248(4954) :454–461, April 1990.
- [7] Philippe Carl and Hermann Schillers. Elasticity measurement of living cells with an atomic force microscope : data acquisition and processing. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 457(2) :551–559, May 2008.
- [8] Li-Yu Lin and Dae-Eun Kim. Measurement of the elastic modulus of polymeric films using an AFM with a steel micro-spherical probe tip. *Polymer Testing*, 31(7) :926–930, October 2012.
- [9] Evelyn Buchner Santos, Julia K. Morris, Emmanouil Glynos, Vassilis Sboros, and Vassileios Koutsos. Nanomechanical Properties of Phospholipid Microbubbles. *Langmuir*, 28(13) :5753–5760, April 2012.
- [10] Radwa H. Abou-Saleh, Sally A. Peyman, Kevin Critchley, Stephen D. Evans, and Neil H. Thomson. Nanomechanics of Lipid Encapsulated Microbubbles with Functional Coatings. *Langmuir*, 29(12) :4096–4103, March 2013.
- [11] Melanie Poehlmann, Dmitry Grishenkov, Satya V. V. N. Kothapalli, Johan Härmann, Hans Hebert, Alexandra Philipp, Roland Hoeller, Maximilian Seuss, Christian Kuttner, Silvia Margheritelli, Gaio Paradossi, and Andreas Fery. On the interplay of shell structure with low- and high-frequency mechanics of multifunctional magnetic microbubbles. *Soft Matter*, 10(1) :214, 2014.
- [12] Colin A. Grant, Jonathan E. McKendry, and Stephen D. Evans. Temperature dependent stiffness and visco-elastic behaviour of lipid coated microbubbles using atomic force microscopy. *Soft Matter*, 8(5) :1321, 2012.

- [13] M. Ghorbanzadeh Ahangari, A. Fereidoon, M. Jahanshahi, and N. Sharifi. Effect of nanoparticles on the micromechanical and surface properties of poly(urea-formaldehyde) composite microcapsules. *Composites Part B : Engineering*, 56 :450–455, January 2014.
- [14] Clément de Loubens, Julien Deschamps, Marc Georgelin, Anne Charrier, Florence Edwards-Levy, and Marc Leonetti. Mechanical characterization of cross-linked serum albumin microcapsules. *Soft Matter*, 10(25) :4561, 2014.
- [15] Chunhong Ye, Irina Drachuk, Rossella Calabrese, Hongqi Dai, David L. Kaplan, and Vladimir V. Tsukruk. Permeability and Micromechanical Properties of Silk Ionomer Microcapsules. *Langmuir*, 28(33) :12235–12244, August 2012.
- [16] C. Zoldesi, I. Ivanovska, C. Quilliet, G. Wuite, and A. Imhof. Elastic properties of hollow colloidal particles. *Physical Review E*, 78(5), November 2008.
- [17] Jie Yin, Markus Retsch, Jae-Hwang Lee, Edwin L. Thomas, and Mary C. Boyce. Mechanics of Nanoindentation on a Monolayer of Colloidal Hollow Nanoparticles. *Langmuir*, 27(17) :10492–10500, September 2011.
- [18] E. P. S. Tan and C. T. Lim. Nanoindentation study of nanofibers. *Applied Physics Letters*, 87(12) :123106, 2005.
- [19] Melissa Gibbons and William Klug. Nonlinear finite-element analysis of nanoindentation of viral capsids. *Physical Review E*, 75(3), March 2007.
- [20] Makoto Horimizu, Tomoyuki Kawase, Takaaki Tanaka, Kazuhiro Okuda, Masaki Nagata, Douglas M. Burns, and Hiromasa Yoshie. Biomechanical evaluation by AFM of cultured human cell-multilayered periosteal sheets. *Micron*, 48 :1–10, May 2013.
- [21] D. Vella, A. Ajdari, A. Vaziri, and A. Boudaoud. The indentation of pressurized elastic shells : from polymeric capsules to yeast cells. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(68) :448–455, August 2011.
- [22] Kozaburo Hayashi and Mayumi Iwata. Stiffness of cancer cells measured with an AFM indentation method. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 49 :105–111, September 2015.
- [23] Yang Liu, Zuobin Wang, and Xinyue Wang. AFM-Based Study of Fullerenol (C60(OH)24)-Induced Changes of Elasticity in Living SMCC-7721 Cells. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 45 :65–74, May 2015.
- [24] Mengxin Tian, Yiran Li, Weiren Liu, Lei Jin, Xifei Jiang, Xinyan Wang, Zhenbin Ding, Yuanfei Peng, Jian Zhou, Jia Fan, Yi Cao, Wei Wang, and Yinghong Shi. The nanomechanical signature of liver cancer tissues and its molecular origin. *Nanoscale*, 7(30) :12998–13010, 2015.
- [25] N A Burnham, X Chen, C S Hodges, G A Matei, E J Thoreson, C J Roberts, M C Davies, and S J B Tendler. Comparison of calibration methods for atomic-force microscopy cantilevers. *Nanotechnology*, 14(1) :1–6, January 2003.
- [26] H J Butt and M Jaschke. Calculation of thermal noise in atomic force microscopy. *Nanotechnology*, 6(1) :1–7, January 1995.

-
- [27] Yifang Cao, Dehua Yang, and Wole Soboyejo. Nanoindentation Method for Determining the Initial Contact and Adhesion Characteristics of Soft Polydimethylsiloxane. *Journal of Materials Research*, 20(08) :2004–2011, August 2005.
- [28] Yujie Sun, Boris Akhremitchev, and Gilbert C. Walker. Using the Adhesive Interaction between Atomic Force Microscopy Tips and Polymer Surfaces to Measure the Elastic Modulus of Compliant Samples. *Langmuir*, 20(14) :5837–5845, July 2004.
- [29] J.S. Villarrubia. Morphological estimation of tip geometry for scanned probe microscopy. *Surface Science*, 321(3) :287–300, December 1994.
- [30] G. N. Greaves, A. L. Greer, R. S. Lakes, and T. Rouxel. Poisson’s ratio and modern materials. *Nature Materials*, 10(11) :823–837, October 2011.
- [31] Daniel Maugis. *Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids*, volume 130 of *Springer Series in Solid-State Sciences*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2000.
- [32] Heinrich Rudolf Hertz. *Ueber die Beruehrung elastischer Koerper (On Contact Between Elastic Bodies)*, volume 1 of *Gesammelte Werke (Collected Works)*. Leipzig, Germany, 1895.
- [33] Joseph Boussinesq. *Applications des Potentiels à l’Etude de l’Equilibre et du Mouvement des Solides Elastiques*. Gauthier-Villars, Paris, 1885.
- [34] Ian N. Sneddon. The Relation between Load and Penetration in the Axisymmetric Boussinesq Problem for Punch of Arbitrary Profile. *International Journal of Engineering Science*, 1965.
- [35] Emiliós K. Dimitriadis, Ferenc Horkay, Julia Maresca, Bechara Kachar, and Richard S. Chadwick. Determination of Elastic Moduli of Thin Layers of Soft Material Using the Atomic Force Microscope. *Biophysical Journal*, 82(5) :2798–2810, May 2002.
- [36] Boris B. Akhremitchev and Gilbert C. Walker. Finite Sample Thickness Effects on Elasticity Determination Using Atomic Force Microscopy. *Langmuir*, 15(17) :5630–5634, August 1999.
- [37] HW Harding and Sneddon IN. The Elastic Stresses produced by the Indentation of the Plane Surface of a Semi-infinite Elastic Solid by a Rigid Punch. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 1945.
- [38] Núria Gavara and Richard S. Chadwick. Determination of the elastic moduli of thin samples and adherent cells using conical atomic force microscope tips. *Nature Nanotechnology*, 7(11) :733–736, September 2012.
- [39] L.A. Galin. Spatial Contact Problems of the Theory of Elasticity for Punches of Circular Shape in Planar Projection. *Journal of Applied Mathematics and Mechanics*, 1946.
- [40] B J Briscoe, K S Sebastian, and M J Adams. The effect of indenter geometry on the elastic response to indentation. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 27(6) :1156–1162, June 1994.
- [41] G. G. Bilodeau. Regular Pyramid Punch Problem. *Journal of Applied Mechanics*, 59(3) :519, 1992.

- [42] Félix Rico, Pere Roca-Cusachs, Núria Gavara, Ramon Farré, Mar Rotger, and Daniel Navajas. Probing mechanical properties of living cells by atomic force microscopy with blunted pyramidal cantilever tips. *Physical Review E*, 72(2), August 2005.
- [43] W.C. Oliver and G.M. Pharr. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*, 7(06) :1564–1583, June 1992.
- [44] Howard A. Barnes, J. F. Hutton, and Kenneth Walters. *An introduction to rheology*. Number vol. 3 in Rheology series. Elsevier : Distributors for the U.S. and Canada, Elsevier Science Pub. Co, Amsterdam ; New York, 1989.
- [45] K.L. Johnson, K. Kendall, and A.D. Roberts. Surface energy and the contact of elastic solids. *Proceeding of The Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical*, 324(1558) :301–313, 1971.
- [46] Fernando Carrillo, Shikha Gupta, Mehdi Balooch, Sally J. Marshall, Grayson W. Marshall, Lisa Pruitt, and Christian M. Puttlitz. Nanoindentation of polydimethylsiloxane elastomers : Effect of crosslinking, work of adhesion, and fluid environment on elastic modulus. *Journal of Materials Research*, 20(10) :2820–2830, October 2005.
- [47] S. A. Chizhik, Z. Huang, V. V. Gorbunov, N. K. Myshkin, and V. V. Tsukruk. Micromechanical Properties of Elastic Polymeric Materials As Probed by Scanning Force Microscopy. *Langmuir*, 14(10) :2606–2609, May 1998.
- [48] B.V Derjaguin, V.M Muller, and Yu.P Toporov. Effect of contact deformations on the adhesion of particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 53(2) :314–326, November 1975.
- [49] D Tabor. Surface forces and surface interactions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 58(1) :2–13, January 1977.
- [50] Daniel Maugis. Adhesion of spheres : The JKR-DMT transition using a dugdale model. *Journal of Colloid and Interface Science*, 150(1) :243–269, April 1992.
- [51] K.L. Johnson and J.A. Greenwood. An Adhesion Map for the Contact of Elastic Spheres. *Journal of Colloid and Interface Science*, 192(2) :326–333, August 1997.
- [52] Xinghua Shi and Ya-Pu Zhao. Comparison of various adhesion contact theories and the influence of dimensionless load parameter. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 18(1) :55–68, January 2004.
- [53] Emmanouil Glynos, Vasileios Koutsos, W. Norman McDicken, Carmel M. Moran, Stephen D. Pye, James A. Ross, and Vassilis Sboros. Nanomechanics of Biocompatible Hollow Thin-Shell Polymer Microspheres. *Langmuir*, 25(13) :7514–7522, July 2009.
- [54] E. Reissner. On the solution of a class of problems in membrane theory of thin shells. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 7(4) :242–246, October 1959.
- [55] M. R. Bonilla, J. R. Stokes, M. J. Gidley, and G. E. Yakubov. Interpreting atomic force microscopy nanoindentation of hierarchical biological materials using multi-regime analysis. *Soft Matter*, 11(7) :1281–1292, 2015.

- [56] Sheng Liu, Han Huang, and Yuantong Gu. Deconvolution of mechanical properties of thin films from nanoindentation measurement via finite element optimization. *Thin Solid Films*, 526 :183–190, December 2012.
- [57] Chunyu Zhang, Meng Zhao, Yulan Liu, and Biao Wang. Extracting the elastic moduli of the constituent layers of a multilayered thin film from nanoindentation tests. *Journal of Materials Research*, 28(18) :2570–2576, September 2013.
- [58] J. Menčík, D. Munz, E. Quandt, E. R. Weppelmann, and M. V. Swain. Determination of elastic modulus of thin layers using nanoindentation. *Journal of Materials Research*, 12(09) :2475–2484, September 1997.
- [59] Gao Huajian, Chiu Cheng-Hsin, and Lee Jin. Elastic contact versus indentation modeling of multi-layered materials. *International Journal of Solids and Structures*, 29(20) :2471–2492, January 1992.
- [60] Jackie Li and Tsu-Wei Chou. Elastic field of a thin-film/substrate system under an axisymmetric loading. *International Journal of Solids and Structures*, 34(35-36) :4463–4478, December 1997.
- [61] E. Barthel, A. Perriot, A. Chateauminois, and C. Frétigny. Elastic contact to nearly incompressible coatings : Stiffness enhancement and elastic pile-up. *Philosophical Magazine*, 86(33-35) :5359–5369, November 2006.
- [62] L. D Landau, Evgueni Lifchitz, A Kossevitch, and L Pitayevski. *Théorie de l'élasticité*. Editions Mir : Librairie du Globe, Moscou, 1990.
- [63] Pauchard L. and Rica S. Contact and compression of elastic spherical shells : the physics of a 'ping-pong' ball. *Philosophical Magazine B*, 78(2) :225–233, 1998.
- [64] Younan Xia and George M. Whitesides. Soft Lithography. *Angewandte Chemie International Edition*, 37(5) :550–575, March 1998.
- [65] Guilhem Velve-Casquillas, Maël Le Berre, Matthieu Piel, and Phong T. Tran. Microfluidic tools for cell biological research. *Nano Today*, 5(1) :28–47, February 2010.
- [66] Laura Piedad Chia Gómez, Patrick Bollgruen, Aleksandr I. Egunov, Dario Mager, Florent Malloggi, Jan G. Korvink, and Valeriy A. Luchnikov. Vapour processed self-rolled poly(dimethylsiloxane) microcapillaries form microfluidic devices with engineered inner surface. *Lab on a Chip*, 13(19) :3827, 2013.
- [67] Ho Nam Chan, Yangfan Chen, Yiwei Shu, Yin Chen, Qian Tian, and Hongkai Wu. Direct, one-step molding of 3d-printed structures for convenient fabrication of truly 3d PDMS microfluidic chips. *Microfluidics and Nanofluidics*, January 2015.
- [68] Farzaneh Kaveh, Javed Ally, Michael Kappl, and Hans-Jürgen Butt. Hydrodynamic Force between a Sphere and a Soft, Elastic Surface. *Langmuir*, 30(39) :11619–11624, October 2014.
- [69] K. Norrman, A. Ghanbari-Siahkali, and N. B. Larsen. 6 Studies of spin-coated polymer films. *Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)*, 101 :174, 2005.
- [70] C. J. Lawrence. The mechanics of spin coating of polymer films. *Physics of Fluids*, 31(10) :2786, 1988.

- [71] John H. Koschwanetz, Robert H. Carlson, and Deirdre R. Meldrum. Thin PDMS Films Using Long Spin Times or Tert-Butyl Alcohol as a Solvent. *PLoS ONE*, 4(2) :e4572, February 2009.
- [72] Maya Alekseeva, Elena Fedoseeva, Vadim Frolov, Viacheslav Nistratov, and Larisa Smirnova. The Strength of Chitosan Films. The Role of Molecular Weight, the Degree of Order, the Nature of Contre-Ion. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives*, 2009.
- [73] Dhanaanjay Bodas and Chantal Khan-Malek. Hydrophilization and hydrophobic recovery of PDMS by oxygen plasma and chemical treatment - An SEM investigation. *Sensors and Actuators B : Chemical*, 123(1) :368–373, April 2007.
- [74] H. Hillborg, J.F. Ankner, U.W. Gedde, G.D. Smith, H.K. Yasuda, and K. Wikström. Cross-linked polydimethylsiloxane exposed to oxygen plasma studied by neutron reflectometry and other surface specific techniques. *Polymer*, 41(18) :6851–6863, August 2000.
- [75] Bernhard Schnyder, Thomas Lippert, Rüdiger Kötz, Alexander Wokaun, Vera-Maria Graubner, and Oskar Nuyken. UV-irradiation induced modification of PDMS films investigated by XPS and spectroscopic ellipsometry. *Surface Science*, 532-535 :1067–1071, June 2003.
- [76] F. Angus Bayley, Joanne Lingling Liao, Paul N. Stavrinou, Arnaud Chiche, and João T. Cabral. Wavefront kinetics of plasma oxidation of polydimethylsiloxane : limits for sub-?m wrinkling. *Soft Matter*, 10(8) :1155, 2014.
- [77] K.L. Mills, Xiaoyue Zhu, Shuichi Takayama, and M.D. Thouless. The mechanical properties of a surface-modified layer on polydimethylsiloxane. *Journal of Materials Research*, 23(01) :37–48, January 2008.
- [78] G. Bar, L. Delineau, A. Häfele, and M.-H. Whangbo. Investigation of the stiffness change in, the indentation force and the hydrophobic recovery of plasma-oxidized polydimethylsiloxane surfaces by tapping mode atomic force microscopy. *Polymer*, 42(8) :3627–3632, April 2001.
- [79] Jing Song, Davide Tranchida, and G. Julius Vancso. Contact Mechanics of UV/Ozone-Treated PDMS by AFM and JKR Testing : Mechanical Performance from Nano- to Micrometer Length Scales. *Macromolecules*, 41(18) :6757–6762, September 2008.
- [80] Kirill Efimenko, Mindaugas Rackaitis, Evangelos Manias, Ashkan Vaziri, L. Mahadevan, and Jan Genzer. Nested self-similar wrinkling patterns in skins. *Nature Materials*, 4(4) :293–297, April 2005.
- [81] Ned Bowden, Wilhelm T. S. Huck, Kateri E. Paul, and George M. Whitesides. The controlled formation of ordered, sinusoidal structures by plasma oxidation of an elastomeric polymer. *Applied Physics Letters*, 75(17) :2557, 1999.
- [82] Stéphane Béfahy, Pascale Lipnik, Thomas Pardoën, Cristiane Nascimento, Benjamin Patris, Patrick Bertrand, and Sami Yunus. Thickness and Elastic Modulus of Plasma Treated PDMS Silica-like Surface Layer. *Langmuir*, 26(5) :3372–3375, March 2010.
- [83] Antoine Perriot and Etienne Barthel. Elastic contact to a coated half-space - Effective elastic modulus and real penetration. *Journal of Material Research*, pages 600–608, 2004.

- [84] Kazuhiro Yamaguchi and James M. Anderson. In vivo biocompatibility studies of medisorb® 65/35 D,L-lactide/glycolide copolymer microspheres. *Journal of Controlled Release*, 24(1-3) :81–93, May 1993.
- [85] A.M. Reed and D.K. Gilding. Biodegradable polymers for use in surgery - poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers : 2. In vitro degradation. *Polymer*, 22(4) :494–498, April 1981.
- [86] Cynthia D’Avila Carvalho Erbetta. Synthesis and Characterization of Poly(D,L-Lactide-co-Glycolide) Copolymer. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 03(02) :208–225, 2012.
- [87] N. Passerini and D. Q. Craig. An investigation into the effects of residual water on the glass transition temperature of polylactide microspheres using modulated temperature DSC. *J Control Release*, 73(1) :111–115, May 2001.
- [88] B Lorenz, B A Krick, N Mulakaluri, M Smolyakova, S Dieluweit, W G Sawyer, and B N J Persson. Adhesion : role of bulk viscoelasticity and surface roughness. *Journal of Physics : Condensed Matter*, 25(22) :225004, June 2013.
- [89] Ksenia Astafyeva. Thesis : Physical and Acoustical Properties of Fluorocarbon Nanoparticles, 2014.
- [90] Thomas Dehoux, Nicolas Tsapis, and Bertrand Audoin. Relaxation dynamics in single polymer microcapsules probed with laser-generated GHz acoustic waves. *Soft Matter*, 8(9) :2586, 2012.
- [91] N G Parker, M L Mather, S P Morgan, and M J W Povey. Longitudinal acoustic properties of poly(lactic acid) and poly(lactic- co -glycolic acid). *Biomedical Materials*, 5(5) :055004, October 2010.
- [92] Oliver Bäümchen, Michael Benzaquen, Thomas Salez, Joshua D. McGraw, Matilda Backholm, Paul Fowler, Elie Raphaël, and Kari Dalnoki-Veress. Relaxation and intermediate asymptotics of a rectangular trench in a viscous film. *Physical Review E*, 88(3), September 2013.
- [93] Michael Benzaquen, Thomas Salez, and Elie Raphaël. Intermediate asymptotics of the capillary-driven thin-film equation. *The European Physical Journal E*, 36(8), August 2013.
- [94] Z. Fakhraai and J. A. Forrest. Measuring the Surface Dynamics of Glassy Polymers. *Science*, 319(5863) :600–604, February 2008.
- [95] D. Qi, Z. Fakhraai, and J. Forrest. Substrate and Chain Size Dependence of Near Surface Dynamics of Glassy Polymers. *Physical Review Letters*, 101(9), August 2008.
- [96] Jean P. Mercier, Gérald Zambelli, Wilfried Kurz, and Jean P. Mercier. *Introduction à la science des matériaux*. Number 1 in *Traité des matériaux*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 3. éd. ent. rev. et augm edition, 2002.
- [97] P. A. O’Connell. Rheological Measurements of the Thermoviscoelastic Response of Ultrathin Polymer Films. *Science*, 307(5716) :1760–1763, March 2005.
- [98] J.J. Kruzic, D.K. Kim, K.J. Koester, and R.O. Ritchie. Indentation techniques for evaluating the fracture toughness of biomaterials and hard tissues. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(4) :384–395, August 2009.

- [99] G.R. Anstis, P. Chantikul, B.R. Lawn, and D.B. Marshall. A Critical Evaluation of Indentation Techniques for Measuring Fracture Toughness : I, Direct Crack Measurements. *Journal of the American Ceramic Society*, 64(9) :533–538, September 1981.
- [100] G. M Swallowe. *Mechanical Properties and Testing of Polymers an A-Z Reference*. Springer Netherlands, Dordrecht, 1999.
- [101] B.H. Kim, C.R. Joe, and D.M. Otterson. On the determination of fracture toughness in polymers. *Polymer Testing*, 8(2) :119–130, January 1988.
- [102] Elias Fattal and Nicolas Tsapis. Nanomedicine technology : current achievements and new trends. *Clinical and Translational Imaging*, 2(1) :77–87, February 2014.
- [103] Xiongfei Zhao, Qianying Huang, and Yiqiang Jin. Gold nanorod delivery of LSD1 siRNA induces human mesenchymal stem cell differentiation. *Materials Science and Engineering : C*, 54 :142–149, September 2015.
- [104] Simona Mura, Duc Trung Bui, Patrick Couvreur, and Julien Nicolas. Lipid prodrug nano-carriers in cancer therapy. *Journal of Controlled Release*, 208 :25–41, June 2015.
- [105] Ming Wu, Da Zhang, Yongyi Zeng, Lingjie Wu, Xiaolong Liu, and Jingfeng Liu. Nano-cluster of superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with poly (dopamine) for magnetic field-targeting, highly sensitive MRI and photothermal cancer therapy. *Nanotechnology*, 26(11) :115102, March 2015.
- [106] E. Pisani, N. Tsapis, J. Paris, V. Nicolas, L. Cattel, and E. Fattal. Polymeric Nano/Microcapsules of Liquid Perfluorocarbons for Ultrasonic Imaging : Physical Characterization. *Langmuir*, 22(9) :4397–4402, April 2006.
- [107] Phillip T. Leese, Robert J. Noveck, Jolene S. Shorr, Catherine M. Woods, Kathryn E. Flaim, and Peter E. Keipert. Randomized Safety Studies of Intravenous Perflubron Emulsion. I. Effects on Coagulation Function in Healthy Volunteers :. *Anesthesia & Analgesia*, 91(4) :804–811, October 2000.
- [108] Robert J. Noveck, E. J. Shannon, Phillip T. Leese, Jolene S. Shorr, Kathryn E. Flaim, Peter E. Keipert, and Catherine M. Woods. Randomized Safety Studies of Intravenous Perflubron Emulsion. II. Effects on Immune Function in Healthy Volunteers :. *Anesthesia & Analgesia*, 91(4) :812–822, October 2000.
- [109] Emilia Pisani, Nicolas Tsapis, Belfor Galaz, Mathieu Santin, Romain Berti, Nicolas Taulier, Erol Kurtisovski, Olivier Lucidarme, Michèle Ourevitch, Bich Thuy Doan, Jean Claude Beloeil, Brigitte Gillet, Wladimir Urbach, S. Lori Bridal, and Elias Fattal. Perfluorooctyl Bromide Polymeric Capsules as Dual Contrast Agents for Ultrasonography and Magnetic Resonance Imaging. *Advanced Functional Materials*, 18(19) :2963–2971, October 2008.
- [110] Eric T Ahrens, Rafael Flores, Hongyan Xu, and Penelope A Morel. In vivo imaging platform for tracking immunotherapeutic cells. *Nature Biotechnology*, 23(8) :983–987, August 2005.
- [111] Lucie Somaglino, Guillaume Bouchoux, Jean-Louis Mestas, and Cyril Lafon. Validation of an acoustic cavitation dose with hydroxyl radical production generated by inertial cavitation in pulsed mode : Application to in vitro drug release from liposomes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(2) :577–588, March 2011.

- [112] Constantin C. Coussios and Ronald A. Roy. Applications of Acoustics and Cavitation to Noninvasive Therapy and Drug Delivery. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 40(1) :395–420, January 2008.
- [113] Alan N’Guessan. *Thèse de Doctorat : Développement de vecteurs microparticulaires pour l’administration pulmonaire de corticostéroïdes*. Université paris-sud edition, September 2015.
- [114] Matthieu Guédra, Tony Valier-Brasier, Jean-Marc Conoir, François Coulouvrat, Ksenia Astafyeva, and Jean-Louis Thomas. Influence of shell compressibility on the ultrasonic properties of polydispersed suspensions of nanometric encapsulated droplets. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 135(3) :1044–1055, March 2014.
- [115] Werner Kern. The Evolution of Silicon Wafer Cleaning Technology. *Journal of The Electrochemical Society*, 137(6) :1887, 1990.
- [116] Hirenkumar K. Makadia and Steven J. Siegel. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers*, 3(4) :1377–1397, August 2011.
- [117] M. André, T. Nelson, and R. Mattrey. Physical and acoustical properties of perfluorooctylbromide, an ultrasound contrast agent. *Invest Radiol*, 25(9) :983–987, September 1990.
- [118] N. Samadi, A. Abbadessa, A. Di Stefano, C.F. van Nostrum, T. Vermonden, S. Rahimian, E.A. Teunissen, M.J. van Steenberg, M. Amidi, and W.E. Hennink. The effect of lauryl capping group on protein release and degradation of poly(d,l-lactic-co-glycolic acid) particles. *Journal of Controlled Release*, 172(2) :436–443, December 2013.
- [119] Odile Diou, Nicolas Tsapis, Céline Giraudeau, Julien Valette, Claire Gueutin, Fanchon Bourrasset, Sandrine Zanna, Christine Vauthier, and Elias Fattal. Long-circulating perfluorooctyl bromide nanocapsules for tumor imaging by 19fmri. *Biomaterials*, 33(22) :5593–5602, August 2012.
- [120] Dmitri Shumigin, Elvira Tarasova, Andres Krumme, and Pille Meier. Rheological and Mechanical Properties of Poly(lactic) Acid/Cellulose and LDPE/Cellulose Composites. *Materials Science*, 17(1), March 2011.
- [121] S.A. Soule and K.V. Cashman. The mechanical properties of solidified polyethylene glycol 600, an analog for lava crust. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 129(1-3) :139–153, January 2004.
- [122] E Barthel and A Perriot. Adhesive contact to a coated elastic substrate. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 40(4) :1059–1067, February 2007.
- [123] François Boulogne, Ludovic Pauchard, Frédérique Giorgiutti-Dauphiné, Robert Botet, Ralf Schweins, Michael Sztucki, Joaquim Li, Bernard Cabane, and Lucas Goehring. Structural anisotropy of directionally dried colloids. *EPL (Europhysics Letters)*, 105(3) :38005, February 2014.
- [124] Álvaro G. Marín, Hanneke Gelderblom, Detlef Lohse, and Jacco H. Snoeijer. Order-to-Disorder Transition in Ring-Shaped Colloidal Stains. *Physical Review Letters*, 107(8), August 2011.