

Microélectrodes pour mesures SECM et ECSTM combinées

Dissertation

soumise à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel, pour l'obtention du titre de
« Docteur ès Sciences »

par

Vincent Auger

Sensors, Actuators Microsystems Laboratory

Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse

2003

IMPRIMATUR POUR LA THESE

**Microélectrodes pour mesures SECM et
ECSTM combinées**

M. Vincent AUGER

UNIVERSITE DE NEUCHATEL

FACULTE DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de
Neuchâtel, sur le rapport des membres du jury

Mme M. Koudelka-Hep (directrice de thèse),
N. de Rooij et H. Siegenthaler (Berne)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 23 décembre 2003

La doyenne:



Martine Rahier

A mon épouse

A mes enfants

Table des matières

1	Sondes de microscopie microfabriquées	1
1.1	Introduction	1
1.1.1	L'apport de la microscopie à balayage.....	2
1.1.2	Techniques de microfabrication et microscopies compatibles :.....	4
1.2	Projet CellSens	5
1.3	Développement des outils d'investigations.....	5
2	Technologie.....	10
2.1	La microfabrication des pointes	10
2.2	Types de silicium et résistivité	12
2.2.1	Etapas de fabrication des électrodes coniques	17
2.2.1.1	Etapas de formation de la pointe	17
2.2.1.2	Première génération de microélectrodes	18
2.2.1.3	Nouvelle connexion : nouvelle conductivité.....	20
2.2.1.4	Métallisation des pointes.....	22
2.2.1.5	Réduction de la taille de l'électrode.....	25
2.2.2	Etapas de fabrication d'électrodes cylindriques.....	33
2.2.2.1	Réalisation des cavités des cylindres et des parois	33
2.2.2.2	Résurgence des cylindres d'oxyde-nitride	35
2.2.3	Plates-formes CellSens.....	39
2.2.3.1	Fabrication des plates-formes d'électrodes	39
2.2.3.2	Microstructures pour l'administration de substances pour la plate-forme ...	47
3	SECM/ECSTM.....	53
3.1	Principe : deux techniques complémentaires	53
3.1.1	STM et ECTSM	53
3.1.1.1	Mode cartographie à courant constant	54
3.1.1.2	Mode cartographie à hauteur constante.....	55
3.1.1.3	En milieu électrolytique	57
3.1.2	SECM.....	59
3.1.2.1	Principe de base.....	59

3.1.2.2	Applications	63
3.1.2.2.1	Le SECM comme outil électrochimique	63
3.1.2.2.2	Le SECM comme outil d'imagerie	64
3.1.2.2.3	Le SECM comme outil de fabrication.....	65
3.1.2.3	Instrumentation.....	65
3.1.3	Combinaison ECSTM-SECM	68
3.2	SECM/ECSTM et microtechnologie.....	71
4	Caractérisations et mesures	77
4.1	Observation des électrodes.....	77
4.2	Mesures électrochimiques	81
4.2.1	Test des plates-formes CellSens.....	81
4.2.2	Caractérisation des électrodes SECM/ECSTM.....	83
4.3	Mesures SECM	90
4.3.1	Courbes d'approche.....	90
4.3.2	Imageries SECM	96
4.3.2.1	Test du SECM et des plates-formes CellSens.....	96
4.3.2.2	Tests des électrodes coniques en tant que capteur SECM	98
4.4	Mesures STM et ECSTM.....	101
4.4.1	Configuration STM	102
4.4.2	Configuration ECSTM	102
5	Conclusions	108
6	Remerciements	111

1 Sondes de microscopie microfabriquées

1.1 Introduction

De tout temps, la curiosité humaine s'est focalisée sur le fonctionnement du vivant. Toutes les avancées de ces connaissances coïncidaient avec l'émergence de nouvelles découvertes technologiques et leur transfert au niveau des outils de mesures. C'est ainsi qu'un certain nombre de techniques permettent d'imager à l'échelle atomique des échantillons. La microscopie mise au point par Binnig et Rohrer (STM, en anglais Scanning Tunneling Microscopy) est basée sur la détection des électrons « tunnel » s'échangeant entre deux éléments polarisés lorsqu'ils ne sont plus distants que de quelques nanomètres. D'autre part, l'émergence de système de mesure de plus en plus précis ont permis d'exploiter les forces d'interactions proches entre une pointe et un échantillon pour imager sa surface : c'est le principe de la microscopie à force atomique (en anglais Scanning Force Microscopy ou AFM). Un troisième type de microscopie se base sur les courants de diffusion électrochimique et permet d'accéder à une image chimique d'un échantillon : c'est le SECM (en anglais Scanning ElectroChemical Microscopy). Enfin, il est possible de détecter la lumière en champ proche grâce à la microscopie (en anglais Scanning Near-field Optical Microscopy ou SNOM) afin d'imager de manière topographique et structurale des échantillons biologiques marqués en fluorescence. Toutes basées sur un balayage de la surface, les sondes peuvent être constituées de microsystèmes microfabriqués en silicium implémenté aux systèmes de mesure.

1.1.1 L'apport de la microscopie à balayage

Actuellement de nombreux laboratoires de recherche sont impliqués dans l'étude des évènements biologiques pour comprendre à un niveau cellulaire et sub-cellulaire la communication biologique : celle-ci se fait à un niveau structural et fonctionnel avec la biologie moléculaire [1,2,3], intercellulaire avec des études in-vitro [4,5,6,7] ou cognitif par des études in-vivo sur des organismes entiers[8,9,10].

Un grand nombre d'études s'est limité à la réalisation de matrice de capteurs afin de détecter de manière plus ou moins synchrones les évènements biologiques qui peuvent intervenir au niveau d'une interface biologique comme une culture cellulaire, tissulaire ou organotypique [11,12,13,14]. Une autre approche serait de pouvoir s'inspirer des microscopies électroniques par l'observation de ces mêmes évènements par un balayage du capteur au-dessus de la structure d'intérêt. Cela se fait depuis longtemps avec la microfabrication des sondes pour l'AFM qui permettent de réaliser des images de substrats inertes [15,16,17] et assez récemment des images d'échantillons biologiques [7]. Mais cette technique a un inconvénient majeur qui est une durée d'imagerie très longue, largement dépendante de la surface mais aussi les phénomènes étudiés (force de contact, module d'élasticité du levier et boucle de feedback). Une autre microscopie est capable de résoudre à l'échelle atomique les surfaces étudiées grâce à la mesure et au contrôle de l'effet tunnel passant entre une pointe et un échantillon polarisés. Cette technique est connue sous le nom de Scanning Tunneling Microscopy (STM) ou microscopie à balayage à effet tunnel et sa variante électrolytique (Electrolytic Scanning Tunneling Microscopy ou ECSTM) [18,19].

Jusqu'à présent, toutes les expériences faites en STM et ECSTM ont été réalisées avec des sondes fabriquées à la main grâce à des filaments de platine aiguisés et passivés avec des résines ou des capillaires de verre effilés. Les résultats obtenus avec ce genre de capteurs sont relativement prometteurs puisque les équipes de recherche obtiennent plus ou moins facilement des images notamment de graphite ou d'or avec une résolution atomique [18,20].

Beaucoup de méthodes d'investigations se sont développées sur l'essor de la biologie et la découverte des enzymes et des interfaces membranaires, tout en délaissant un petit peu les méthodes plus traditionnelles comme l'électrochimie. Un nouvel essor est intervenu par Bard et Mirkin [21] qui ont décrit précisément les événements qui pouvaient se passer à des échelles sub-microscopiques grâce à la découverte de nouvelles méthodes de fabrication des sondes électrochimiques. Grâce à cette discipline, comme décrit plus haut, il est possible de décrire les environnements architecturaux et fonctionnels d'interfaces aussi bien physique que biologique à l'aide d'une microscopie à balayage basée sur les courants électrochimiques. Très similaires aux sondes pour STM et ECSTM, ces capillaires de verre englobant un fil de platine ou de carbone [22] permettent de détecter grâce à différents modes la topographie de l'échantillon ou son activité chimique. Une des applications reliées est de pouvoir imager des échantillons biologiques comme des cultures cellulaires ou des tissus.

Dans ce contexte de sondes miniatures, l'environnement de la microtechnologie apparaît idéal pour fabriquer ce genre de sondes en série et de façon reproductible comme cela a été réalisé pour les sondes AFM [23,24,25,26] : des pointes en silicium ou en oxyde de silicium sont fabriquées sur des leviers afin

d'imager la topographie d'un échantillon par la simple mesure des forces d'attraction - répulsion entre l'échantillon et la pointe.

1.1.2 Techniques de microfabrication et microscopies compatibles :

Conjointement à l'évolution des techniques de microfabrication sur silicium, les pointes de microscopie comme pour l'AFM ou le SNOM sont désormais fabriquées de manière très reproductible avec un rayon de courbure à l'échelle nanométrique, d'une relative solidité ; aussi, le système de détection de la morphologie de la surface de l'échantillon peut être intégré dans le levier [27,28,29]. De plus, il est désormais possible de disposer de sondes bi-modales qui permettent d'extraire plusieurs informations physiques d'un échantillon comme sa topographie, sa chimie, son élasticité (AFM-SECM [30,31,32,33], SNOM [34,35]). Dans ce contexte, la combinaison de SECM avec le ECSTM apparaît possible dans la mesure où ces deux systèmes partagent les mêmes critères pour les sondes : l'électrode est directement contactée par l'arrière, la surface métallique de platine (idéalement de platine-iridium dans le cas du ECSTM) doit être confinée à quelques μm^2 afin de réaliser des images avec une grande résolution et de minimiser les phénomènes capacitifs. Enfin, l'avantage indéniable de cette combinaison par rapport au système AFM-SECM est la vitesse de balayage qui peut être assez rapide dans le cas du SECM et qui n'est pas limitante dans le cas du ECSTM.

Une des applications dans laquelle est venu s'insérer cette expérience de microscopies combinées est l'étude de pharmaco-toxicité de médicaments sur des cultures cellulaires. Ce nouvel outil de microscopie permet de compléter les données topographiques et chimiques de cellules. Ce projet nommé CellSens,

regroupant un ensemble de partenaires européens, est décrit dans le paragraphe suivant.

1.2 Projet CellSens

Le but de ce projet est de mettre en évidence des phénomènes de régulation intra et intercellulaires d'un réseau. L'utilisation d'une plate-forme est motivée par le fait que nous pouvons réaliser des mesures de différents métabolites de façon simultanée [36], sur des cellules de souches particulières qu'il est possible de choisir en fonction des besoins. Ces mesures sont basées sur des détections optiques et/ou électrochimiques [37,38].

L'étude des canaux de communications des réseaux cellulaires mobilise un grand nombre de laboratoires ce qui permet de partager les domaines d'intérêt au point de s'intéresser également aux interactions pharmaceutiques qui se produisent au sein de nos tissus biologiques. Nous pouvons inventorier toutes les études tournées vers les métabolites cellulaires les plus variés comme l'oxyde nitrique, le glutamate, la sérotonine, le calcium. D'autres équipes essaient de mesurer l'activité électrique des cellules, en particulier des neurones, mais aussi les activités trophiques et motrices de certaines cellules. Afin d'étudier les interactions cellulaires et pharmaceutiques, il est apparu opportun de multiplier le type de capteurs sur une plate-forme afin de connaître les conséquences métaboliques et fonctionnelles de ces médicaments sur les cellules cibles et environnantes.

1.3 Développement des outils d'investigations

Les outils d'investigation comprennent des électrodes permettant de détecter des métabolites comme l'oxyde nitrique ou le glutamate [40]. Les matériaux de base

peuvent être des électrodes de 50 μm de diamètre en platine ou en or, avec une possibilité de fournir des électrodes en carbone. Il est par contre nécessaire de procéder à une modification de ces électrodes afin d'y déposer des couches sensibles et sélectives aux molécules d'intérêt.

La détection optique contraint la microfabrication à utiliser certains matériaux pour réaliser des mesures chimiques et optiques en simultanée. Nous utilisons donc une plate-forme en pyrex, transparentes aux longueurs d'ondes détectées sur laquelle sont déposées des électrodes. Pour cette application, la passivation reste optionnelle ou est effectuée manuellement.

Deux possibilités s'offrent pour l'administration de substances pour étudier leurs interactions sur les cibles : une méthode standard par micro-pipettes ce qui a tendance à encombrer l'accès des cellules et est également peu compatible avec une fermeture totale de la chambre de culture. Une deuxième option serait de ménager à travers la plate-forme de culture des trous en communication avec un système fluide : pré établi en fonction des besoins, la place de ces trous permettrait de pouvoir étudier in-situ les réponses biologiques, et ce de manière relativement localisée dans l'espace.

Le dernier système de mesure qui permettra d'obtenir des informations topographiques et chimiques supplémentaires de la culture cellulaire est constitué par le SECM pour lequel nous avons développé les sondes microfabriquées décrites et testées dans les chapitres suivants.

- [1] S. L. Danheiser, *Genet. Eng. News* 13, 1 (1993)
- [2] K. D. Brown, *Genet. Eng. News* 12, 1 (1992)
- [3] R. Singhvi, A. Kumar, G. P. Lopez, G. N. Stephanopoulos, D. I. C. Wang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, *Science* 264 (1994)
- [4] T. Malinski, Z. Taha, *Nature* 358 (1992)
- [5] R. T. Kennedy, L. Huang, M. A. Atkinson, P. Dush, *Anal. Chem.* 65 (1993)
- [6] J. Pei, N.-T. Yu, X.-Y. Li, *Anal. Chim. Act.* 402 (1999)
- [7] M. Gonsalves, A. L. Barker, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, D. O'Hare, C. P. Winlove, *Biophys. J.* 78 (2000)
- [8] A. G. Ewing, *Acc. Chem. Res.* 25 (1992)
- [9] F. Bailey, T. Malinski, F. Kielche, *Anal. Chem.* 63 (1991)
- [10] B. Rabinovitch, W. F. March, R. L. Adams, *Diabetes Care* 5 (1982)
- [11] C. A. Thomas, P. A. Springer, G. E. Loeb, Y. Berwald-Netter, L. M. Okun, *Experimental Cell Res.* 74 (1972)
- [12] J. Pine, *J. of Neurocience Methods* 2 (1980)
- [13] N. Pereira-Rodrigues, V. Albin, M. Koudelka-Hep, V. Auger, A. Pailleret, F. Bedioui, *Electrochem. Comm.* 4 (2002)
- [14] C. G. Zoski, N. Simjee, O. Guenat, M. Koudelka-Hep, *Anal. Chem.* ASAP article (2003)
- [15] G. Binnig, C. F. Quate, C. Berger, *Phys. Rev. Letts.* 60 (1992)
- [16] D. Rugar, P. K. Hansma, *Phys. Today* 43 (1990)

- [17] R. Wiesendanger, Scanning Probe Microscopy and Spectroscopy, Cambridge University Press : Cambridge, U.K. (1994)
- [18] R. Wiesendanger, H.-J. Güntherodt, Scanning Tunneling Microscopy II, Second Edition, Springer (1995)
- [19] M. D. Ward, H. S. White, Scanning Tunneling and Atomic Force Microscopy of Electrochemical Interfaces : dans Chemical Analysis 139, John Wiley & Sons, USA (1996)
- [20] M. Bale, R. E. Palmer, J. Vac. Sci. Technol. B 20 (2002)
- [21] A. J. Bard, M. V. Mirkin, Scanning Electrochemical Microscopy, Marcel Dekker, New York, NY (2001)
- [22] R. M. Penner, M. J. Heben, T. L. Longin, N. S. Lewis, Science 250 (1990)
- [23] O. Wolter, T. Bayer, J. Greschner, J. Vac. Sci. Technol. B 9 (1991)
- [24] Z. Shao, J. Mou, J. Czajkowsky, J. Yang, J. Yuan, Adv. Phy. 45 (1996)
- [25] A. Engel, C. Schoenenberger, D. J. Muller, Curr. Opin. Struct. Biol.7 (1997)
- [26] C. L. Cheung, J. H. Hafner, C. M. Lieber, Proc. Natl. Acad. Sci. 97 (2000)
- [27] M. Tortonese, R. C. Barrett, C. F. Quate, Appl. Phys. Lett.62 (1993)
- [28] S. C. Minne, S. R. Manalis, C. F. Quate, Appl. Phys. Lett.67 (1995)
- [29] T. Akiyama, A. Tonin, H.-R. Hidber, J. Brugger, P. Vettiger, U. Staufer, N. F. de Rooij, Sensors and Actuators A 64, (1998)
- [30] J. V. Macpherson, P. R. Unwin, Anal. Chem. 73 (2001)
- [31] C. Kranz, G. Friedbacher, B. Mizaikoff, A. Lugstein, J. Smoliner, E. Bertagnolli, Anal. Chem. 73 (2001)

- [32] A. Kueng, C. Kranz, B. Mizaikoff, A. Lugstein, E. Bertagnolli, *Appl. Phys. Lett.* 82 (2003)
- [33] J. Abbou, C. Demaille, M. Druet, J. Moiroux, *Anal. Chem.* 74 (2002)
- [34] Y. Zu, Z. Ding, J. Zhou, Y. Lee, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 73 (2001)
- [35] C. E. Jones, J. V. Macpherson, Z. H. Barber, R. E. Somekh, P. R. Unwin, *Electrochem. Comm.* 1 (1999)
- [36] K. Torimitsu, O. Niwa, *Neuroreport* 8 (1997)
- [37] G. M. Schier, R. G. Moses, I. E. T. Gan, S. C. Blair, *Diabetes Res. Clin. Practice* 4 (1988)
- [38] M. C. Moreno-Bondi, O. F. Wolfbeis, M. J. P. Leiner, B. P. H. Schaffar, *Anal. Chem.* 62 (1990)
- [39] L. Tolosa, H. Malak, G. Raob, J. R. Lakowicz, *Sensors and Actuators B* 45 (1997)
- [40] J. Zanzinger, *Auton. Neurosci.* 98 (2002)

2 Technologie

Comme nous avons pu vous le décrire dans le premier chapitre, la sonde doit être constituée d'une électrode tridimensionnelle permettant de s'approcher du substrat à balayer. Les paragraphes suivants concernent donc les différentes étapes de fabrication de cette sonde à partir d'un substrat de silicium. Deux types d'électrodes ont été envisagés, l'une basée sur la superposition de couches métalliques et isolantes sur une pointe en silicium, l'autre consistant au remplissage d'une micro-pipette de nitrure de silicium par du platine.

Enfin, seront décrites les différentes étapes de fabrication de la plate-forme d'électrodes permettant de réaliser les expériences de SECM sur des échantillons biologiques mais aussi d'en détecter les différentes activités chimiques.

2.1 La microfabrication des pointes

Le silicium a par défaut une structure en diamant ce qui permet de décrire trois plans cristallographiques grâce aux indices de Miller : (100), (110) et (111).

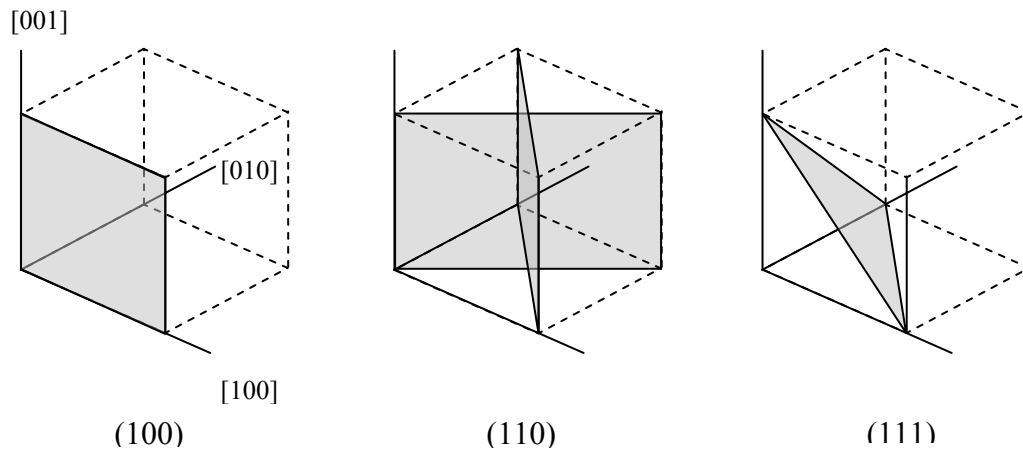
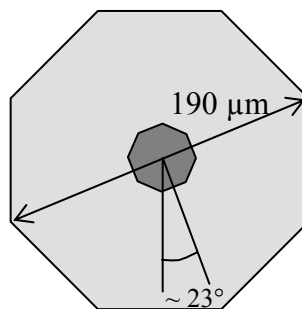


Figure 1.1.2-1 : Représentation des trois plans cristallins du silicium.

L'attaque de ce cristal par l'hydroxyde de potassium (KOH) permet de mettre en évidence ces plans primaires. Ces attaques préférentielles pour le silicium ont été largement étudiées par Offereins en 1991 [1] ou Liu en 1995 [2]. La géométrie finale du masque pour obtenir des cônes est basée sur les travaux de thèse de C. Beuret et P. Thiébaud [3,4,5,6] : grâce à un masque octogonal de 190 μm de diamètre constitué de 1000 \AA de SiO_2 et 2000 \AA de Si_3N_4 aligné au plan (110) de la plaquette, l'attaque anisotropique d'un silicium faiblement dopé produira une pointe octogonale d'environ 50 μm de hauteur, tournée d'environ 23° par rapport à l'orientation du masque.



Les pointes développées initialement ont permis l'élaboration de sondes pour l'AFM [7] ou l'étude électrophysiologique des cultures neuronales [8]

Après cette étape de formation de la pointe, celles-ci sont métallisées puis passivées afin de former l'électrode.

2.2 Types de silicium et résistivité

Compte tenu des projets en cours au sein de l'institut, l'adaptation de la technologie d'électrodes tridimensionnelles s'est imposée dans la mesure où elle n'entraînait pas une période de développement trop longue avant les tests électrochimiques.

En effet, une matrice d'électrodes coniques mises au point par P. Thiébaud [4] a pu être utilisée : elle consistait en un réseau de pointes sur une plaquette de silicium, recouvertes d'une couche métallique de platine permettant de collecter les signaux électriques et de les transmettre à un système d'amplification externe pour les analyser. Ce système microfabriqué reprend un principe de contact standard pour la microtechnologie : des pistes métalliques de platine connectent les électrodes (du même côté) aux contacts du PCB par le dessus : contact « topside ».

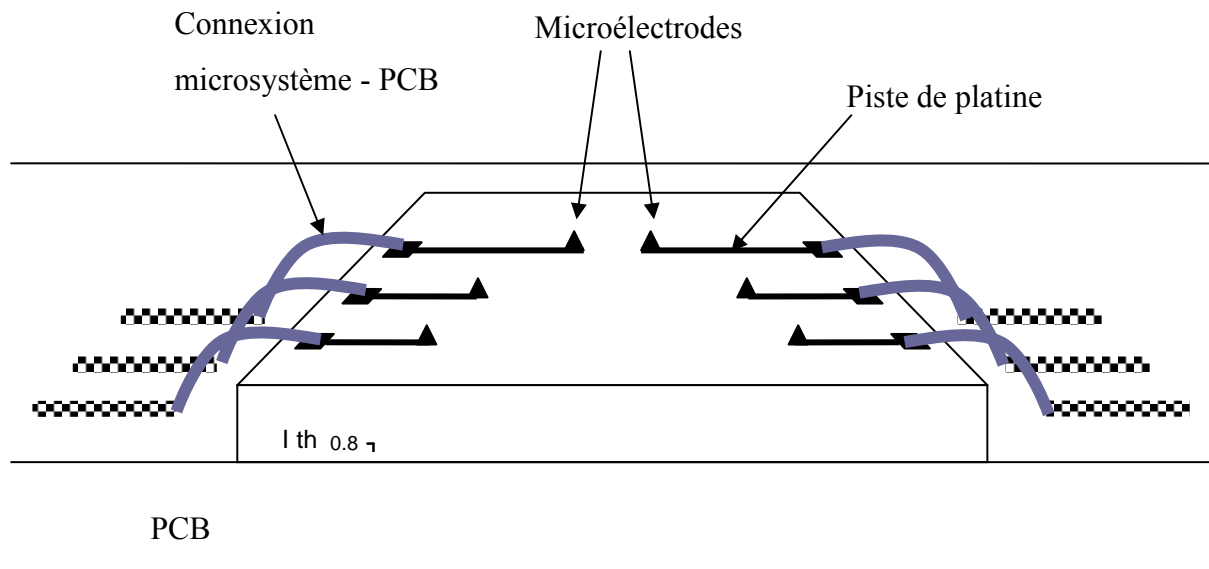


Figure 2.2-1 : Schéma du réseau de microélectrodes contactées topside.

Ces réseaux de micro-électrodes ont été fabriqués à partir de plaquettes de silicium de résistivité électrique $5 \Omega \cdot \text{cm}$ (4PD-525-5/00 voir nomenclature p.17) avec une couche isolante de Si_3N_4 permettant d'éviter une conduction parasite entre le silicium semi-conducteur et la couche supérieure de platine.

Ce faible dopage au bore (dopage p) correspond à une concentration de porteur de l'ordre de $10^{15} \cdot \text{cm}^{-3}$ (graphe 2.2-1) ce qui permet de confirmer les vitesses d'attaque humide donnée par Seidel en 1990 [9] : environ $16 \mu\text{m}/\text{h}$.

Une évolution de ce précédent design a été nécessaire car de nombreux essais ont révélé l'impossibilité d'utiliser des capteurs tridimensionnelles contactés topside dans la configuration des appareils conventionnels (Digital Instruments, Nanoscope, Topometrix) : en effet, les capteurs actuels étant de simples fils de

platine intégrés dans un capillaire de verre, la connexion est directe dans le capillaire grâce à un fil de cuivre.

La microélectrode devrait donc pouvoir être connectée par l'arrière (contact « backside ») ce qui implique un contact ohmique à travers l'épaisseur de la puce. Les premiers tests de montage de ces électrodes ont démontré que la connexion entre la couche de platine et le filament sur lequel est collée l'électrode est incompatible avec tout procédé de microtechnologie : en effet, la connexion et l'encapsulation sont fait une à une et avec l'aide d'un microscope (fig.2.2-2).



Figure 2.2-2 : Schéma de la connexion et de l'encapsulation de l'électrode avec comme témoin une tête d'allumette à côté de la sonde.

Une autre possibilité serait de remplir avec du métal une cavité traversante et isolée. Nous présenterons ces deux alternatives dans les paragraphes suivants.

Le silicium, semi-conducteur intrinsèque, possède une conductivité électrique très faible à température ambiante [10]. Pour augmenter celle-ci, il est nécessaire d'ajouter au silicium des éléments des groupes chimiquement voisins dans le

tableau de Mendeleïev. Les dopants les plus utilisés sont le phosphore, le bore, le germanium ou l'arsenic : ils ont la propriété de se substituer au silicium dans le cristal et d'ajouter des niveaux énergétiques dans la bande interdite et donc permettre le transport des charges à travers celle-ci [10].

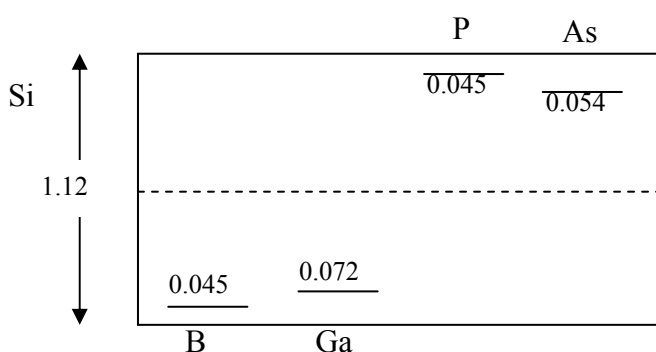
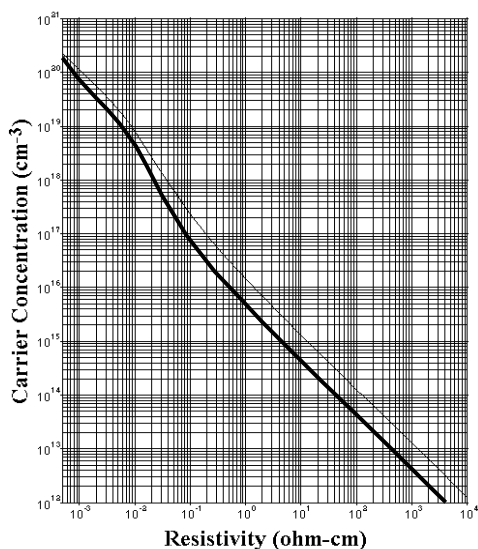


Figure 2.2-3 : Energie d'ionisation mesurée des impuretés dans le silicium

Jusqu'à présent, l'essentiel des plaques utilisées au sein de l'institut pour la fabrication contient du bore (nomenclature p pour trous positifs opposés aux dopants de type n, électrons négatifs), et la majorité des études effectuées sur la microfabrication des pointes s'est faite sur du silicium dopé au bore. Ceci nous a amenés à nous intéresser aux propriétés électriques de cette catégorie de silicium.

Les plaques conventionnelles de silicium utilisées à l'institut ont la cotation suivante : 4 PD 390 – 5/00. Ces plaques de 4 pouces (4), de silicium dopé p (P), polies des deux côtés (polished Double side) et d'une épaisseur de 390 μm possèdent une résistivité de 5 $\Omega\cdot\text{cm}$ ce qui ne paraît pas suffisant pour avoir un

bon contact ohmique entre le topside et le backside. En effet, pour que la conduction électrique à travers le silicium soit compatible avec une détection d'un courant faradique de l'ordre du nano-Ampère, le graphe suivant nous a permis d'évaluer approximativement la concentration de dopant idéale pour obtenir une résistivité du silicium de l'ordre du milli-Ohm.



Graphe 2.2-1 : Graphe de correspondance concentration de dopant - résistivité du silicium selon Sze, pour les siliciums dopé p (courbe en gras) et n (courbe fine) d'après [10].

Nous avons donc utilisé des plaques de silicium avec des résistivités très faibles : l'une à 15 mΩ.cm (4PD-390-0.015/00 de Siltronix), l'autre à 1-2 mΩ.cm (4PD-525 de University Wafers). Ces deux niveaux de dopage correspondent à une concentration de dopant pour le bore entre 10¹⁹ et 7.10¹⁹ selon le graphe 2.2-1. Il est à noter que, selon les travaux de Seidel [9] et le rapport de Madou [11], ce niveau de dopage réduit très fortement l'attaque humide du silicium notamment grâce à un effet électronique : les électrons injectés dans la bande de conduction lors de la réaction d'oxydation se

recombinent très rapidement aux trous de la bande de valence et donc manquent pour la dissolution du silicium.

Malgré ces données, nous avons voulu les confronter aux valeurs de taux d'attaque pour des plaques de silicium dopées dans la masse et étudier les différentes géométries d'attaque d'un tel silicium dopé par le KOH. Nous démontrerons dans les paragraphes suivants que la fabrication d'électrodes coniques dans ce silicium est tout de même possible avec certaines particularités.

2.2.1 Etapes de fabrication des électrodes coniques

2.2.1.1 Etapes de formation de la pointe

Afin de localiser l'attaque du silicium par le KOH, il est nécessaire de protéger le silicium en déposant en guise de masque une couche de 1000 Å de SiO₂ et 2000 Å de Si₃N₄, deux couches qui seront attaquées que très faiblement par le KOH [11]. Grâce à une photolithographie, le dessin du masque d'attaque pour la formation des pointes y est transféré par attaques plasma de ces deux couches. Le design a été déterminé durant des tests préliminaires comme cela a été décrit au début de ce chapitre.

La solution de KOH 40% et chauffée à 60°C attaquera avec des vitesses différentielles les plans cristallins (100)/(110)/(111) du silicium selon ces rapports : 200 :400 :1. Ceci est expliqué par le fait que chaque plan présente des densités atomiques différentes, le plan (111) ayant la plus grande. Il en résulte donc un phénomène de sous attaque du silicium permettant la rencontre des plans d'attaque en un seul point.

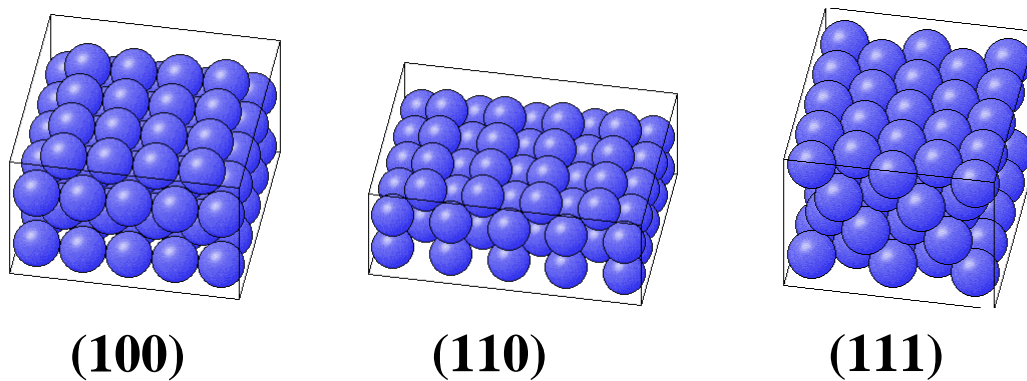


Figure 2.2.1-1 : Représentation schématique des densités atomiques dans 3 plans cristallins du silicium.

L'attaque anisotrope de 55 μm de silicium résulte en une pointe de 47 μm (fig. 2.2.1-2).

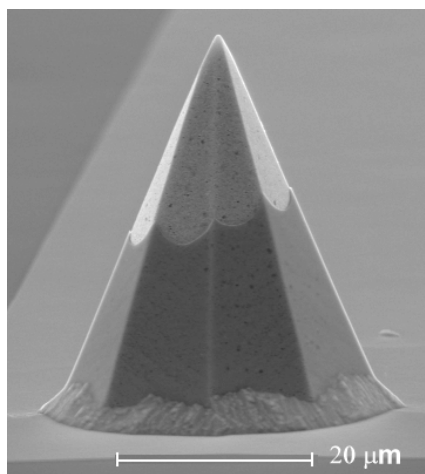


Figure 2.2.1-2 : Image SEM d'une électrode de Platine tridimensionnelle de 47 μm (avec la permission de P. Thiébaud).

2.2.1.2 Première génération de microélectrodes

Ces premières électrodes sont basées sur le développement de réseaux de pointes par P. Thiébaud. A l'issue de la formation de la pointe en silicium, il est

nécessaire d'y déposer 1000 Å de SiO₂ et 2000 Å de Si₃N₄, respectivement par oxydation thermique et LPCVD pour la passivation de base. La couche métallique de platine est structurée par un procédé appelé « lift-off » [4]: l'image négative des électrodes métalliques est transféré sur une couche de résine photosensible, le métal est ensuite déposé et l'image positive du métal persiste sur le silicium lors de la dissolution de la résine. Puis la passivation supérieure consistant en 2000 Å de Si₃N₄ LPCVD est déposée et structurée par plasma RIE (attaque aux ions réactifs : SF₆/O₂) par photolithographie avec un photorésist épais, développé à notre institut [4,12]. Le platine exposée correspond à un cône de 10 à 15 µm à la base et de 15 à 20 µm de hauteur.

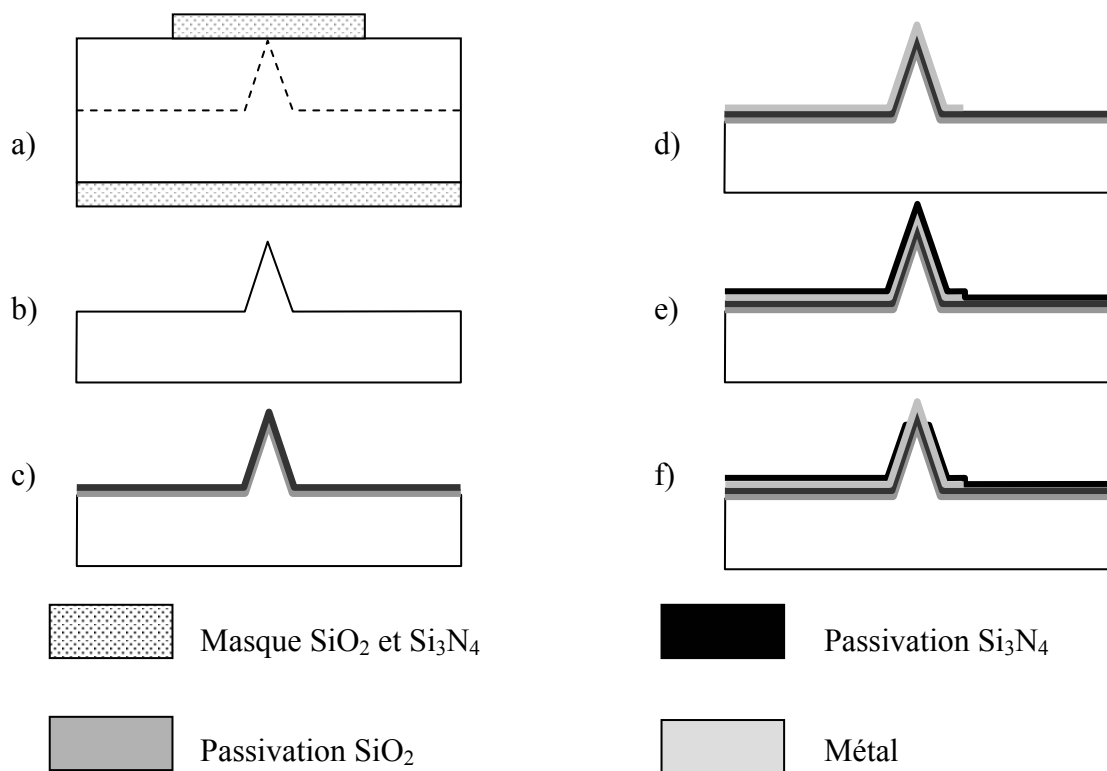


Figure 2.2.1-3 : Etapes de formation d'une électrode tridimensionnelle de platine.

2.2.1.3 Nouvelle connexion : nouvelle conductivité

Les profils de masques, les géométries et les vitesses d'attaques ont été étudiées lors des précédents travaux [3] sur des plaquettes de silicium peu dopées (25 ou 5 Ω .cm). Dans la mesure où le dopage du silicium modifie les densités électroniques, nous avons observé deux phénomènes liés à la concentration des dopants :

- Dans le cas des plaquettes de silicium de 15 m Ω .cm, les pointes obtenues sont plus petites et présentent des rayons de courbures de l'ordre de 60 nm au lieu de 500 nm avec les plaquettes de silicium standard utilisées par P. Thiébaud [4,13].
- Les plaquettes de silicium hautement dopées à 1 m Ω .cm présentent des pointes à base carrée. Les plans secondaires attaqués dans le cas d'une pointe octogonale se gravent très rapidement et les flancs de la pointe apparaissent donc appartenir aux plans (110)

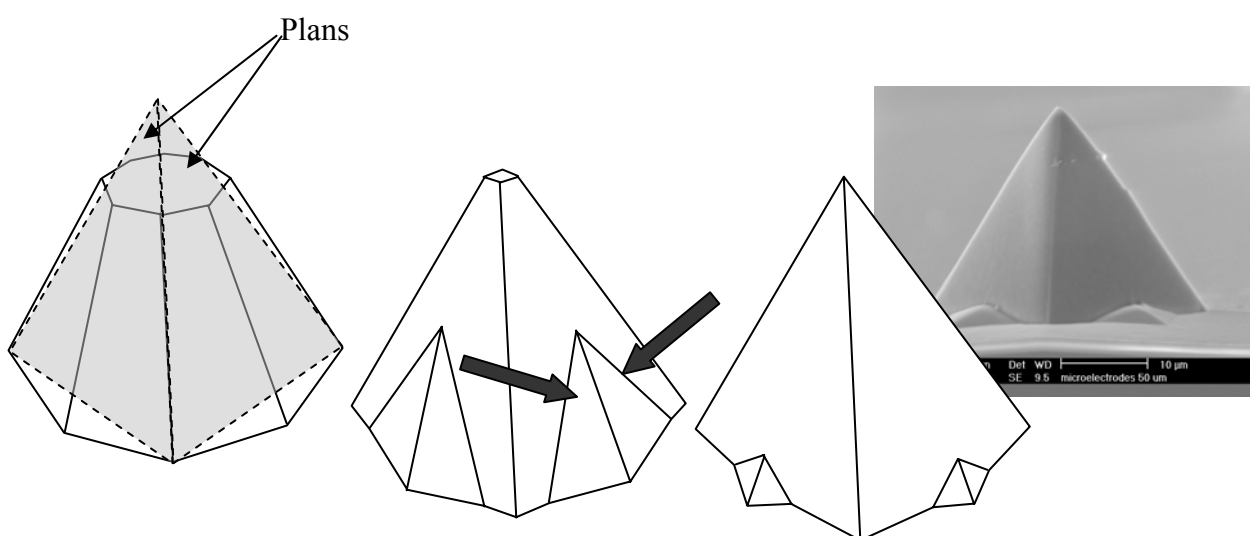


Figure 2.2.1-4 : Différentes étapes de formation de la pointe par attaque anisotrope avec en insert l'image SEM du résultat (hauteur de 25 μ m et un rayon de courbure de 60 nm).

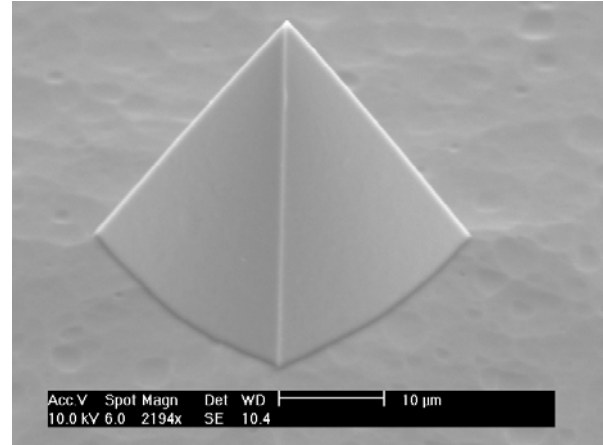
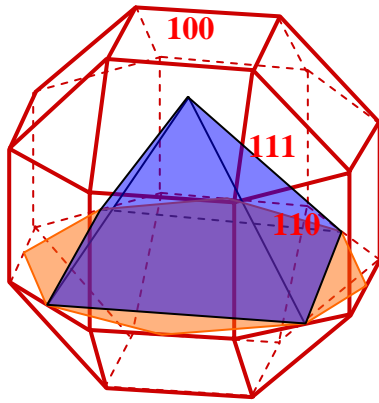


Figure 2.2.1-5 : Correspondance des plans d'attaque par rapport au cristal de silicium – l'octogone orange est la base de la pointe peu dopée – la pyramide bleue permet d'orienter ses plans dans le cristal. A droite l'image SEM de la pointe en fin de gravure avec comme facette les plans (110).

Cette observation peut être rapportée aux connaissances du cristal du silicium et de ses liaisons chimiques [14,15]. Ainsi, la distribution des impuretés de bore étant homogène dans l'ensemble des plans cristallins, ce dopage ne modifie pas la densité atomique du silicium tel que cela est présenté schématiquement ci-dessous.

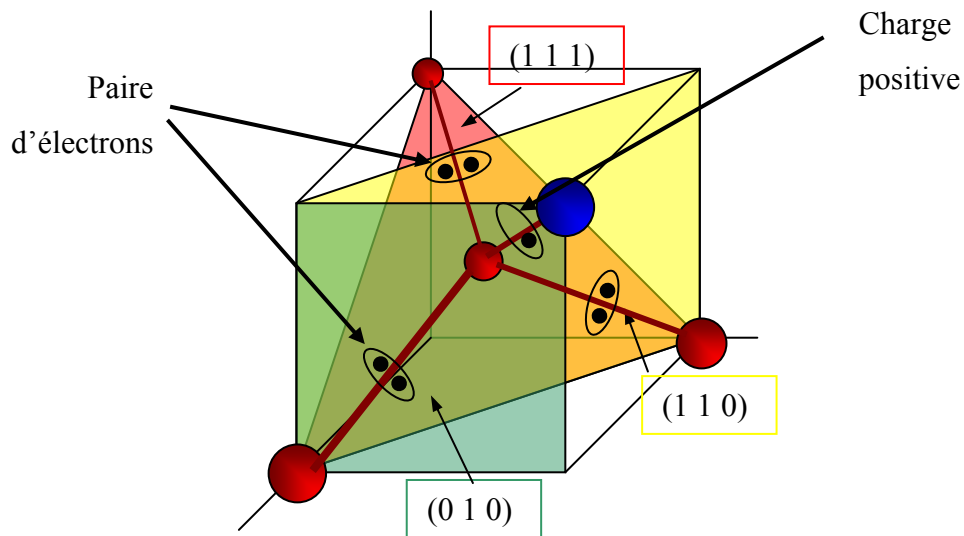


Figure 2.2.1-6 : Représentation spatiale des atomes de silicium (1.46 Å de rayon en rouge) et de bore (1.17 Å rayon en bleu) et leurs liaisons électroniques.

Par contre, l'influence électronique du bore décrite au chapitre 2.2 est d'autant plus grande que les trous engendrés vont se retrouver densifiés sur ce plan (111) [16] et donc vont rendre pratiquement inexistante l'attaque du silicium selon ces plans là, ce qui participe à rendre les électrodes pyramidales et très aiguës.

Ces variants en taille et en rayons de courbure n'étant pas rédhibitoire quant aux critères de géométrie de l'électrode, nous avons poursuivi la microfabrication telle que nous l'avons planifiée.

2.2.1.4 Métallisation des pointes

Contrairement à la précédente génération d'électrodes où le métal était isolé du silicium, les pointes sont ici directement recouvertes afin d'avoir un contact ohmique pour la connexion backside. Mais le platine étant en contact avec le silicium, la déposition subséquente de Si_3N_4 LPCVD à 800°C pour la

passivation des électrodes entraîne la formation d'un siliciure de platine, rendant impossible toute mesure électrochimique.

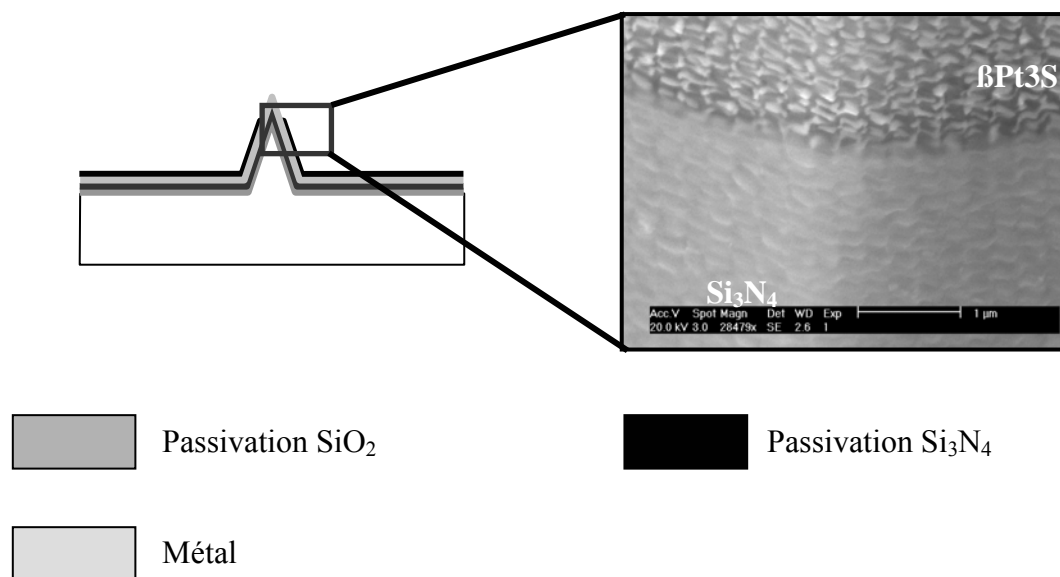


Figure 2.2.1-7 : Schéma de l'ouverture et image SEM montrant la formation du siliciure de platine.

En effet, le phénomène de formation du composé $\beta\text{Pt}_3\text{Si}$ [17] se produit dans le cas d'un dépassement de la température de 360 °C dans le cas du mélange silicium - platine comme cela est présenté dans le diagramme de phase ci-dessous.

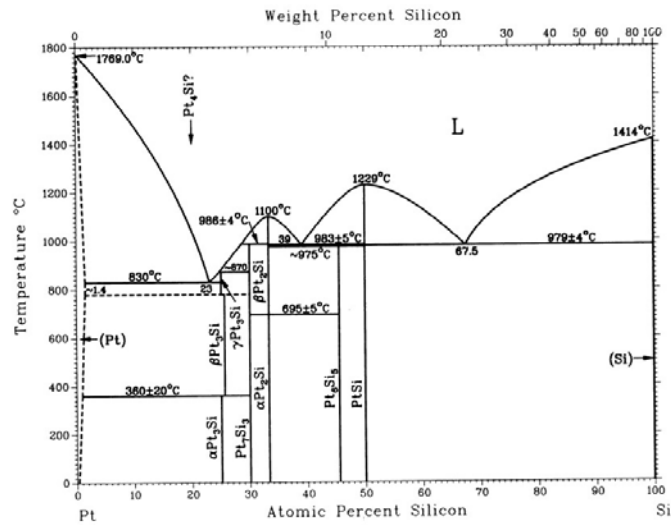


Figure 2.2.1-8 : Diagramme de phase silicium – platine [17].

Dans le cas des plaques hautement dopées où la quantité de dopant n'est pas négligeable, il est possible de former un alliage ternaire [18]. Dans ce cas, la température de formation de l'alliage est abaissée de quelques dizaines de degrés. Pour cette raison, il a été nécessaire de trouver une alternative pour le dépôt de la couche passivante. Deux choix étaient possibles :

- Déposer une couche passivante de nitrure PECVD qui peut se déposer à une température de 350° C : cela aurait pu être possible dans le cas d'une plaquette de silicium peu dopé mais en considérant cette probable formation d'alliage ternaire, il apparaît que ce nitrure ne peut pas être utilisé pour notre application.
- Localiser en premier lieu la surface de contact du métal avec le platine grâce à la structuration du nitrure et ensuite déposer le platine.

Enfin, compte tenu des spécifications techniques pour l'utilisation de nos capteurs en microscopie par balayage de sonde (SPM), il est nécessaire de réduire grandement la surface métallique au sommet des points. En effet, les

surfaces calculées représentent environ $600 \mu\text{m}^2$ pour une hauteur de cône métallique d'environ $15 \mu\text{m}$. Pour obtenir des images électrochimiques de bonne résolution, il serait nécessaire de fabriquer des cônes métalliques d'environ 1 à $5 \mu\text{m}$ de hauteur. Une plus petite surface pourrait difficilement être obtenue avec les différentes étapes proposées précédemment. Pour cela, le paragraphe suivant décrit les différents développements réalisés afin de remplir ces spécifications.

2.2.1.5 Réduction de la taille de l'électrode

Un moyen simple de réduire une ouverture de pointe serait de réduire la taille des structures pour la photolithographie jusqu'à la limite technique de celle-ci. Nous arriverions dans ce cas là à une hauteur de cône théorique d'environ 1 à $2 \mu\text{m}$ [11]. Mais compte tenu de la structure sur laquelle doit être faite la photolithographie, il est particulièrement difficile de pouvoir aligner une aussi petite structure sur une structure tridimensionnelle puisque la projection des masques ne permet pas de suivre la topographie de la pointe. D'autre part, il apparaît dans de nombreux cas que l'attaque KOH ne permet d'avoir des pointes dont le sommet est centré par rapport à sa base, excepté quand il est possible de positionner les plaquettes de silicium à plat dans le bain KOH et de calculer exactement le temps nécessaire et suffisant à l'attaque pour éviter les manipulations des plaquettes.

Une deuxième méthode disponible développée également pour l'ouverture des pointes serait la déposition de résine photosensible pour l'ouverture de la partie haute des pointes en faisant coïncider la hauteur de la résine photosensible avec la zone où la passivation doit être ouverte [4]. Cette limite est donnée par la montée de la résine photosensible sur les flancs des pointes au cours de l'étalement de la résine, jusqu'à ce que le film devienne trop fin pour aller plus

haut. L'attaque plasma du nitrure émergeant de la résine permet de réaliser des ouvertures de l'ordre de 2 μm (fig.2.2.1-9). Mais une grande inhomogénéité subsiste sur l'ensemble de ces pointes à cause des différences d'épaisseurs de la résine.

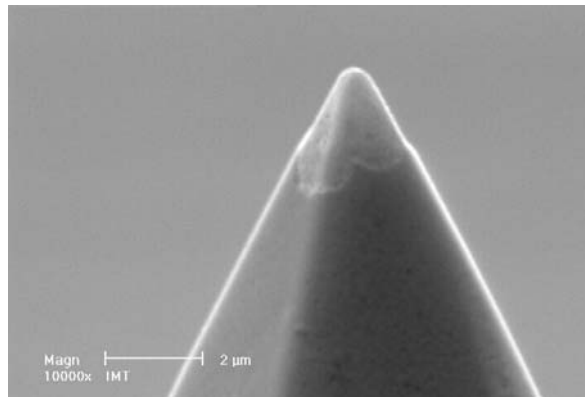


Figure 2.2.1-9 : Image SEM d'une pointe microfabriquée par P. Thiébaud (avec sa permission).

Enfin, il est également possible de réaliser des ouvertures sub-micrométriques de la passivation sans déposition de résine photosensible [19,20], grâce à une accumulation des charges du plasma à l'apex de la pointe. Cette méthode est particulièrement adaptée aux pointes réalisées dans le quartz avec une verticalité des flancs qui seront donc épargnés par le plasma. L'emploi de cette technique sur des pointes en silicium pyramidale apparaît aléatoire et peu efficace (fig.2.2.1-10).

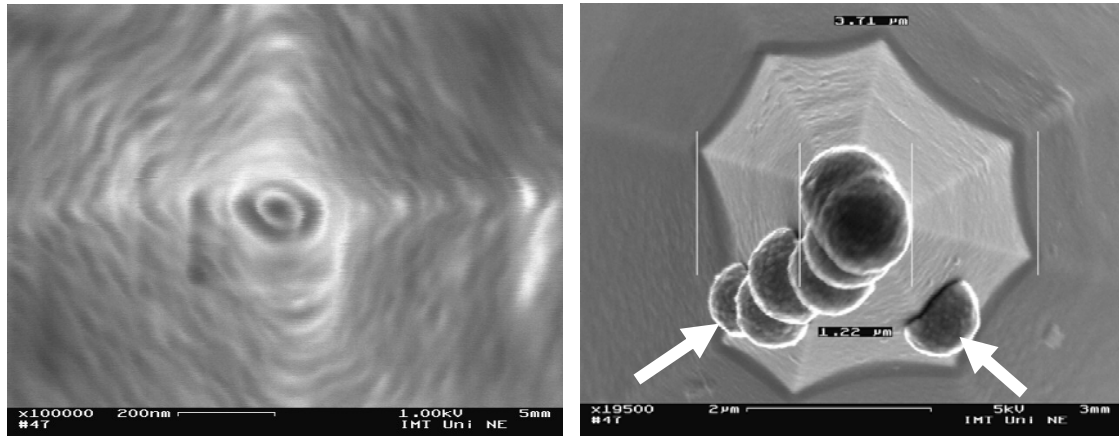


Figure 2.2.1-10 :Images SEM de nano-ouvertures par effet d'accumulation de charges, à gauche réalisée sur une pointe en quartz (avec la permission de G. Schürmann), à droite sur une pointe en silicium sur laquelle a été électrodéposée ensuite du platine : les flèches indiquent les trous probables dans la passivation au cours de l'ouverture du nitrure, notamment sur les arêtes de la pointe.

En effet, l'électrodéposition qui a été pratiquée sur nos pointes en silicium nano-ouvertes démontre qu'il n'y a pas de réelle sélectivité de l'attaque plasma sur des pointes de 50 µm en silicium (le platine ne se déposant que sur les parties ouvertes du nitrure).

Nous avons donc appliqués ces quelques procédés technologiques à notre situation pour ouvrir le nitrure de silicium, pour localiser le contact entre le silicium et le platine déposé ultérieurement. Mais une sur-gravure non contrôlée conduit automatiquement à l'attaque du silicium sous jacent comme en atteste cette image. Une couche protectrice d'oxyde de silicium est donc nécessaire.

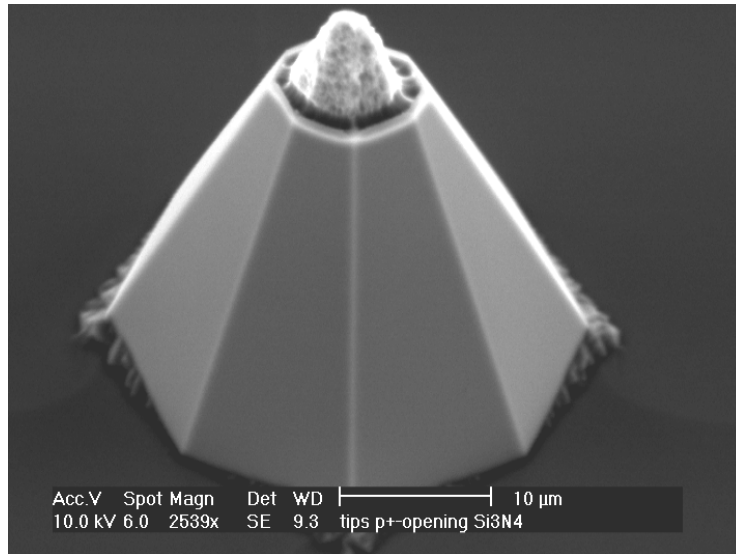


Figure 2.2.1-11 : Image SEM d'une pointe de silicium sur gravée par plasma lors de l'ouverture du nitrure de silicium.

Enfin, une dernière méthode permettrait de réduire la hauteur d'ouverture par un sandwich d'une couche épaisse d'oxyde et de nitrure : de cette manière, cela permet de remonter la hauteur d'ouverture de ce nitrure. De manière numérique, la hauteur d'ouverture du cône métallique est réduite du triangle correspondant au dépôt épais de $1.5 \mu\text{m}$ d'oxyde de silicium : cela correspond à environ $4.5 \mu\text{m}$ pour une pointe dont l'angle d'ouverture est estimé à 20° .

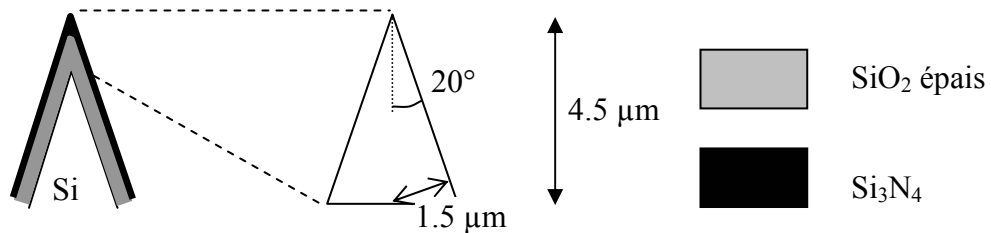


Figure 2.2.1-12 : Réduction d'ouverture par oxyde de silicium épais

Ainsi, un diamètre d'ouverture initiale de 5 μm permet d'ouvrir le cône à une hauteur de 7.5 μm , cette méthode permettrait de réduire cette hauteur d'ouverture à 3 μm , ce qui correspond aux attentes pour l'utilisation de ce capteur en microscopie à balayage.

De surcroît, il nous a été possible de tirer partie de cette étape supplémentaire de déposition d'oxyde épais pour permettre une amélioration de l'acuité des pointes par le principe de l'« oxide sharpening » [21] L'oxyde thermique habituellement déposé à 1100° C l'est dans ce cas à 950° C puis est densifié. Lors de l'attaque finale de cet oxyde, la finesse de la pointe en est très nettement augmentée.

Les premiers essais montrent que l'ouverture de la pointe peut effectivement être diminuée jusqu'à une hauteur de quelques μm , comme peuvent en attester ces images SEM au niveau de l'apex de la pointe. Dans les cas suivants, la sur-attaque de l'oxyde de silicium est clairement visible.

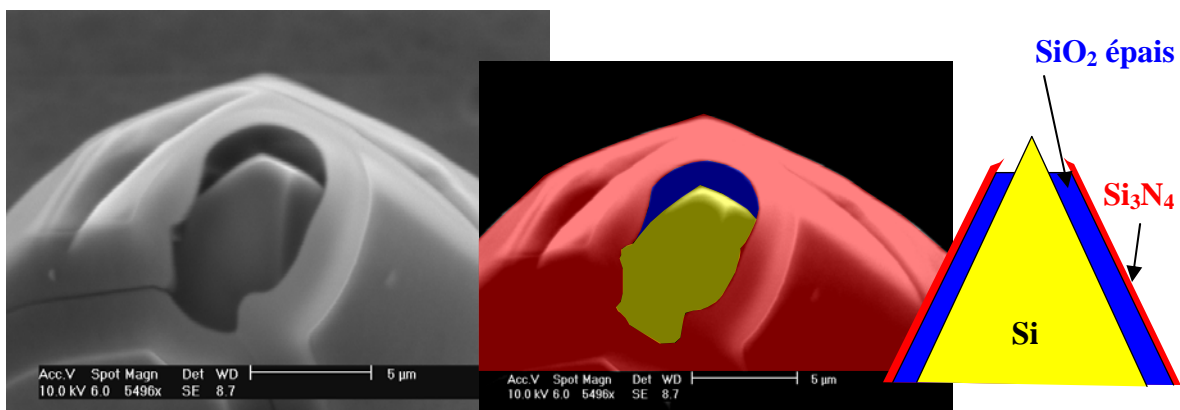


Figure 2.2.1-13 : Image SEM de l'ouverture du nitrure de silicium, avec les différents matériaux au centre et à droite le schéma de la pointe en coupe transversale.

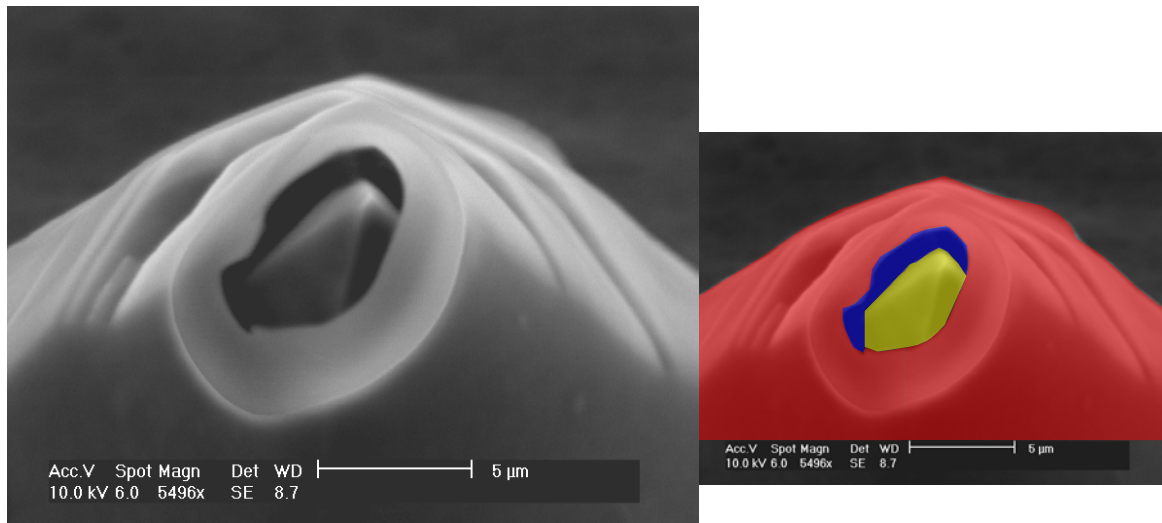


Figure 2.2.1-14 : Image SEM d'une électrode dont l'ouverture est centrée, avec les différents matériaux à droite (la nomenclature est la même que précédemment).

Ces derniers essais ont été effectués sur des pointes en silicium hautement dopé dont la hauteur est aux alentours des 25 µm, idéal pour l'ouverture du nitrure émergent de la résine photosensible épaisse. Le temps standard d'attaque plasma du nitrure suffit à graver le film de résine masquant le nitrure et graver les 2000 Å de nitrure situé à l'apex des pointes. Seule une surface de silicium correspondant à quelques µm² subsiste.

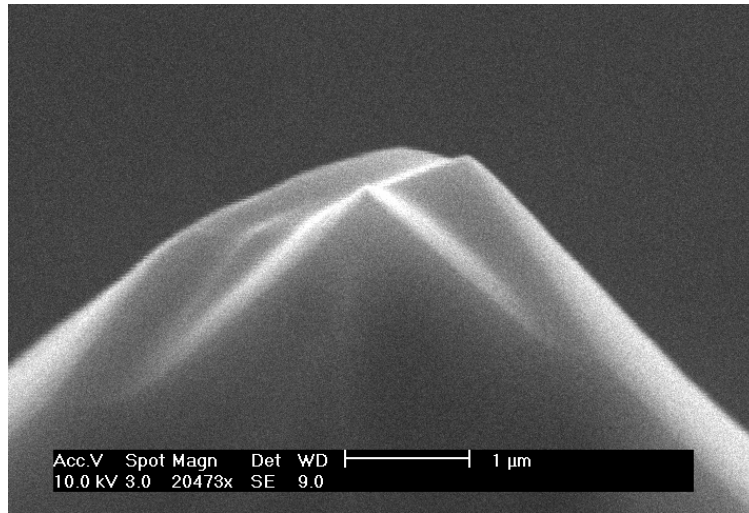


Figure 2.2.1-15 : Image SEM d'une électrode sans sous-attaque de l'oxyde de silicium.

De la même manière, il est nécessaire que la surface de platine la plus petite possible soit centrée au mieux sur la pointe. Les premiers tests effectués ont permis de démontrer la faisabilité d'un lift-off sur les pointes pour un cône métallique d'environ 10 microns de hauteur. Il est donc envisageable de structurer le platine par lift-off. En effet, lors de la déposition métallique, le platine est déposé sans une couche d'adhésion de tantale indispensable pour le nitrure de silicium [11]. Le platine ne se dépose donc que sur le silicium (fig.2.2.1-16). La simple utilisation d'un bain ultrasonique permet de pouvoir enlever le platine de la surface de nitrure, et de localiser précisément la couche métallique de platine au sommet des pointes (fig.2.2.1-17).

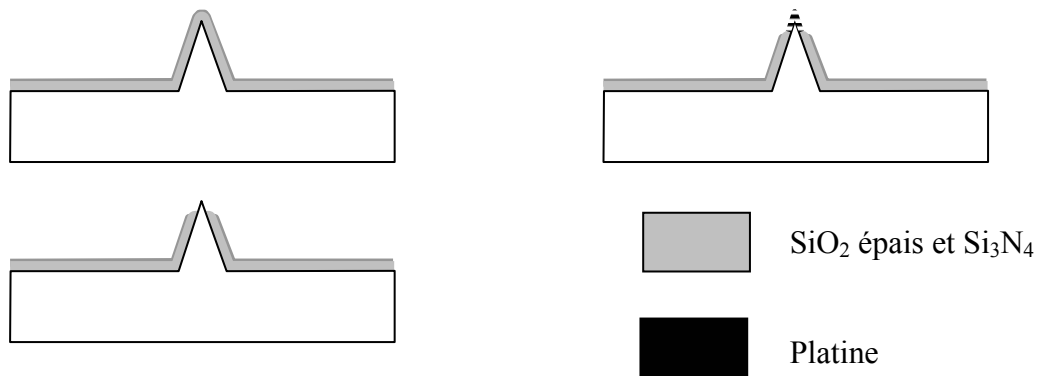


Figure 2.2.1-16 : Etapes de formation d'une électrode de platine avec une ouverture réduite.

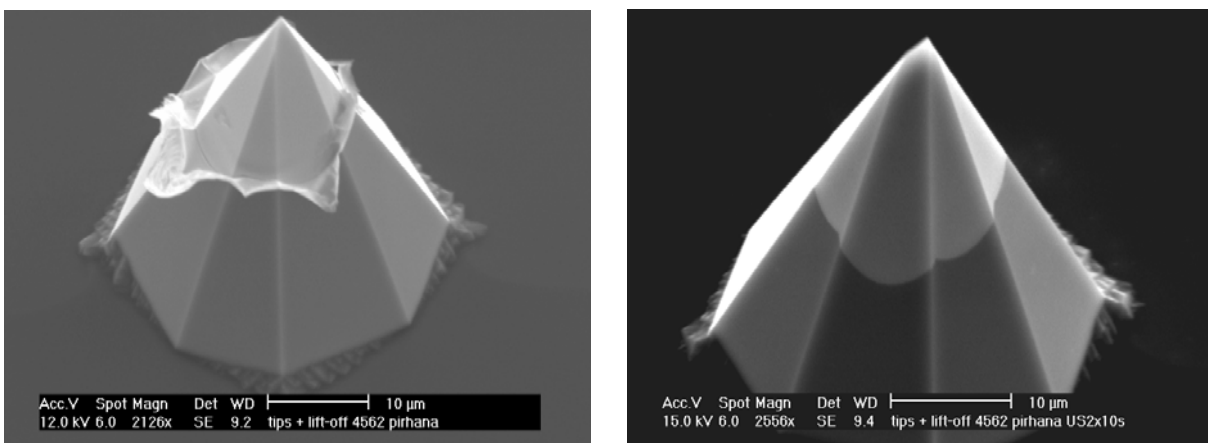


Figure 2.2.1-17 : Images SEM d'une pointe, avant et après le bain ultrasonique pour nettoyer le voile de platine.

La réduction de taille des pointes et la maîtrise des procédés d'étalement de la résine ont permis d'aboutir à des surfaces de platine se rapprochant de plus en plus des spécifications requises. En voici quelques exemples choisis.

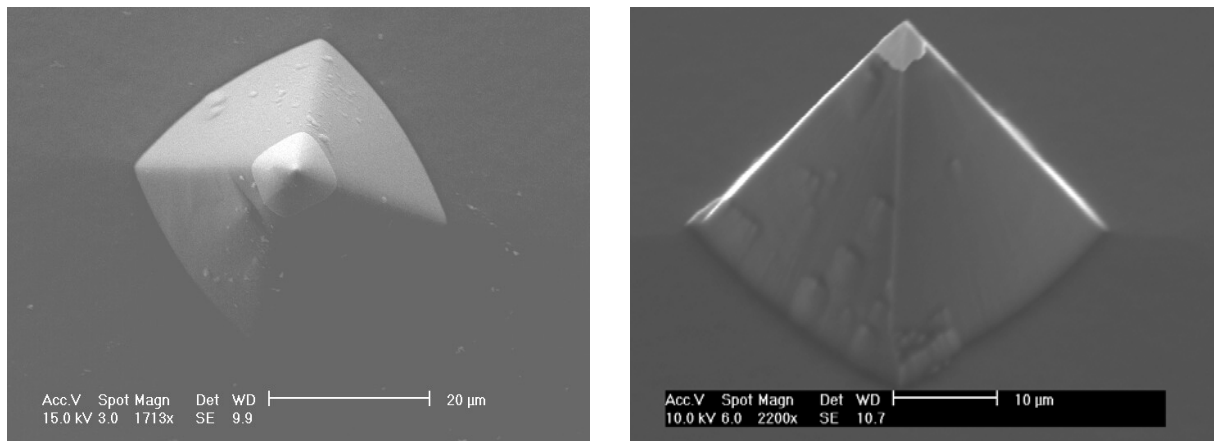


Figure 2.2.1-18 : Images SEM de la diminution de surface de platine, à gauche avec une surface d'électrode égale à $85 \mu\text{m}^2$, à droite inférieure à $22 \mu\text{m}^2$.

Nous développerons dans le chapitre « Résultats » les différentes caractérisations de ces électrodes.

2.2.2 Etapes de fabrication d'électrodes cylindriques

Cette opportunité de réaliser des électrodes tridimensionnelles est née de l'adaptation de cylindres d'oxyde et nitrure de silicium développés par O. Guenat et ensuite remplis par électrodéposition contrôlée de platine,.

2.2.2.1 Réalisation des cavités des cylindres et des parois

La première étape de fabrication de ces cylindres consiste en la définition des cavités par la structuration du silicium par une attaque par plasma (DRIE [11]). La définition consiste au transfert par photolithographie de cercles de $5 \mu\text{m}$ de diamètre et la profondeur des cavités est fonction de la hauteur de micro pipettes désirée (premier test à $12 \mu\text{m}$ de profondeur).

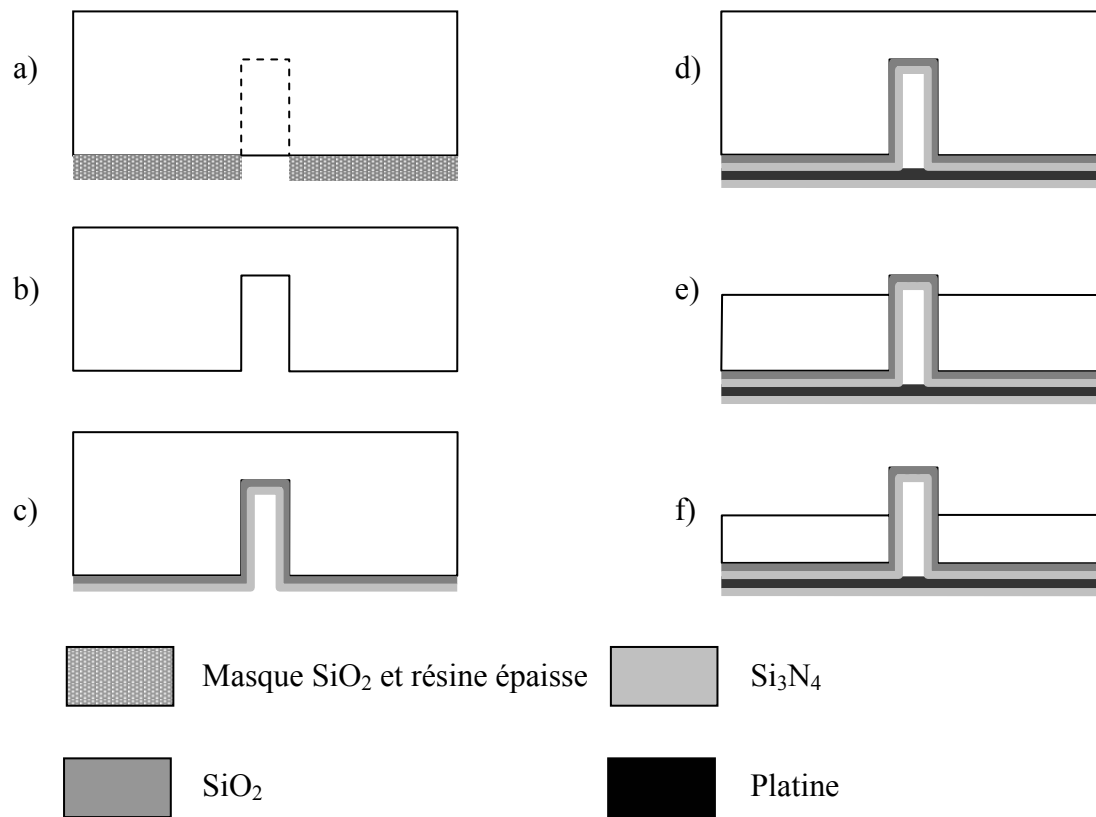


Figure 2.2.2-1 : Etapes de fabrication des cylindres dans le silicium. L'attaque des cavités se fait par DRIE (Deep Reactive Ion Etching). Les dépôts d'oxyde et de nitrure de silicium sont conformes. L'étape d'amincissement du silicium se fait par attaque humide.

Ensuite, les dépôts successifs d'oxyde épais et de nitrure permettent de rigidifier ces pipettes une fois sorties de la structure de base de silicium. Enfin, la déposition de platine à l'arrière de la plaquette permet le contact pour l'électrodéposition dans les micro-pipettes.

Cette méthode possède l'avantage de permettre un contrôle assez rapide et précis du diamètre externe mais aussi interne des cylindres en faisant varier

l'épaisseur des couches d'oxyde et de nitrure qui se déposeront à chaque fois de manière conforme par rapport aux parois verticales du silicium.

2.2.2.2 Résurgence des cylindres d'oxyde-nitrure.

Dans la mesure où les cylindres ont été formés par empreinte dans le silicium, il ne reste plus qu'à abaisser le niveau du silicium supérieur afin d'en faire surgir les micro-pipettes. Pour ceci, il est nécessaire de protéger l'arrière de la plaquette ainsi que le platine par du nitrure qui ne sera pas attaqué dans le KOH.

La hauteur des cylindres est évaluée en cours d'attaque par des images SEM afin de s'arrêter au bon moment et ne pas attaquer toute la structure de soutien de silicium supérieur.

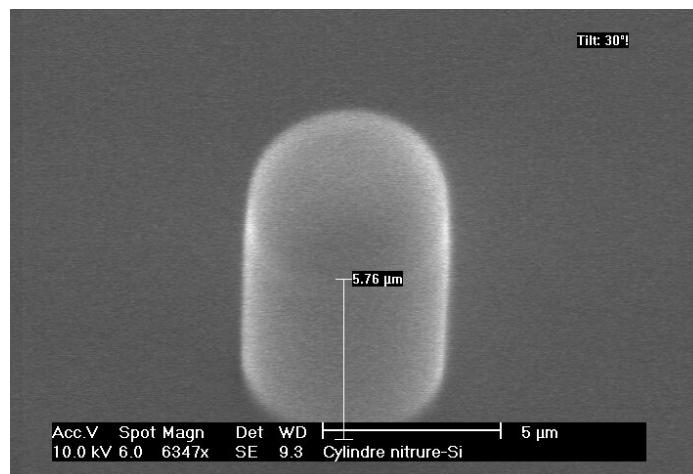


Figure 2.2.2-2 : Cylindre d'oxyde-nitrure à la fin de l'attaque du silicium. Hauteur finale : 11.52 µm, diamètre 5.6 µm.

Ensuite, l'étape finale consiste à ouvrir les cylindres afin de pouvoir les remplir par électrodéposition par leur partie supérieure. La première étape d'attaque

humide de l'oxyde de silicium dans le BHF permet de libérer le nitrure sous-jacent. Ensuite, l'ouverture proprement dite du nitrure s'effectue en gravure sèche sans masque grâce au plasma qui aura une attaque préférentielle dans le plan de la plaquette et bien ralentie sur les parois du cylindre.

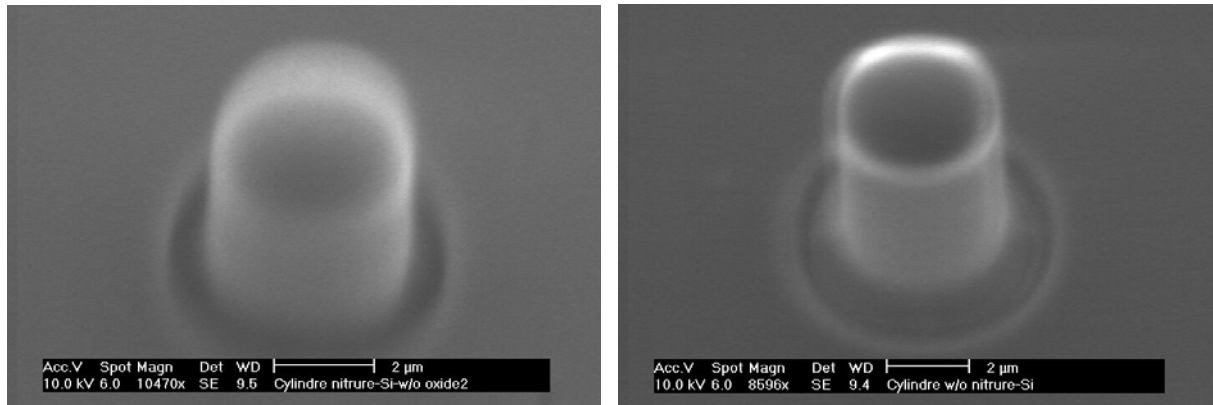


Figure 2.2.2-3 : Images SEM des cylindres à gauche une fois l'oxyde attaqué, à droite une fois le nitrure attaqué. Hauteur finale : 11.52 µm, diamètre 3.9 µm.

Enfin, grâce à la couche métallique déposée en backside, les micro-pipettes sont remplies par électrodéposition de platine par cycle d'oxydation-réduction afin d'obtenir une homogénéité des couches successives de métal [22,23,24]. La déposition a été effectuée, à l'aide de la solution de Platine 3745 (Engelhard-Clal), par cycle entre 0 et -0.725 MV à une vitesse de balayage de 100 mV.s^{-1} pendant au minimum 10 minutes. La forme générale de l'électrode peut donc être modulée en terme de hauteur et de diamètre.

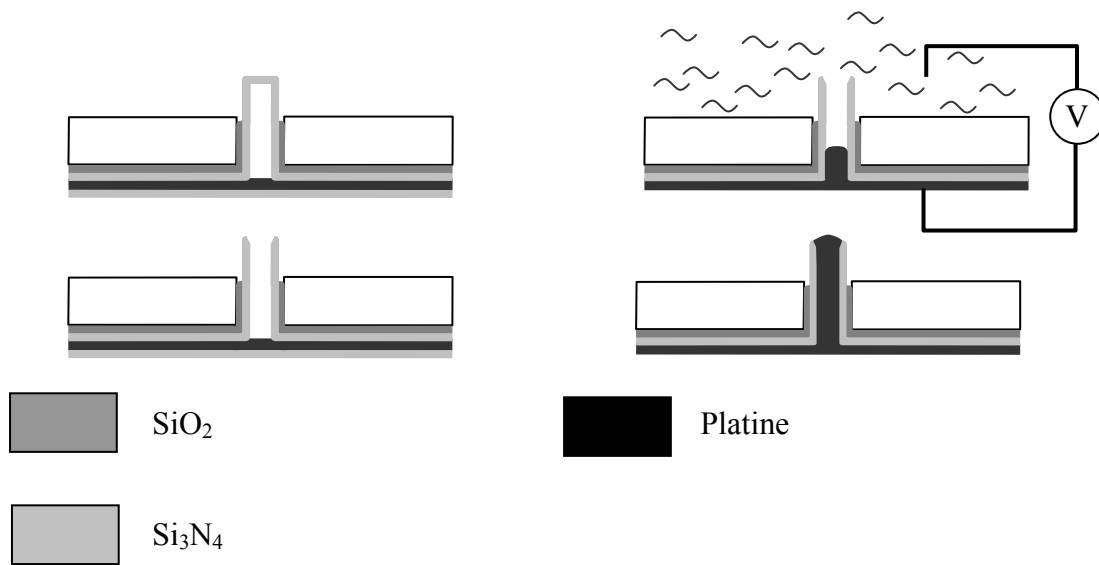


Figure 2.2.2-4 : Etapes d'ouverture et remplissage de l'électrode cylindrique

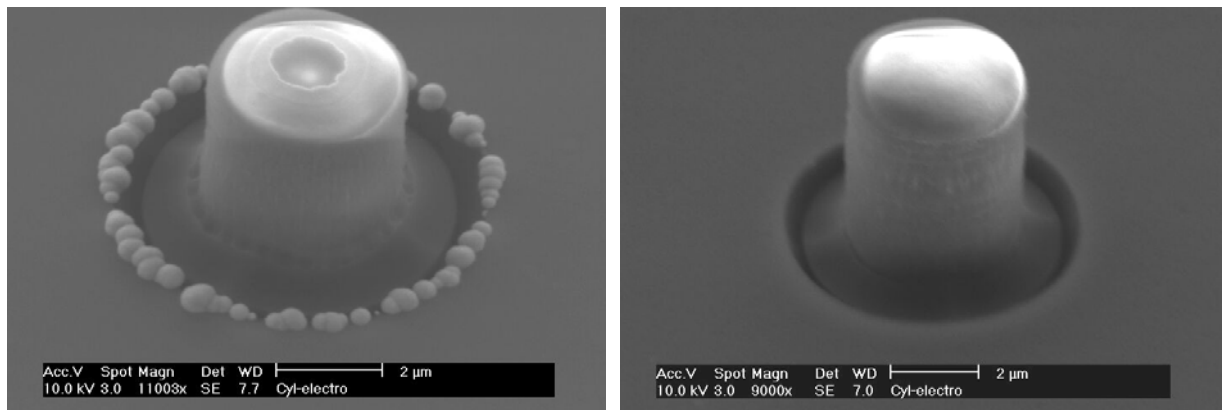


Figure 2.2.2-5 : Images SEM à gauche d'un cylindre en cours de remplissage par électrodéposition de platine et d'une électrode cylindrique complètement remplie à droite. Hauteur finale : 11.52 μm, diamètre 3.9 μm.

Cette première génération d'électrodes cylindrique a permis de démontrer la faisabilité du remplissage des électrodes par électrodéposition dans des cylindres

de 2.5 μm de diamètre. Quelques défauts peuvent subsister (fig. 2.2.2-5 à gauche), à cause des craquelures possibles dans le nitrure.

Compte tenu de la géométrie de cette électrode, cette technologie serait tout à fait adaptée pour la fabrication de sondes SECM en terme de reproductibilité et de taille d'électrodes ; en effet, peu d'erreurs de taille sont engendrées lors de la gravure des cylindres et éventuellement cela peut être facilement rattrapé par un épaissement soit de l'oxyde soit du nitrure de silicium. D'autre part, la technologie permet également de réduire la taille de ces électrodes : il est possible de réaliser une gravure dans le silicium de l'ordre de 2 μm de diamètre, et de déposer de manière conforme et relativement précise des couches d'oxyde et de nitrure de silicium avec une erreur maximum de 5 %. De manière théorique, il est même possible de réaliser des électrodes avec un diamètre de 200 nm ce qui peut paraître raisonnable pour une résolution SECM. Mais il faut tenir compte du fait que le liquide pour l'électrodéposition doit pouvoir rentrer dans le cylindre obtenu pour atteindre la couche de platine du fond du cylindre. Pour cela, il faut savoir que les matériaux utilisés sont le nitrure de silicium pour le cylindre, hydrophile et la solution d'électrodéposition est aqueuse. Pour cela, le profil du ménisque dans le cylindre est comme indiqué (fig. 2.2.2-6) ce qui facilite son remplissage par immersion.

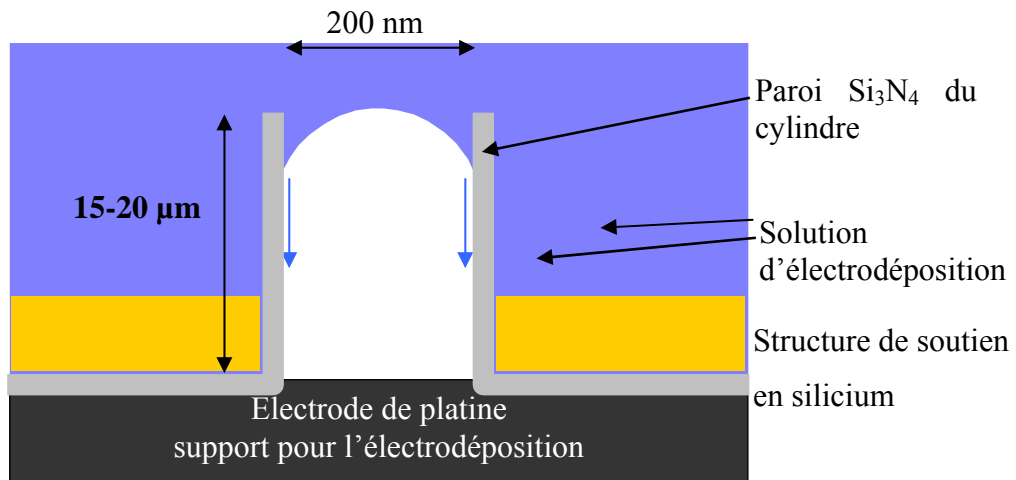


Figure 2.2.2-6 : Schéma de mouillabilité de la solution de platine sur les parois du cylindre. La gravité permettra au liquide de descendre chassant l'air emprisonné dans le cylindre (schéma non à l'échelle).

2.2.3 Plates-formes CellSens

2.2.3.1 Fabrication des plates-formes d'électrodes

La fabrication des plates-formes d'électrodes s'inscrit dans la participation de l'institut à un projet européen appelé CellSens dans lequel une plate-forme multi-modale est envisagée dans le cadre de l'étude in vitro des événements intra et extracellulaires d'une culture de cellules. A terme, ce système peut permettre d'étudier l'impact de médicaments sur ces cultures.

Compte tenu des différents modes d'investigation proposés, nous avons donc dû développer une structure transparente comportant un réseau d'électrodes afin de

permettre l'étude des comportements chimiques et biochimiques des cellules en culture grâce à des techniques optiques et électrochimiques.

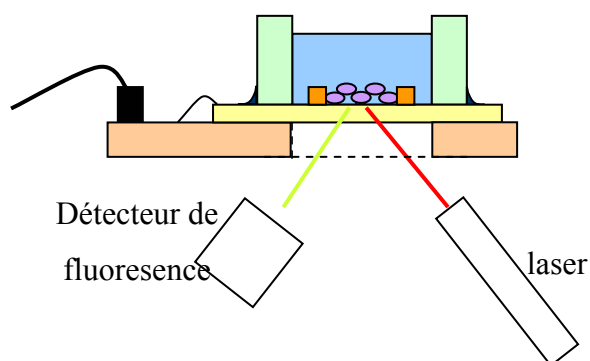


Figure 2.2.3-1 : Schéma du dispositif de mesure CellSens pour analyse combinée électrochimique et optique de cultures cellulaires.

Les premiers tests de faisabilité ont été effectués avec un design de plate-forme simplifié d'une ou 3 électrodes de 20, 50, 100 ou 1000 μm de diamètre. A partir de cette première génération ont pu être déterminés les tailles d'électrodes optimales pour la détection mais aussi la modification post-fabrication, et les matériaux d'électrodes mais aussi de passivation

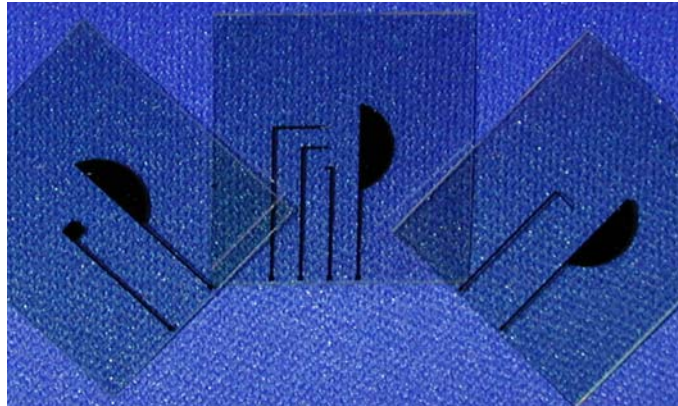


Figure 2.2.3-2 : Photo de la première génération de plate-forme CellSens, de 20, 50, 100 ou 1000 μm de diamètre.

Afin d'étudier la libération de différents composés par les cellules en culture et de façon simultanée, la plate-forme finale comporte 36 électrodes de 48 μm de diamètre, espacée de 500 μm . La technologie est décrite plus loin.

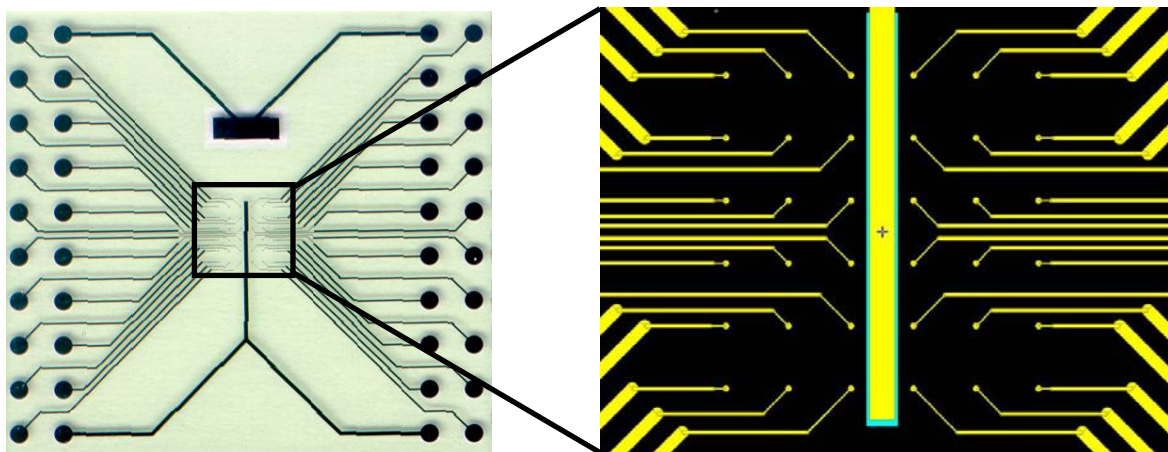


Figure 2.2.3-3 : Photo de la plate-forme CellSens sur verre avec ces 36 électrodes (taille de la plate-forme : 2.2 x 2.2 cm). A droite, le détail des électrodes.

Des électrodes sont modifiées sur la plate-forme afin de pouvoir détecter les concentrations extracellulaires d'espèces comme l'oxyde nitrique [25,26], les superoxyde [27] ou le glutamate [28]. D'autre part, la détection par fluorescence permet de mettre en évidence les concentrations intracellulaires de NO et de superoxyde [29].

Une deuxième approche a été mise en place afin de pouvoir étudier la réponse cellulaire à différents environnements pharmaceutiques ou trophiques. Cela est rendu possible par la fabrication d'une plate-forme sur une plaquette de 16 cm de diamètre sur laquelle peut être implémenté un réseau de 24 puits. Un plateau de culture cellulaire (Transwell ou Millicell) peut y être placé et les 3 électrodes de la plate-forme permettent d'enregistrer les variations extracellulaires d'intérêt (fig. 2.2.3-4).

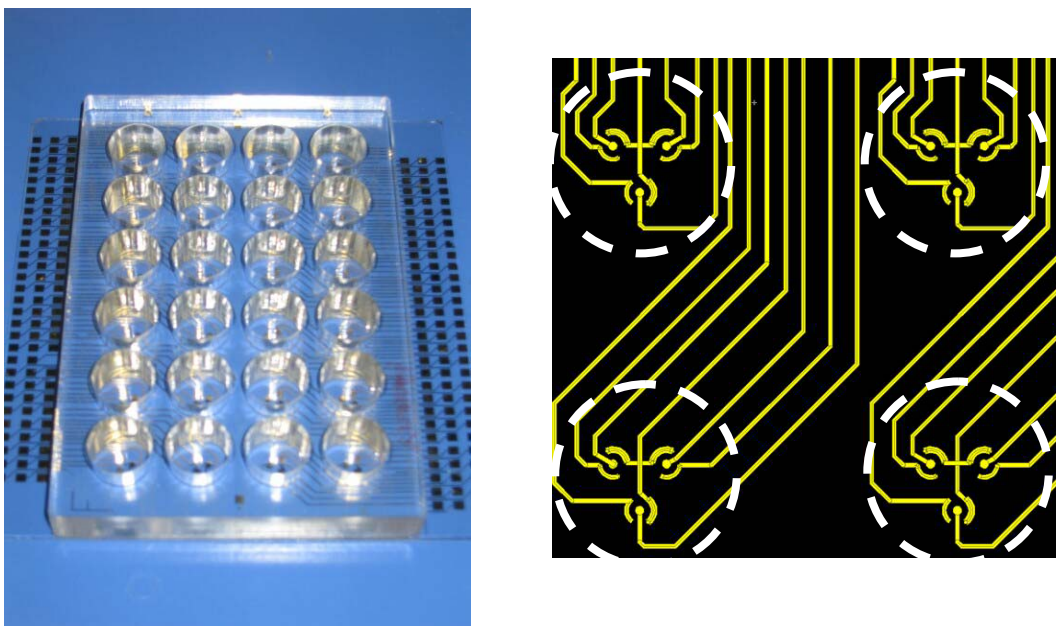


Figure 2.2.3-4 : Photo de la plate-forme sur laquelle vient s'adapter le plateau de la culture cellulaire avec, à droite, le détail de 4 puits avec leurs 3 électrodes.

Pour les deux plates-formes développées, le substrat choisi est donc le verre, transparent pour la détection de fluorescence et les électrodes sont d'or ou de platine. Elles seront déposées par la méthode de lift-off. Cette méthode décrite dans le chapitre 2.2.1.2 est adaptée pour des surfaces coniques mais devient plus problématique lorsqu'il est nécessaire de déposer des couches métalliques sur des surfaces planes.

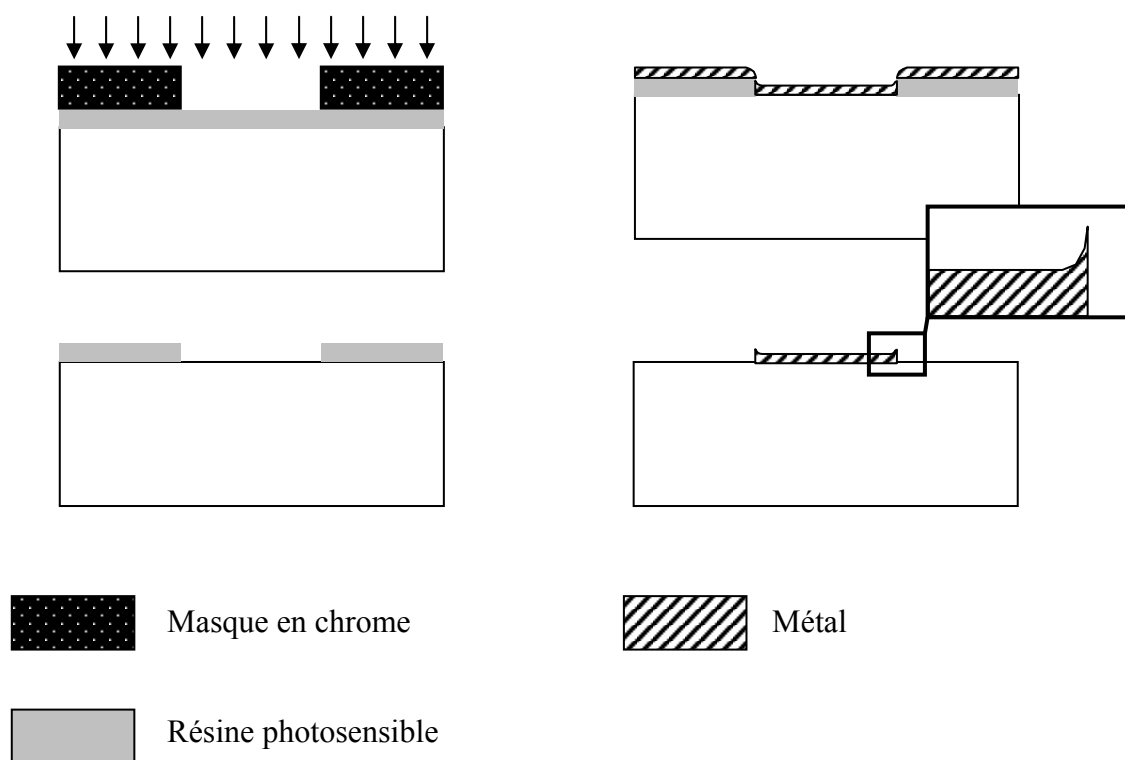


Figure 2.2.3-5 : Etapes pour la structuration du métal par lift-off. La première photolithographie permet de structurer la résine. La déposition de métal suit le profil de la résine ce qui provoque des bords pointus (en insert le zoom du bord de la piste métallique).

En effet, compte tenu du profil de déposition du métal sur la résine photosensible (fig.2.2.3-5), les bords des pistes métalliques sont proéminents par rapport au centre comme en peuvent attester ces mesures AFM ci-dessous.

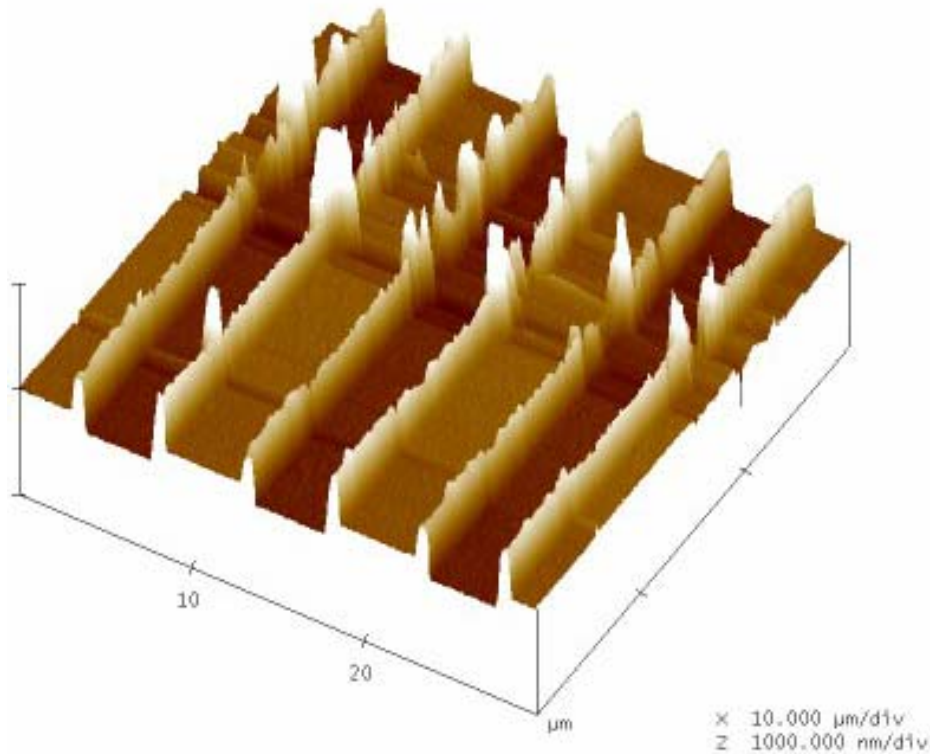


Figure 2.2.3-6 : Image AFM montrant le profil des pistes après un lift-off standard (avec la permission de L. Berdondini).

Il peut en résulter une discontinuité de la passivation qui recouvre les pistes comme cela peut être mis en évidence par SECM (figure 4.3.2-1 dans le chapitre « Résultats »).

Afin de résoudre ce problème de profil de piste a été développée par L. Berdondini, O. Guenat et D. Briand une méthode de lift-off dite « LOR » (résine LOR fournie par MicroChem et résine S1813 fournie par Shipley) permettant de

modifier le profil de déposition du métal en ajoutant une couche de résine photosensible qui sera surdéveloppée (fig.2.2.3-7).

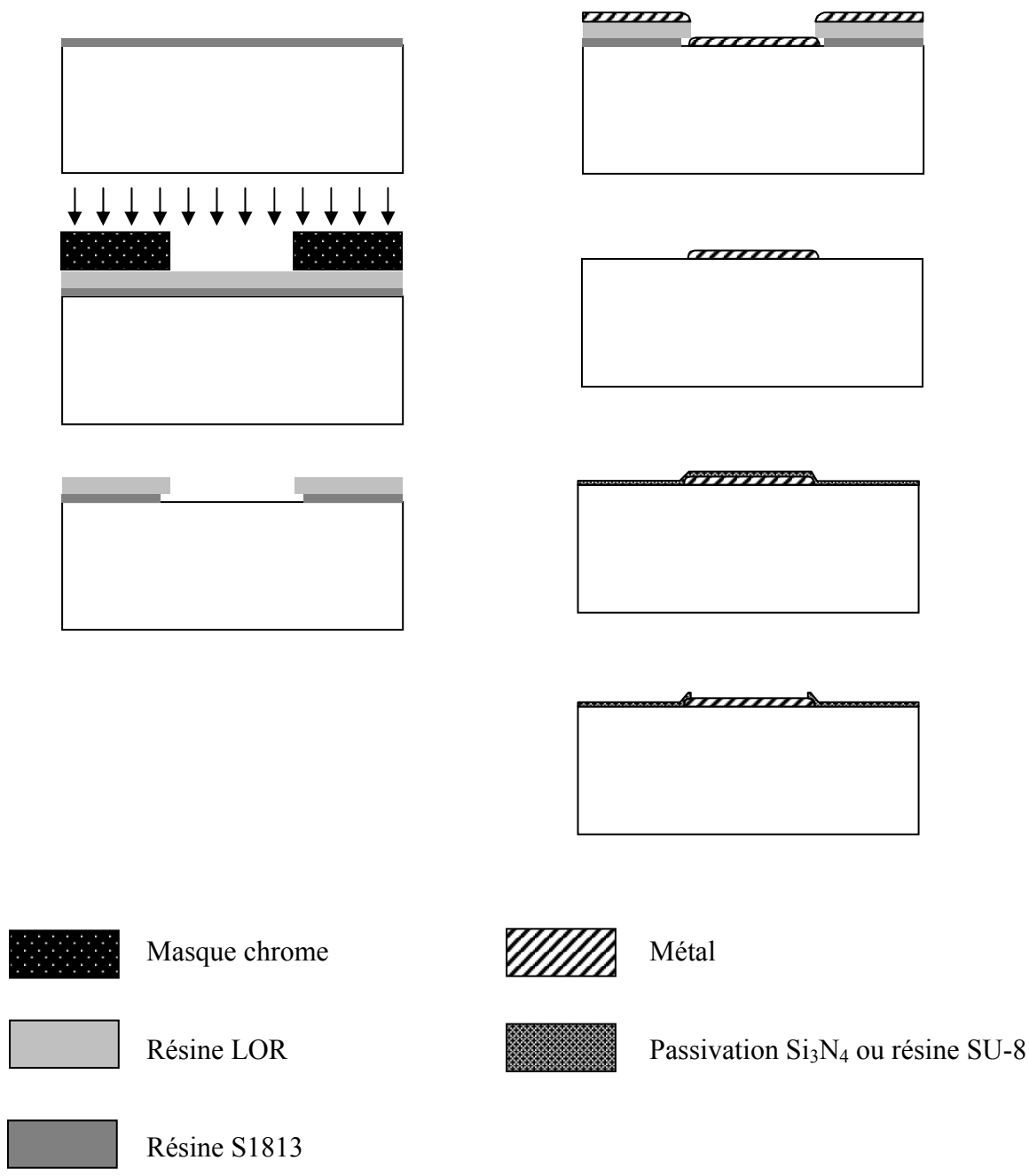


Figure 2.2.3-7 : Etapes pour la structuration du métal par lift-off « LOR » et ouverture des électrodes.

Il est nécessaire ensuite de passiver les électrodes et ceci peut se faire de deux manières différentes :

- Avec du Si_3N_4 PECVD déposé à 350°C (en effet, la déposition de Si_3N_4 LPCVD à 850°C est impossible sur des plaques de verre). L'ouverture des électrodes est standard par une photolithographie et une attaque du nitrure par plasma.
- Avec la résine photosensible SU-8 [30,31], résine négative dont l'épaisseur peut varier de quelques microns à plus de $300\ \mu\text{m}$.

Le dépôt de cette résine est identique aux autres résines précédemment utilisées, par spinning ou étalement de la résine par rotation sur la plaquette. L'épaisseur obtenue sera fonction de sa viscosité mais également de la vitesse et du temps de rotation. Pour obtenir ici une épaisseur de $5\ \mu\text{m}$, une première phase d'étalement se fait à 500 rpm (rotation par minute) pendant 8 secondes et ensuite une phase d'amincissement donne à la résine l'épaisseur désirée. (3000 rpm pendant 40 secondes). Il est nécessaire de procéder à une pré-cuisson de la résine sur une plaque chauffante à 65°C pendant 1 minute puis à 95°C pendant 2 minutes (avec une montée graduelle en 10 minutes). L'énergie d'exposition pour cette résine est de $95\ \text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$. L'exposition est effectuée avec l'aligneuse AL6-2 (Electronic Vision Co, Etats-Unis). Le fait que la résine soit négative implique une illumination des zones où la résine doit rester mais également une seconde cuisson, similaire à la première, de la résine après exposition des surfaces de SU-8 pour que ces zones ne soient pas enlevées par le développeur (PGMEA pour propyleneglycol monomethyl ether acetate). La passivation de ces électrodes sera testée par électrochimie et la bio compatibilité sera à évaluer lors de tests avec les cultures cellulaires par les différents groupes du projet CellSens.

Les connexions et les modifications ultérieures des électrodes sont faites par chaque groupe de recherche. Enfin, les plates-formes sont intégrées dans un système microfluidique créant une circulation de liquide nutritif nécessaire à la survie des cellules. L'implémentation de ce système fluide aux petites plates-formes est rendue possible dans la mesure où il est possible de réaliser des entrées dans le verre grâce au perçage par ultrasons. Les plus petites structures actuellement réalisables ont une taille minimale de 500 μm , compatible avec la circulation de fluides nutritifs à des vitesses de renouvellement relativement importantes.

2.2.3.2 Microstructures pour l'administration de substances pour la plate-forme

Dans ce projet, il s'est avéré nécessaire de pouvoir délivrer des substances pharmaceutiques à la culture cellulaire. De façon externe, ce mode d'administration n'autorise pas l'observation de la culture avec un microscope non inversé ; de façon interne, il permet d'avoir un contrôle visuel complet du système. Il est disponible en microtechnologie un ensemble d'outil permettant de réaliser des trous de diamètre au minimum de 25 μm à travers le support des électrodes. Ceci a été réalisé dans le cadre du travail de diplôme de M. Burri [32] au cours duquel ont été réalisées, sur la base d'un réseau de microélectrodes planaires (5.5 x 7.5 mm), un réservoir et un réseau de 8 trous de 25 μm à travers une membrane de silicium de 100 μm d'épaisseur.

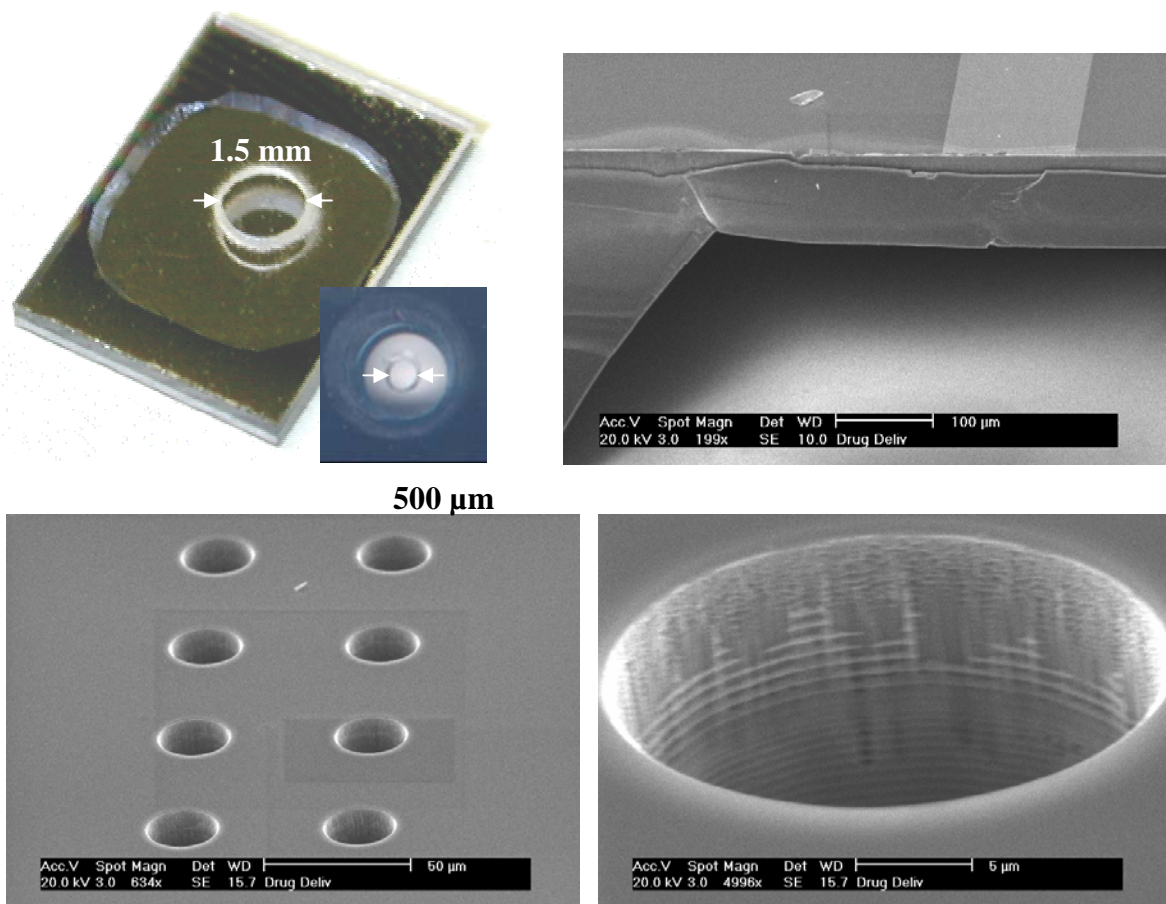


Figure 2.2.3-8 : Ensemble des différentes réalisations pour l'administration de composés sur une plate-forme d'électrodes : le réservoir en silicium avec l'entrée fluidique dans le pyrex (en haut à gauche – en insert un trou de 500 µm dans le verre par perçage ultrasonique), la membrane de silicium de 100 µm et le réservoir formé (en haut à droite), le réseau de 8 trous (en bas à gauche), et le détail d'un trou de 25 µm (en bas à droite) avec la permission de M. Burri.

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une étude de faisabilité afin d'étudier la possibilité de délivrer des substances pharmacologiques en petite quantité et d'étudier leur influence au niveau d'une culture cellulaire ou d'un tissu. Cette technologie a regroupé un ensemble de procédés variés pour la fabrication du

réservoir dans le silicium (déposition de masques d'oxyde et nitrure de silicium et attaque humide par KOH), des électrodes (métallisation et lift-off), des trous (photolithographie à couches épaisses et DRIE), de l'entrée fluidique dans le verre (1.5 mm par jet d'eau, 500 μm par perçage ultrasonique) et pour la fermeture de la chambre (anodic bonding entre Silicium et verre, fusion bonding entre silicium).

La figure ci-dessous représente le microsystème tel qu'il a été réalisé avec une partie en silicium et une partie en verre et tel qu'il serait réalisable avec un actionnement autonome par un disque piézo-électrique avec deux parties en silicium.

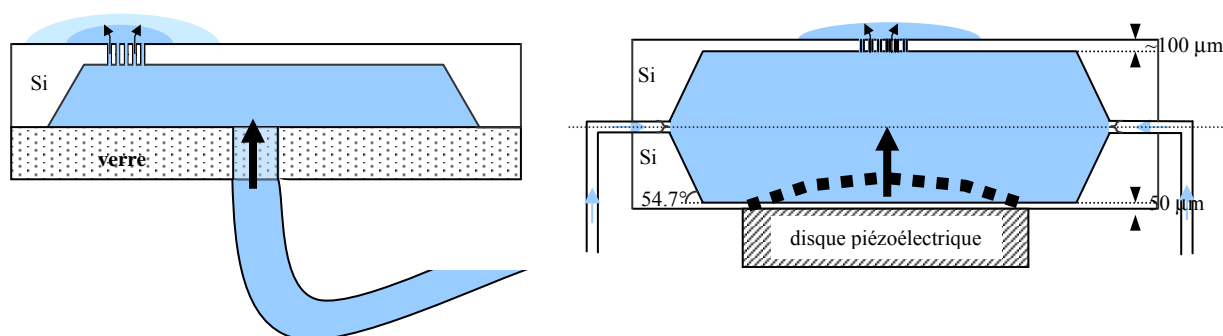


Figure 2.2.3-9 : Schéma des dispositifs d'administration de substances pharmacologiques, réalisé (à gauche) et réalisable (à droite) avec la permission de M. Burri.

Ce système présente l'intérêt de pouvoir délivrer des composés de façon contrôlée en terme de volume, de localisation et de pouvoir étudier leurs influences graduelles au niveau de la culture de cellules en terme de diffusion, de temps d'action et de communication cellulaire ce qui peut amener des informations complémentaires pour le projet CellSens.

- [1] H. L. Offereins, K. Kuhl, H. Sandmaier, *Sensors and Actuators A* 25-27 (1991)
- [2] J.-H. Liu, T. M. Betzner, H. T. Henderson, *J. of Micromechanics and Microengineering* 5 (1995)
- [3] C. Beuret, Ph.D. Dissertation, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (1999)
- [4] P. Thiébaud, Ph.D. Dissertation, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (1999)
- [5] H. Seidel, L. Csepregi, A. Heuberger, H. Baumgärtel, (I) *J. Electrochem. Soc.* 137 (1990)
- [6] M. Shikida, K.-I. Nanbara, T. Koizumi, H. Sasaki, M. Odagaki, K. Sato, M. Ando, S. Furuta, K. Asami, *Transducers '01*, Germany (2001)
- [7] C. Beuret, T. Akiyama, U. Staufer, N.F. de Rooij, P. Niedermann, W. Hänni, *Appl. Phys. Lett* 76 (2000)
- [8] P. Thiébaud, C. Beuret, M. Koudelka-Hep, M. Bove, S. Martinoia, M. Grattarola, H. Jahnsen, R. Rebaudo, M. Balestrino, J. Zimmer, Y. Dupont, *Biosensors & Bioelectronics* 14 (1999)
- [9] H. Seidel, L. Csepregi, A. Heuberger, H. Baumgärtel, (II) *J. Electrochem. Soc.* 137 (1990)
- [10] S. M. Sze, *Semiconductor Devices : Physics and technology*, John Wiley & Sons, USA (1985)
- [11] M. Madou, "Fundamentals of Microfabrication, CRC Press, Boca Raton, USA (1997)
- [12] S. Roth, Ph.D. Dissertation, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (2000)
- [13] P. Thiébaud, C. Beuret, N.F. de Rooij, M. Koudelka-Hep, *Sensors and Actuators B* 70 (2000)

- [14] E. D. Palik, J. W. Faust, H. F. Gray, R. F. Green, *J. Electrochem. Soc.* 129 (1982)
- [15] E. D. Palik, V. M. Bermudez, O. J. Glembocki, *J. Electrochem. Soc.* 132 (1985)
- [16] N. F. Raley, Y. Sugiyama, T. Van Duzer, *J. Electrochem. Soc.* 131 (1984)
- [17] T. B. Massalski, *Binary Alloy Phase Diagrams* vol.2 (1986)
- [18] D. G. Pettifor, *Materials Science and Technology* 4 (1988)
- [19] G. Schürmann, Ph.D. Dissertation, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (2000)
- [20] G. Schürmann, P. F. Indermühle, U. Staufer, N.F. de Rooij, *Surface and Interface Analysis* 27 (1999)
- [21] P. N. Minh, T. Ono, M. Esashi, *Appl. Phys. Lett.* 75 (1999)
- [22] M. E. Sandison, N. Anicet, A. Glidle, J. M. Cooper, *Anal. Chem.* 74 (2002)
- [23] H. Saloniemi, M. Kemell, M. Ritala, M. Leskelä, *Thin Solid Films* 386 (2001)
- [24] J. H. Pei, X.-Y. Li, *J. Electroanal. Chem.* 441 (1998)
- [25] F. Bedioui, S. Trevin, J. Devynck, *Electroanalysis* 8 (1996)
- [26] B. Favre, S. Burette, R. Cespeglio, G. Bideau, *J. Electroanal. Chem.* 426 (1997)
- [27] G. Nanqin, C. Ruxiu, L. Zhixin, S. Lirong, *Analyst.* 128 (2003)
- [28] K. Torimitsu, O. Niwa, *Neuroreport* 8 (1997)
- [29] T. Larsson, A. Lindgren, T. Ruzgas, *Bioelectrochemistry* 53 (2001)
- [30] M. O. Heuschkel, P. Renaud, J. Streit, B. Buisson, D. Bertrand, *Abstracts of International Meeting on Substrate-Integrated Microelectrode Arrays*, Reutlingen, Germany (1998)

- [31] M. O. Heuschkel, L. Guérin, B. Buisson, D. Bertrand, P. Renaud, 11th European Conf. On Solid-State Transducers, Eurosensors XI, Warsaw, Poland (1997)
- [32] M. Burri, Travail de diplôme, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (2002)

3 SECM/ECSTM

3.1 Principe : deux techniques complémentaires

3.1.1 STM et ECSTM

Ce sont deux microscopies dites à sondes locales. Cette particularité signifie que les dimensions de la sonde (la pointe) et sa distance par rapport à l'échantillon sont très petites devant celle de l'objet à imager. C'est la raison pour laquelle il faut balayer (scanning) la sonde pour reconstruire l'image de l'ensemble de l'objet. D'autre part le STM ou le ECSTM (en anglais Electrolytic Scanning Tunneling Microscopy), comme d'ailleurs l'AFM, sont des microscopies à champ proche, qui s'opposent aux microscopies à champ lointain (des microscopies optiques, électronique à balayage ou en transmission) par le fait qu'il y a une interaction directe entre l'échantillon et l'appareil de mesure alors que pour les microscopies à champ lointain, le comportement de la source de particules est complètement indépendant de l'échantillon.

Le principe consiste au maintien d'une pointe à une distance de 10-15 Å au-dessus d'une surface (conductrice ou semi-conductrice) pour permettre le passage d'électrons par effet tunnel [1,2]. La pointe est fixée sur une céramique piézoélectrique, pièce essentielle de la boucle de contre-réaction. Deux autres céramiques sont utilisées pour le balayage latéral de la pointe.

Deux modes de scanning sont utilisables avec ce genre d'appareil : le mode cartographique à courant constant et celui à hauteur constante, tous deux

complémentaires puisqu'ils donnent des informations topographiques et électroniques avec une résolution atomique.

3.1.1.1 Mode cartographie à courant constant

Nous explorons ligne par ligne l'échantillon, en maintenant le courant tunnel à une valeur de consigne au moyen d'une boucle d'asservissement qui ajuste en permanence la distance pointe/surface grâce au tube piezo-électrique.

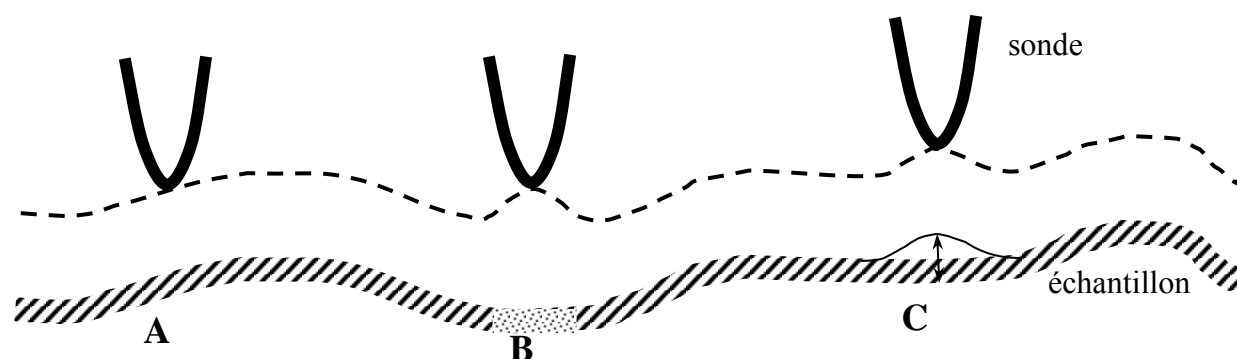


Figure 3.1.1-1 : Principe du STM en mode cartographie à courant constant pour 3 domaines différents – A- le relief suit le contour de la surface. B-domaine présentant une composition structurale ou chimique différente de la précédente (ex : impureté). C- une interaction entre la pointe et la surface peut en modifier temporairement la structure. (ex : adatome)

On obtient ainsi une image de la zone explorée. Même s'il est commode de considérer en première approche que l'on "voit" la topographie de l'échantillon, il faut savoir que l'image obtenue, en général, ne traduit pas uniquement le relief rencontré par la pointe (fig. 3.1.1-1). La théorie montre qu'elle représente en fait les surfaces d'iso densité électronique au niveau de Fermi. Il y a donc le plus souvent, dans une image tunnel, un mélange complexe d'informations topographiques et électroniques [3].

La boucle de contre-réaction sert à réguler le courant tunnel i_t . Un modèle physique simple montre que le courant tunnel peut effectivement s'exprimer dans certaines conditions sous la forme

$$I_{tun} = I_o \exp(-a Dz F_{moy}^{1/2}) \quad \text{Equation 1}$$

Il s'avère donc que maintenir le courant constant revient à maintenir constante la distance Dz , entre la pointe et la surface. Le balayage de la pointe et l'enregistrement des tensions des tubes piézoélectriques x, y et z revient à reconstruire la topographie de la surface si celle-ci est homogène chimiquement. La résolution verticale du STM provient du principe physique mis en jeu : avec des valeurs typiques de la hauteur de barrière tunnel ($F_{moy} \sim 4 \text{ eV}$), nous pouvons calculer que le courant i_t varie d'un facteur 10 si la distance d varie de seulement 1 \AA . La résolution verticale est meilleure que 0.1 \AA , ce qui permet de visualiser par exemple la reconstruction d'une surface d'or (111) avec ses plateaux monoatomiques. Latéralement c'est le rayon de courbure de la pointe qui va limiter la résolution

Ce mode permet d'imager des échantillons avec des surfaces relativement rugueuses mais il est très vite limité pour les hautes vitesses de balayage latéral : en effet, le temps de réaction dynamique ou l'inertie mécanique de la sonde affectent la résolution dans la direction z.

3.1.1.2 Mode cartographie à hauteur constante

On se place cette fois en un point de l'échantillon et lors du balayage de la surface de l'échantillon, sont mesurés les variations du courant en fonction des principaux paramètres comme la tension appliquée ou la distance, ce qui donne accès à des informations électroniques locales (fig.3.1.1-2).

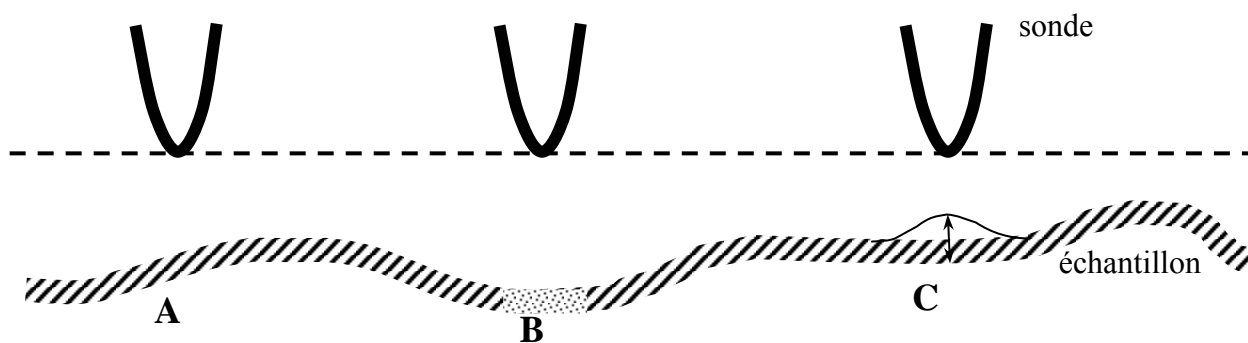


Figure 3.1.1-2 : Principe du STM en mode cartographie à hauteur constante

Ainsi, en faisant varier la polarisation, on peut sonder les niveaux énergétiques compris entre les énergies de Fermi E_F de l'échantillon et de la pointe $\pm eV$; en faisant varier la distance, on peut étudier l'influence du milieu interfacial présent entre la pointe et la surface. Dans l'équation 1 ci-dessus, où a est une constante voisine de 1, Dz désigne la distance pointe-surface et F_{moy} représente la hauteur moyenne de la barrière de potentiel, quantité dépendant de nombreux paramètres tels que les travaux de sortie de la pointe et de l'échantillon, la polarisation appliquée, la largeur de bande interdite et la permittivité du milieu interfacial. La détermination de F_{moy} semble donc un moyen pertinent pour caractériser, par exemple, l'adjonction d'une couche protectrice ultra-mince sur un revêtement métallique, sous réserve de toujours mettre en œuvre le même type de pointe, voire la même pointe.

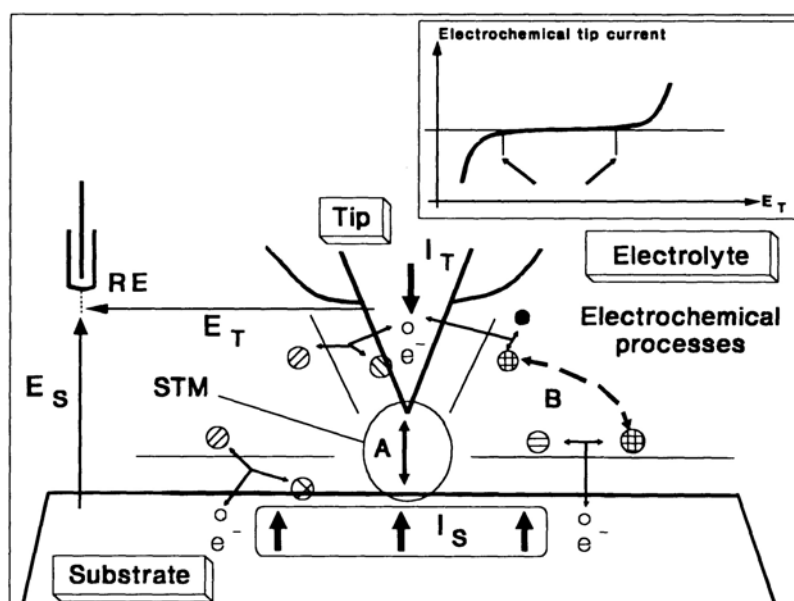
Contrairement à la cartographie en courant constant, ce mode permet des mesures à haute vitesse puisque les temps de réponse du tube piézoélectrique z n'intervient pas, mais dans ce cas, ne permet d'imager que des échantillons très plats.

Il est à noter que les images obtenues sont rarement réalisées uniquement dans l'un ou l'autre des modes et sont constituées d'un équilibre entre les deux en fonction des conditions de mesures grâce au gain : son contrôle par l'opérateur permettra de réaliser des images en résolution atomique vraisemblablement pas réalisables en modes à courant constant ou à hauteur constante purs.

3.1.1.3 En milieu électrolytique

L'étude des surfaces et des processus est devenue très importante depuis que nous connaissons l'influence non négligeable des inhomogénéités structurales et chimiques au niveau de l'interface électrode-électrolyte, des membranes biologiques ou de toute autre interface électrochimique [3].

En milieu électrolytique, le problème majeur est de réduire le courant électrochimique au bout de la pointe, devant être nettement plus petit que le courant tunnel de consigne (typiquement 10 nA, voire 40 nA pour avoir des résolutions atomiques). Pour ce faire, l'ensemble de la pointe, excepté son extrémité est recouverte d'une cire isolante, laissant libre à son apex une surface inférieure à $5 \mu\text{m}^2$, et idéalement inférieure à $1 \mu\text{m}^2$.



(a)

Figure 3.1.1-3 : Principe de fonctionnement du STM en solution selon H. Siegenthaler [3], S = électrode substrat, T = pointe tunnel, RE = électrode référence, CE = contre-électrode ; E_s , E_T = différence de potentiel du substrat et de la pointe par rapport à l'électrode de référence ; I_s , I_T = courant au substrat et à la pointe. Présentation schématique de la configuration du STM électrolytique caractérisé par la superposition (A) du courant tunnel direct entre le substrat et la pointe et (B) les processus électrochimiques. Le chemin B illustre la possibilité de lien entre les processus électrochimiques entre la pointe et le substrat via le transport électrolytique des réactants. Insert : dépendance du courant électrochimique au potentiel E_T pour la combinaison pointe/électrolyte avec une échelle de polarisation idéale (flèche).

Excepté le courant tunnel direct, le substrat et l'échantillon sont susceptibles de participer aux réactions de transfert de charge électrochimique impliquant les composés électrolytiques. A moins que ces procédés soient correctement contrôlés, ils peuvent causer des changements dans la morphologie et la

composition chimique des surfaces de la pointe et de l'échantillon par adsorption ou dissolution des composés de réaction. De plus, la superposition du courant électrochimique peut détériorer le contrôle du système STM par le bruit impliqué, entraînant une perte de résolution, une reproductibilité insuffisante et une dérive du signal augmentée. Il faut dans ce cas réduire ou éliminer les réactions électrochimiques à la pointe tout en gardant les processus électrochimiques du substrat sous contrôle externe. Ces deux processus distincts peuvent être contrôlés séparément par le concept de bi-potentiostat pour le STM : les E_T et E_S sont ajustés indépendamment et le courant traversant l'électrode de référence est gardé nul par définition. Comme le bi-potentiostat permet de polariser l'échantillon indépendamment de la pointe, il est alors possible d'imager tout type de processus électrochimique en surface tout en maintenant la pointe dans une plage de potentiel où elle est inerte.

3.1.2 SECM

3.1.2.1 Principe de base

Comme tous les autres types de microscopies, le SECM est basée sur le mouvement d'une microélectrode à proximité de la surface de l'échantillon. Cette ultra micro-électrode UME (dont le rayon du disque a est inférieur à 10-20 μm) [4,5,6,7] est immergée avec une contre-électrode et une référence dans une solution contenant un électrolyte et un médiateur électro-actif. Par exemple, la réaction



peut se produire si nous appliquons à l'UME un potentiel suffisamment négatif par rapport au potentiel de réduction de l'espèce O, ce qui génère un courant cathodique. Le courant de diffusion stationnaire $i_{T,\infty}$ est donnée par la formule :

$$i_{T,\infty} = 4nFDc a \quad \text{Equation 2}$$

dépendant de la concentration de O, c , de son coefficient de diffusion D et du nombre n d'électrons échangés au cours de la réaction (F étant la constante de Faraday). Le courant de diffusion stationnaire [8] résulte du flux de l'espèce O à la pointe se diffusant dans le milieu sous une forme essentiellement hémisphérique (fig. 3.1.2-1 A) [9] et avec une vitesse proportionnelle à a^2/D . Etant donné que ce flux de diffusion stationnaire, de l'ordre de Dc/a , peut être très grand pour des petites électrodes et augmente encore quand leurs rayons diminuent, les mesures avec les UME et par extension à une pointe SECM restent relativement épargnées par la convection [10,11].

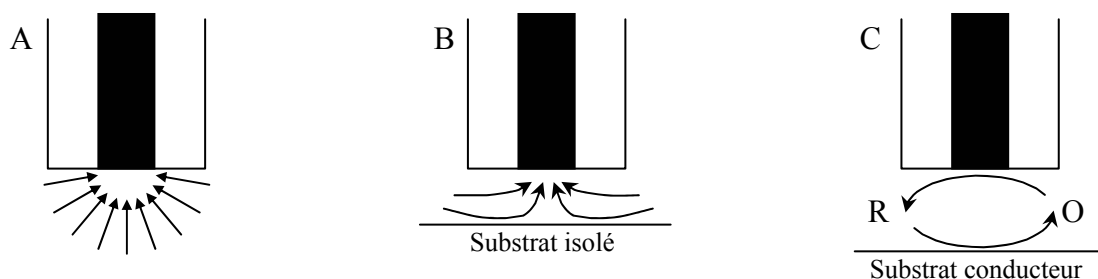


Figure 3.1.2-1 : Principe du SECM : (A) éloigné du substrat, le courant de diffusion (hémisphérique) devient stationnaire $i_{T,\infty}$; (B) proche d'un substrat non conducteur, la diffusion est gênée, $i_T < i_{T,\infty}$; (C) proche d'un substrat conducteur, $i_T > i_{T,\infty}$.

Considérons tout d'abord que l'électrode est positionnée à faible distance de la surface d'un échantillon non-conducteur (fig. 3.1.2-1 B) [12,13]. Le courant

stationnaire prenant naissance au niveau de la pointe, i_T , est maintenant bien plus faible que $i_{T,\infty}$ car le substrat non-conducteur bloque partiellement la diffusion de l'espèce O au niveau de la pointe. Donc plus la pointe est proche d'un substrat non-conducteur, plus petit sera i_T jusqu'à tendre à s'annuler : ce mode peut être appelé « feedback négatif » (fig.3.1.2-2).

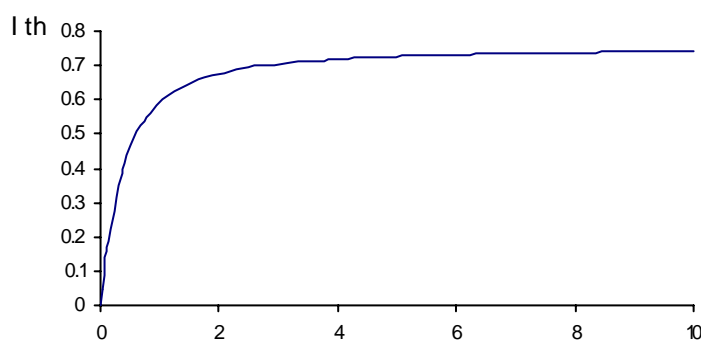


Figure 3.1.2-2 : Courbe d'approche L théorique (I_{th} normalisé) d'un microdisque en mode de feedback négatif au-dessus d'un substrat non-conducteur.

Par contre, si la pointe balaye une surface conductrice capable d'oxyder l'espèce R, l'espèce O peut rediffuser vers la pointe (fig3.1.2-1 C) pour finalement rendre i_T très supérieur à $i_{T,\infty}$. En mode « feedback positif », i_T augmente quand la distance entre l'électrode et l'échantillon d diminue, l'électrode étant à la fois le générateur de l'espèce R détecteur du substrat, et le détecteur de sa transformation en espèce oxydée O, comme un radar électrochimique.

Ainsi, le rapport entre i_T et $i_{T,\infty}$ est gouverné par la nature du substrat et la distance entre la pointe et l'échantillon (fig.3.1.2-3).

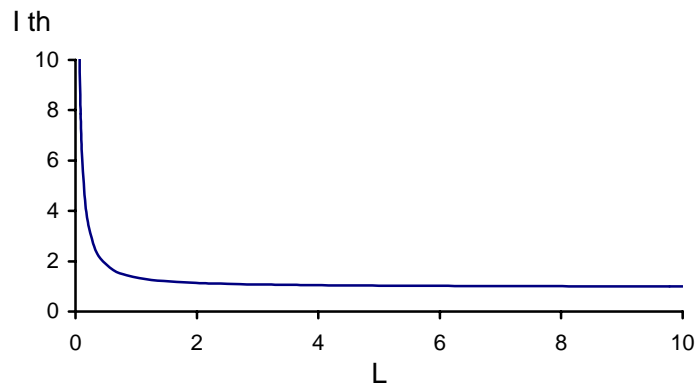


Figure 3.1.2-3 : Courbe d'approche théorique (I_{th} normalisé) d'un micro disque en mode de feedback positif au-dessus d'un substrat conducteur.

Ces expériences en mode feedback peuvent être complétées par des expériences en mode génération-collection [14,15], dans lequel la pointe collecte les espèces générées à la surface de l'échantillon. Idéalement, la pointe agit comme un détecteur passif avec la possibilité de produire la carte de concentration d'une espèce chimique particulière à proximité de la surface. En mode ampérométrie, l'espèce électro-active générée au niveau du substrat est collectée au niveau de l'électrode. Cette méthode est largement utilisée pour imager des cartes de concentration chimique à haute résolution de surface de métal en corrosion, de matériaux biologiques et de matériaux polymériques. De plus, il est possible de réaliser des mesures quantitatives spatiales de flux d'ions à travers des matériaux poreux comme la peau de souris ou les matériaux dentaires [16]. En mode potentiométrie, une électrode ISE (en anglais Ion-Selective Electrode) permet également de détecter de façon sélective des espèces

ioniques non électro-actives comme les ions hydrogènes, calcium, ammonium, etc. ... [17]

3.1.2.2 Applications

Le SECM peut être utilisé de manière différente comme outil électrochimique pour mettre en évidence les processus chimiques d'une réaction homogène, comme outil de microscopie standard et enfin comme outil de fabrication à haute résolution.

3.1.2.2.1 Le SECM comme outil électrochimique

Grâce aux caractéristiques de taille de l'UME utilisée en SECM, il est possible d'identifier des réactions de transfert d'électrons dans la mesure où les caractéristiques de flux dans l'espace électrode-substrat d sont de l'ordre de Dc/d et donc indépendant du rayon de la pointe quand d est inférieur à a [9]. Il est utile de considérer l'espace étudié dans l'environnement de la pointe (de rayon $a=d/2$) : en effet, celle-ci placée au-dessus d'un substrat conducteur permet d'amplifier une activité électrochimique infinitésimale grâce à la répétition des cycles électrochimiques en feedback positif [18], dans l'espace qui peut être calculé et qui a été retranscrit dans le tableau suivant.

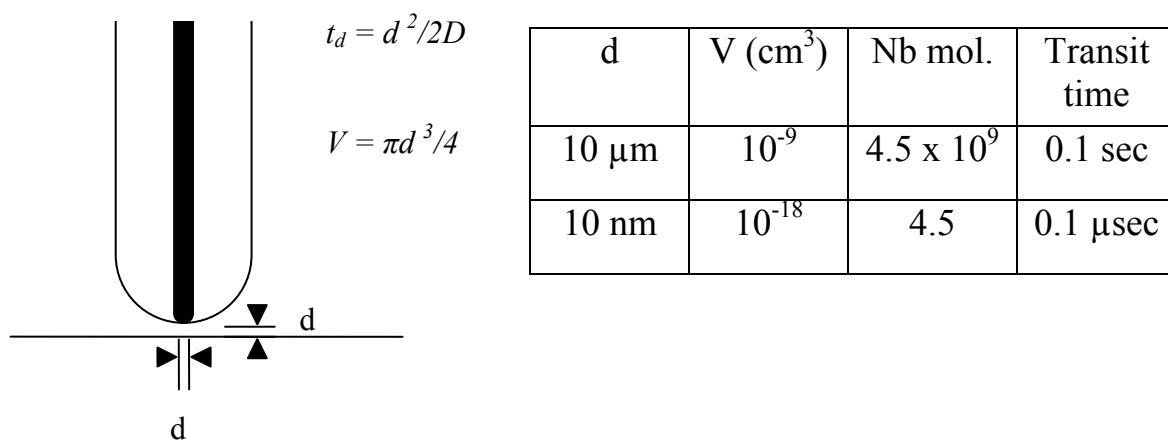


Table 3.1.2-1 : volume estimé, nombre de molécules (Nb mol.) et temps de transit (t_d) entre la pointe et le substrat dans une solution de 0.01 M pour différentes valeurs de d

3.1.2.2.2 Le SECM comme outil d'imagerie

Une image tridimensionnelle SECM d'échantillon non-conducteur ou conducteur peut être obtenue grâce au balayage x-y de la pointe en enregistrant le courant de pointe i_T , en fonction de la localisation de la pointe. Dans cette application, les médiateur et l'électrolyte doivent être compatibles avec le type de surface et les processus de surface à détecter. En effet, si une espèce en surface S_R doit être oxydée, le potentiel redox du couple médiateur O/R doit être plus positif que celui du couple S_O/S_R . Ainsi, la réaction $S_R + O \rightarrow S_O + R$ se produit spontanément et rapidement. Généralement, nous choisissons des couples de médiateurs présentant des réactions rapides et impliquant un seul électron. De nombreux exemples de couple redox sont disponibles en milieu aqueux ou non-aqueux et couvrent une large gamme de potentiels [9]. Parmi

ceux-ci, nous rencontrons très fréquemment dans la littérature l'utilisation du ruthénium hexaamine ou du ferrocyanure de potassium.

La résolution de cette technique est largement dépendante du rayon de la pointe a . En effet, il est rapporté par Bard [9] que la plus haute résolution obtenue était de 30-50 nm ce qui est largement inférieur aux résolutions obtenues avec les AFM et STM. Ceci est un argument supplémentaire pour notre étude de combinaison des ECSTM et SECM. Nous décrirons plus tard comment ces deux microscopies pourraient être combinées.

3.1.2.2.3 Le SECM comme outil de fabrication

Le SECM permet de structurer des surfaces avec une grande résolution. En effet, dans une solution contenant des ions métalliques, une pointe peut suivre un pattern pré-établi et les structures de métaux peuvent ainsi être électro-déposées. Des substrats comme les métaux ou les semi-conducteurs peuvent également être attaqués par la génération d'oxydant ad-hoc (tel que Br_2) ou en micro-machining électrochimique dans la configuration substrat comme anode et la pointe comme cathode. Cet outil permet d'obtenir des résolutions d'ordre de grandeur du diamètre des électrodes.

3.1.2.3 Instrumentation

Le SECM consiste simplement en la combinaison des composants de l'électrochimie conventionnelle (cellule et potentiostat) et de ceux utilisés pour le STM pour la manipulation à haute résolution de la pointe et l'acquisition des données. Le SECM de notre laboratoire a été construit sur le modèle du groupe de W. Schuhmann de l'Université de Bochum (Allemagne) [19]. Doté d'une fonctionnalité simple, il permet à la fois de piloter avec une résolution de 1 μm

les axes x et y et avec une résolution de quelques nanomètres l'axe z, et d'acquérir le courant de la pointe i_T sans boucle de rétrocontrôle. Le schéma suivant montre le dispositif qui a été utilisé, constitué de 4 composants majeurs : le contrôleur de positionnement, la cellule électrochimique, interface programmation - potentiostat et l'acquisition des données.

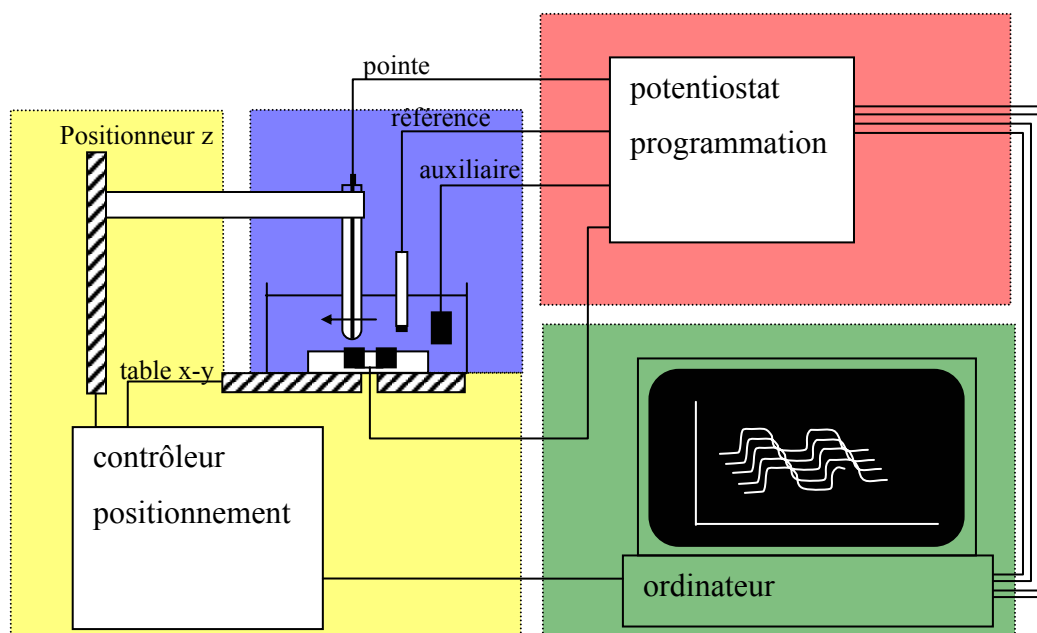


Figure 3.1.2-4 : Schéma du dispositif de SECM

Le positionnement de la pointe consiste en la combinaison de 3 moteurs à pas (Owis, Allemagne) reliés à une carte moteur (Measurement Computing, MA, Etats-Unis) : la commutation entre les différents moteurs se fait grâce à une carte relais (Measurement Computing, MA, Etats-Unis). Le contrôle des potentiels de la cellule électrochimique est réalisé par un potentiostat NPI (VA-10, NPI electronic GmbH, Allemagne). Positionnement et expériences électrochimiques sont pilotés par la version CellSense ©Wolfgang Schuhmann.

Au-delà des expériences d'électrochimie standard, il est possible avec cette version de logiciel de réaliser une courbe d'approche afin de déterminer à quelle distance de l'échantillon peut commencer un balayage. Le mode standard de balayage enregistre les variations du courant i_T et les corrèle à la position de la pointe. Afin d'étudier les profils de diffusion d'une structure, il est possible de balayer dans le plan de sa surface en incrémentant ou décrémentant la position z entre chaque balayage.

Pour l'ensemble des expériences réalisées, le médiateur utilisé est le ruthénium hexaamine 5 mM dans une solution électrolytique de KCL 0.1 M.

La reconstruction des images a été réalisée à l'aide du tableur Excel pour les balayages d'une seule ligne, et grâce au programme SPIP (Scanning Probe Image Processor, Image Metrology).

Autres améliorations de l'outil SECM

Compte tenu de la version basique que nous avons au laboratoire, nous effectuons des mesures électrochimiques en mode cartographie à hauteur constante : la résolution des images électrochimiques est largement dépendante de la taille de l'électrode mais aussi du risque pris pour la courbe d'approche. En effet, comme pour le STM, les échantillons ne doivent pas présenter d'aspérités supérieures à la distance originale entre la pointe et l'échantillon. Un autre problème surgit lors du balayage lorsque l'échantillon n'est pas complètement plan et présente une inclinaison ou lorsque les structures tridimensionnelles ont une hauteur supérieure à la taille de l'électrode. Pour cela, une méthode peut consister en une triangulation afin de déterminer l'inclinaison du substrat et une correction du plan de balayage en cours de mesure [20]. La situation idéale serait d'effectuer les mesures SECM en mode cartographie, en courant constant

pour que l'image électrochimique de la surface soit donnée par les déplacements du positionneur z (habituellement tube piezo afin d'être suffisamment résolutif) tel qu'il est décrit dans le cas du STM précédemment. Ce développement a été effectué à l'université de Bochum [20,21] : le contrôle de la shear-force (ou force de cisaillement) est effectué mécaniquement grâce à deux plaques piezo-électriques qui actionnent et détectent l'amortissement de la vibration dû aux forces d'attraction entre la pointe et la surface de l'échantillon.

3.1.3 Combinaison ECSTM-SECM

Dans la mesure où nous souhaitons combiner les ECSTM et SECM pour effectuer des mesures simultanées d'un échantillon, et si un médiateur peut convenir pour l'utilisation des deux modes, il serait intéressant de pouvoir tirer profit du mode cartographie afin de contrôler la hauteur de la pointe en mode SECM. En effet, il est possible de moduler la position de la pointe par un mouvement sinusoïdal de faible amplitude ($\delta/2$) et normal à la surface du substrat. Il est possible d'imaginer qu'un retrait de 10 nm pour la mesure électrochimique permet de s'affranchir de tout phénomène tunnel qui viendrait les perturber puisque celui-ci est prépondérant par rapport au courant électrochimique seulement dans un espace de 10 à 20 Å entre l'électrode et l'échantillon. L'équipe de Wittstock [22] montre que ce retrait permet d'obtenir de bonnes images SECM.

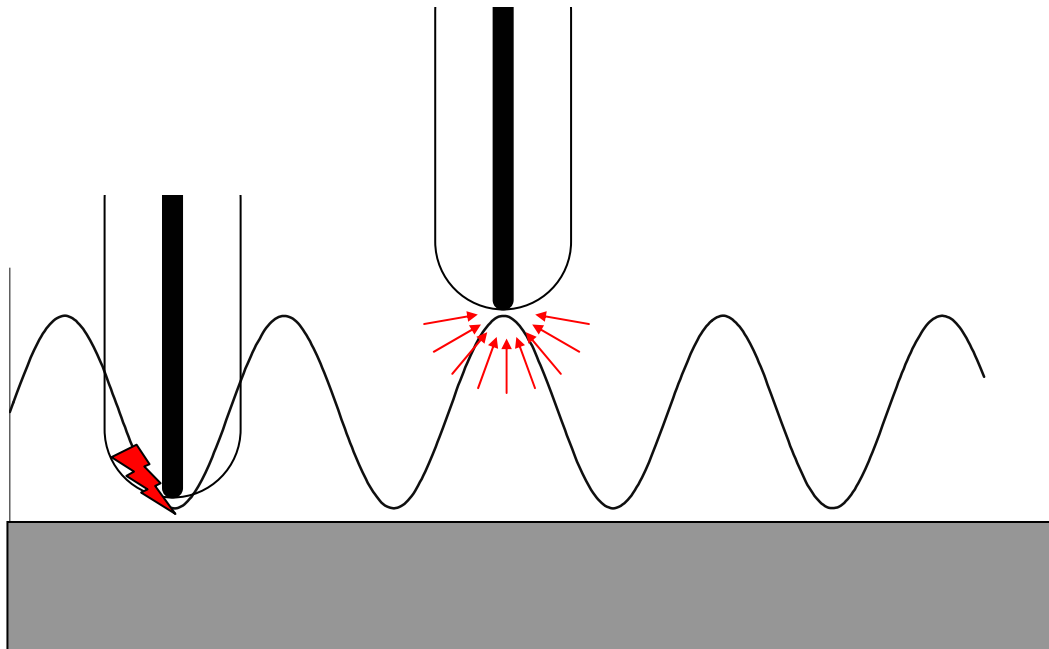


Figure 3.1.3-1 : Diagramme du déplacement vertical de l'électrode.

La séquence des opérations pourrait être la suivante une fois la courbe d'approche ECSTM réalisée :

1. Mesure ECSTM en mode tunnel
2. Retrait (δ = quelques nanomètres) de l'électrode
3. Polarisation SECM
4. Déplacement latéral et descente simultanée (de δ) de l'électrode jusqu'à la consigne ECSTM : cela nécessite une boucle de contre-réaction comme celle-ci est présente dans l'appareillage STM et ainsi de suite.

Cette séquence nécessite le réglage de la modulation verticale sinusoïdale de l'électrode avec les mesures ECSTM/SECM et les déplacements latéraux pour le balayage.

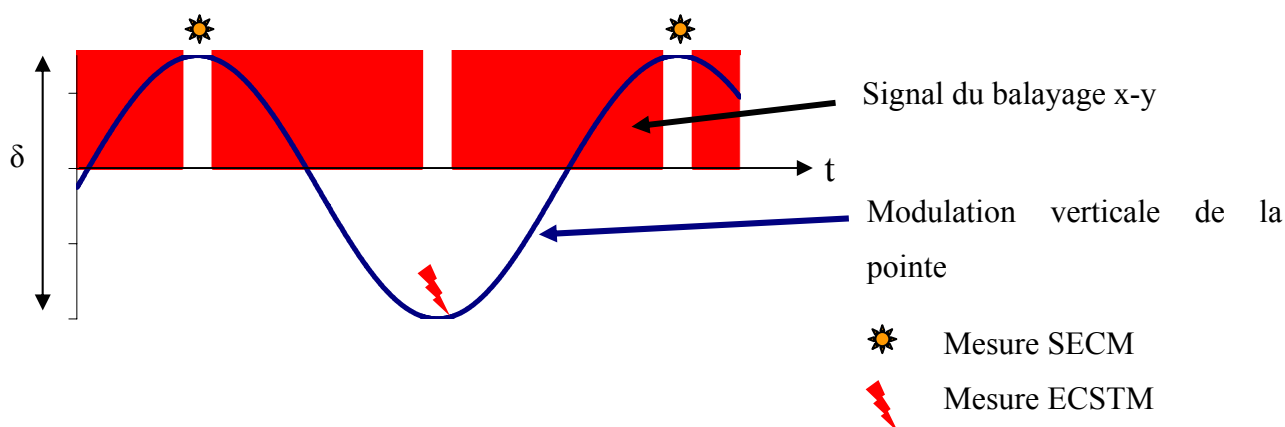


Figure 3.1.3-2 : Coïncidence des événements de modulation verticale de la pointe, du balayage et des mesures ECSTM/SECM

Le médiateur pour les expériences de SECM étant présent, il est nécessaire de choisir des potentiels E_T et E_S dans une fenêtre dépourvue de tout courant électrochimiques qui viendrait perturber les mesures pendant le mode tunnel.

L'avantage de ce type d'acquisition est la cartographie en mode tunnel avec une distance constante à l'échantillon et en simultanée la mesure chimique de l'échantillon (fig.3.1.3-3). En outre, la résolution topographique ne sera pas limitée par le temps de réaction dynamique ou l'inertie de la sonde puisque nous travaillerons avec des fréquences compatibles aux mesures SECM aux alentours de 25 Hz ou inférieures.

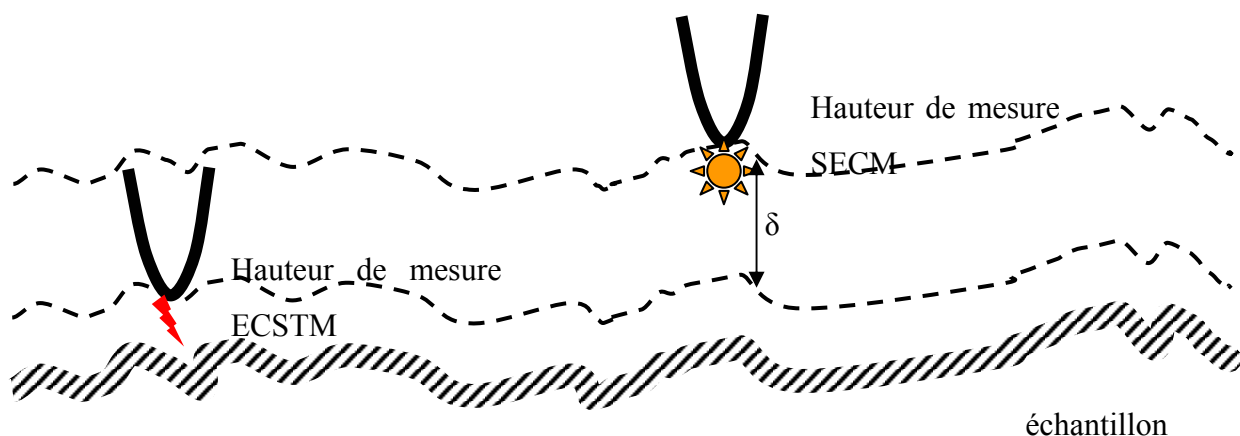


Figure 3.1.3-3 : Schéma des balayages simultanés SECM et ECSTM au-dessus de l'échantillon

Enfin, une méthode alternative de combinaison des deux mesures serait un premier balayage de l'échantillon en ECSTM et une adaptation de la hauteur de la pointe en fonction de la topographie de l'échantillon lors du second balayage en mode SECM comme cela est présenté par Treutler et Wittstock [22]. Dans ce cas-là, il est nécessaire de garantir un remplacement précis pour que la carte topographique tunnel et la carte chimique de l'échantillon coïncident.

3.2 SECM/ECSTM et microtechnologie

Les principes de microscopies et de microfabrication étant connus, il paraît évident que les électrodes en forme de pointe peuvent être utilisées telles quelles sous réserve de quelques paramètres rappelés ci dessous.

Un contact ohmique doit être dans une gamme de conduction compatible avec des valeurs de courant électrochimique et de courant tunnel (pico ou nano ampère).

La hauteur de pointe métallique libre de l'électrode ne doit pas excéder 5 μm afin de diminuer les courants capacitifs pour les mesures en courant tunnel et doit même être inférieure afin d'obtenir une bonne résolution électrochimique.

Le montage de la pointe doit être possible dans le guide de maintien du ECSTM.

Ces différents points clés sont actuellement compatibles avec l'intégration de l'électrode dans le set-up. En effet, le collage de l'électrode se fait encore de façon artisanale sous le microscope binoculaire. La fabrication d'un guide pour l'implémentation en parallèle de l'ensemble des filaments est envisageable pour la préparation simultanée de quelques centaines de pointes (fig.3.2.1-1). La plaquette est collée sur le « BlueTape » avec de la résine photosensible pour protéger les pointes pour sciage des électrodes (dimension : 200 μm x 200 μm) Le positionnement d'un guide troué permettra de recevoir les filaments pour le collage final sur les électrodes. Les électrodes sont utilisables après isolation manuelle des flancs de l'électrode.

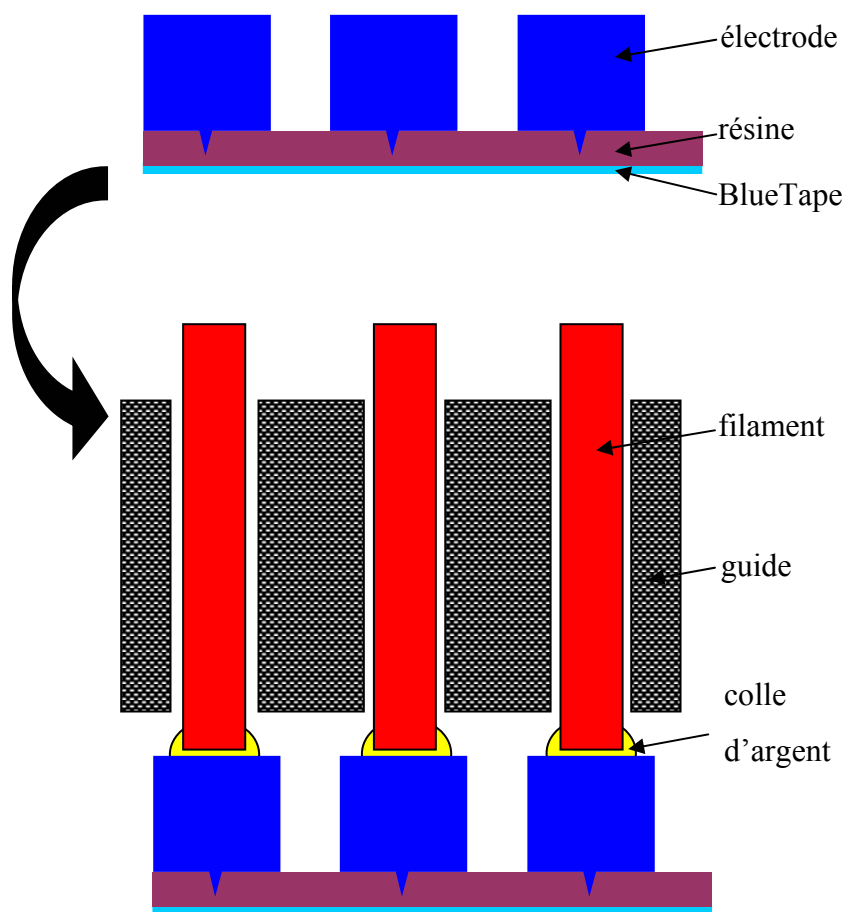


Figure 3.2.1-1 : Schéma de montage des électrodes SECM/ECSTM

Nous avons démontré que cette microfabrication d'électrodes pour la mesure combinée SECM et ECSTM est compatible avec les méthodes standards de la microtechnologie. Le développement s'est focalisé sur des paramètres importants pour les mesures et non pas sur l'édification d'une plate-forme complexe. Nous allons vous présenter dans le prochain chapitre la caractérisation électrochimique de ces pointes obtenues avec quelques tentatives

en configuration SECM d'une part et ECSTM d'autre part. La combinaison des deux microscopies sera l'objet d'une investigation ultérieure.

- [1] C. H. Shi, X. W. Cai, Y. A. Chen, Y. X. Chen, Z. Q. Tian, B. W. Mao, *Appl. Surf. Sci.* 158 (2000)
- [2] O. Marti, M. Amrein, *STM and SFM in Biology*, Academic Press (1993)
- [3] R. Wiesendanger, H.-J. Güntherodt, *Scanning Tunneling Microscopy II*, Second Edition, Springer (1995)
- [4] Y. Shao, M. V. Mirkin, G. Fish, S. Kokotov, D. Palanker, A. Lewis, *Anal. Chem.* 69 (1997)
- [5] J. L. Conyers, Jr & H. S. White, *Anal. Chem.* 72 (2000)
- [6] C. J. Slevin, N. J. Gray, J. V. Macpherson, M. A. Webb, P. R. Unwin, *Electrochem. Comm.* 1 (1999)
- [7] R. M. Penner, M. J. Heben, N. S. Lewis, *Anal. Chem.* 61 (1989)
- [8] M. V. Mirkin, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 64 (1992)
- [9] A. J. Bard, M. V. Mirkin, *Scanning Electrochemical Microscopy*, Marcel Dekker, New York, NY (2001)
- [10] W. E. Morf, *Anal. Chim. Acta* 330 (1996)
- [11] W. E. Morf, N. F. de Rooij, *Sens. Actuators B* 44 (1997)
- [12] C. G. Zoski, J. C. Aguilar, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 75 (2003)
- [13] J. Kwak, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 61 (1989)
- [14] J. Mauzeroll, E. A. Hueske, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 75 (2003)
- [15] J. L. Fernandez, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 75 (2003)
- [16] M. Gonsalves, A. L. Barker, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, D. O'Hare, C. P. Winlove, *Biophys. J.* 78 (2000)

- [17] B. R. Horrocks, M. V. Mirkin, D. T. Pierce, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 65 (1993)
- [18] P. R. Unwin, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 64 (1992)
- [19] B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* 9 (2003)
- [20] O. Sklyar, G. Wittstock, *J. Phys. Chem B* 106 (2002)
- [21] A. Hengstenberg, C. Kranz, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* 6 (2000)
- [22] T. H. Treutler, G. Wittstock, *Electrochimica Acta* 48 (2003)

4 Caractérisations et mesures

Le but est d'utiliser les électrodes fabriquées telles quelles en cellule électrochimique ce qui veut dire qu'il est nécessaire de garantir une homogénéité de fabrication, en termes de surface d'électrode, d'intégrité de couche isolante, d'acuité de pointe et de conductivité. L'ensemble des contrôles s'est fait de manière optique et électrochimique avant leur utilisation pour les mesures SECM et ECSTM. Ensuite, les électrodes adéquates ont été testées *in-situ* dans les deux systèmes.

4.1 Observation des électrodes

L'outil SEM (ESEM XL 30 et SEM XL 40) a été largement utilisé pour l'observation des pointes. Nous avons tout d'abord vérifié leurs intégrités et leurs acuités. Ceci nous a permis de confronter les théories d'attaque anisotrope du silicium en fonction de son dopage ([1,2]. Ainsi, le silicium peu dopé donnera des pointes octogonales, dopé avec une valeur de résistivité de 15 m Ω .cm donnera des pointes avec des plans d'attaque mal définis, enfin très dopé à 1 Ω .cm, la pointe sera pyramidale (fig.4.1.1-1).

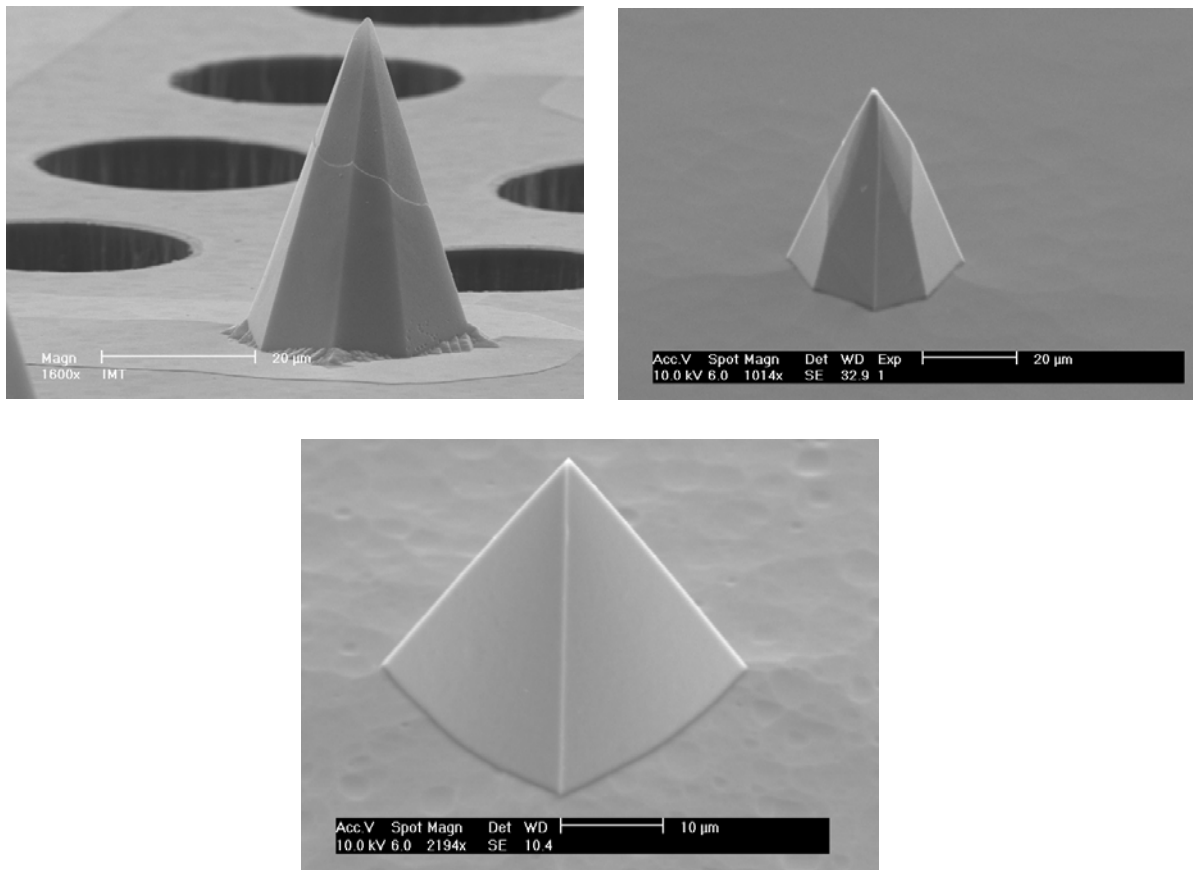


Figure 4.1.1-1 : Images SEM du changement de géométrie après attaque anisotropique des pointes de silicium par le KOH en fonction de son dopage (en haut à gauche silicium standard, en haut à droite silicium à 15 $\Omega\text{m.cm}$, en bas silicium à 1 $\Omega\text{m.cm}$).

Cette géométrie pyramidale présente l'avantage de générer un sommet de pointe beaucoup plus pointu à partir de l'intersection de 4 plans dont les vitesses d'attaque devraient être identiques et assez lentes. Pour ce qui est des pointes à base octogonale, les vitesses d'attaque selon les plans sont rapides. Une différence entre deux plans décentre très rapidement le point de rencontre des plans : le sommet ne peut donc plus être centré et ne mesurer que quelques nanomètres avec nos procédés standards d'attaque par KOH (fig.4.1.1-2).

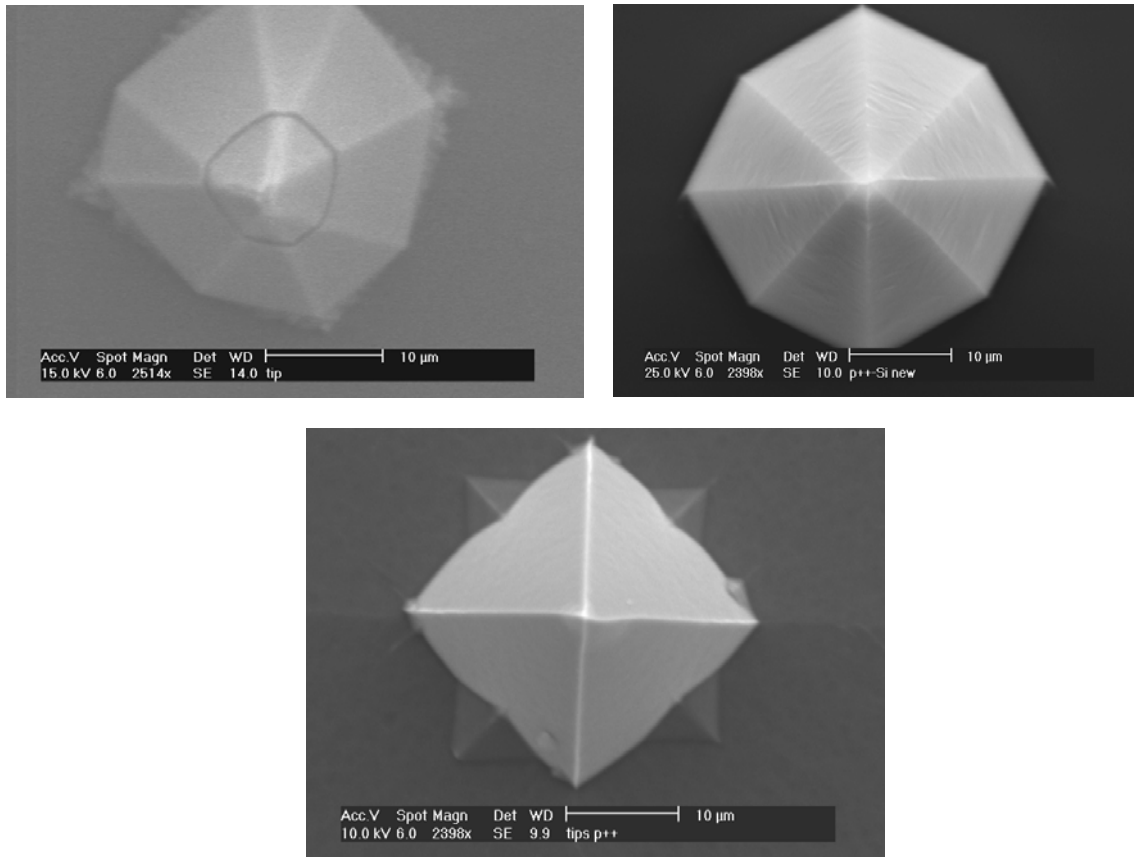


Figure 4.1.1-2 : Images SEM des plans cristallins obtenus après attaque du silicium par le KOH. Le contrôle est clairement plus facile avec des pointes fortement dopées (en haut à gauche silicium standard, en haut à droite silicium à 15 Ω m.cm, en bas silicium à 1 Ω m.cm).

Un léger dépassement du temps d'attaque optimale entraîne la formation d'une pointe émoussée ou en couteau [3] et figure 4.1.1-3.

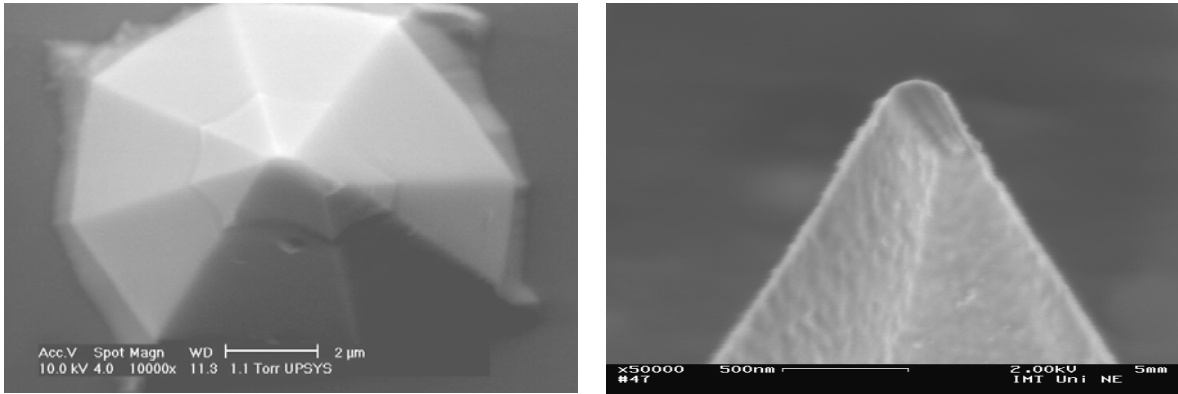
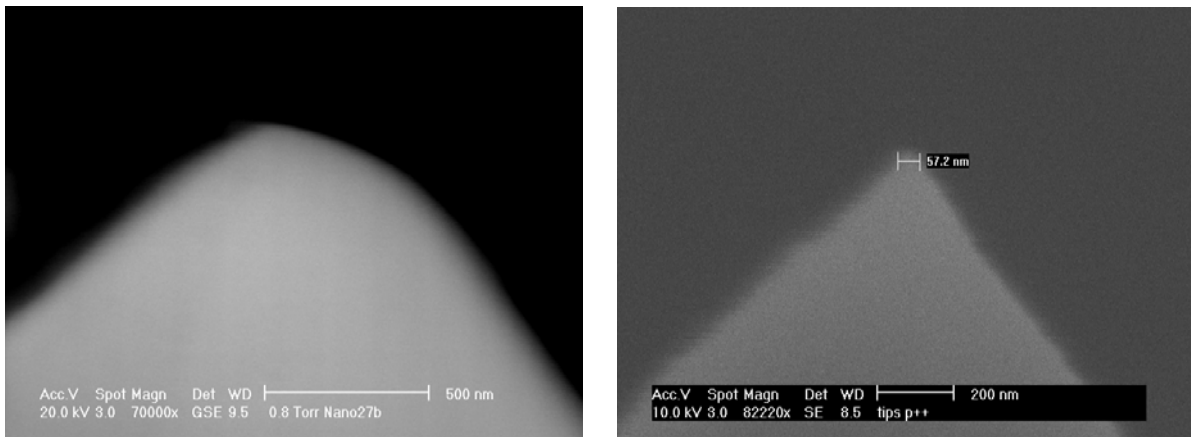


Figure 4.1.1-3 : Image SEM de l'apex d'une pointe de forme « couteau ».

D'autre part, il nous a été possible de vérifier la finesse des pointes et de démontrer que ces pointes pouvaient tout à fait être utilisables dans le cas de l'ECSTM où l'acuité des pointes est un facteur limitant pour une résolution atomique. Comme ces photos SEM le montrent, le rayon de courbure obtenu est



de l'ordre de 60 nm, ce qui peut être compatible avec des mesures ECSTM.

Figure 3.1.3-4 : Images SEM comparant les rayons de courbure entre une pointe fabriquée dans le silicium standard à gauche, et dans du silicium hautement dopé à droite.

4.2 Mesures électrochimiques

La caractérisation de l'ensemble des électrodes a été réalisée à l'aide de deux composés électrochimiques couramment utilisés [4] : le ferrocyanure de potassium et le ruthénium hexaamine (Aldrich). Ils présentent la propriété d'être réversible avec des coefficients de diffusion similaires, respectivement $7.6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $6.3 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. L'électrolyte support utilisé est le chlorure de potassium (KCl, Aldrich) avec une concentration de $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ pour éviter tout phénomène lié à la migration de charges [5,6,7]. Les mesures réalisées se font dans une cellule électrochimique Metrohm standard avec comme contre-électrode un fil de platine et comme électrode de référence une SCE (en anglais Standard Calomel Electrode). Le potentiostat utilisé est de marque IBM, ayant une limite de sensibilité de 20 nA/V.

4.2.1 Test des plates-formes CellSens

Dans le cadre de l'étude électrochimique des cultures cellulaires, il est nécessaire de caractériser les électrodes afin d'attester d'une homogénéité de surface et de reproductibilité en terme de taille.

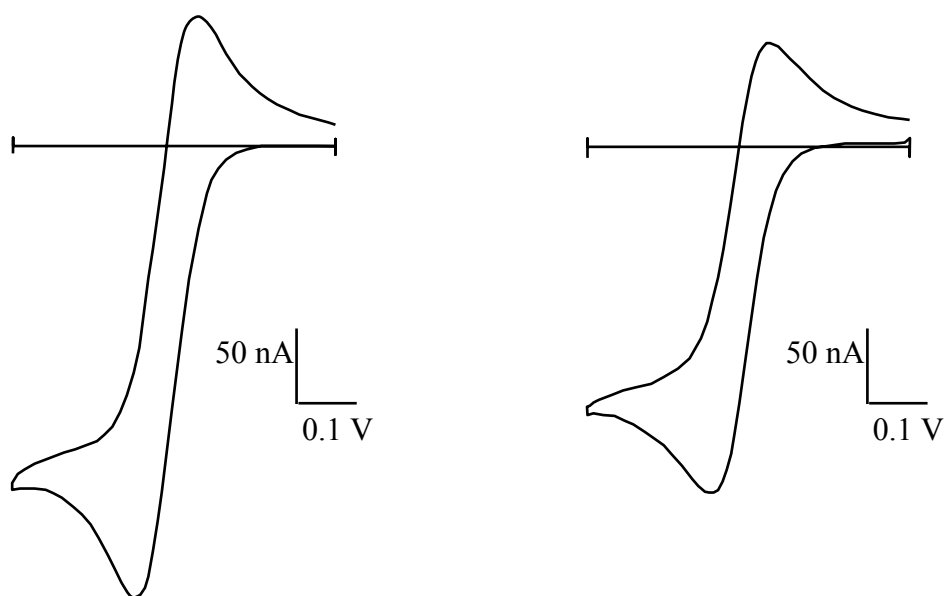


Figure 4.2.1-1 : Voltammogrammes réalisés avec une électrode CellSens de 100 μm de diamètre avec une passivation de 2000 Å nitrure de silicium (à gauche), ou avec 5 μm de résine SU-8 (à droite). L'expérience est réalisée dans une solution de ruthénium hexaamine de 5 mM (dans KCl 1M) entre 0.1 V et - 0.5 V, à une vitesse de balayage de 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$

D'après les premières évaluations de ces électrodes, il apparaît que la moyenne des courants de diffusion obtenues se situent à 329 nA avec un écart-type de 26 % ($n=6$). Cette écart peut être dû à la précision de la mesure du diamètre de l'électrode et à leur état de surface. Il peut être noté également que ces électrodes ne présentent pas de défaut majeur de comportements électrochimiques, avec un potentiel de réduction situé aux alentours de -270 mV et un ΔE de 60 mV par rapport à une électrode de référence calomel (SCE).

Le voltammogramme réalisé avec l'électrode passivé avec la résine SU-8 présente un courant de diffusion plus faible que l'électrode passivée avec du nitrure de silicium, indépendamment de la dispersion obtenue. Ceci peut être

expliqué par le fait que l'épaisseur de passivation de SU-8 implique de considérer l'électrode initialement planaire comme une électrode « recessed » c'est-à-dire encastrée. Pour ce genre de géométrie ont été développées des équations particulières [8,9], tenant compte de l'épaisseur de la passivation et le rayon de l'électrode :

$$i_{\text{recessed}} = i_{T,\infty} (\pi/(4L/a)+\pi) \quad \text{Equation 3}$$

où L correspond à l'épaisseur de la couche de passivation et a est le rayon de l'électrode. Après calcul, il apparaît que le courant de diffusion pour cette électrode est réduit de 11 % ce qui peut expliquer cette différence entre les 2 voltammogrammes présentés.

Néanmoins, autant la bio compatibilité du nitrure de silicium est acquise, autant celle du SU-8 doit être validée dans la mesure où de nombreux solvants peuvent être relargués dans le milieu de culture, pouvant compromettre la survie des cellules. Cette évaluation sera réalisée par chaque partenaire du projet. Enfin, lors des étapes de modifications ultérieures des électrodes pour les rendre sensibles à certains composés comme l'oxyde nitrique [10], ces couches de passivation doivent résister notamment à des conditions de dépôt très basiques. Les résultats de ces modifications seront donc rapportés ultérieurement.

4.2.2 Caractérisation des électrodes SECM/ECSTM

De nombreux groupes de recherche [11,12,13,14] se sont focalisés sur la théorie des processus électrochimiques et la possibilité de modéliser ce courant en fonction de la taille d'électrodes circulaires planaires. L'électrochimie sur les macro électrodes est basée sur l'établissement d'une diffusion planaire semi-

infinie alors que pour des micro-électrodes, la diffusion prendra une forme hémisphérique. Ainsi il est commun d'utiliser l'équation 2 afin d'estimer le courant limite de diffusion pour une micro-électrode :

$$i_{T,\infty} = 4nFDCa$$

où c est la concentration de l'espèce réduite ou oxydée, D son coefficient de diffusion, F étant la constante de Faraday et n le nombre d'électrons échangés au cours de la réaction. Cette équation tient compte essentiellement du rayon a de l'électrode. Cette formule est adaptée pour des électrodes planaires et circulaires. Les processus de diffusion sont hémisphériques et relativement contrôlés dans l'espace.

Il est à noter que les électrodes que nous fabriquons sont de forme conique, l'intérêt principal étant de tirer partie de l'acuité du cône lors de l'approche de l'échantillon. Dans ce cas, divers paramètres, notamment géométriques viennent bouleverser les équations qui tentent de modéliser le comportement de nos électrodes : en effet, il apparaît une variation non négligeable quant aux surfaces obtenues d'une pointe à l'autre, ce qui implique pour chaque pointe, avant usage, sa calibration. A ceci s'ajoute le profil diffusionnel autour de cette pointe, où un effet de pointe peut y jouer un rôle important. En effet, à surface équivalente, le profil diffusionnel à la pointe ressemble plus à une sphère qu'à une hémisphère (fig.4.2.2-1) [15,16].

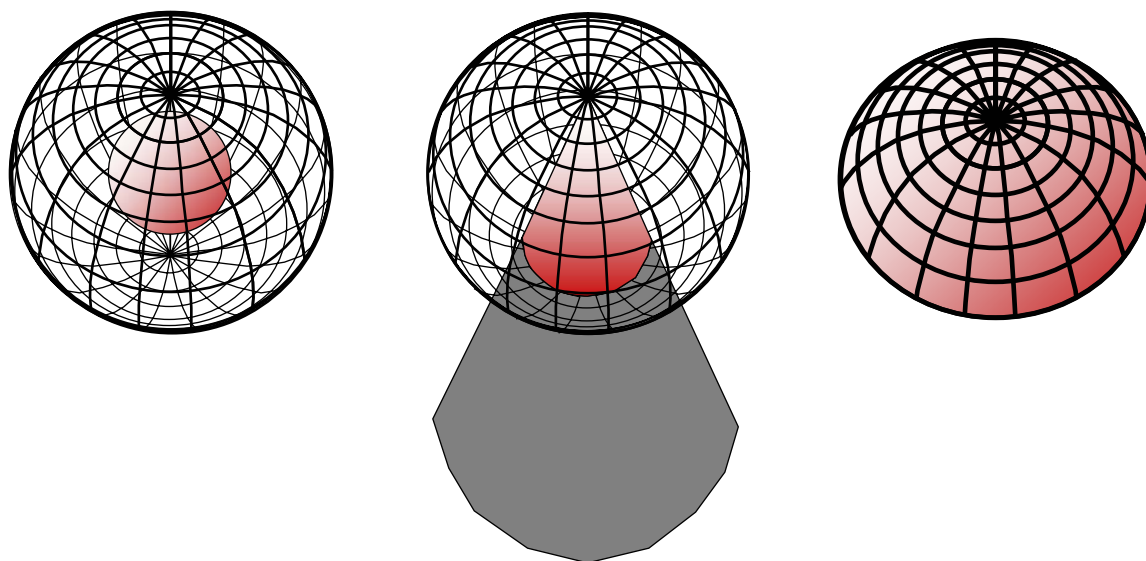


Figure 4.2.2-1 : Comparaison visuelle des profils de diffusion à une électrode hémisphérique, sphérique et conique.

Sont présentés ci-dessous les réponses électrochimiques de 2 types de pointes décrites dans le chapitre « Technologie ». Les électrodes testées présentent des comportements électrochimiques de bonne qualité, avec un plateau d'état stationnaire très correct et peu d'hystérèse.

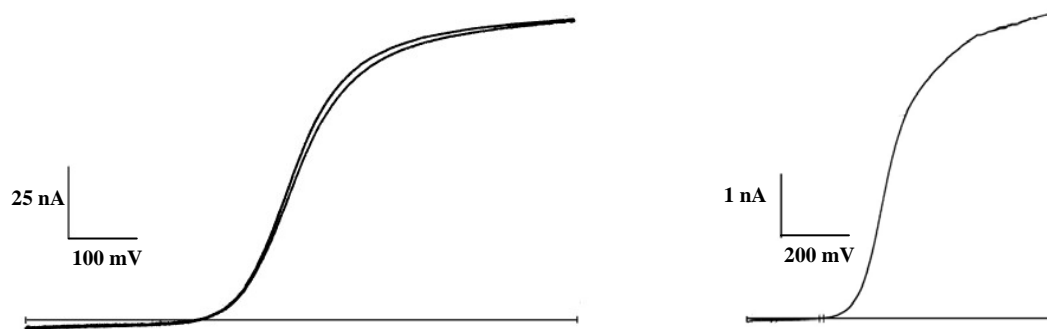


Figure 4.2.2-2 : Voltammogrammes obtenus avec une électrode conique de $600 \mu\text{m}^2$ (à gauche, dans une solution de ferrocyanure de potassium à 10 mM), et d'une électrode avec

une « nano-ouverture » (inférieure à $1 \mu\text{m}^2$, à droite, dans une solution de ferrocyanure de potassium à 100 mM). Fenêtre de balayage : -0.1 V à +0.7 V, vitesse de balayage : $100\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Afin de pouvoir simuler les valeurs au niveau des électrodes coniques et de les comparer aux valeurs expérimentales, l'investigation des courants théoriques se porte également sur les valeurs pouvant être obtenues au niveau d'électrodes sphériques. Voici le facteur de correction κ qui est appliquée à l'équation (2) en fonction de la géométrie de l'électrode [17] :

- $\kappa = 4$ pour une électrode en forme de disque
- $\kappa = 2\pi$ pour une électrode hémisphérique
- $\kappa = 4\pi$ pour une électrode sphérique

Sont résumées dans le tableau ci-dessous les différentes valeurs de courants de diffusion calculées à partir du rayon équivalent à la surface du cône. D'après les études statistiques effectuées sur un ensemble de 58 pointes d'environ $600 \mu\text{m}^2$, constituant la première génération des électrodes, le calcul démontre que le profil diffusionnel sphérique sous-estime de 25 % les valeurs expérimentales obtenues.

i_{exp} (nA) $m=58$	833 ± 43
i_{th} (nA) pour le disque	405
i_{th} (nA) pour une hémisphère	450
i_{th} (nA) pour une sphère	637

Table 4.2.2-1 : Calcul des courants d'oxydation dans une solution de 1 M de KCl contenant 100 mM de Ferrocyanure de potassium, en fonction des géométries d'électrodes – $i_{\text{th}} = \kappa n F D C_r$ avec $\kappa = 4$ pour le disque, 2π pour une électrodes hémisphérique, et 4π pour une électrode sphérique.

Ceci peut être expliqué par la difficulté d'évaluer au SEM la surface réelle de l'électrode. D'autre part, il peut exister au niveau de l'apex de la pointe une concentration du champ électrique impliquant un rôle « d'antenne » pour le système électrochimique.

Néanmoins, ces électrodes présentent des courants électrochimiques très reproductibles avec un écart-type inférieur à 5 % ce qui pourrait rendre caduque la nécessité de calibration avant utilisation.

Plusieurs autres types de pointes décrits dans le chapitre « Technologie » ont été testés, notamment les pointes dopées au bore, avec une grande ou une petite ouverture de l'électrode. Comme ces graphiques peuvent le montrer, les sigmoïdes ont des formes bien différentes.

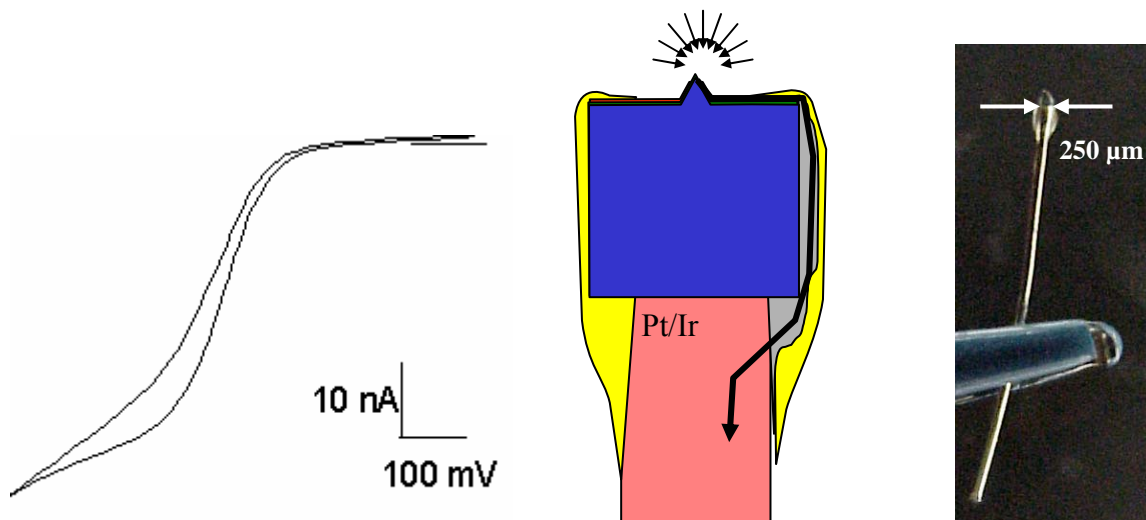


Figure 4.2.2-3 : Voltammogramme (d'une électrode en silicium hautement dopé réalisée d'après le procédé de première génération et connectée par le côté avec de la colle d'argent (schéma de l'électrode au milieu et photo de la sonde à droite). Conditions : ruthénium hexaamine 5 mM / KCl 1 M balayé de + 0.1 à - 0.6 V à 100 mV.s⁻¹.

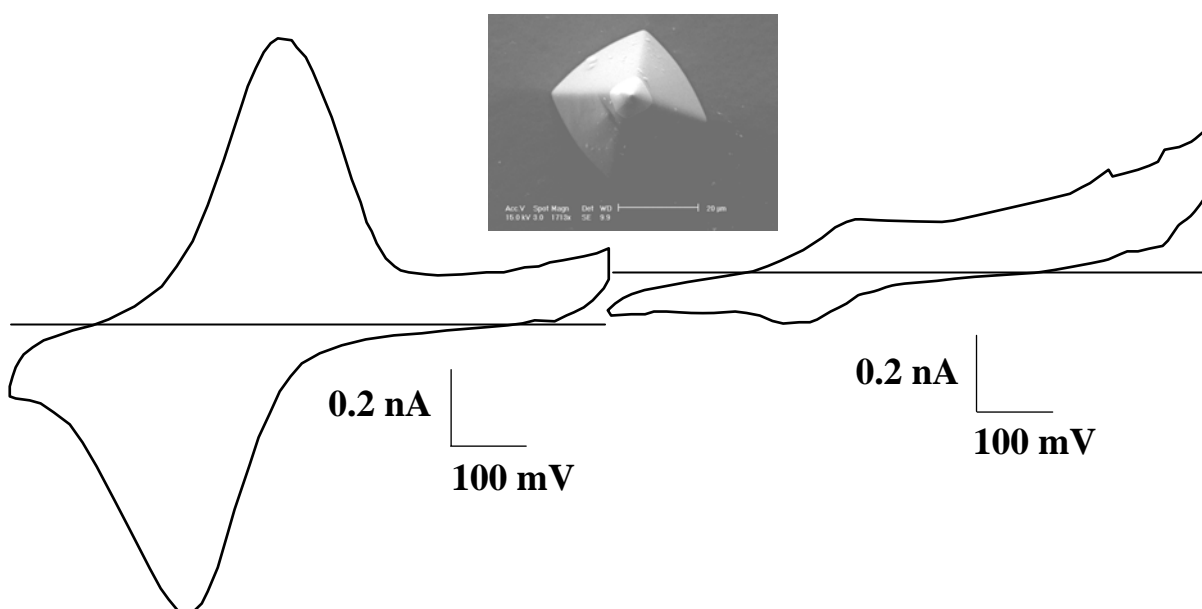
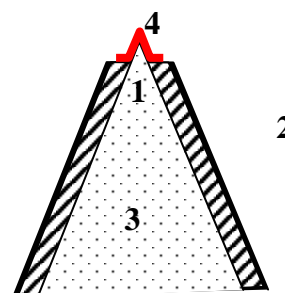


Figure 4.2.2-4 : Voltammogrammes obtenus avec deux pointes (en insert l'image SEM d'un exemple), connectée backside, en silicium hautement dopé de deux plaquettes différentes avec l'épaississement de l'oxyde de silicium pour une ouverture diminuée. Mesures effectuées dans une solution de ruthénium hexaamine 5 mM / KCl 1 M entre 0.3 et -0.5 mV (vitesse de balayage de 100 mV.s⁻¹).

Il est important de noter que ce genre de voltammogramme (à gauche dans la figure ci-dessus) correspond davantage à ce qui peut être obtenu en régime non-stationnaire pour des macro-électrodes [18]. Ceci reste inexpliqué puisque les 2 comportements électrochimiques obtenus correspondent, après vérification au SEM, à 2 électrodes identiques dont une image est reportée dans la figure. Ces résultats sont d'autant plus inexplicés que les électrodes de 600µm² présentent un comportement électrochimique dit de régime stationnaire également à la même vitesse de balayage.

Pour le voltammogramme à droite, d'après l'équation 2, nous pouvons évaluer la surface équivalente de l'électrode : 2 µm². Les électrodes testées proviennent de plusieurs plaquettes, impliquant des variations au niveau :

1. Les contacts ohmiques entre le platine et le silicium
2. La hauteur des pointes
3. L'homogénéité du dopage d'une plaque à l'autre
4. La surface des électrodes



L'ensemble de ces paramètres est à contrôler afin d'obtenir une qualité de pointe optimale.

Néanmoins, l'obtention de résultats électrochimiques avec ces nouvelles sondes permet de valider le développement qui a été réalisé pour la connexion backside et la réduction de taille de nos électrodes. Ce bon comportement électrochimique est complété par de bons résultats observés en SECM et ECSTM dans le chapitre suivant.

4.3 Mesures SECM

4.3.1 Courbes d'approche

Les bonnes images SECM sont largement dépendantes de la qualité des électrodes employées et de leur forme. A. Bard et C. Zoski et d'autres groupes [11,13,14,17] ont largement étudié le sujet en tentant de modéliser le comportement des électrodes lors de phase d'approche de l'électrode à l'échantillon. C'est ici que la forme de celle-ci joue un grand rôle ainsi que le matériau qui insère l'électrode.

La géométrie des électrodes couramment employées a permis de décrire plusieurs paramètres importants pour l'exercice de simulation :

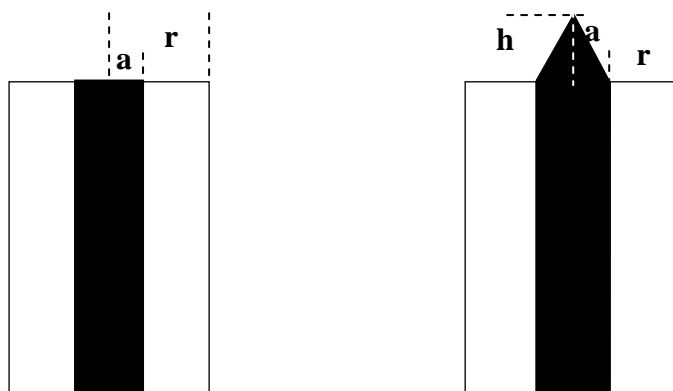


Figure 4.3.1-1 : Schéma des différents types d'électrodes utilisées pour la simulation et les paramètres géométriques.

Dans le cas des électrodes planaires, les rayons de l'électrode et de la partie non-conductrice jouent un rôle dans la détermination du paramètre RG. Celui-ci correspond au rapport r/a . Bard fait varier ce paramètre dans ces expériences de simulation entre 1.1 et 10. Plus il sera grand, plus l'électrode représentée par son rayon a sera résolutive quant à l'échantillon en terme de détection, en effet, celle-ci pourra discriminer 2 structures très proches. Cela est différent en terme d'approche : l'électrode ne pourra pas être proche d'un échantillon si l'extinction du courant en mode de feedback négatif est trop rapide à cause de la grandeur de la partie isolante de l'électrode (fig.4.3.1-2).

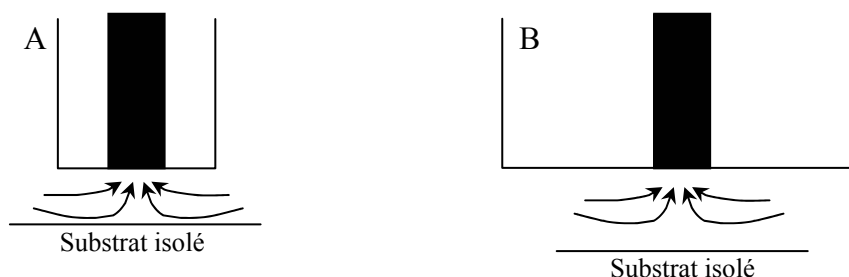


Figure 4.3.1-2 : Schéma de la situation d'une approche en feedback négatif pour 2 électrodes ayant un paramètre RG égal à 1 en (A) et 3 en B.

Par exemple, une diminution de 60 % du courant $i_{t,\infty}$ représentera une distance à l'échantillon de quelques dizaines de nanomètres dans le cas A, à plusieurs centaines de nanomètres dans le cas B. De la même manière, dans le cas d'un échantillon très rugueux, l'approche d'une électrode planaire sera difficile. L'utilisation de plus en plus courante d'électrodes coniques a permis d'ajouter le rapport entre la hauteur de l'électrode et son rayon (dénommée H pour Zoski, k pour Bard) dans les équations de simulations de la courbe d'approche.

En effet, l'utilisation d'électrodes coniques permet de s'approcher plus facilement d'une surface d'échantillon très accidentée ou très rugueuse. Dans ce cas, il est reporté par Bard que pour une électrode conique dans la situation d'un rapport RG égale à 1.1, l'équation théorique qui régit le courant électrochimique normalisé en fonction de la distance L (paramètre sans unité correspondant à la séparation entre la pointe et l'échantillon) lors d'une courbe d'approche est la suivante.

$$I_{Tcone}(L) = \frac{2}{k^2} \int_0^k \left(A + \frac{B}{L+y} + Ce^{\left(\frac{D}{L+y}\right)} \right) y dy$$

Equation 4

$$\lim_{L \rightarrow 0} I_{Tcone}(L) = \infty$$

k étant le rapport entre la hauteur et le rayon du cône, A, B, C et D des constantes simulées (dans le cas du RG =1.1). Dans notre cas, il faut admettre que la situation est différente car, nous pouvons admettre que le paramètre RG est proche de zéro (la partie isolante est très en retrait par rapport au sommet). Il est très difficile d'obtenir une image en mode feedback négatif comme cela est décrit dans la figure 3.1.2-1 B. Une baisse seulement de 40 % du courant $i_{T,\infty}$ est la seule fenêtre de contrôle lors de la descente de l'électrode pendant l'approche (fig. 4.3.1-3).

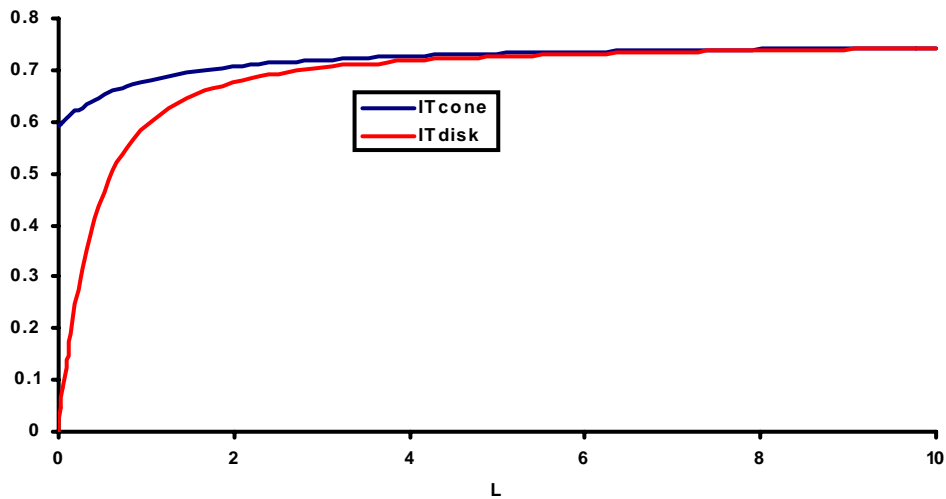


Figure 4.3.1-3 : Courbes d'approche théorique d'une électrode conique en bleu et d'une électrode disque en rouge en mode de feedback négatif au-dessus d'un substrat non-conducteur. I_T correspond au courant normalisé lors de l'approche ($I_T = I_{mesuré}/I_{T,\infty}$). Programme de simulation : Maple V Release 4.

Dans la même situation avec une électrode plane, la diffusion de l'espèce générée à l'échantillon est complètement bloquée par la partie isolante de l'électrode, résultant en une disparition quasi-complète du courant collecté par l'électrode.

Malgré leurs dimensions, grâce à leur géométrie, les électrodes permettent de garder une sensibilité au niveau de l'approche (une plus grande surface participe à la détection) et de pouvoir résoudre des phénomènes électrochimiques prenant naissance au niveau de nanostructures du fait de la qualité de leur approche.

Le comportement de l'électrode conique en mode de feedback positif se révèle encore plus efficace. La pointe agit comme antenne et permet d'être beaucoup plus sensible à toute modification liée à la présence d'espèce électro-actives. Dans ce cas, il est possible de la positionner à une distance de l'ordre du rayon de courbure de l'électrode.

Concernant la courbe d'approche en feedback positif, nous pouvons admettre que la marge pour le contrôle de la descente de l'électrode est beaucoup plus faible mais l'augmentation de courant est de l'ordre de 7.5 fois le courant de base, ce qui peut être suffisant pour la courbe d'approche.

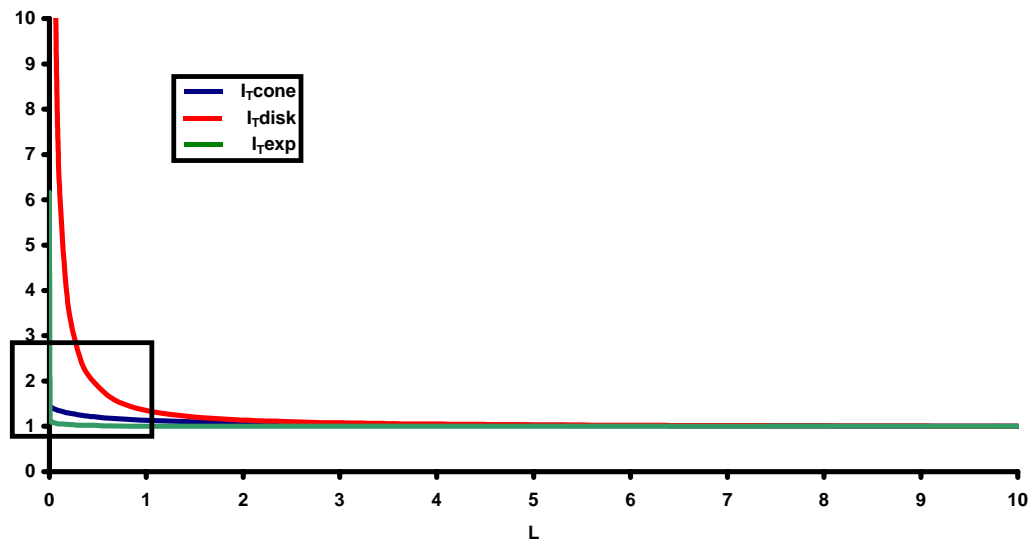


Figure 4.3.1-4 : Courbe d'approche expérimentale d'une électrode de $600 \mu\text{m}^2$ (en verre) superposée aux courbes théoriques d'une électrode conique en bleu et d'une électrode disque en rouge en mode de feedback négatif au-dessus d'un substrat conducteur. I_T correspond au courant normalisé lors de l'approche ($I_T = I_{\text{mesuré}}/I_{T,\infty}$). Programme de simulation : Maple V Release 4.

Dans le même temps, une microélectrode en forme de disque permettra de réaliser une courbe d'approche jusqu'à une distance ne pouvant être inférieure à la taille de l'électrode.

L'ensemble de ces résultats de simulation montre que la taille de la pointe qui a été testé dans ce cas là ne présage en rien d'une résolution médiocre. Les électrodes peuvent bien au contraire être rapprochées de la surface à scanner tout en ayant la possibilité de choisir le point d'arrêt pour commencer un balayage de la surface de l'échantillon. Et dans le paragraphe suivant sera démontré qu'il est

possible d'obtenir des images relativement bien résolues d'échantillon mixtes conducteurs et non-conducteurs.

4.3.2 Imageries SECM

4.3.2.1 Test du SECM et des plates-formes CellSens

Tout d'abord, afin de valider l'outil construit au laboratoire, une expérience SECM a été réalisée sur la première génération de plates-formes « CellSens » fabriquées au sein du laboratoire. Elles consistent en des électrodes qui ont été transféré sur la plate-forme par lift-off standard (décrit dans le chapitre 2.2.3). Le diamètre final de l'électrode est de 100 μm . Il en résulte des imperfections délétères pour le genre d'applications recherchées comme le montre ces images (fig.). Cette expérience a été réalisée en mode de feedback positif, à l'aide d'une électrode réalisée à partir d'un fil de platine de 10 μm encapsulé dans un capillaire de verre. Lors de la courbe d'approche, la valeur de consigne pour l'arrêt de la descente a été fixée à 60 % du courant de diffusion initial. Ensuite a été réalisé un balayage de 800 μm en x, à raison d'une mesure tous les 5 μm et 30 lignes espacées de 10 μm . L'échelle de courant est inversée : tout infléchissement de la surface correspond dans ce cas là à une augmentation de courant, au balayage d'une surface conductrice.

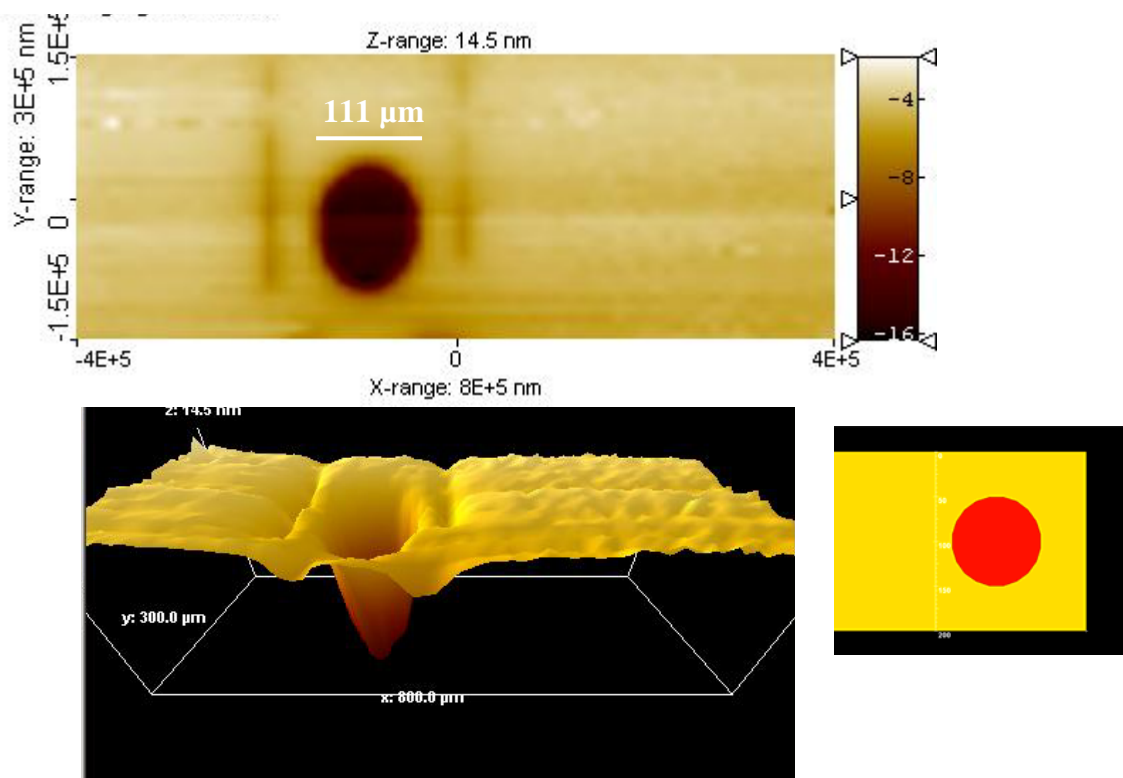


Figure 4.3.2-1 : Image 2D et reconstruction tridimensionnelle d'une image SECM d'une électrode de 100 μm de diamètre. A droite le schéma de l'extrémité de l'électrode.

Il est important de noter sur cette image que l'ouverture de l'électrode est bien visible et correspond à 10 % près aux dimensions attendues. Quelques pics d'activités électro-catalytiques sont également visibles de part et d'autre de l'électrode, correspondant exactement aux bords de la piste de platine sous-jacente. En comparant le courant associé avec celui correspondant à l'électrode en elle-même, nous pouvons dire qu'il ne s'agit pas d'une totale résurgence du platine à travers la couche de passivation. Cela correspond probablement à des défauts dans le nitrure, causés par l'inhomogénéité des bords de la piste de platine, comme cela est décrit dans la figure 2.2.3-4. Ces images démontrent la puissance de la technique vis à vis de la connaissance électro-catalytique d'une

surface : le moindre signal ou la moindre imperfection est automatiquement détecté par le SECM.

4.3.2.2 Tests des électrodes coniques en tant que capteur SECM

Une seconde expérience a été réalisée afin de tester les électrodes coniques dans la configuration SECM par balayage de 4 microbandes de platine de 25 μm (fig).

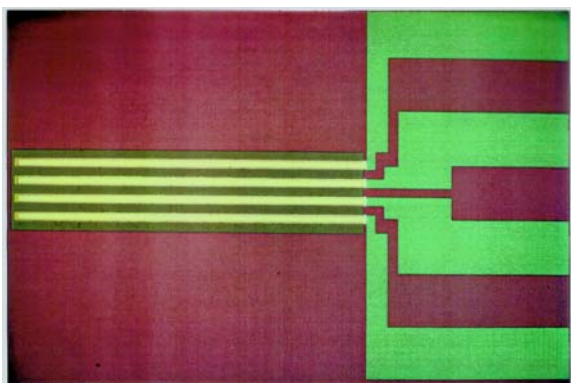


Figure 4.3.2-2 : Photo des 4 microbandes de platine, adressable individuellement. Les électrodes de 25 μm sont espacées de 25 μm .

Deux modes ont pu être utilisés afin de visualiser la topographie de l'échantillon en feedback positif puis d'évaluer l'aspect résolutif des électrodes en mode de génération-collection. Il est à noter que ces premiers tests ont été réalisés avec des électrodes de la première génération, de 600 μm^2 .

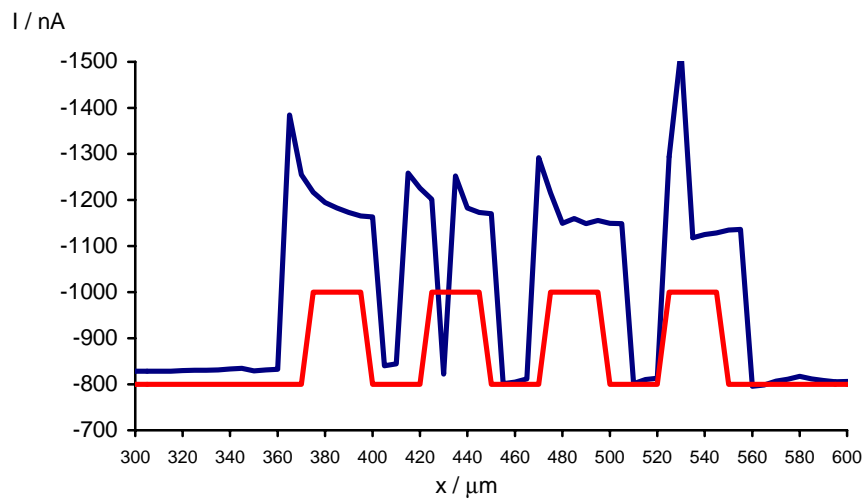
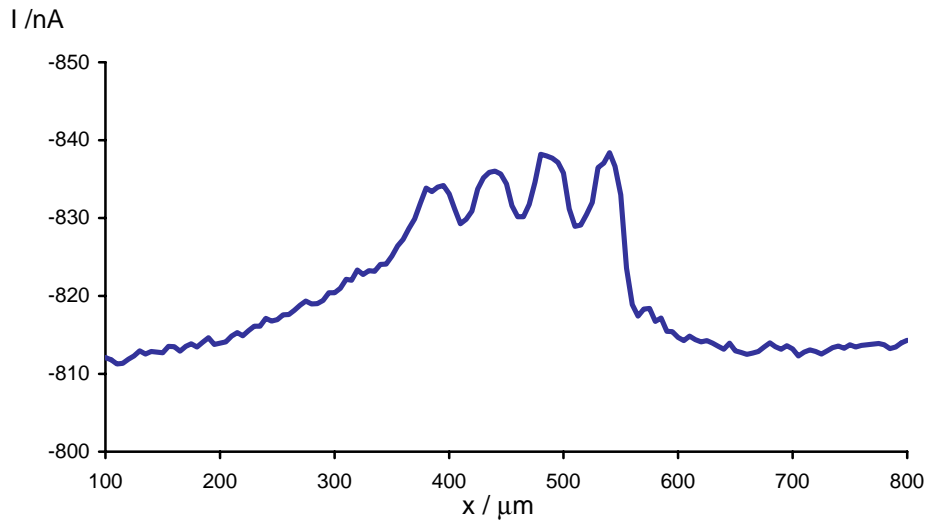


Figure 4.3.2-3 : Balayages simples en mode de feedback positif (ligne bleue) des microbandes représentées en rouge, le second graphe étant un balayage exécuté à quelques nanomètres de la surface.

Ces mesures ont été effectuées sans contrôle de la hauteur : le premier balayage présenté met en évidence le fait que la surface de l'échantillon n'est pas

parallèle au plan de balayage. Une seconde mesure a été effectuée à une distance à l'échantillon beaucoup moins importante puisque la structure des 4 microbandes apparaît de façon très claire : leurs profils diffusionnels ont une dimension de $35\ \mu\text{m}$ au-dessus des électrodes de $25\ \mu\text{m}$. Compte tenu des dimensions respectives de l'échantillon et de l'électrode, le manque de résolution peut être attribué à la surface excessive de notre capteur.

D'autre part, un effet non négligeable peut être imputé au profil diffusionnel particulier au niveau des angles des microbandes. Cela peut expliquer le saut de courant lors du balayage à très faible distance. Les résultats restent comparables à ceux obtenus par l'équipe de Schuhmann [23].

Enfin, une expérience en mode génération-collection a été réalisée avec la même pointe. Les microbandes ont été placées dans une solution de Ruthénium hexaamine $5\ \text{mM}$ et seulement la 3^{ème} électrode a été polarisée à un potentiel de $-400\ \text{mV}$ (potentiel auquel la réduction est complète). Lors du balayage, la sonde, polarisée à $-10\ \text{mV}$ par rapport à la référence, oxyde la forme réduite du ruthénium. La figure ci-dessous est la superposition selon l'axe x d'un balayage en mode génération-collection avec celui obtenu à la même hauteur en mode de feedback positif. La résolution est raisonnable compte tenu de la distance probablement assez grande lors du balayage et de la taille de la pointe. D'autre part, la génération de l'espèce oxydée reste localisée sur la 3^{ème} électrode, ce qui est excellent dans la mesure où l'échantillonnage se fait à raison d'une mesure tous les $5\ \mu\text{m}$ et que la vitesse de déplacement entre les mesures est de $25\ \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

1.

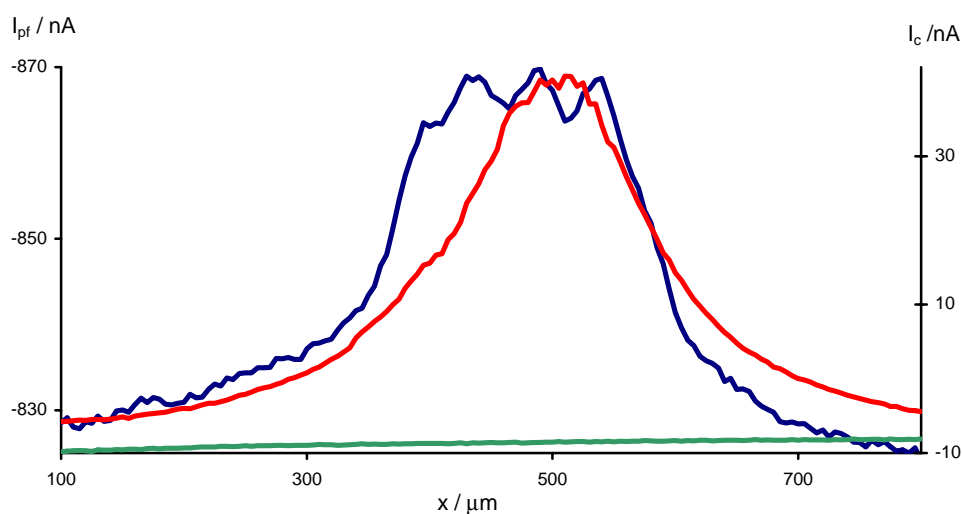


Figure 4.3.2-4 : Expérience de génération-collection réalisées sur la 3^{ème} microbande (courbe rouge, ordonnée i_c à droite) superposée à l'image des 4 microbandes en mode de feedback positif (courbe bleue, ordonnée i_{pf} à gauche). La courbe verte représente la collection sans la génération.

L'obtention de tels résultats en configuration SECM avec des électrodes de première génération avec une surface de $600 \mu\text{m}^2$ peut laisser présager de bons résultats pour la dernière génération, possédant un rayon de courbure beaucoup plus faible et une surface de platine considérablement réduite.

4.4 Mesures STM et ECSTM

Comme nous l'avons décrit dans le chapitre 3, les STM et ECSTM présentent de multiples intérêts. Nous avons donc tester tout d'abord nos électrodes dans l'air afin de cerner au fur et à mesure leurs points faibles. L'ensemble des mesures ont été réalisées dans le laboratoire de Chimie et Biochimie du Professeur H. Siegenthaler de l'Université de Bern (Suisse) à l'occasion de la thèse de N. Eichenberger [24].

4.4.1 Configuration STM

Pour les images STM réalisées, nous avons utilisé un appareil Nanoscope et des échantillons standards : du graphite pyrolytique orienté (en anglais HOPG pour Highly Oriented Pyrolytic Graphite), ou de l'or déposé sur du mica.

L'approche est pilotée grâce à la boucle de rétrocontrôle qui stoppe la descente de l'électrode à une valeur consigne (ici 3 nA). Avec une différence de potentiel entre E_S et E_T de -10 mV pour le graphite et 10 mV pour l'or, cela permet d'obtenir des images topographique ou spectroscopique de l'échantillon comme celles présentées ci-dessous. Nous voyons assez nettement les atomes de carbone.

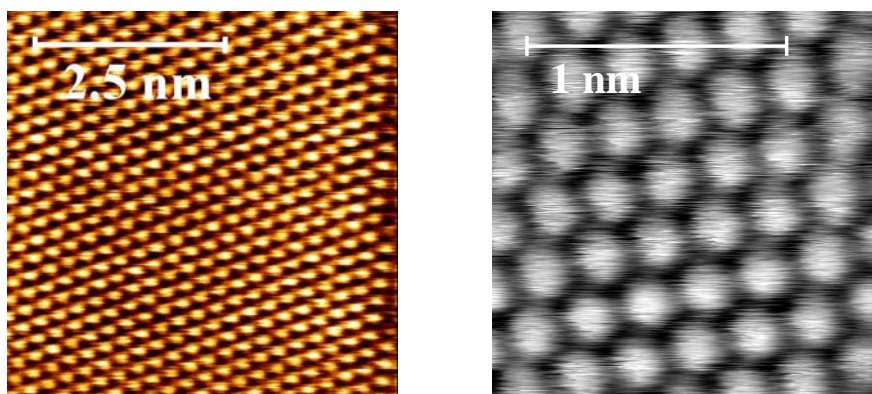


Figure 4.4.1-1 : Image STM dans l'air de HOPG en mode cartographique à courant constant pour une fenêtre de 5 sur 5 nm avec une électrode de première génération connectée topside (à gauche, $\Delta z = 0.17$ nm), et sur une fenêtre de 1.5 sur 1.5 nm avec une électrode de silicium hautement dopée de $600 \mu\text{m}^2$ (à droite, Δz de 0.8 nm) Thèse de N. Eichenberger [24].

4.4.2 Configuration ECSTM

Les mesures effectuées en mode ECSTM nécessitent un appareillage particulier comportant une cellule dans laquelle seront plongés le substrat et les électrodes de travail et de référence (fig.4.4.2-1).

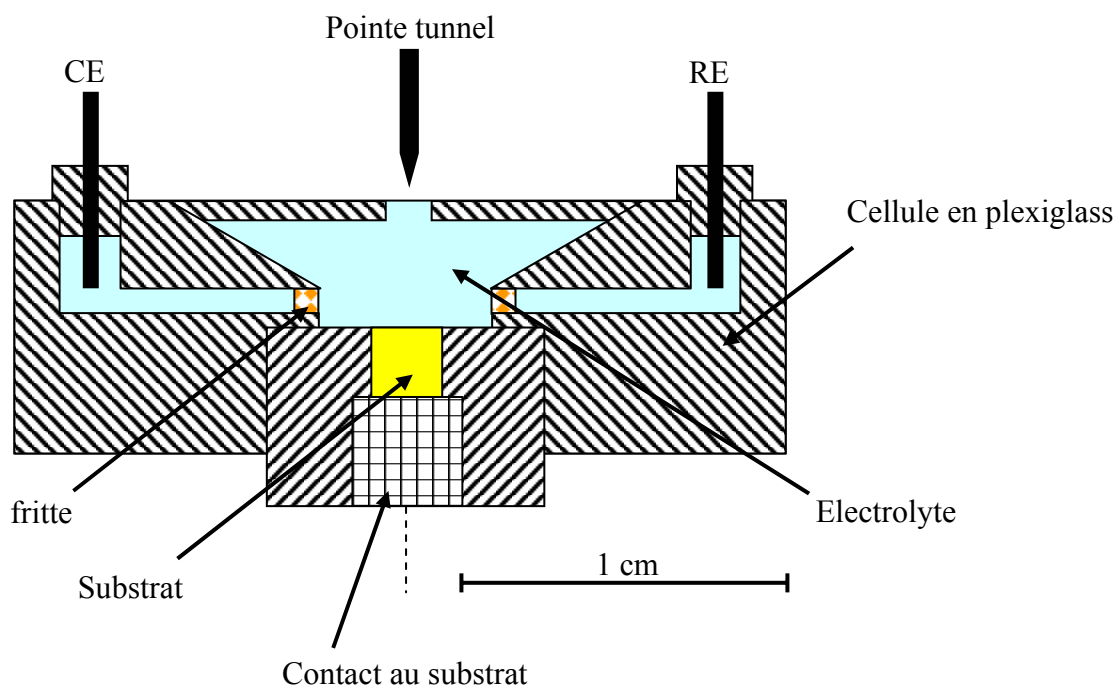


Figure 4.4.2-1 : Coupe du dispositif de mesure en mode ECSTM [25].

Pendant les mesures, la différence de potentiel entre E_S et E_T est maintenue à 12 mV ($E_S = 250$ mV et $E_T = 262$ mV par rapport au plomb) dans l'électrolyte support (HClO_4 0.01 M), comme cela est présenté dans la figure 3.1.1.3. La valeur de consigne pour le courant tunnel est fixée dans ce cas là à 10 nA.

Est présenté sur les images suivantes la résolution que nous avons pu obtenir grâce aux pointes micro fabriquées, en milieu aqueux, situation la plus courante pour l'étude de milieu biologique [26,27,28] mais aussi en milieu non aqueux. Ceci représente une avancée technologique importante dans la mesure où la

plupart des électrodes utilisées et isolées avec la peinture électrophorétique se dégradent très vite dans ce genre de milieu [29,30].

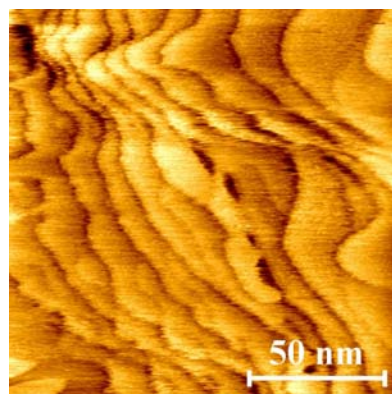


Figure 4.4.2-2 : Image ECSTM de terrasses monoatomiques d'argent poli dans une solution de HClO_4 avec une électrode de silicium hautement dopée de $500 \mu\text{m}^2$. Thèse de N. Eichenberger [24].

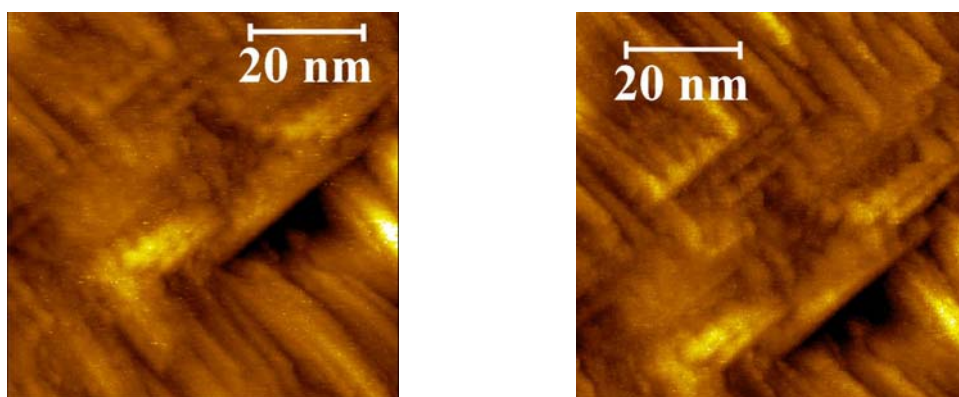


Figure 4.4.2-3 : Image ECSTM de platine polycristallin en solution de NaClO_4 0.01 M dans l'éthanol avec une électrode de première génération avec une nano-ouvertures. L'image de droite correspond à la même structure 20 minutes après la première Travail de diplôme de F. Campana [30].

Ces images ECSTM correspondent assez fidèlement aux images obtenues avec les électrodes conventionnelles [31].

Ces quelques résultats réalisés avec la première génération de pointes demeurent donc très prometteurs quant à la suite des tests pour la dernière génération d'électrodes : en effet, avec un rayon de courbure beaucoup plus faible et une hauteur de cône métallique actif inférieure à 5 μm , il est possible de réduire de façon drastique les courants capacitifs et d'augmenter la probabilité qu'idéalement un seul atome participe au courant tunnel entre l'extrémité de la pointe et l'échantillon.

- [1] M. Madou, "Fundamentals of Microfabrication, CRC Press, Boca Raton, USA (1997)
- [2] Y. Bäccklund, Ph.D. Dissertation, Uppsala University, Sweden (1992)
- [3] C. Beuret, Ph.D. Dissertation, Institut de Microtechnique, Université de Neuchâtel, Suisse (1999)
- [4] J. L. Conyers, Jr & H. S. White, *Anal. Chem.* 72 (2000)
- [5] K. B. Oldham, T. J. Cardwell, J. H. Santos, A. M. Bond, *J. Electroanal. Chem.* 430 (1997)
- [6] W. Hyk, Z. Stojek, *Anal. Chem.* 74 (2002)
- [7] C. P. Smith, H. S. White, *Anal. Chem.* 65 (1993)
- [8] C. G. Zoski, N. Simjee, O. Guenat, M. Koudelka-Hep, *Anal. Chem.* ASAP article (2003)
- [9] P. N. Bartlett, S. L. Taylor, *J. Electroanal. Chem.* 453 (1998)
- [10] N. Pereira-Rodrigues, V. Albin, M. Koudelka-Hep, V. Auger, A. Pailleret, F. Bedioui, *Electrochem. Comm.* 4 (2002)
- [11] C. G. Zoski, M. V. Mirkin, *Anal. Chem.* 74 (2002)
- [12] J. Mauzeroll, E. A. Hueske, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 75 (2003)
- [13] O. Sklyar, G. Wittstock, *J. Phys. Chem B* 106 (2002)
- [14] Q. Fulian, A. C. Fisher, G. Denuault, *J. Phys. Chem B* 103 (1999)
- [15] R. M. Penner, M. J. Heben, N. S. Lewis, *Anal. Chem.* 61 (1989)
- [16] S. Bruckenstein, J. Janiszewska, *J. Electroanal. Chem.* 538-539 (2002)
- [17] A. J. Bard, M. V. Mirkin, *Scanning Electrochemical Microscopy*, Marcel Dekker, New York, NY (2001)

- [18] M. V. Mirkin, A. J. Bard, *Anal. Chem.* 64 (1992)
- [23] B. Ballesteros Katemann, A. Schulte, W. Schuhmann, *Chem. Eur. J.* 9 (2003)
- [24] N. Eichenberger, Ph.D. dissertation, Département de Chimie et Biochimie, Université de Bern, Suisse (2004)
- [25] R. Wiesendanger, H.-J. Güntherodt, *Scanning Tunneling Microscopy II*, Second Edition, Springer (1995)
- [26] R. M. Nyffenegger, R. M. Penner, *Chem. Rev.* 97 (1997)
- [27] D. H. Huang, Y. Yamamoto, *Surf. Rev. Lett.* 3 (1996)
- [28] Z. Q. Tian, W. H. Li, B. Ren, B. W. Mao, J. G. Chen, J. Q. Mu, X. D. Zhuo, *J. Electroanal. Chem.* 401 (1996)
- [29] C. J. Slevin, N. J. Gray, J. V. Macpherson, M. A. Webb, P. R. Unwin, *Electrochem. Comm.* 1 (1999)
- [30] F. Campana, Travail de diplôme, Département de Chimie et Biochimie, Université de Bern, Suisse (2002)
- [31] C. H. Shi, X. W. Cai, Y. A. Chen, Y. X. Chen, Z. Q. Tian, B. W. Mao, *Appl. Surf. Sci.* 158 (2000)

5 Conclusions

Dans le cadre de ce travail, ont été développés une plate-forme de culture cellulaire et d'enregistrement de leur activité électrochimique et biochimique ainsi qu'une sonde de microscopie pour mesures SECM et ECSTM combinées. Ces deux systèmes étant compatibles, ils permettent d'étudier de façon globale un échantillon en terme de topographie et de carte chimique tout en pouvant contrôler les conditions environnementales.

Pour cela, nous nous sommes focalisés sur la fabrication d'une plate-forme capable de maintenir en vie une culture cellulaire pendant plusieurs jours et de pouvoir enregistrer les événements électrochimiques lié à son fonctionnement autonome et à l'influence d'éléments externes. La taille des électrodes a donc été choisie en rapport avec la taille des composés à détecter mais aussi avec les conditions expérimentales lors de la modification des électrodes. De la même manière, les couches de passivation devaient supporter ces conditions et être biocompatibles. De plus, un système intégré de délivrance de composés pharmacologiques a été développé sur la plate-forme afin de simplifier tous les problèmes de positionnement de pipettes externes et de diffusion des substances. Les techniques d'attaque humide et sèche combinées à l'assemblage silicium-pyrex par anodic-bonding ont permis de constituer un ensemble réservoir-membrane-trous compatible avec l'administration locale et en petite quantité de molécules dont on pourra suivre l'implication sur la communication intra- et

inter-cellulaire. Ces plates-formes sont actuellement utilisées avec succès par les différents laboratoires du projet CellSens.

Associée à ces plates-formes, l'utilisation d'un outil de microscopie bi-modale permet d'apporter des informations structurales et fonctionnelles complémentaires. Dans la mesure où cette sonde devait être implémentée aux appareils existants de SECM et ECSTM, il a fallu résoudre certains problèmes technologiques. Tout d'abord, le contact devant se faire « backside », l'emploi de silicium hautement dopé a permis de réaliser un contact ohmique suffisant pour l'obtention d'images STM et ECSTM ainsi que de bons comportements électrochimiques. Pour des raisons de temps, nous n'avons pas pu tester ces pointes hautement dopées en configuration SECM. D'autre part, l'utilisation de silicium hautement dopé nous a permis de démontrer sa possible structuration par attaque anisotrope et d'améliorer l'acuité des pointes jusqu'à un rayon de courbure de 60 nm. Enfin, par une méthode de lift-off développée initialement pour des structures planaires, il a été possible de métalliser ces pointes tout en évitant la formation de siliciure de platine.

Concernant la résolution des SECM et ECSTM, il a été nécessaire de réduire considérablement la surface des électrodes préalablement développées dans le contexte de l'électrophysiologie. Initialement de $600 \mu\text{m}^2$, la surface a été ramenée à $85 \mu\text{m}^2$, ce qui permet de conserver une sensibilité raisonnable tout en améliorant les résolutions déjà obtenues en SECM. Une solution alternative a été également développée en adaptant une technologie pour la microfabrication de micro pipettes. L'épaississement des couches isolantes et l'électrodéposition de métal permettent également dans ce cas là de réduire la taille de la sonde à $22 \mu\text{m}^2$.

Les différents résultats obtenus ont démontré l'intérêt de l'ensemble de ce développement pour la mise au point d'une plate-forme de détection électrochimique et la sonde de SECM et ECSTM combinées. Les images obtenues sont de bons présages quant à l'intégration des deux types de microscopies au sein d'un même système. La combinaison topographie obtenue en mode tunnel - carte chimique en mode électrochimique, complémentaire des microscopies à force atomique ou optique en champ proche permettront d'élargir la caractérisation d'un substrat inerte ou biologique en fonction des propriétés physico-chimiques étudiées.

6 Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Prof. Milena Koudelka-Hep, pour m'avoir donné l'opportunité de venir en Suisse pour faire une thèse en microtechnique. Quoi de plus habituel quand on vient des Neurosciences ?! Ses qualités scientifiques et humaines m'ont permises d'acquérir de nouvelles compétences en peu de temps pour aboutir à ce manuscrit.

Je remercie les membres du comité de thèse, Prof. Nico F. de Rooij et Prof. Hans Siegenthaler pour leur soutien et leur expertise dans l'évaluation de ce travail.

Une partie de ces résultats provient de la collaboration que nous avons eue avec le groupe de Hans de l'université de Berne. Je voudrais le remercier sincèrement de son expertise et de son encouragement pour que nous puissions implémenter nos électrodes au niveau du STM. J'y associe également le principal acteur STM et ECTSM, Nicolas Eichenberger, qui s'est démené nuit et jour ... oserais-je dire ... pour encapsuler ces pointes, les empalées sur ses substrats mais aussi obtenir de très bonnes images entre deux apéros ! Merci à toi Nicolas et bonne chance pour ta fin de thèse.

Je voudrais également remercier les différents membres du groupe de Milena, Luca, Olivier et Peter avec qui les interactions ont toujours été bénéfiques et amicales. Côté salle blanche, je voudrais remercier Sylvain pour avoir dit certaines fois « oui » après avoir dit « non » !, Gianni, le plus grand magicien et conteur de fable de la salle blanche ... et surtout le plus grand financier : le plus

bas prix pour une dépo' de Pt, c'est 500 ! ... tu dois avoir d'autres origines !, Edith, la crème des crèmes mais en qui sommeille un véritable dragon (petit dragon...) : je vais te manquer, hein !? ... et bien toi aussi !, Clairon, un p'tit DRIE entre deux surfs, José, « y'a un problème ! —j'arrive tout de suite ! », Pierre-André (bientôt, on ne va plus te voir derrière tes moustaches !!!), Sabina, Nicole, toujours aux petits soins pour les métaux et attaques, et Sylviane, Madame Sciage-Encapsulation pour tout le travail que je lui ai épargné en encapsulant les pointes moi-même. Merci Florence pour le travail vite fait et bien fait aussi.

Je remercie également les anciens de l'IMT avec qui les contacts sont allés bon train, Jean-Charles, Jan, le James Bond germain, Laura, « viva Italia », Sabeth, Arash dont les gestuelles resteront gravées dans nos mémoires, et Eva, la petite bretonne, oh salut te revoilà ??

Les fous du bureau et des alentours ne manqueront pas d'éloges car ils me manqueront : Gian-Luca, ah Gian, quel bel ... italien sans qui les discussions diverses et variées n'auraient pas pu être ce qu'elles ont été, hautes en couleur et en émotions, c'est indubitable (?????... j't'expliquerai), Seb ... « Eh ! Seb ! ...non rien », le plus grand rêveur de Mars, Laure, lancez lui un puck, elle vous le ramène « hélico-presto », Miss Gadget sous le nom d'Alexandra, Giovanni, « heureusement que tu n'étais pas dans mon bureau ! », Kaspar (et Sylvia), « méfies-toi, ça surchauffe là-bas en haut ! », et Quyên, un concentré de femme dans un petit bout de chou !

Les « un peu moins fous » nouvelle équipe des doctorants et invités de l'IMT, toujours prêts à rendre service et organiser des sorties : Averel, Patrick, Maurizio, Anpan, Thomas H., Tobias, Thomas O., Daniel, Yves, Anna Maria, Winston et Mickael.

Merci également à Teru pour toutes les brillantes idées qui simplifient la vie !, Danick, pour les quelques pucks échangés sur la glace, Philippe, pour les conseils avisés pour la meilleure station de ski, Raphaël ... « la modification de générique n'est plus un secret pour toi ! », Sander, « quels progrès en français !!! », Andreas, « s'il te plait un peu moins au téléphone », Wilfried, « si peu de progrès en français ! », Claudio, « merci pour les coups de main et les blagues du matin ! », Urs, le roi du réconfort !, et les acteurs de la microscopie : Massoud, « tu vas un jour te retrouver avec ton bureau à l'envers ! », et Mireille, toujours joyeuse et jeune dans sa tête.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin, amis ou proches, et mon épouse et mes enfants qui m'ont embelli la vie et soutenu.