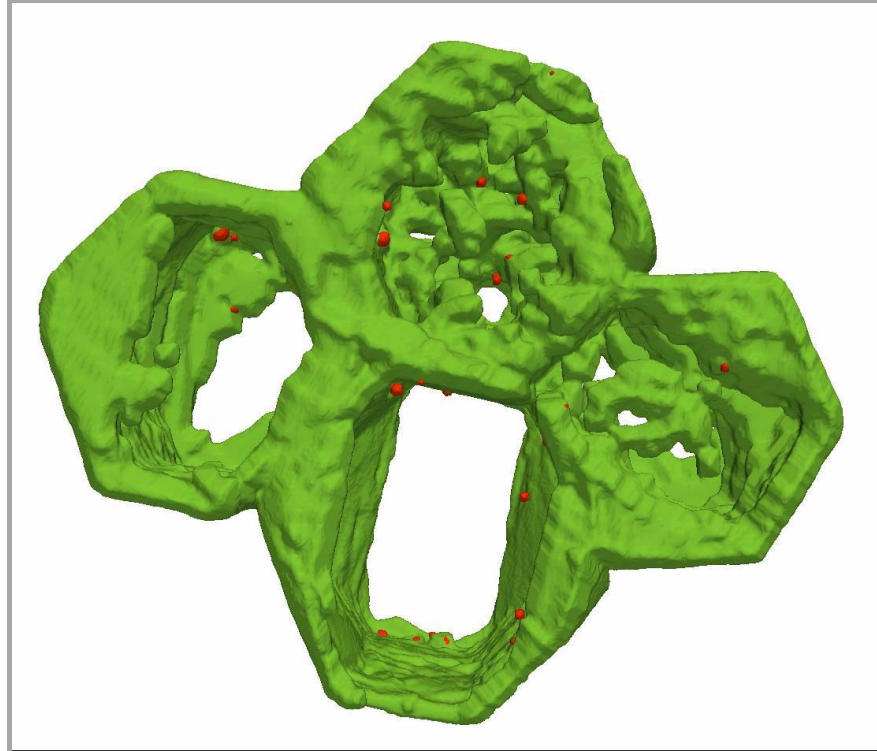


# Tomographie Électronique



**Thierry EPICIER**

[thierry.epicier@insa-lyon.fr](mailto:thierry.epicier@insa-lyon.fr)

*Université de Lyon, MATEIS, umr CNRS 5510, INSA-Lyon / UCBL,  
Bât. B. Pascal, F-69621 Villeurbanne Cedex, et IRCELYON, umr CNRS  
5256, Université Lyon I, F-69626 Villeurbanne Cedex*

# *Plan du cours*

<b>1. La Tomographie Électronique : pourquoi, comment ?</b>	p.3
1.1. Nécessité d'analyses tridimensionnelles	p.4
1.2. Différents types de "tomographie"	p.6
1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux	p.22
<b>2. Tomographie 'tiltée' dans un Microscopie en Transmission</b>	
2.1. Principes généraux	p.38
2.2. Reconstruction tomographique : principes algorithmiques	p.39
2.3. Reconstruction tomographique : illustrations	p.46
2.4. Synthèse : quelques chiffres	p.49
2.5. Réglages et ajustements expérimentaux	p.50
2.6. Visualisation et analyse des tomogrammes	p.56
<b>3. Applications</b>	p.57
3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)	
3.2. Développements actuels	p.65
3.3. Tomographie en mode basse tension (MEB)	p.69
3.4. Sonde Atomique Tomographique	p.81
3.5. Tomographie en mode environnemental	p.85

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## Tomographie médicale

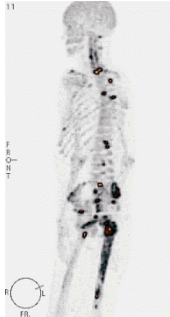


IRM, Tomodensitométrie (scanner),  
émission de positons, échographie  
<http://www.doctissimo.fr/html/>

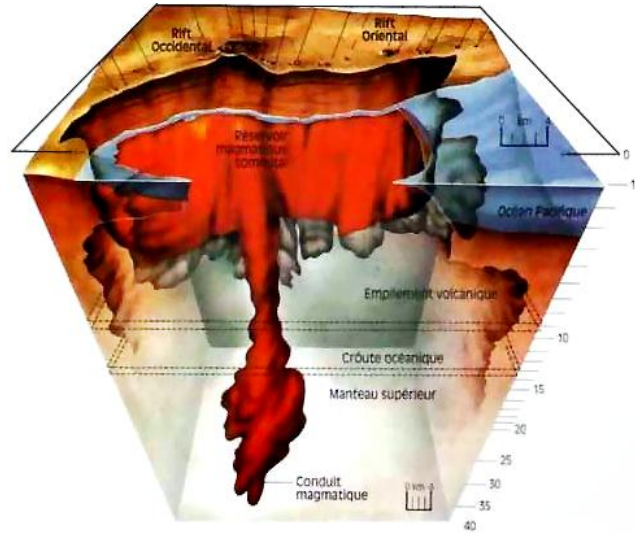


[www.inserm.fr](http://www.inserm.fr)

[d-mariano\\_goulart@chu-montpellier.fr](mailto:d-mariano_goulart@chu-montpellier.fr)

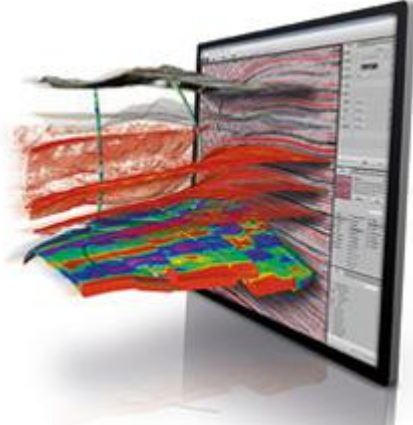


## Tomographie sismique



système d'alimentation magmatique du volcan  
Kilauea à Hawaii  
<http://voyage.hawaii.free.fr/volcans/volcans.htm>

## Tomographie minière et gisements



<http://www.vsg3d.com>

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.1. Nécessité d'analyses tridimensionnelles

### a) des "microstructures"

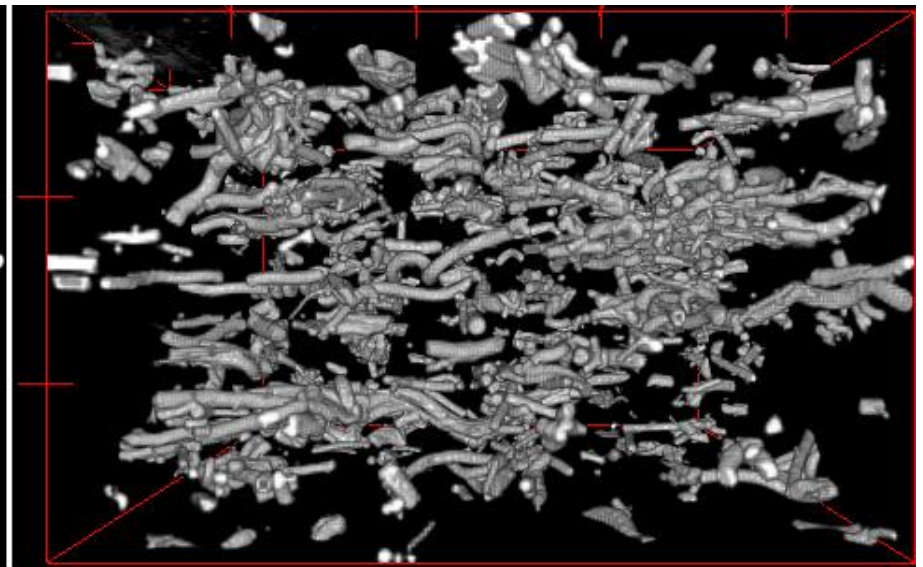
*Image MEB numérisée*

Fraction volumique de renforts ?

Forme et distribution des renforts ?



Reconstruction 3D à partir d'une  
séquence d'images *FIB*



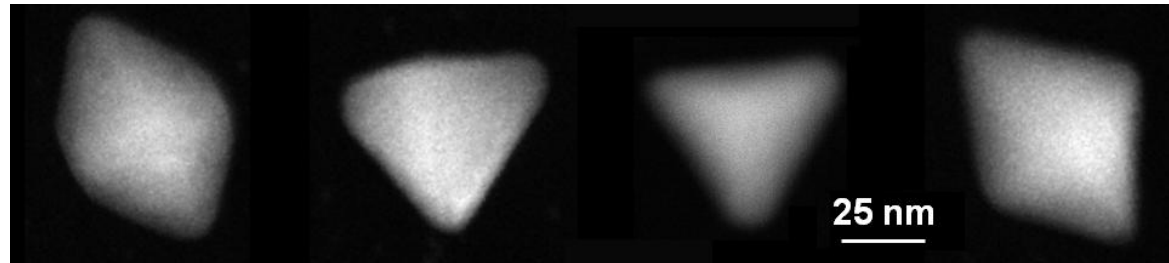
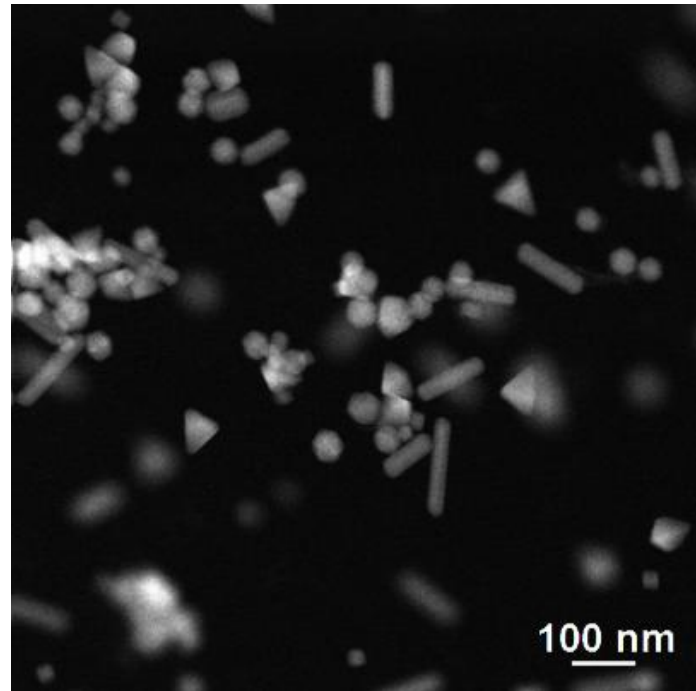
**Nanocomposite polymère** : matrice de polyurethane (PU) renforcé par 5 % poids de nano-filaments  $\text{Fe}_3\text{C}@C$

[V. SALLES et al., *Sensors and Actuators A*, **211** (2014), 105-114]

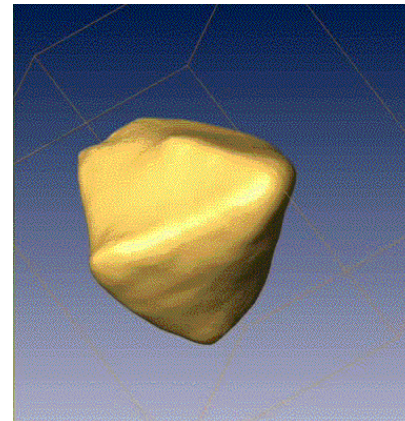
# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.1. Nécessité d'analyses tridimensionnelles

### b) des "morphologies"



**Bipyramide Pd**



**NanoParticules de Palladium** : bâtonnets à prisme pentagonal, cuboïdes, bi-pyramides

[S. BENLEKBIR et al., *Phil. Mag. Letters* **89** 2 (2009), 145-153]

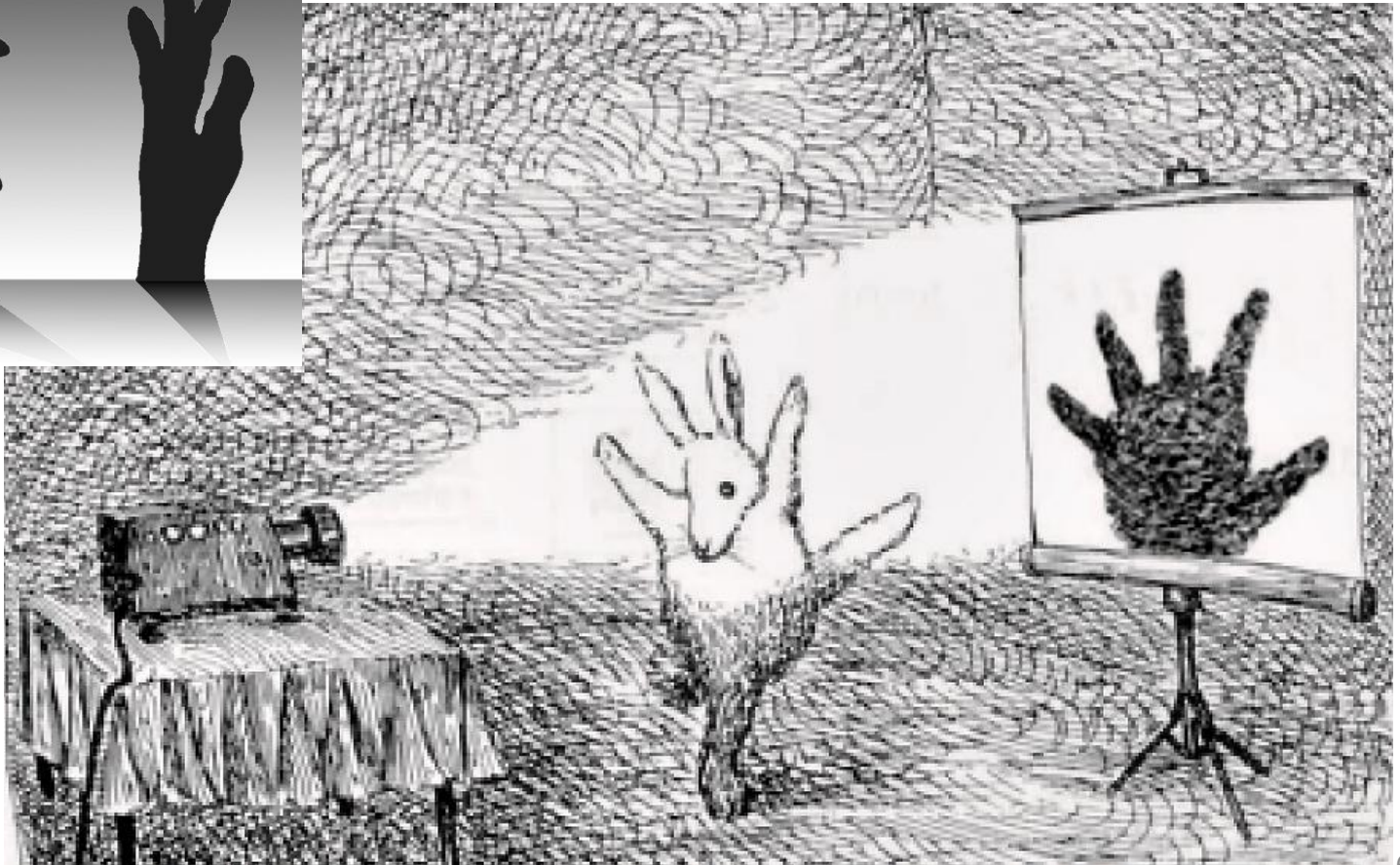
# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.2. Différents types de "tomographie"

a) *Préliminaire : a-t-on toujours besoin de "tomographie" pour obtenir l'information tridimensionnelle recherchée ?*



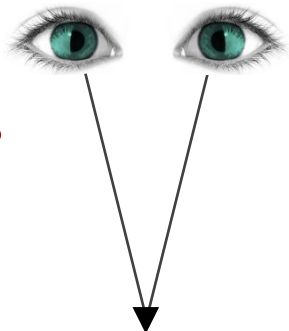
rotation 90°



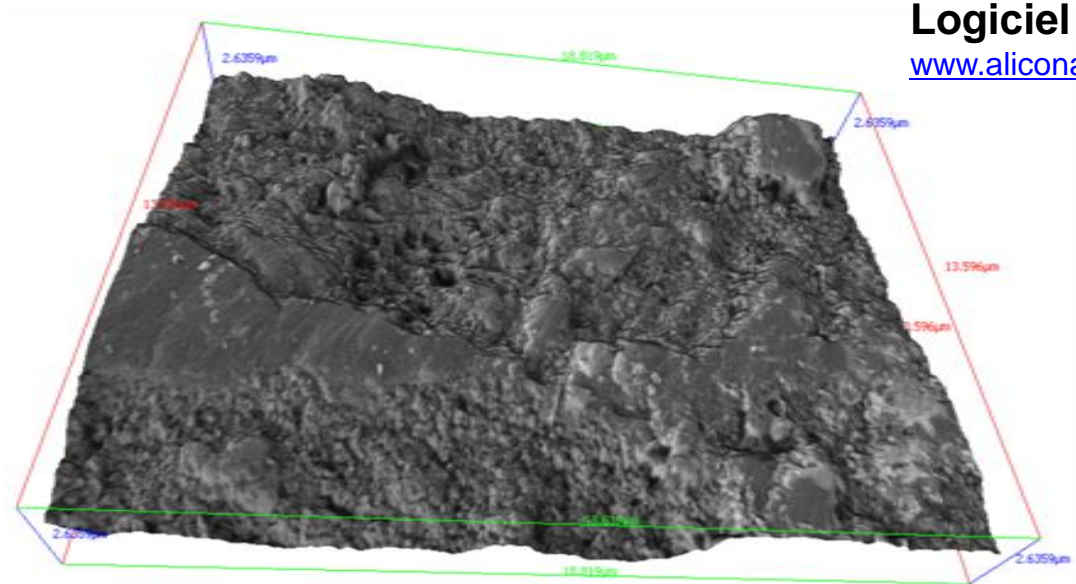
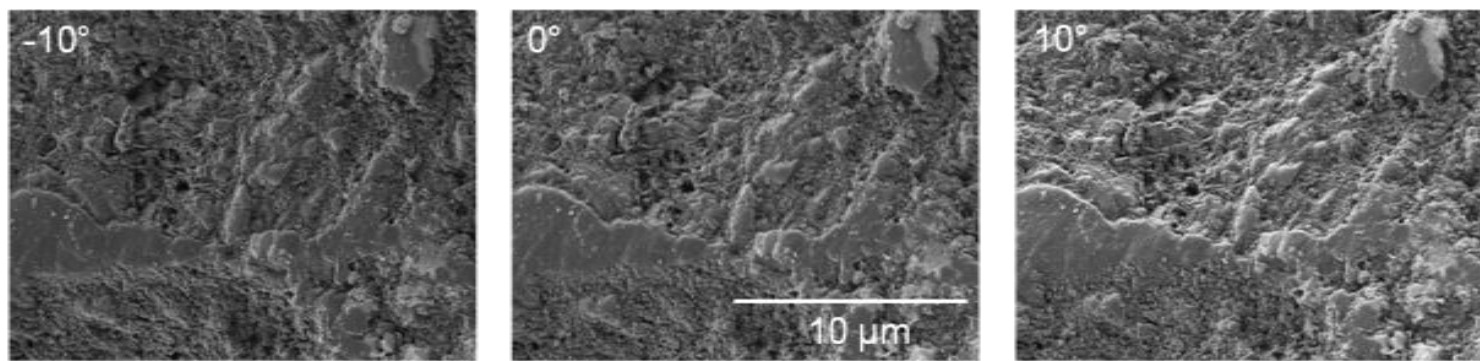
Hand Shadows To Be Thrown Upon The Wall, Henry BURSILL (pub. GRIFFITH and FARRAN, 1859)

a) **Préliminaire : a-t-on toujours besoin de "tomographie" pour obtenir l'information tridimensionnelle recherchée ?**

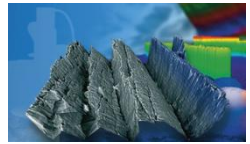
**Reconstruction stéréoscopique en 3D de surfaces**



**Images MEB (SE) d'un faciès de rupture d'un minéral (serpentine)**  
[thèse H. YUAN, INSA, en cours]

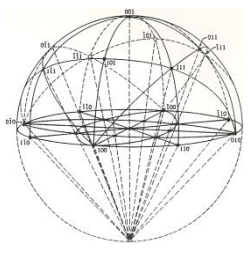


**Logiciel MEX<sup>®</sup> alicona**  
[www.alicon.fr/home/produits/mex.html](http://www.alicon.fr/home/produits/mex.html)



• Quelques idées naïves...

1) La projection stéréographique

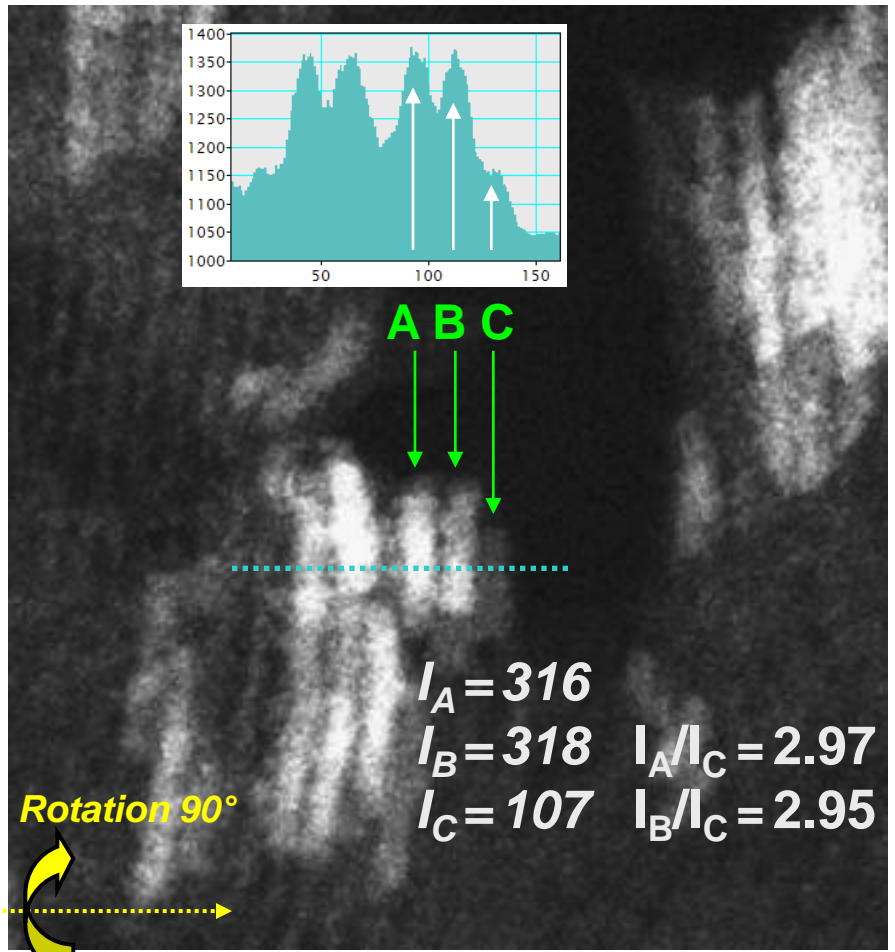
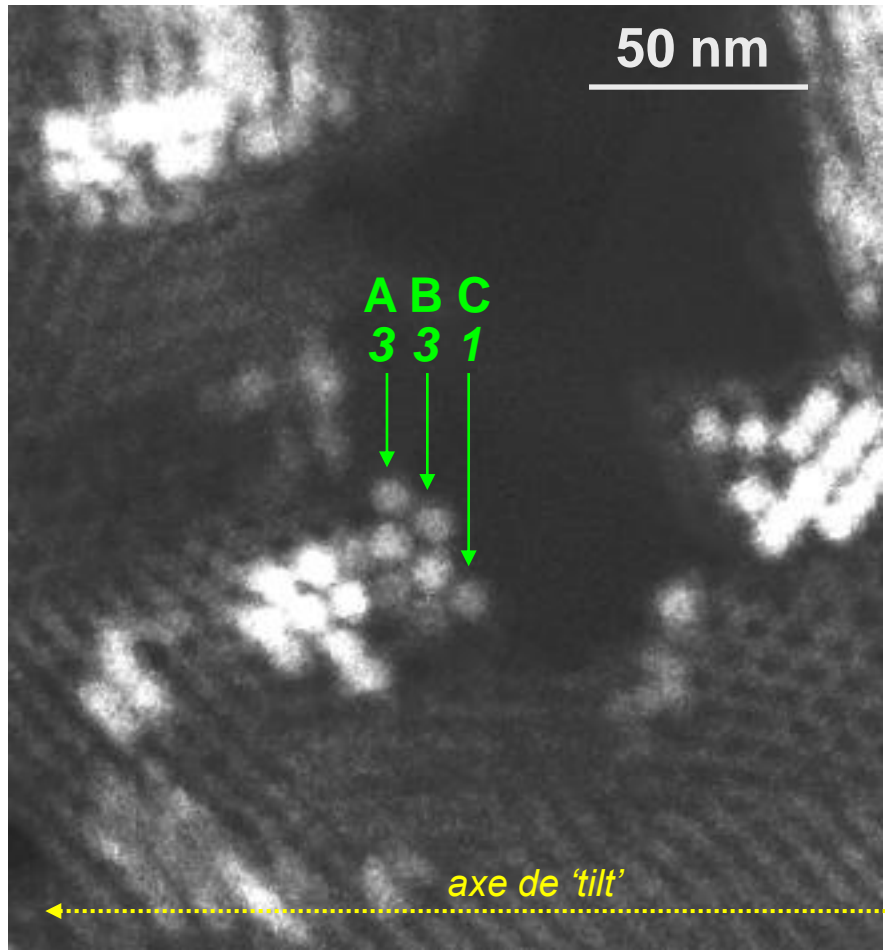


2) une grande inclinaison...

**silice mésoporeuse SBA 15 - HPA**  
**(W, P, O: H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>)**

mésopores (2-10 nm) debout (**STEM-HAADF**)

*vue à plat*



(échantillon V. DUFAUD, LC - ENS Lyon)

**tilt -28°**

**tilt 62°**

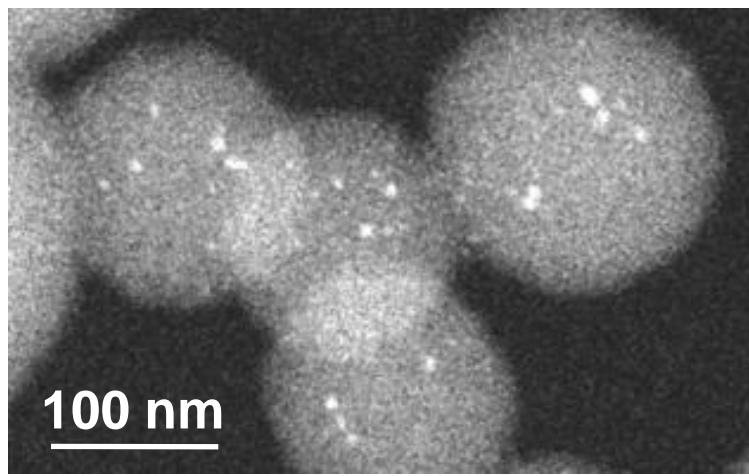


● **Stéréoscopie généralisée**

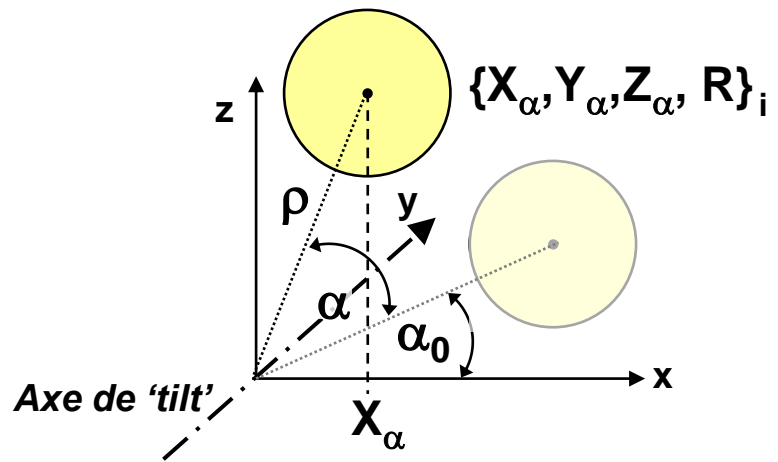
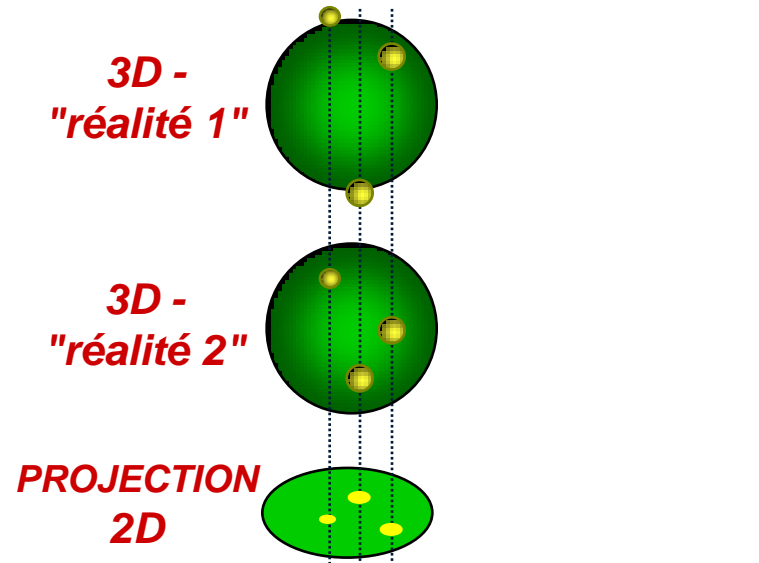
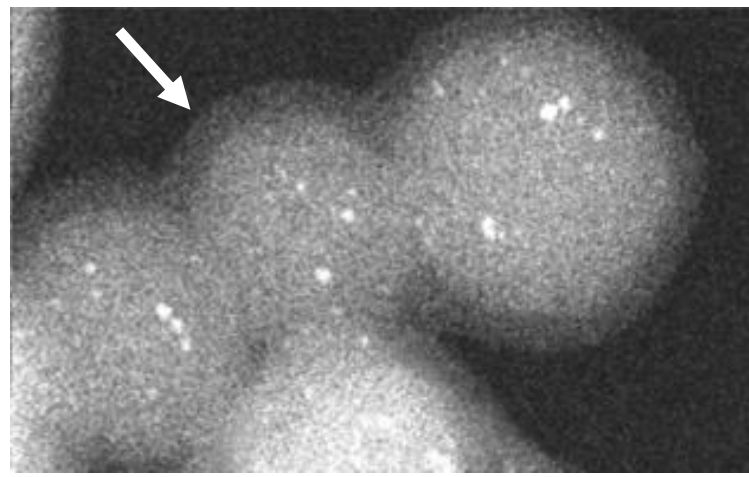
**Nano-composites hybrides Au@SiO<sub>2</sub>**

[S. BENLEKBIR, thèse, *INSA-Lyon*, (2009)]  
 [M. MARTINI, thèse, *Université-Lyon I*, (2010)]

'tilt' -65°



**Essai de tomographie (pas 2°)**  
 'tilt' 15°  
 après 20'

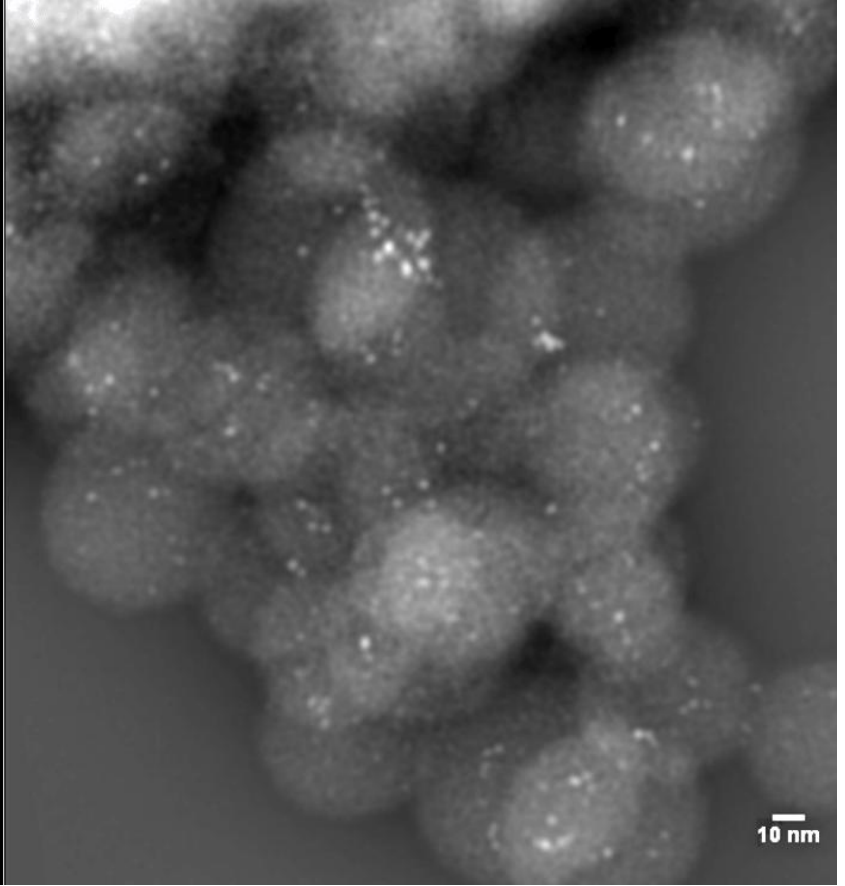
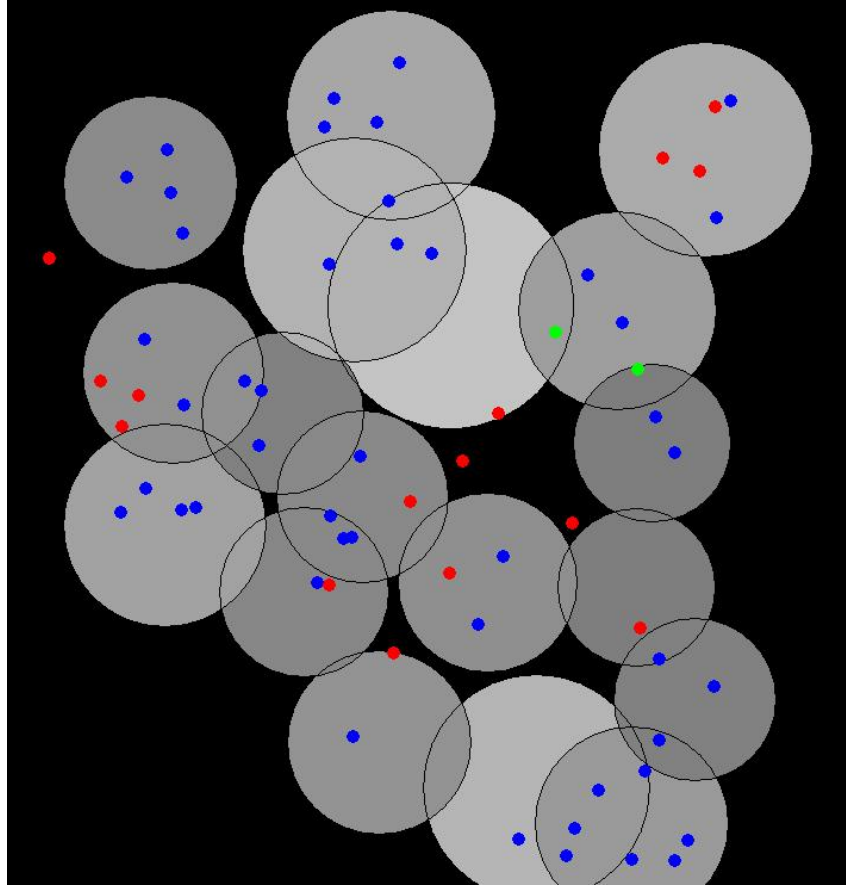


'Fit' linéaire des trajectoires projetées  
 $X_{\alpha_i} = f(\alpha) : X_{\alpha} = \rho \cos[\alpha + \alpha_0]$   
**et détermination des positions 3D**  
 $\{X_0, Y_0, Z_0\}_i$

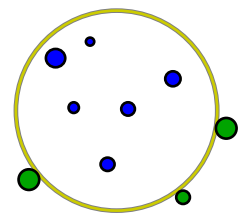
● Stéréoscopie généralisée

Nano-composites hybrides Au@SiO<sub>2</sub>

Images 73.5° / 66° / 58.5° / 51° / 43.5° / 36° / 28.5° / 21° / 13.5°



NPs d'or  
INTERNES



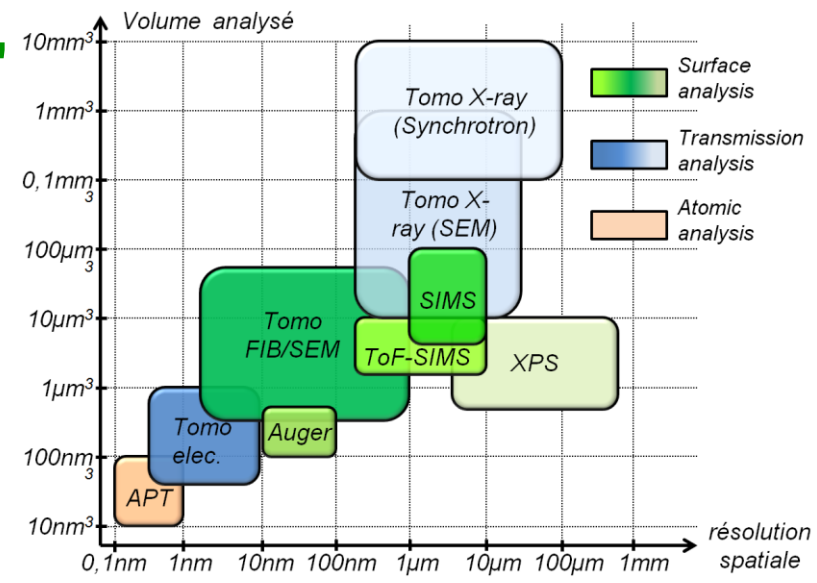
billes SiO<sub>2</sub>

NPs d'or  
EXTERNES

● NPs d'or mal positionnées

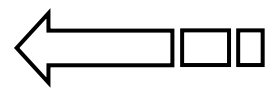
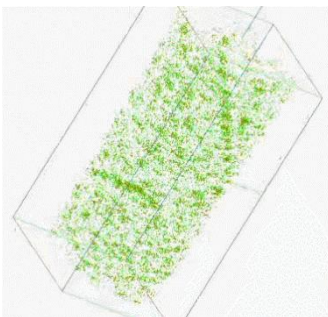
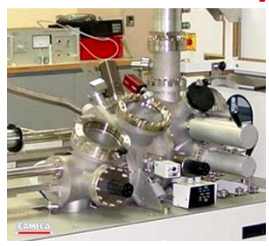
# 1.2. Différents types de "tomographie"

*b) Une large gamme de techniques pour une large gamme d'échelles*

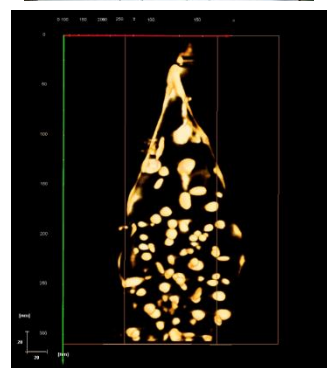


Å

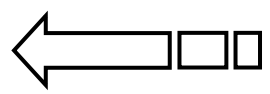
**Sonde Atomique  
Tomographique /  
Microscopie Ionique  
à Effet de Champ**



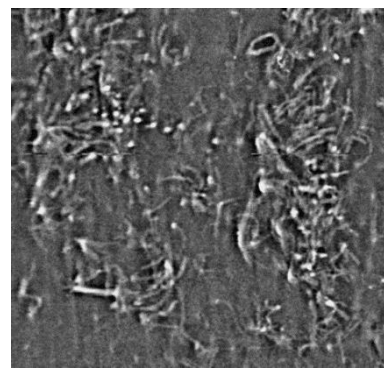
**TEM**



nm

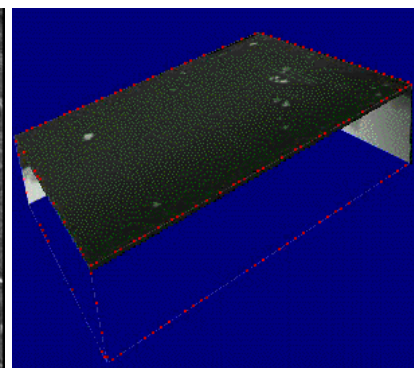


**SEM / FIB**



µm

**Tomographie  
aux Rayons-X**

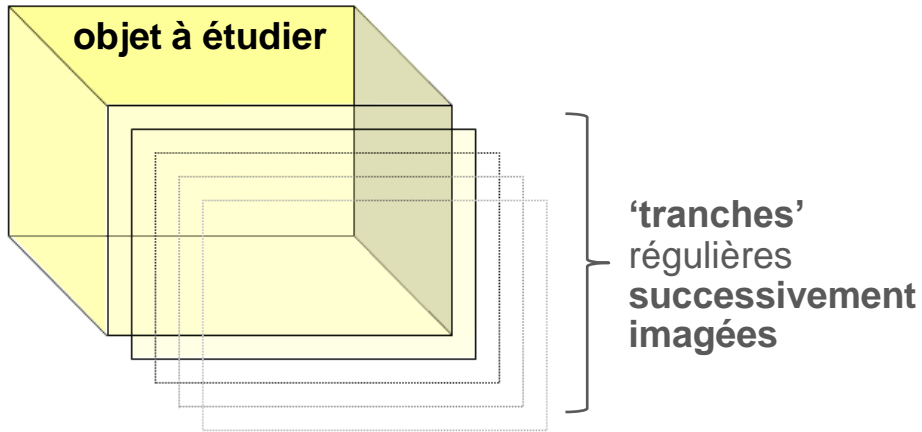


# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.2. Différents types de "tomographie"

### c) Principes de "tomographie"

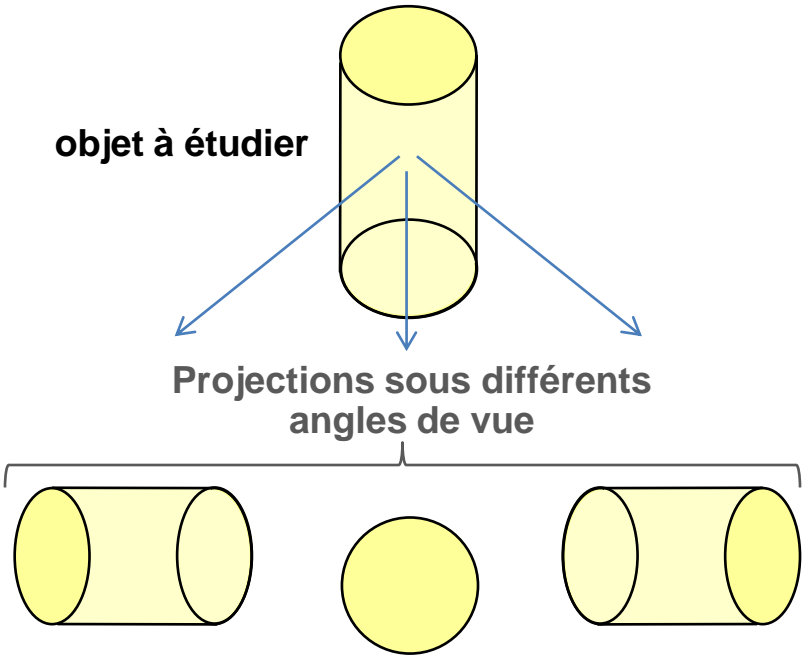
- Approche de type "Slice-and-view"



**Découpe physique**  
(ultra-microtome, **FIB**, polissage, sonde atomique)

ou  
**Découpe virtuelle**  
(microscopie 'confocale')

- TOMOGRAPHIE 'TILTÉE'



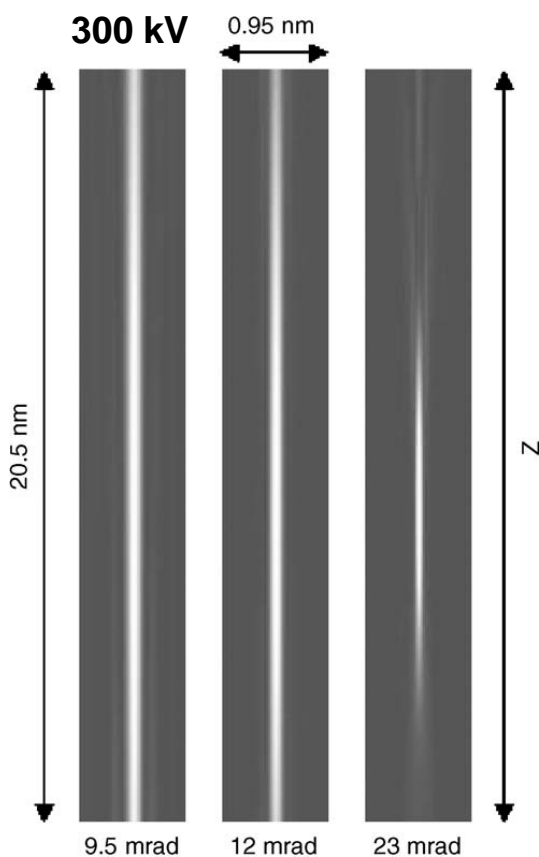
**L'objet tourne**  
(**MET**, **SEM**, **Rayons-X**)

ou  
**Le détecteur tourne**  
(**IRM**, **PET**)

- Approche de type "Slice-and-view"

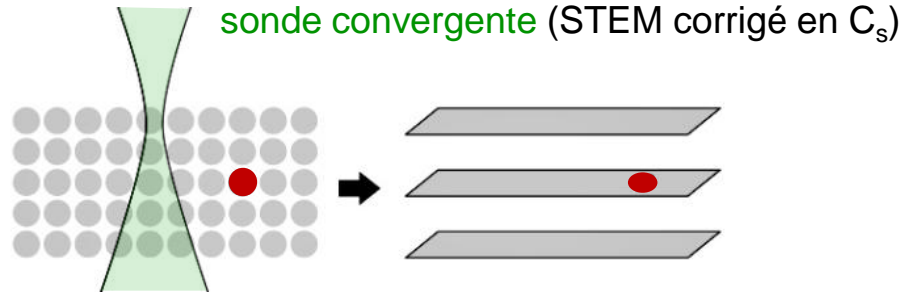
## STEM 'confocal'

La profondeur de champ  $\Delta Z$  diminue si l'angle de convergence  $\alpha$  augmente

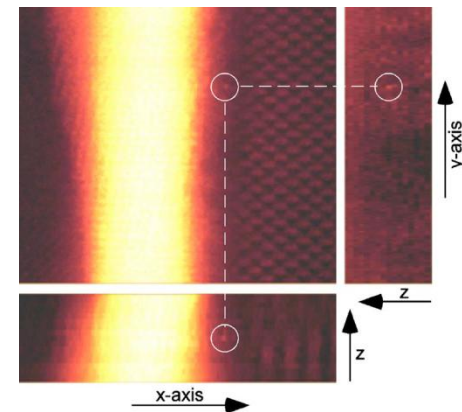
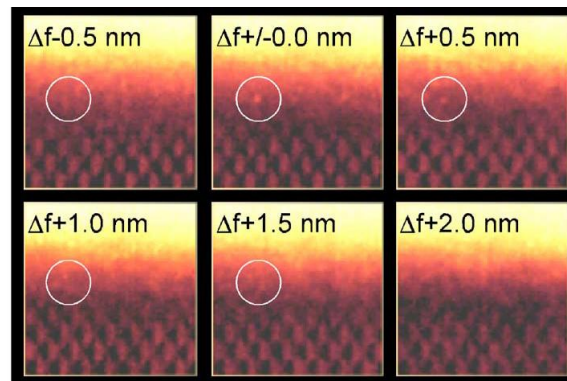


$$\Delta Z \approx \frac{\lambda}{\alpha^2}$$

$\lambda$  : longueur d'onde



[K. VAN BENTHEM et al., *Appl. Phys. Lett.*, **87** (2005), 034104]



[K. VAN BENTHEM et al., *Ultramicroscopy* **106** (2006) 1062–1068]

**Transistor : Si/SiO<sub>2</sub>/HfO<sub>2</sub> interface** (Diffusion Hf dans la couche amorphe)

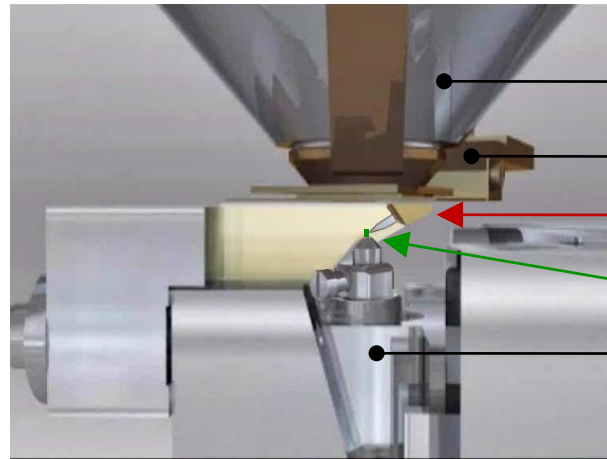
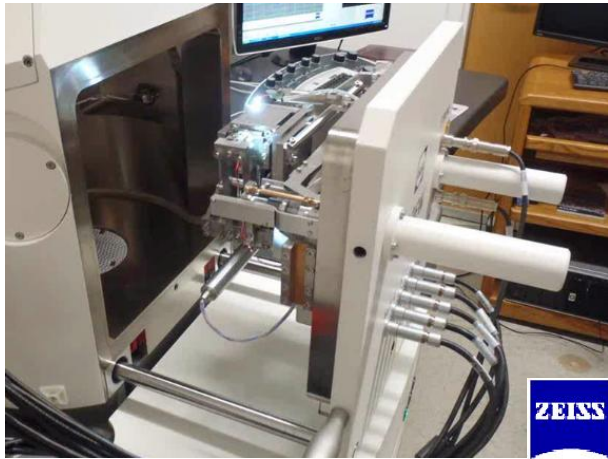
[H.L. XIN, D.A. MULLER, *J. Electron Microscopy*, **58** 3 (2009), 157-165]

[P. VAN DEN BROEK et al., *Ultramicrosc.*, **110** (2010) 548-554]

## ● Approche de type "Slice-and-view"

### Découpe contrôlée par ultra-microtomie

Dispositif 3D View<sup>®</sup> GATAN (3D Serial Blockface imaging dans un MEB)



Lentille objectif

Détecteur EBS

Ultramicrotome

Échantillon

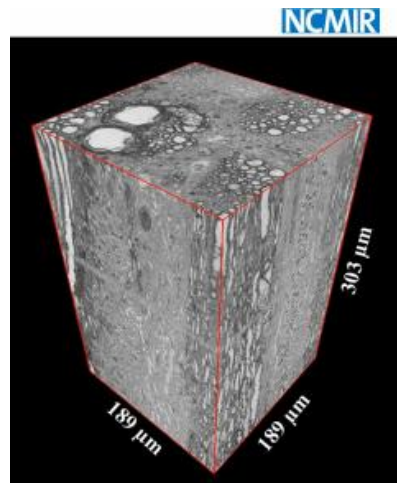
Platine

[www.zeiss.ca/microscopy/fr\\_ca/produits/scanning-electron-microscopy/sigma-life-sciences.html](http://www.zeiss.ca/microscopy/fr_ca/produits/scanning-electron-microscopy/sigma-life-sciences.html)

### Épaisseur élémentaire des découpes 15 - 200 nm

Basse tension pour faible profondeur de pénétration en Z

'low vacuum' ou MEB Environnemental pour éviter les phénomènes de charge (matière biologique)



### Muscle de souris

- Volume 189 x 189 x 303  $\mu\text{m}^3$
- Épaisseur de coupes 50 nm
- Images 4K x 4K
- 6000 images
- Temps d'acquisition : 9 jours

# ● Approche de type "Slice-and-view"

## Tomographie en FIB-SEM

[DUNN D. N., HULL R. *Applied Physics Letters*, 75 (1999) 3414-3416]

[INKSON B.J. et al., *Scripta Materialia*, 45 (2001) 753-758]

[L. HOLZER et al., *J of Microscopy*, 216 1 (2004) 84-95.

[L.A. GIANNUZZI et al., p.13-53 dans 'Introduction to Focused Ion Beams: Instrumentation, Theory, Techniques and Practice', Springer, New York (2005)]

[S. CAO et al., *Journal of Microscopy*, 233 (2009) 61-68]

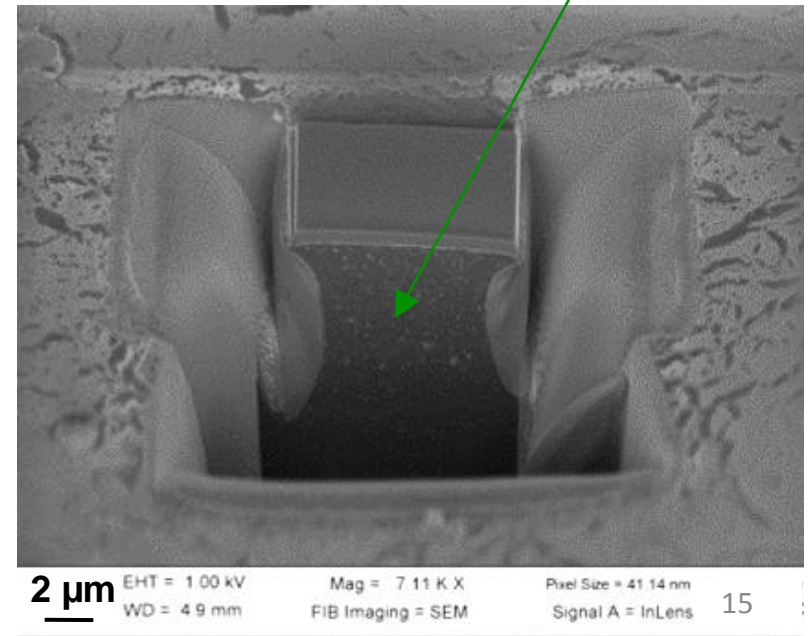
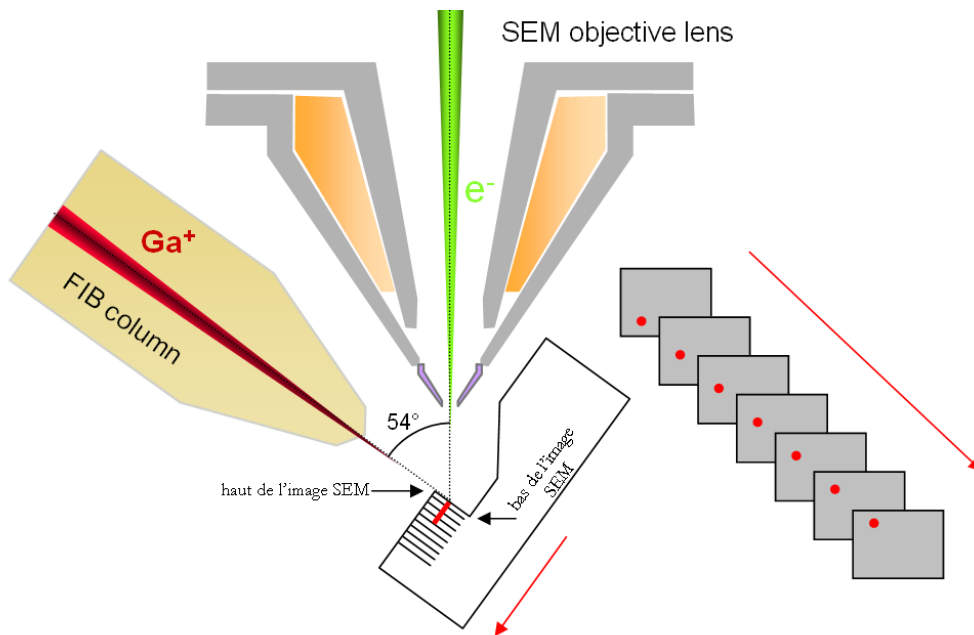
[L. HOLZER, M. CANTONI, p. 410-435 dans 'Nanofabrication Using Focused Ion & Electron Beams - Principles and Applications', Oxford Univ. Press, New York (2012)]

[M. CANTONI, L. HOLZER. *MRS Bulletin*, 394 (2014) 354-360]



Microscope à faisceau d'ions focalisé (FIB) double-colonne ionique / électronique

Surface imagée en MEB et successivement abrasée en FIB



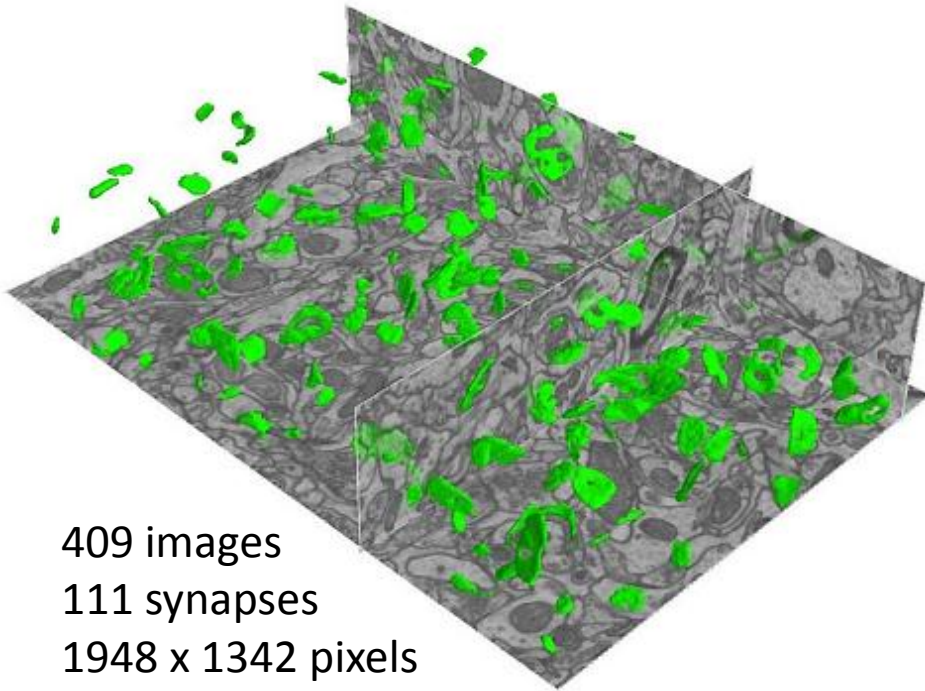
- Approche de type "Slice-and-view"

## Tomographie en FIB-SEM

### ILLUSTRATION 1 : imagerie et reconstruction du cerveau

[G. KNOTT et al., *The Journal of Neuroscience*, **19** 28(12): (2008) 2959-2964]

[SHU X et al., *PLoS Biol* **9**4 (2011): e1001041; doi:10.1371/journal.pbio.1001041]

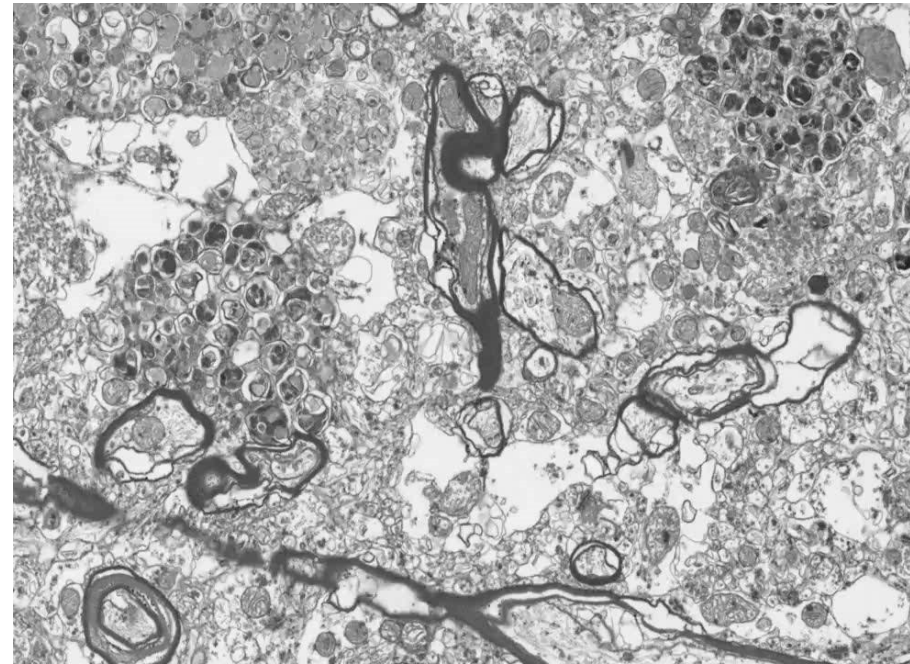


409 images

111 synapses

1948 x 1342 pixels

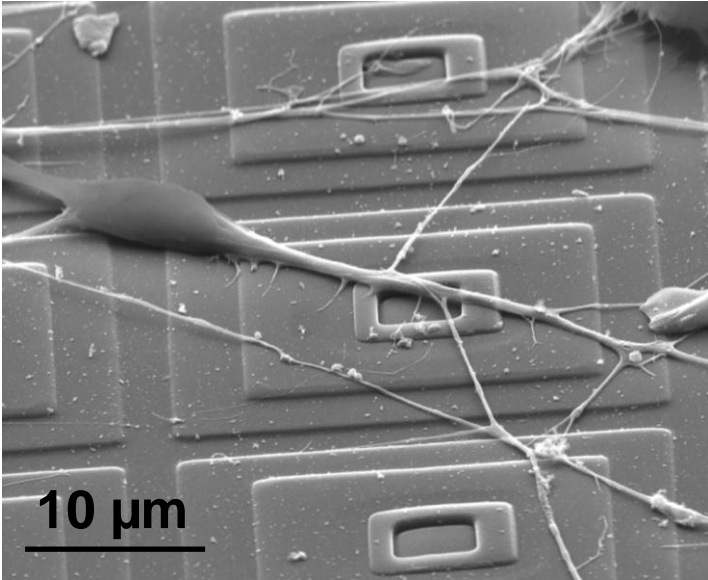
[KRESHUK A et al., *PLoS ONE* **6**(10): e24899 (2011) ; doi:10.1371/journal.pone.0024899]



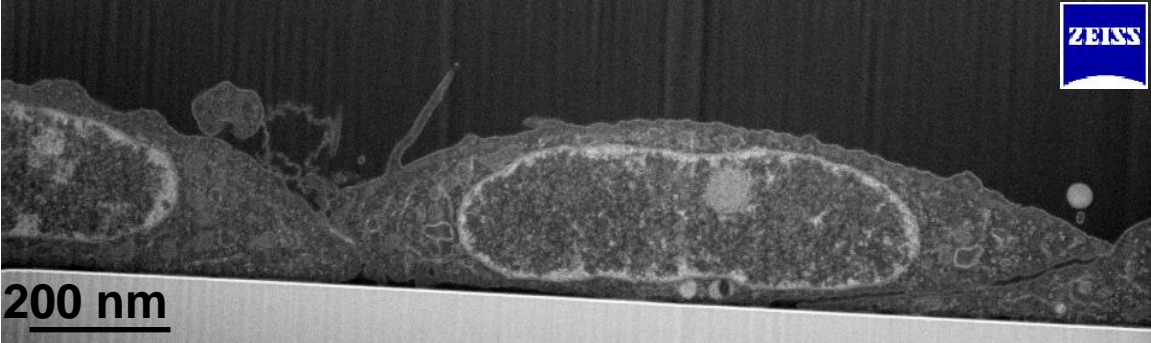
[L. BLAZQUEZ-LLORCA et al., *Journal of Alzheimer's Disease* **34** (2013) 1–5]



# ILLUSTRATION 2 : adhésion cellulaire



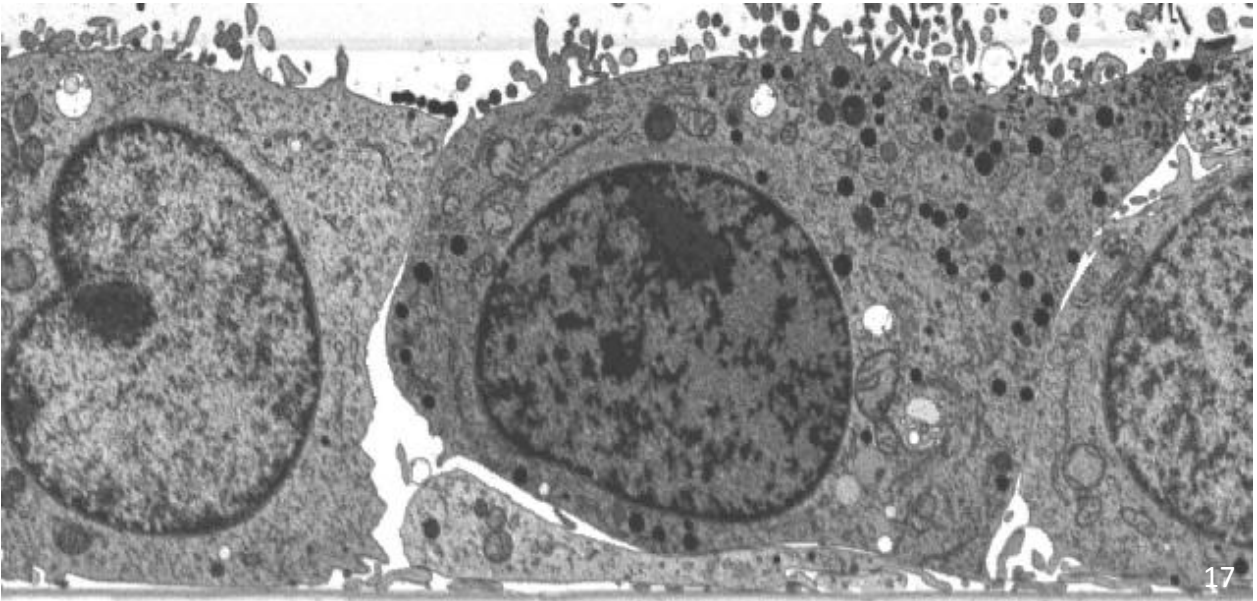
Neurones sur micro-contacts



Fibroblastes sur verre

[R. WIERZBICKI et al., PLoS ONE 8 1 (2013), e53307. doi:10.1371/journal.pone.0053307]

1 μm



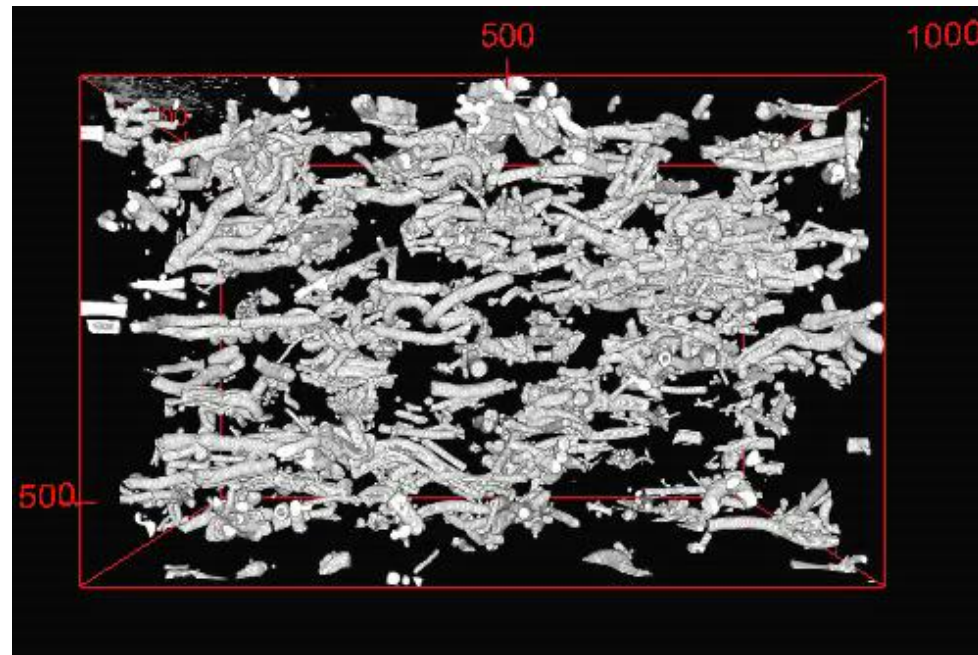
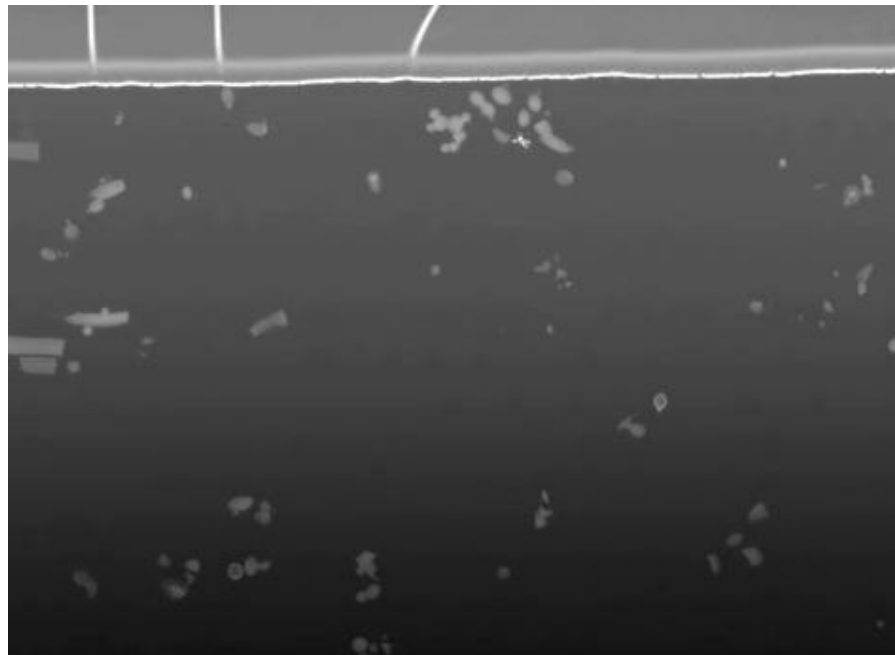
- Approche de *type "Slice-and-view"*

## Tomographie en FIB-SEM

### ILLUSTRATION 3 : polymères nanocomposites

matrice de polyurethane (PU) renforcé par 5 % poids de nano-filaments  $\text{Fe}_3\text{C}@C$

[V. SALLES et al., *Sensors and Actuators A*, **211** (2014), 105-114]

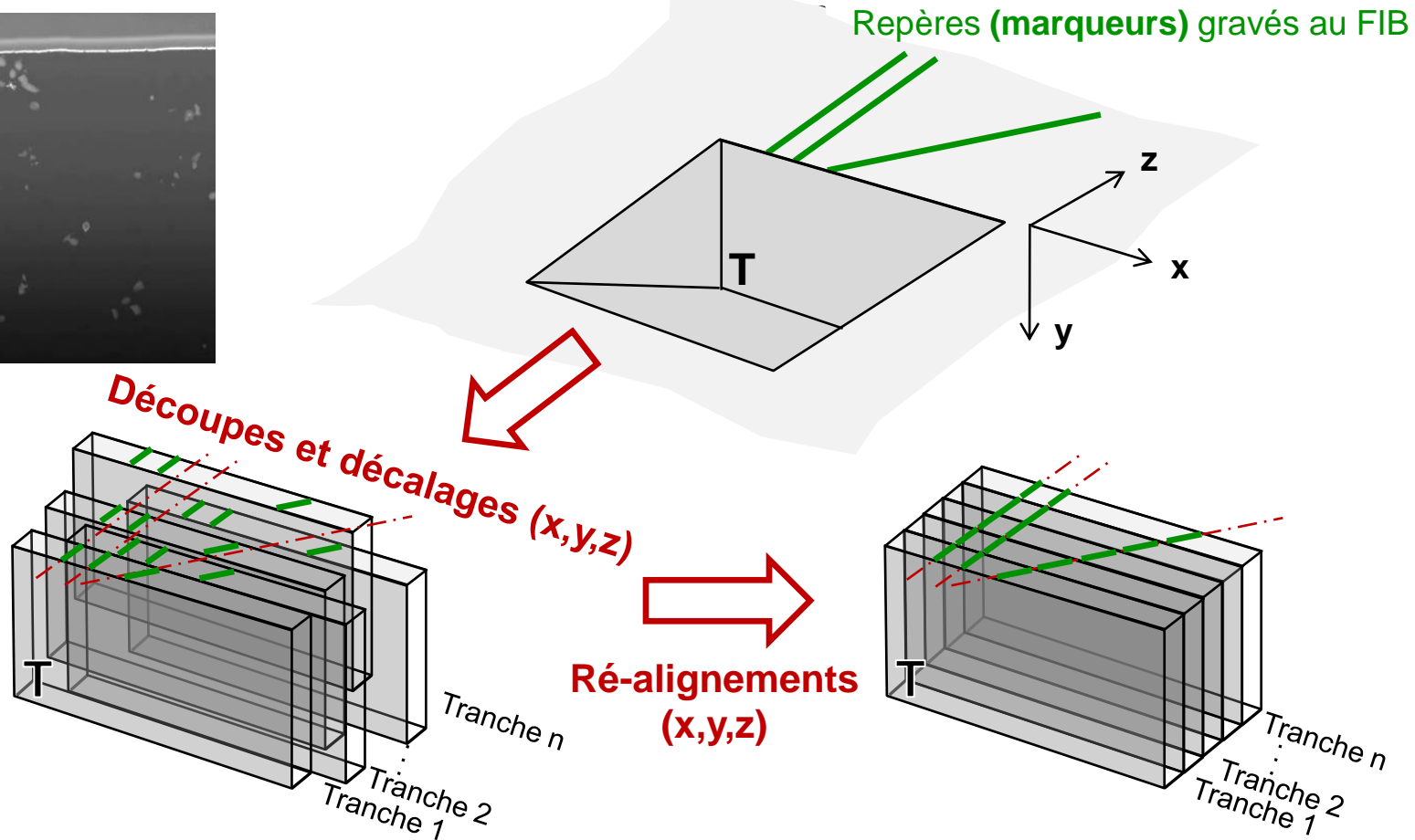
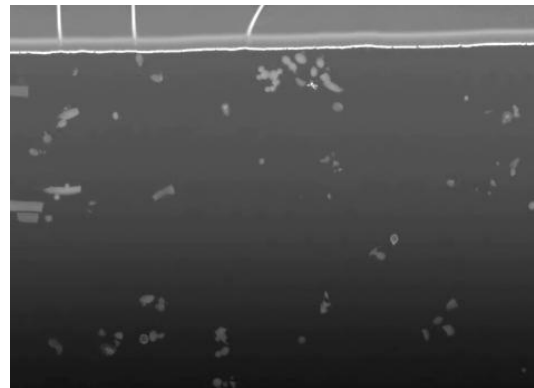


2 μm

760 tranches, épaisseur 20 nm

- Résolution accessible (voxel isotrope) : 3 nm
- volumes typiques en quelques heures à 'un week-end' :  $15 \times 10 \times 10 \mu\text{m}^3$
- *quelques centaines à quelques milliers d'images*

# La problématique de l'alignement des séries d'images en FIB-SEM

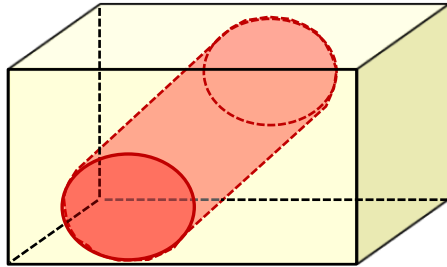


## - Ré-alignement post-mortem de la série d'images : corrélation-croisée utilisant des marqueurs gravés sur la (les) surface(s)

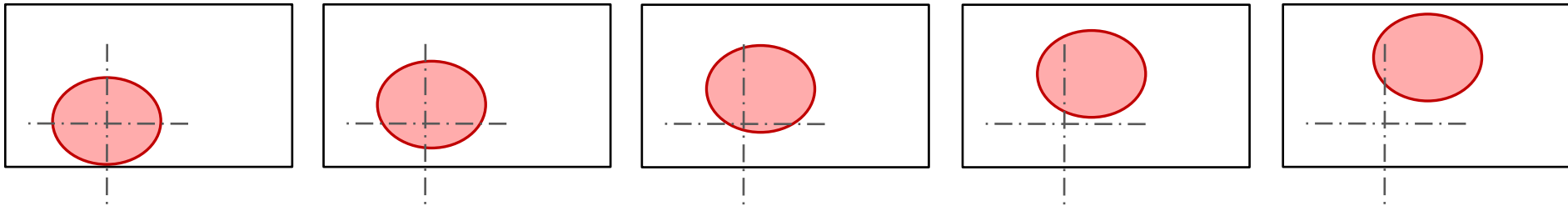
[P. THÉVENAZ et al., *IEE Trans. On Image Process.* **7** 1 (1998) 27-41 ; [P. KOTULA et al., *Microscopy and Microanalysis*, **12** (2006) 36-48 ; C. HOLZAPFEL et al., *Scripta Materialia*, **56** (2007) 697-700 ; F. LASAGNI et al., *Adv. Engineering Mater.*, **10** (2008) 62-66 ; B.J. INKSON et al., *Scripta Materialia*, **45** (2001) 753-758 ; A.V. NAGASEKHAR et al., *Materials Characterization*, **61** (2010) 1035-1042 ; M. SCHAFFER et al., *Ultramicroscopy*, **107** (2007) 587-597 ; S. CAO et al., *Journal of Microscopy*, **233** (2009) 61-68 ; L. HOLZER et al., *J of Microscopy*, **216** 1 (2004) 84-95 ; H. IWAI et al., *J. of Power Sources* **195** (2010) 955-961 ; M.D. UCHIC et al., *Ultramicroscopy* **109** (2009) 1229-1235 ; K. LEPINAY, F. LORUT, *Microscopy and Microanalysis* **19** (2013) 85-92 ; H. YUAN et al., p.135-136 dans 'emc2012', vol. 2, ed. RMS: London, (2012)].

# La problématique de l'alignement des séries d'images en FIB-SEM

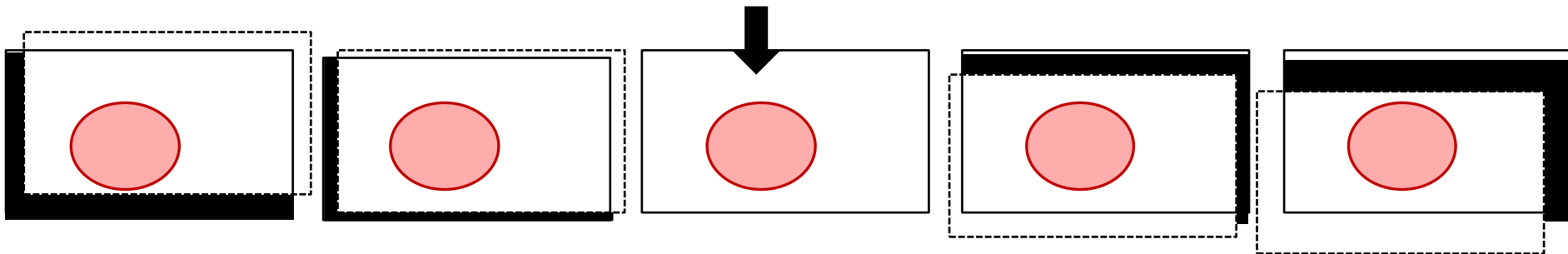
## Danger de l'alignement par corrélation croisée



*tranches successives*

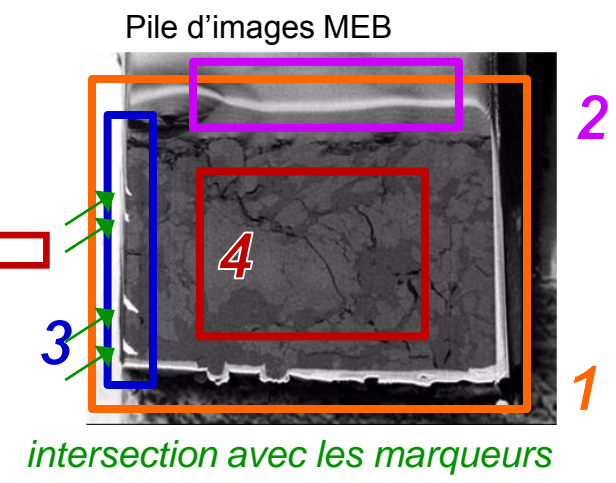
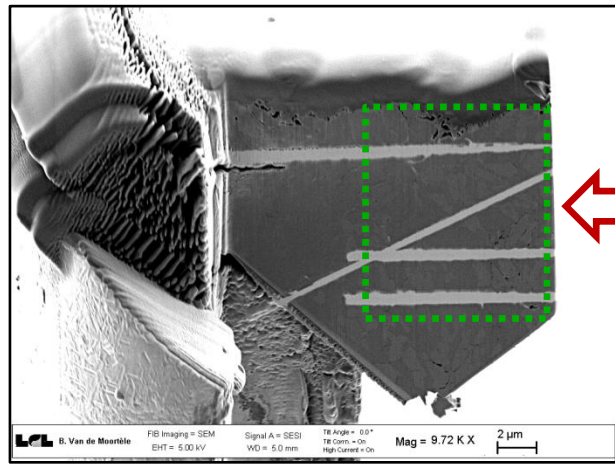
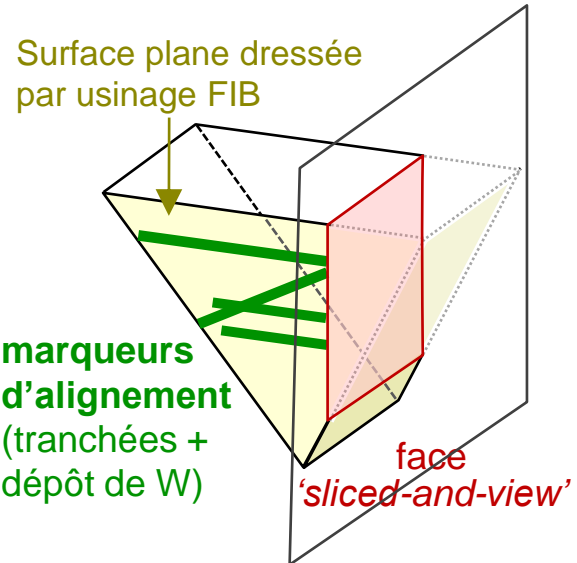


*après alignement*



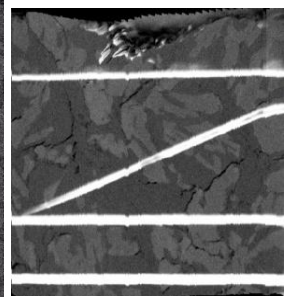
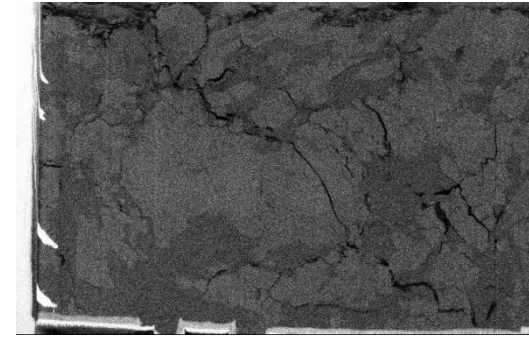
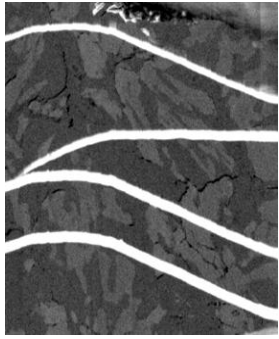
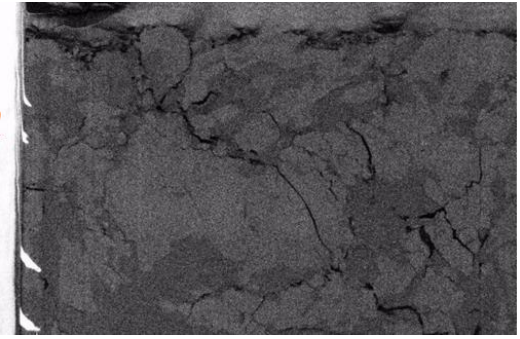
# Dangers :

- La surface n'est pas plane et va être 'aplanie' par l'alignement
- La microstructure elle-même est artificiellement alignée par la corrélation croisée

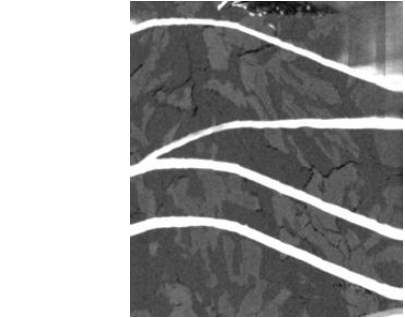
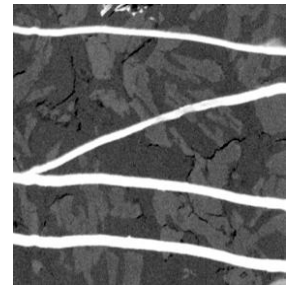


alignement des marqueurs

Corrélation croisée 1

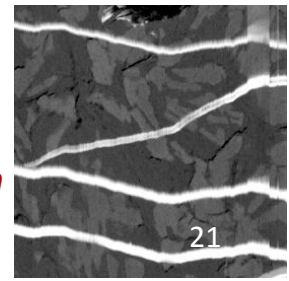


Corrélation croisée 2



Corrélation croisée 3

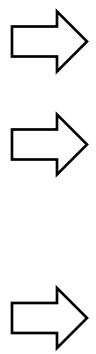
Corrélation croisée 4



# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

Sciences  
de la Vie



Période	Evènement
1917	formulation mathématique de la base de la tomographie par série 'tiltée' : transformée de Radon[3]
1960's	développement de la tomographie aux Rayons-X (Prix Nobel de Médecine en 1979 pour A.M. Cormack et G.N. Hounsfield[4])
1980's	première application d'une technique tomographique en microscopie électronique en Biologie (Prix Nobel de Chimie en 1982 pour A. Klug[5])
1990	premier système commercial permettant l'acquisition de données en TEM (durée environ 4 heures)
1990's	utilisation routinière de la tomographie en Biologie (voir par exemple[6, 7, 8, 9]); automatisation de la tomographie en TEM[10, 11]
2000	première application de la tomographie en TEM en catalyse[12]
2002	développement de la pré-calibration en tomographie électronique[13]
2000's	premières applications de la tomographie en Sciences des Matériaux par STEM-HAADF[15] et par techniques spectroscopiques (EDX et EFTEM)[16]; développement de systèmes commerciaux précis pour l'acquisition des données
2001	premiers essais de tomographie par abrasions successives d'un volume en FIB[17, 18]
2005	stratégies d'imagerie 'confocale' en STEM corrigé de l'aberration de sphéricité[19, 20]
2008	tomographie électronique en SEM[21]
2010's	multiplication des applications de la tomographie en Sciences des Matériaux[22, 23, 24]; approches 3D à l'échelle atomique en STEM-HAADF[25, 26] et par reconstruction HREM[27]; développements de nouveaux algorithmes de reconstruction[28, 29] et programmation ultra-rapide en 'GPU'[30, 31]; approches '4D'[32, 33]

Sciences des  
Matériaux



[T. EPICIER, "Tomographie Électronique", p.83-124 dans 'Imagerie 3D en Mécanique des Matériaux', Pub. traité MIM (Hermès Science), (2014), 400 p.]

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

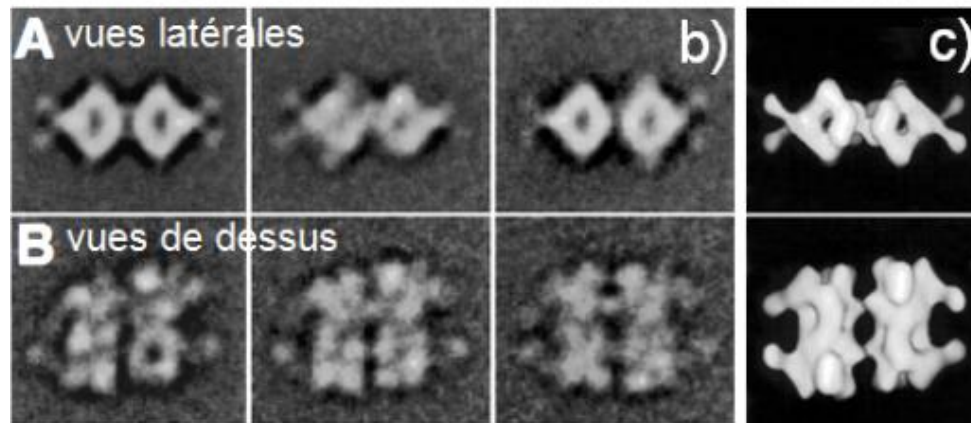
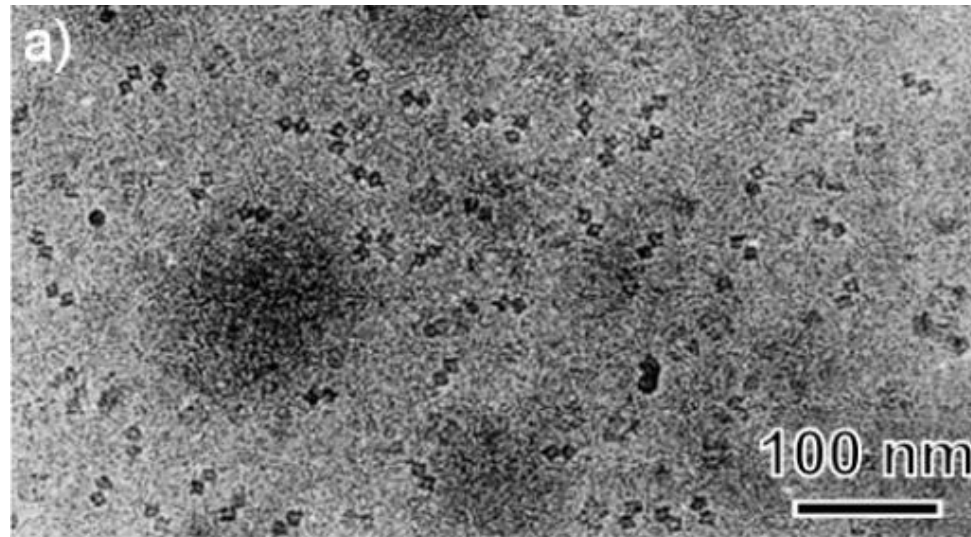
## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

a) *L'avance des biologistes sur les physiciens des matériaux...*

- Principe de la tomographie de la particule unique en biologie

**Immunocomplexes  
en cryo-microscopie  
(glace vitreuse)**

[N. BOISSET et al.,  
*J. Structural Biol.*,  
115 1 (1995)]

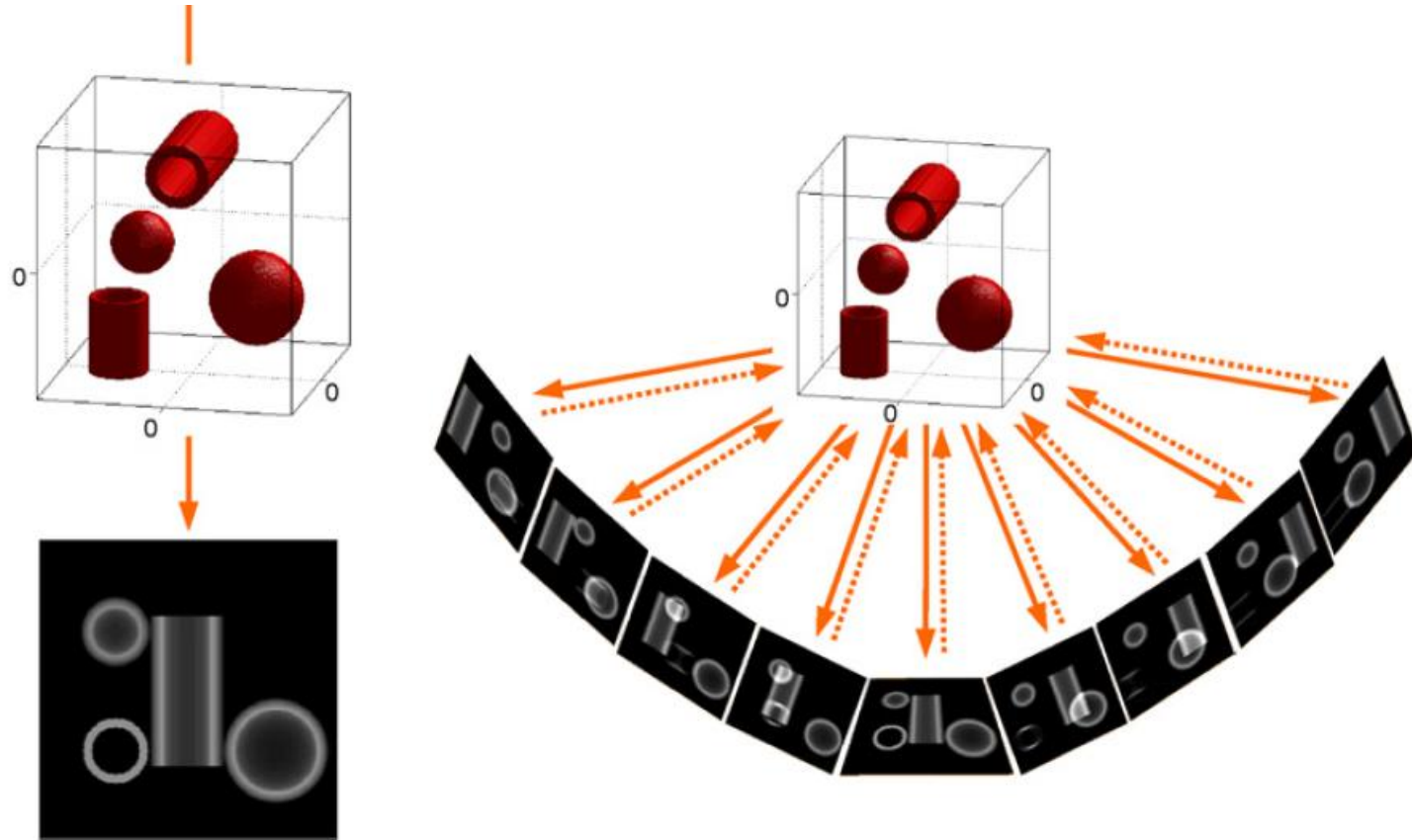


# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

a) *L'avance des biologistes sur les physiciens des matériaux...*

- Principe le plus général en MET : tomographie 'tiltée'



[M. BARCENA, A.J. KOSTER, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **20** (2009) 920–930]



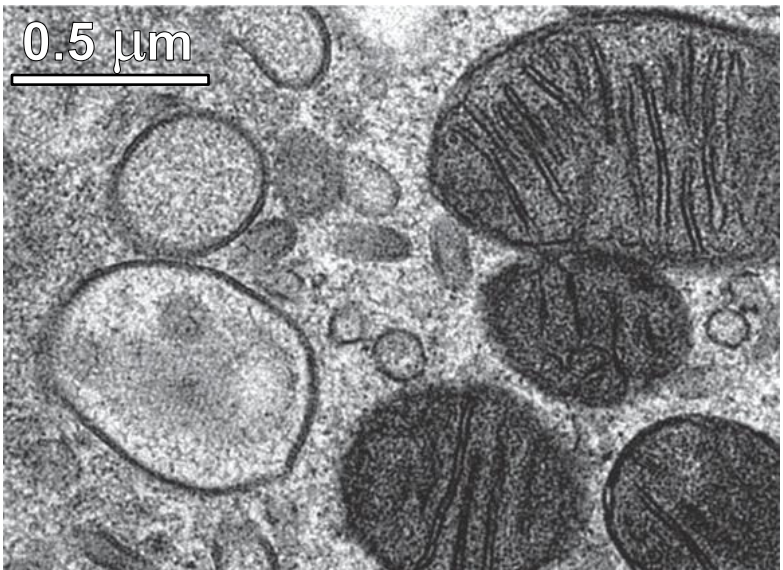
# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

a) *L'avance des biologistes sur les physiciens des matériaux...*

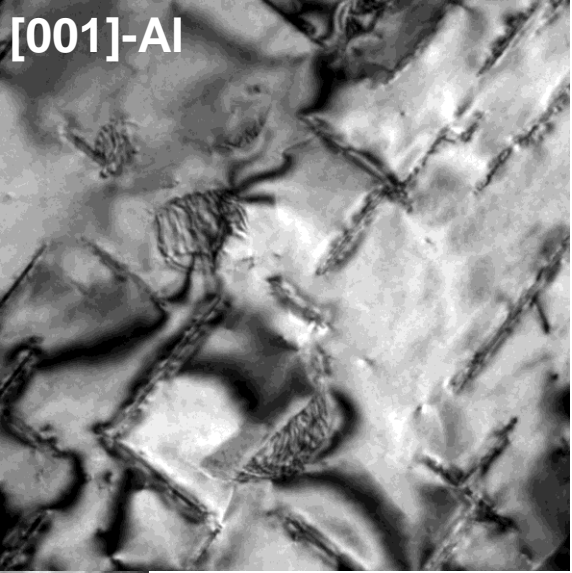
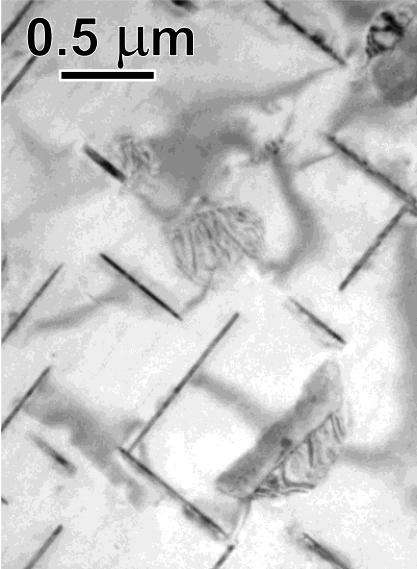
- Les objets biologiques sont majoritairement **NON-CRISTALLINS**  
**contraste d'absorption** : l'intensité est seulement liée à l'épaisseur massique  
**(hypothèse de projection)**

**Matière Biologique** : faible contraste  
(cryo-microscopie, objets non marqués)  
**MAIS pas d'effet de DIFFRACTION**



Cellules épithéliales de rat (congélation haute pression) ;  
d'après W. HE, J.J. FERNANDEZ (2010)

**Sciences des Matériaux** : effet d'une inclinaison d'1°



**précipités  $\theta$  dans Al** (AU4 vieilli 160 h. à 225°C)

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

### a) L'avance des biologistes sur les physiciens des matériaux...

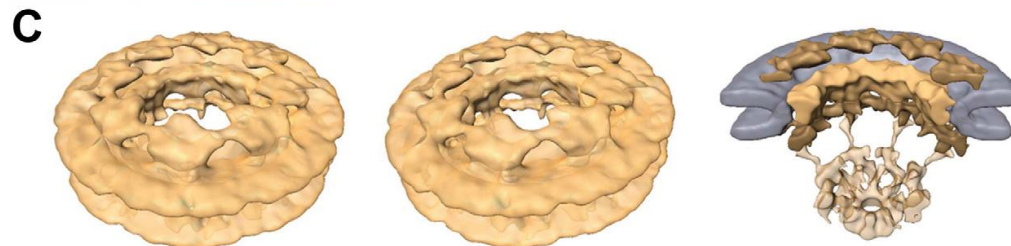
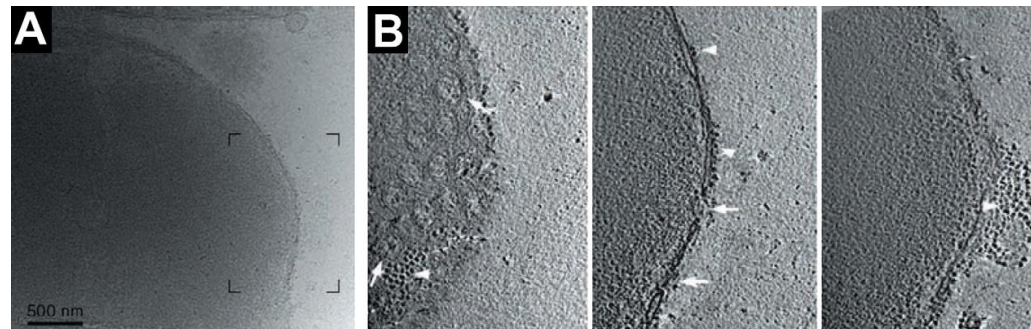
[W. BAUMEISTER et al., *Trends in cell Biology*, **9** (1999) 81-85]

[S. MARCO et al., *Biochemistry (Moscow)* **69**, 11 (2004) 1219-1225]

[M. BÁRCENA, A.J. KOSTER, *Seminars in Cell & Developmental Biology* **20** (2009) 920]

[W. HE, J.J. FERNANDEZ, *ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES* (2010), John Wiley & Sons, Ltd. [www.els.net](http://www.els.net) - accès libre internet -]

[A.A. SOUSA et al., *J. Struct. Biol.* **174** 1 (2011) 107-114]



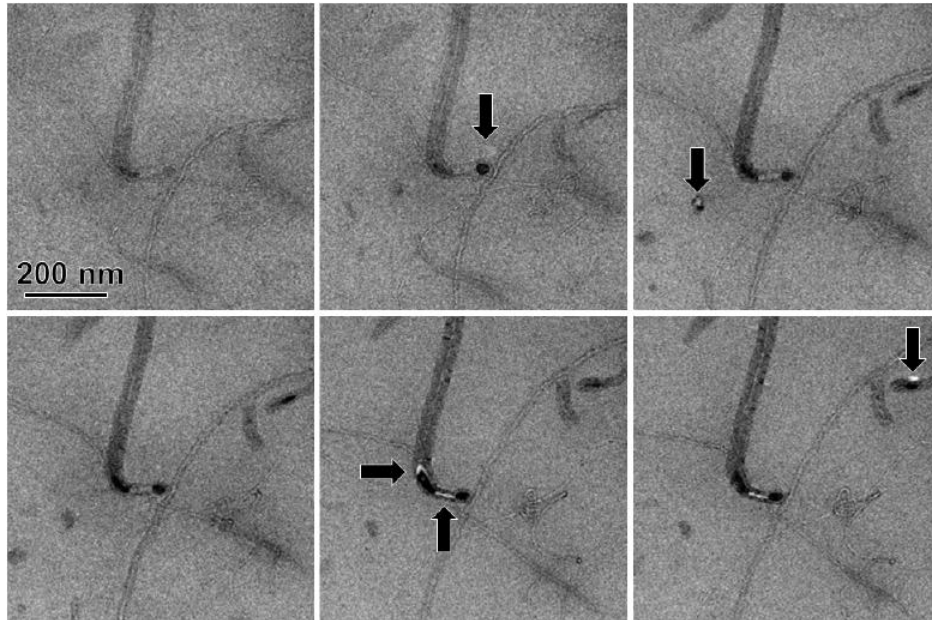
*un exemple en biologie :*  
tomographie 'tiltée' en mode  
cryo-microscopie - nuclear  
pore complexes -  
(cité par W. HE, J.J. FERNANDEZ,  
(2010))

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

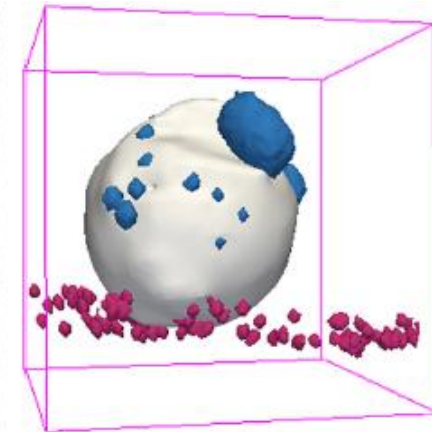
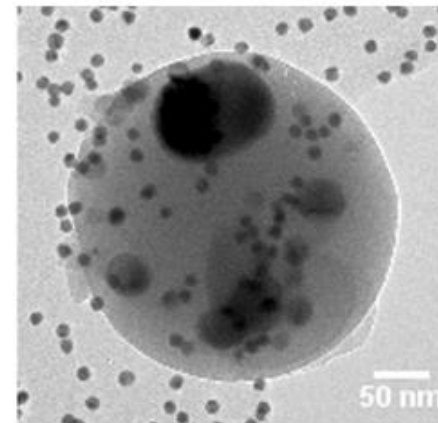
## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

### b) Tomographie 'tiltée' : signaux insensibles à la diffraction

- MET Champ clair : applicable aux **échantillons amorphes** (polymères, verres) ou peu cristallins, ou aux mesures morphologiques de **nano-objets**



**Nanocomposite polymère renforcé par des Nanotubes de carbone** (incrément d'inclinaison 2°, cryo-MET 200 kV ; Y. LIU et al., INSA / Institut Curie, (2012), *non publié*)



**Nanoparticules de Nickel sur des billes de silice**

[O. ERSEN et al., *Solid State Sciences* **9** (2007) 1088-1098]

# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

### b) Tomographie 'tiltée' : signaux insensibles à la diffraction

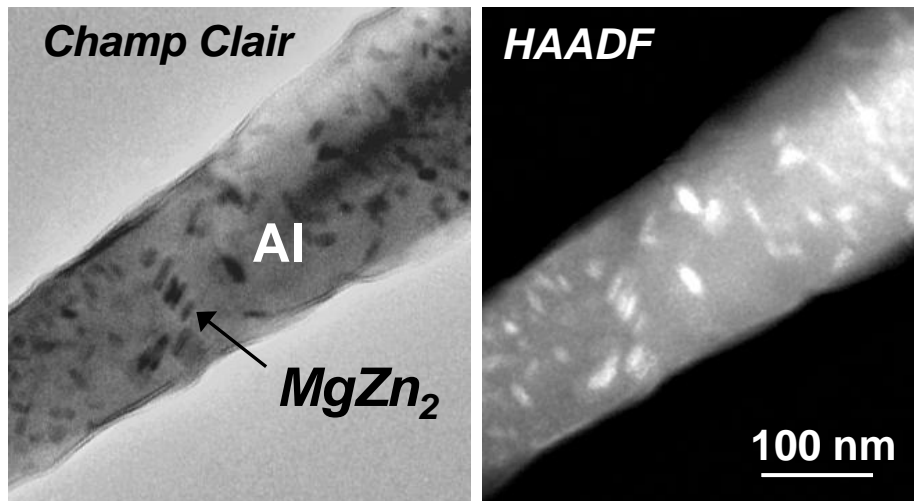
- Mode balayage STEM, Champ Sombre Annulaire à Grand Angle HAADF applicable aux **échantillons cristallins** (ou non) présentant un contraste en Z entre les différentes phases...

[P.A. MIDGLEY et al., *Chem. Comm* (2001) 907-908]

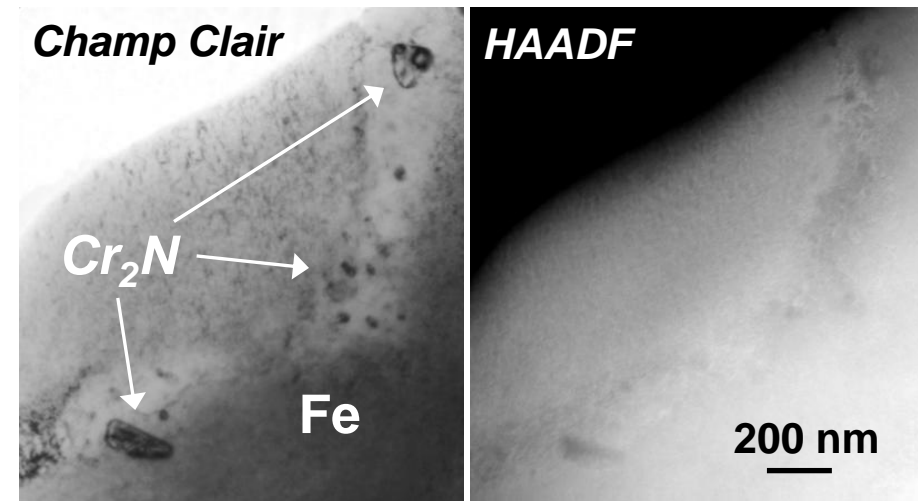
[P.A. MIDGLEY, M. WEYLAND, *Ultramicroscopy* **96** (2003) 413-431]

[J.M. THOMAS et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43** (2004) 6745 -6747]

Précipitation dans un alliage d'Aluminium



Précipitation dans un acier



# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

### *b) Tomographie 'tiltée' : signaux insensibles à la diffraction*

- **Imagerie filtrée en énergie EFTEM** et/ou **cartographie élémentaire** par **Spectroscopie Dispersive en Énergie des photons-X EDX** : pour l'obtention d'un contraste chimique

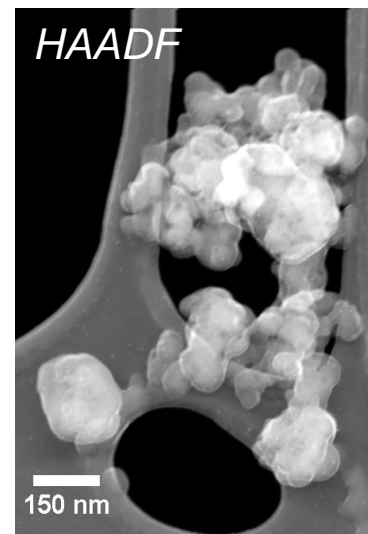
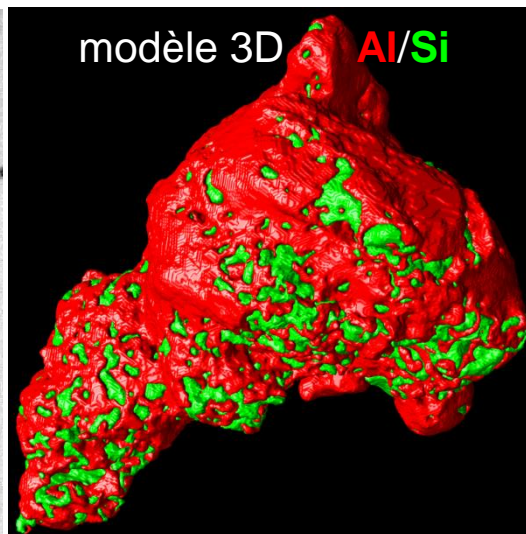
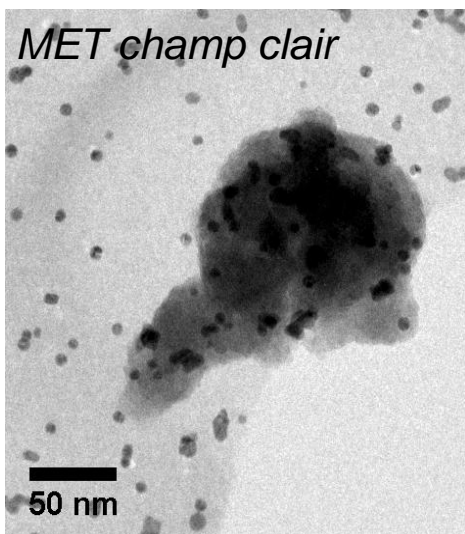
[G. MÖBUS et al., *Ultramicroscopy* **96** (2003) 433-451]

[K. JARAUSCH et al., *Ultramicroscopy*, **109** 4 (2009) 326-337]

[K. LEPINAY et al., *Micron*, **47** (2013) 43]

[A. GENC et al., *Ultramicroscopy* **131** (2013) 24]

**Un exemple : supports de catalyseurs  $\text{Al}_2\text{O}_3 / \text{SiO}_2$**  [L. ROIBAN et al., *Proceed. IMC2014*]  
*imagerie filtrée EFTEM (JEOL 2100F)* *cartographie EDX (FEI Osiris)*

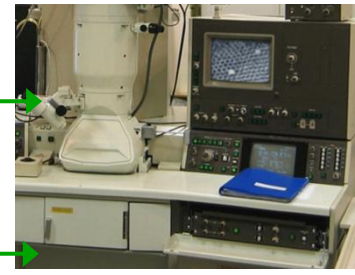


# STEM-HAADF : CONTRASTE INCOHÉRENT 'en Z'

**Scanning Transmission Electron Microscopy**  
**High Angle Annular Dark Field**

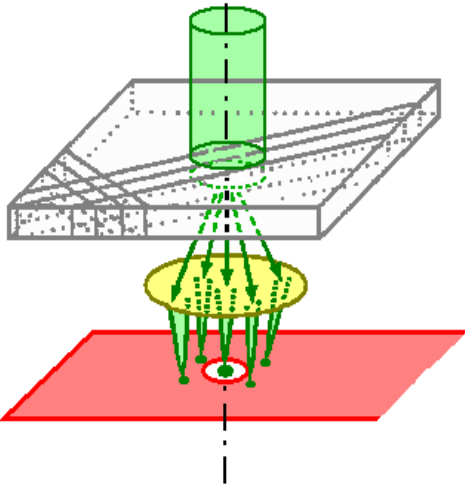
au-dessus  
de l'écran

DÉTECTEUR  
ANNULAIRE

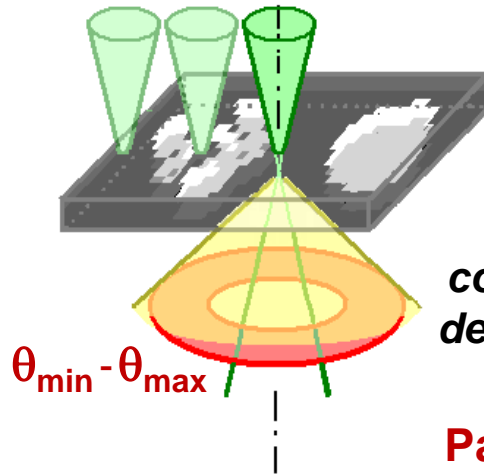


sous la chambre  
photos (avant l'entrée  
d'accessoires EELS)

**Imagerie Conventionnelle**

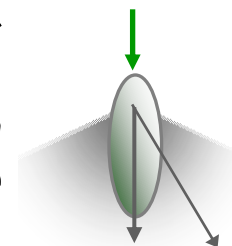


**Imagerie HAADF**



détecteur annulaire →  
collecte d'électrons diffusés  
de manière INCOHÉRENTE à  
grand angle

électrons



diffusion de Rutherford  
 $F_{atome}(q) \propto Z$

**Pas d'effets dynamiques**

$$I_{HAADF}(q) \propto Z^2$$

ou  $I_{HAADF} \propto Z^\alpha$  with  $\alpha \approx 1.6 - 2$

(angles de collecte  $\theta_{min} - \theta_{max}$ )

[D.E. JESSON, S. PENNYCOOK, *Proc. Roy. Soc. London*, **A449**, (1995), 273-293]

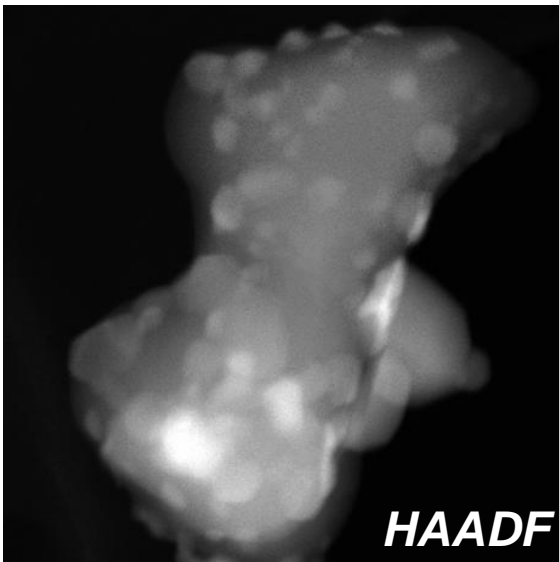
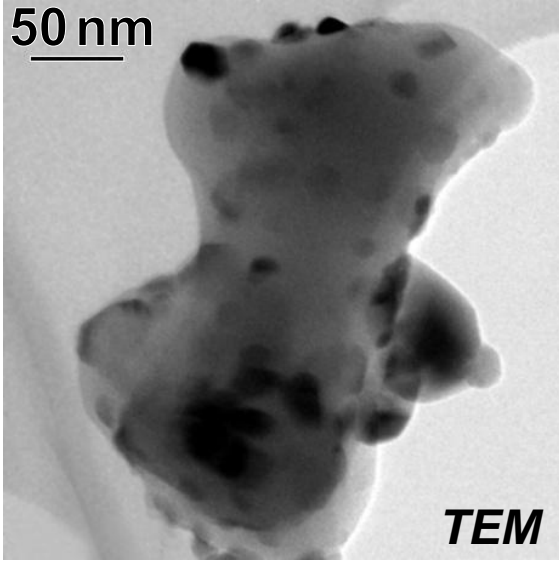
[S.J. PENNYCOOK, *Ultramicrosc.*, **30** (1989) 58]

[K. ISHIZUKA, *Ultramicrosc.*, **90** (2002) 71]

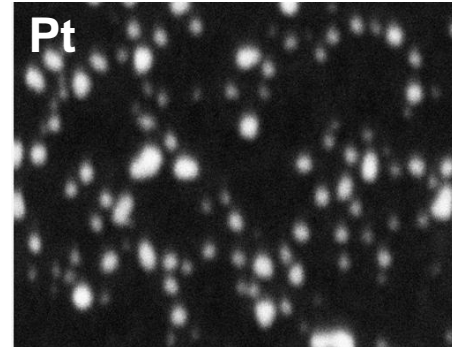
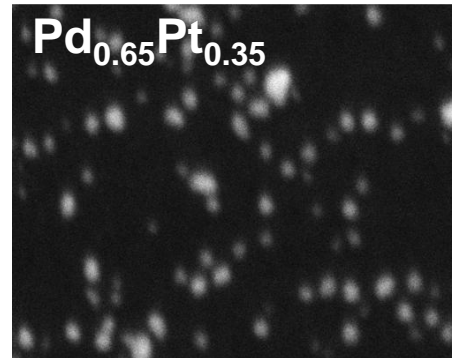
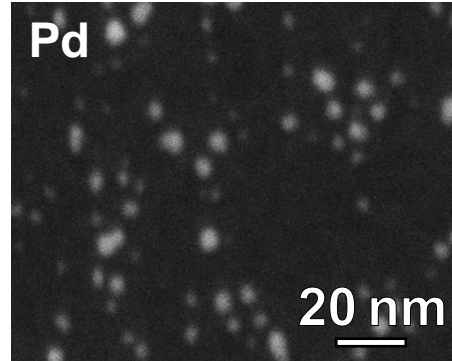
[S.J. PENNYCOOK, P.D. NELLIST (eds.), *Scanning Transmission Electron Microscopy*, 1 DOI 10.1007/978-1-4419-7200-2\_1, Springer Science+Business Media, LLC 2011]

**EX. d'imagerie HAADF : Nanoparticules (supportées)**

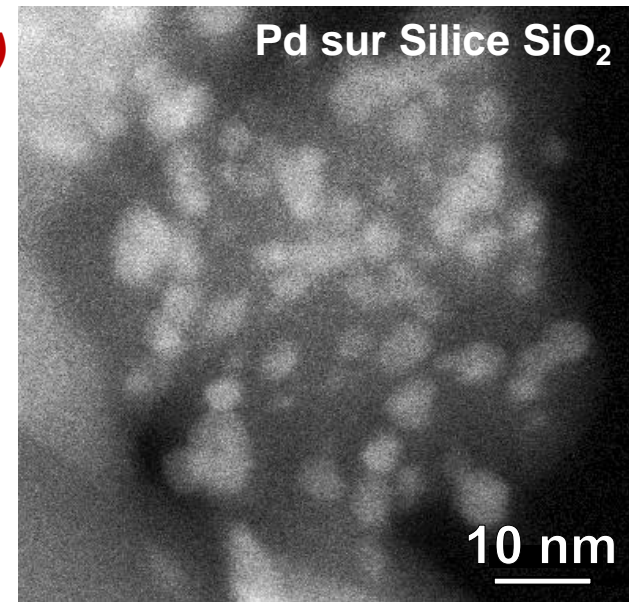
Zircone  $ZrO_2$   
sur Alumine  $Al_2O_3$



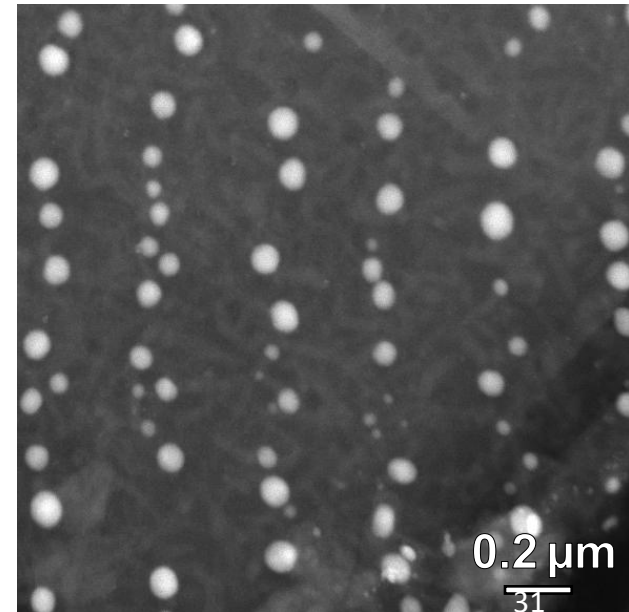
NPs  $Pd_xPt_{1-x}$   
[F.C. SANTOS AIRES, IRCELYON]



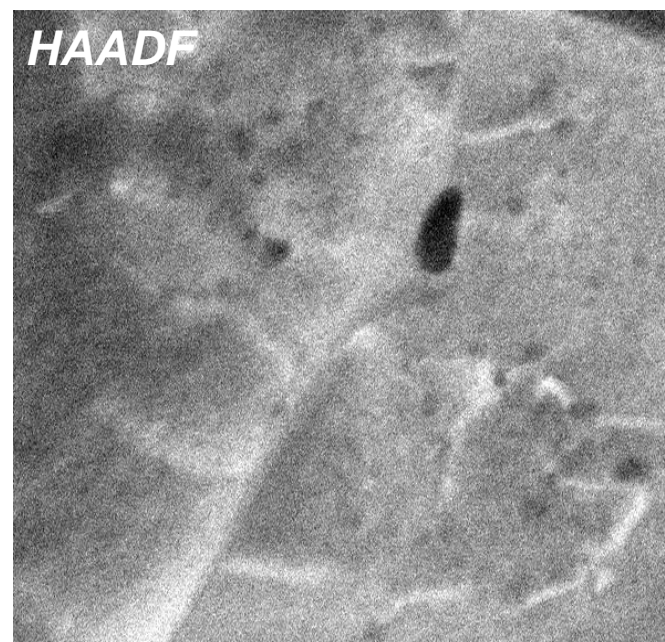
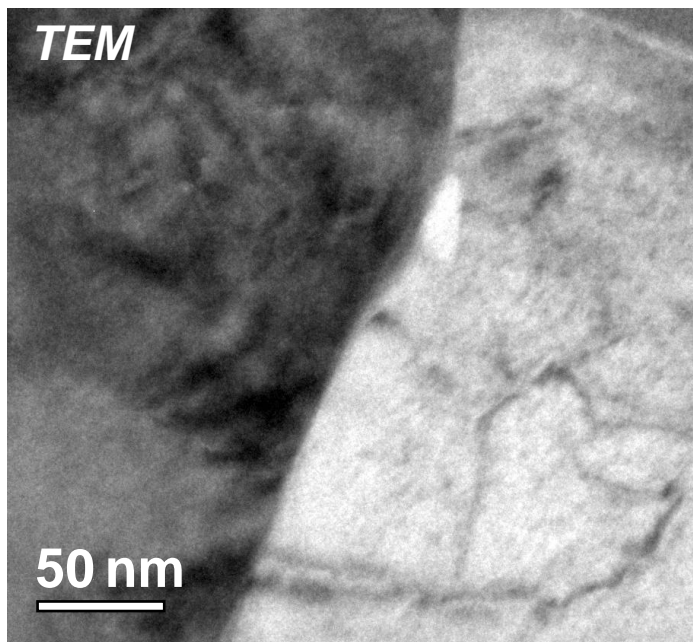
$a_{Pd} : 0.389 \text{ nm}$ ,  $a_{Pt} : 0.392 \text{ nm}$



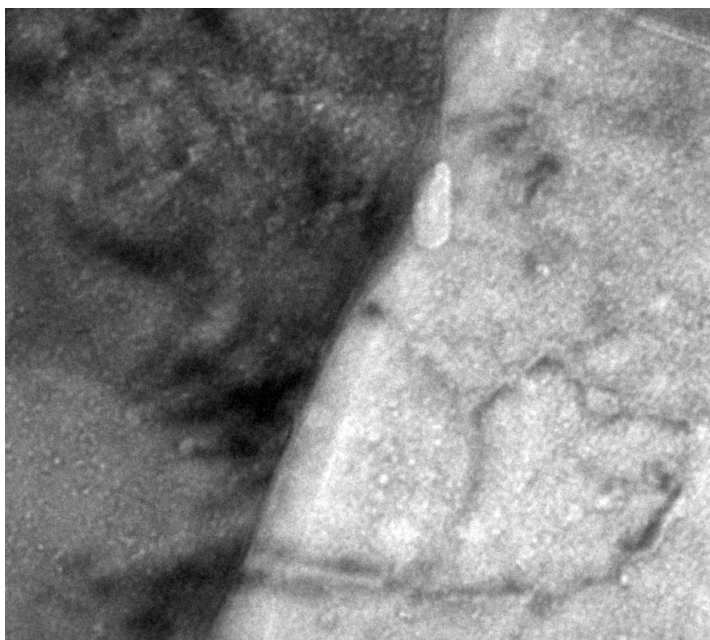
Ag dans  $TiO_2$  nano-cristallisé  
[N. DESTOUCHES et al., HC, St-Etienne]



**EX. d'imagerie HAADF : phases 'légères' dans une matrice 'lourde'**



**TEM**  
sous-  
focalisé  
2  $\mu\text{m}$



**Cavités de Xénon (gaz,  $Z_{\text{Xe}} = 54$ ) dans  
une matrice d' $\text{UO}_2$  implanté  $10^{16}$**

[B. MARCHAND, thèse IPNL, IN2P3-Lyon,  
(2013)]

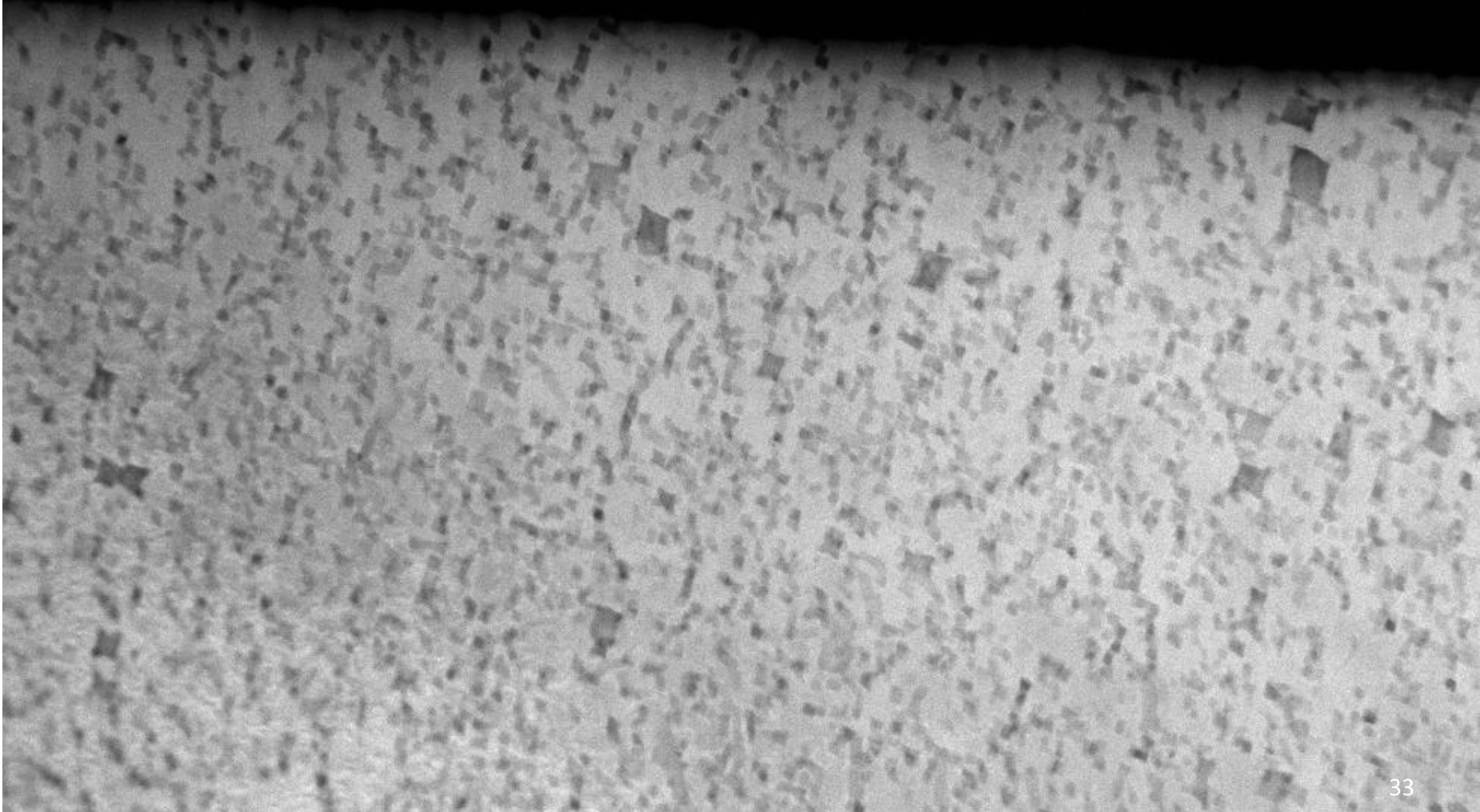


## **EX. d'imagerie HAADF : Phases 'légères' dans une matrice 'lourde'**

**Précipitation de nitrure de silicium (non-cristallin) dans un acier**

[H.P. VAN LANDEGHEM et al., *Scripta Met.*, **68**, (2013), 187]

0.2  $\mu\text{m}$

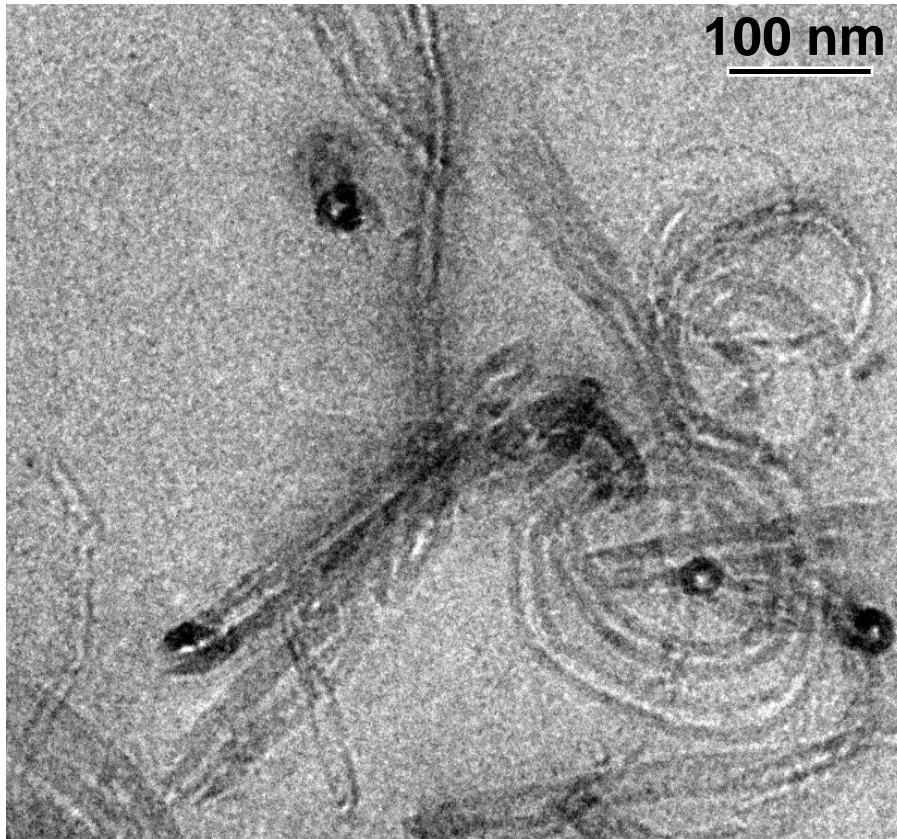


# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

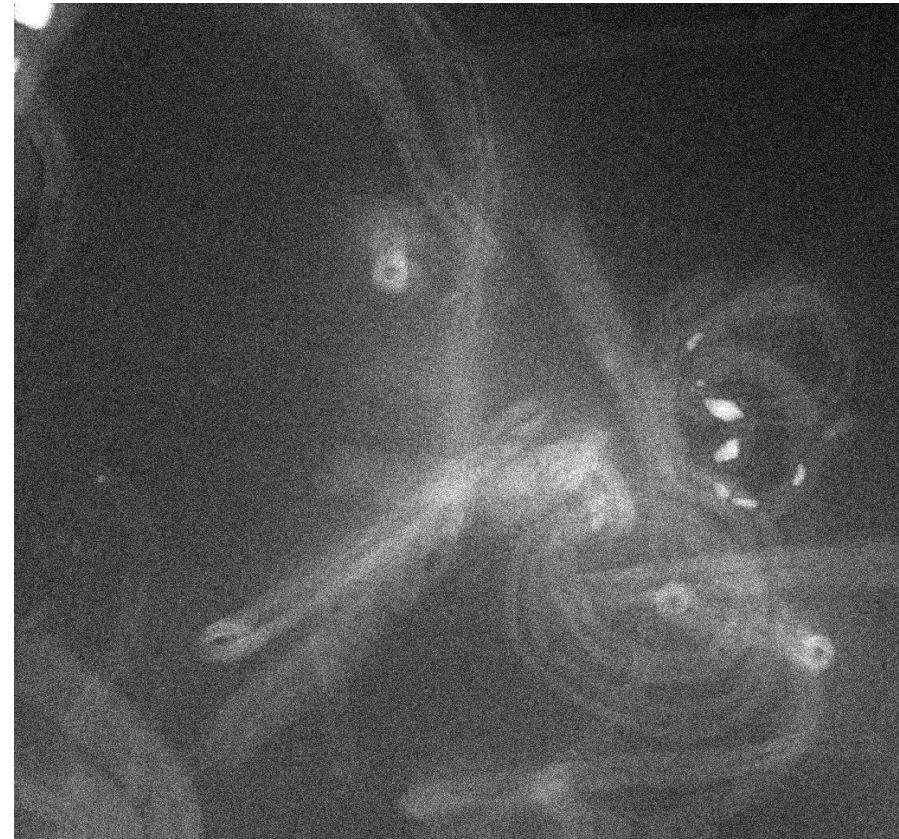
## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

c) Quelques compléments sur l'imagerie HAADF : avantages / limitations par rapport à l'imagerie conventionnelle

**TEM 200 kV** (sous-focalisation)



**HAADF**



**nanocomposite polymère + nanotubes de carbone**  
CNTs@P(S-BuA) [Y. LIU, thèse (2013), INSA-Lyon]

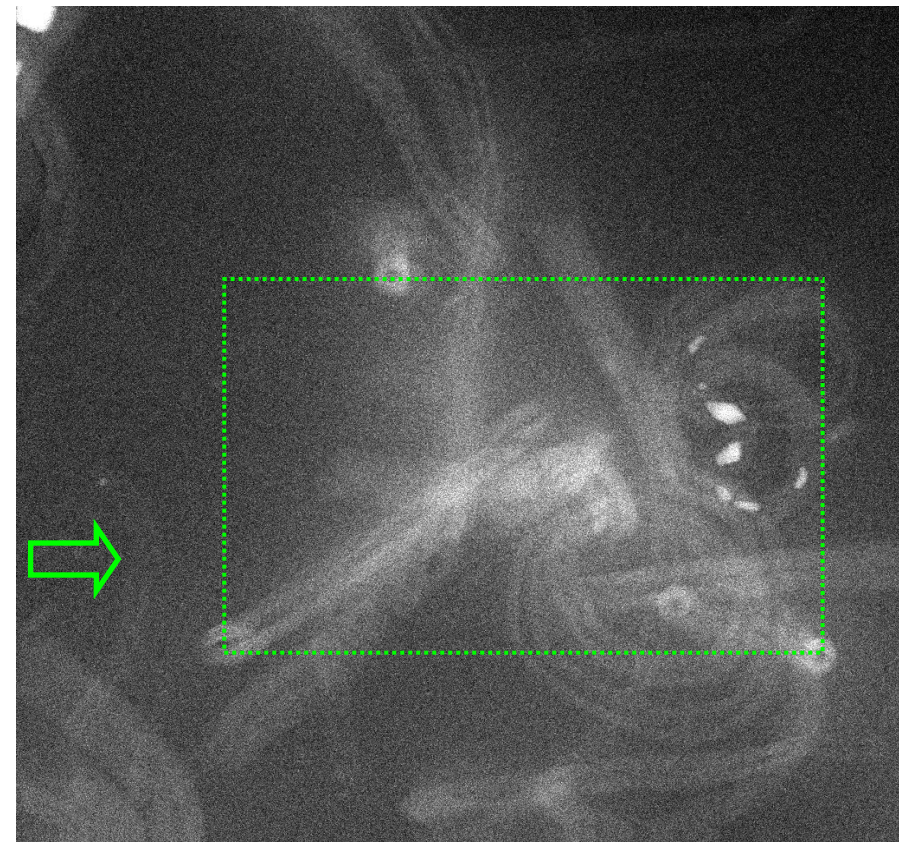
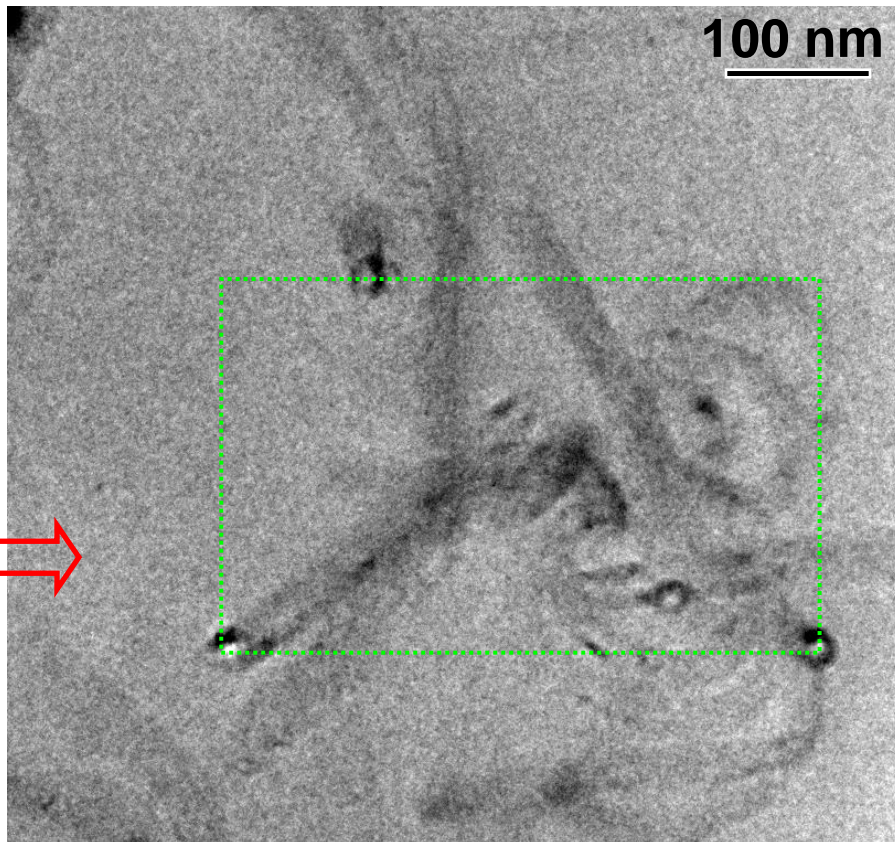
# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

c) *Quelques compléments sur l'imagerie HAADF : avantages / limitations par rapport à l'imagerie conventionnelle*

**TEM 200 kV** (focalisé)

**HAADF**

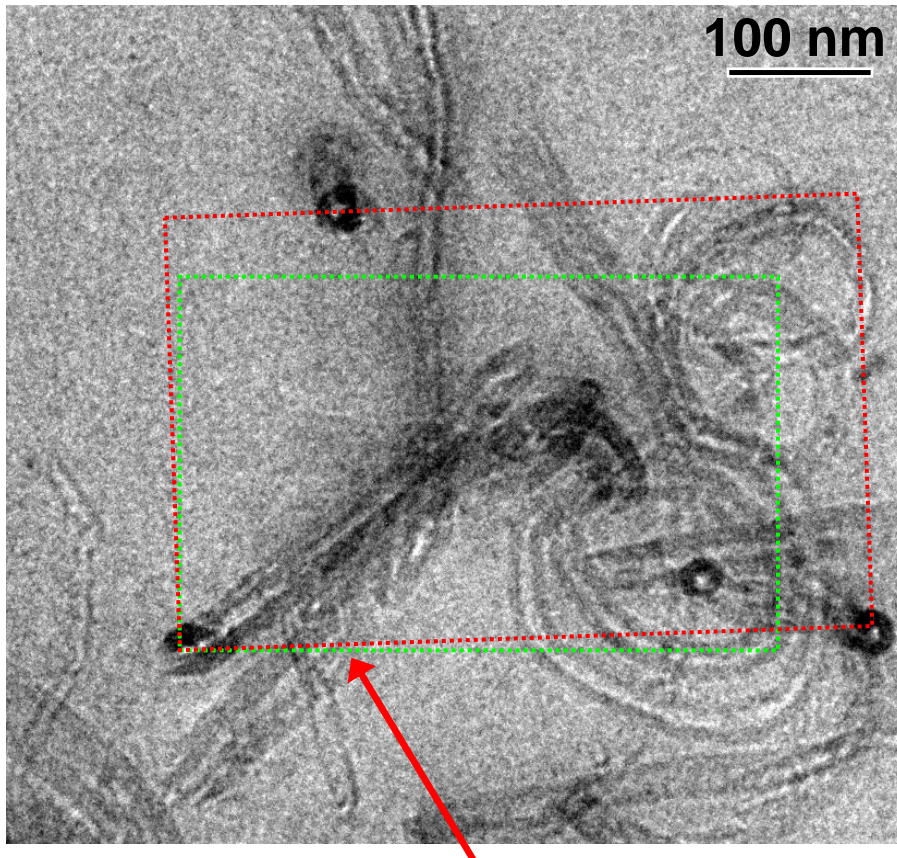


# 1. La TOMOGRAPHIE ÉLECTRONIQUE : POURQUOI, COMMENT ?

## 1.3. Spécificités en Sciences de la Vie et Sciences des Matériaux

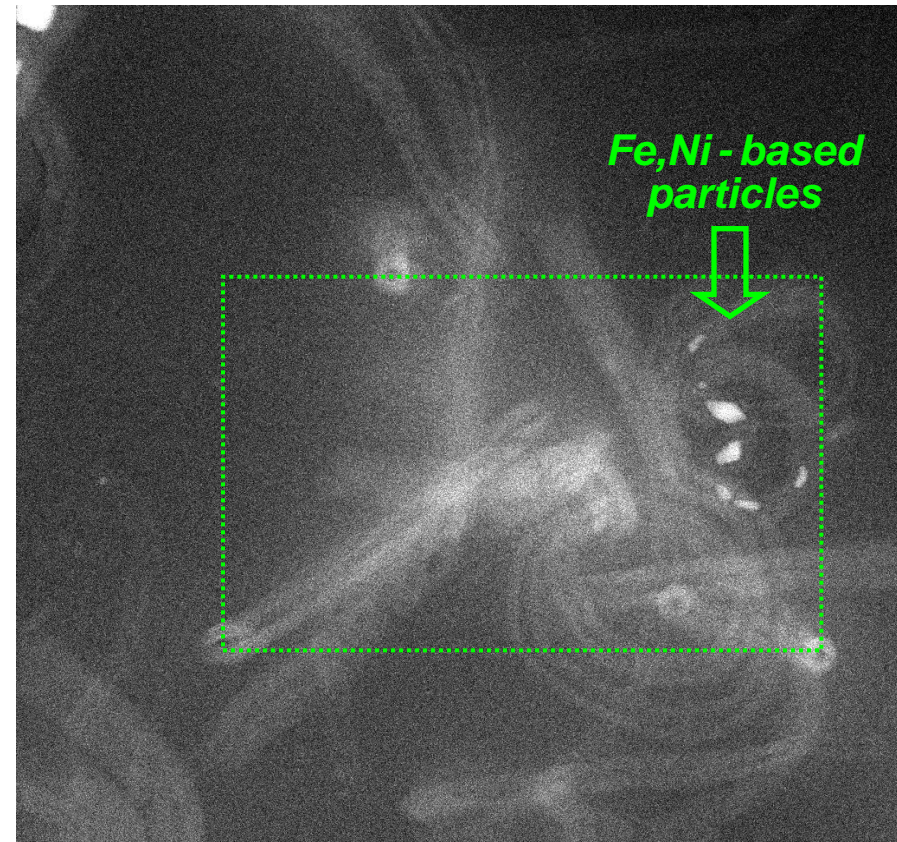
c) Quelques compléments sur l'imagerie HAADF : avantages / limitations par rapport à l'imagerie conventionnelle

**TEM 200 kV** (sous-focalisation)



**Modification du grandissement  $\approx 15\%$ ,  
Rotation  $\approx 3\%$**

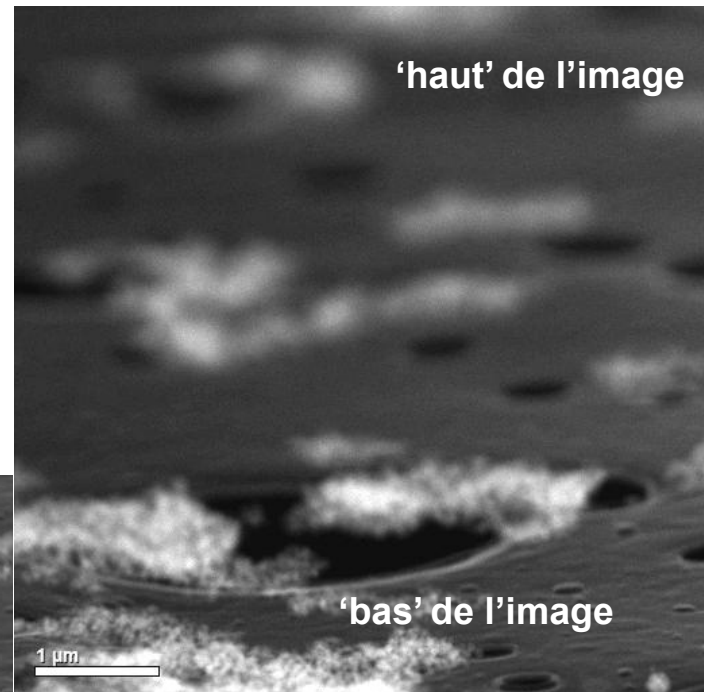
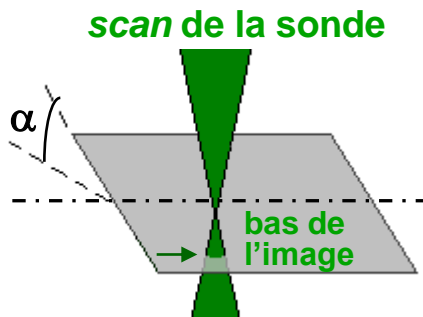
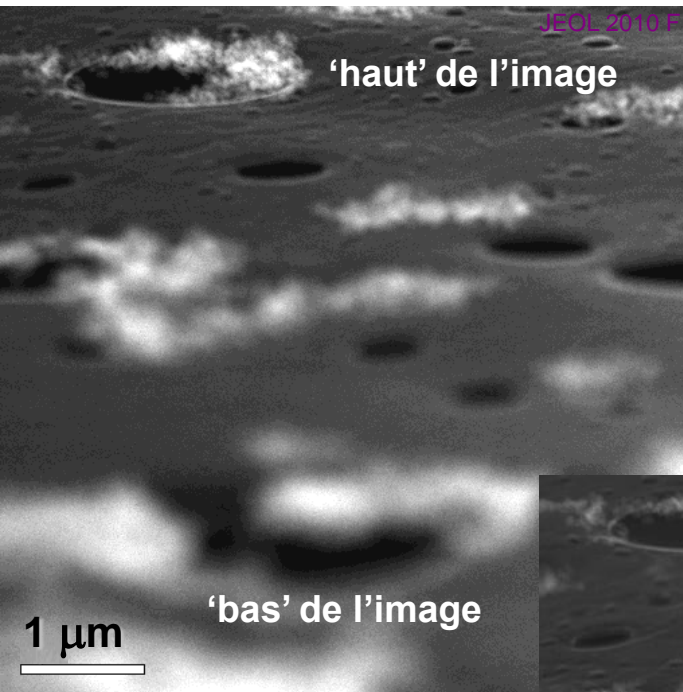
**HAADF**



[H. ZHANG, A. TAKAOKA, *Meas. Sci. Technol.* 10 (1999) N3–N6] 36

- Inconvénient par rapport à l'imagerie *TEM*

Faible profondeur de champ en mode *STEM* (gênant à grandissement modéré)



Nano-particules  
 $\text{SiO}_2\text{-Au}$ , 'tilt'  $\alpha = 81^\circ$

**FOCUS DYNAMIQUE** durant  
l'acquisition

# 2. Tomographie 'tiltée' dans un Microscopie en Transmission

## 2.1. Principes généraux

- **Quelques références...** (en Sciences des Matériaux)

[KAK AC., SLANEY M., Principles of Computerized Tomographic Imaging, IEEE Press : New York, (1988) 329 p. ; [www.slaney.org/pct/pct-toc.html](http://www.slaney.org/pct/pct-toc.html)]

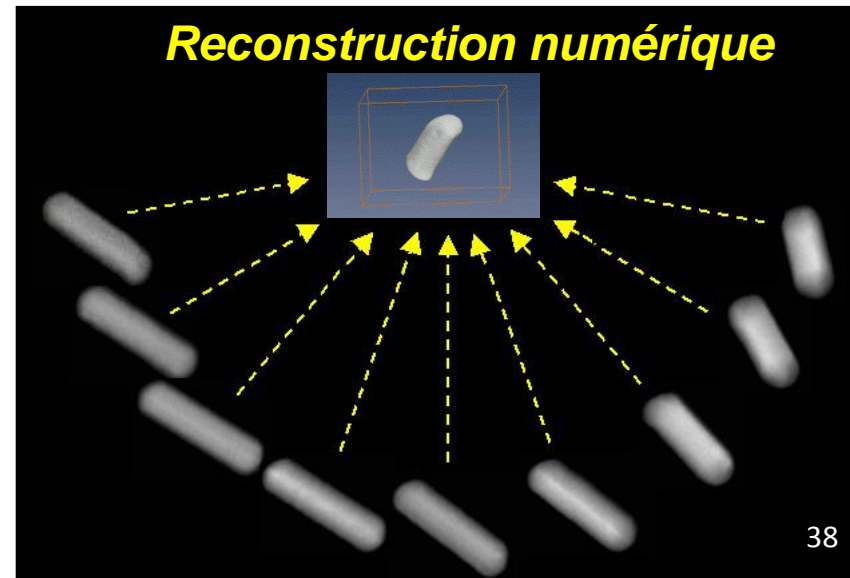
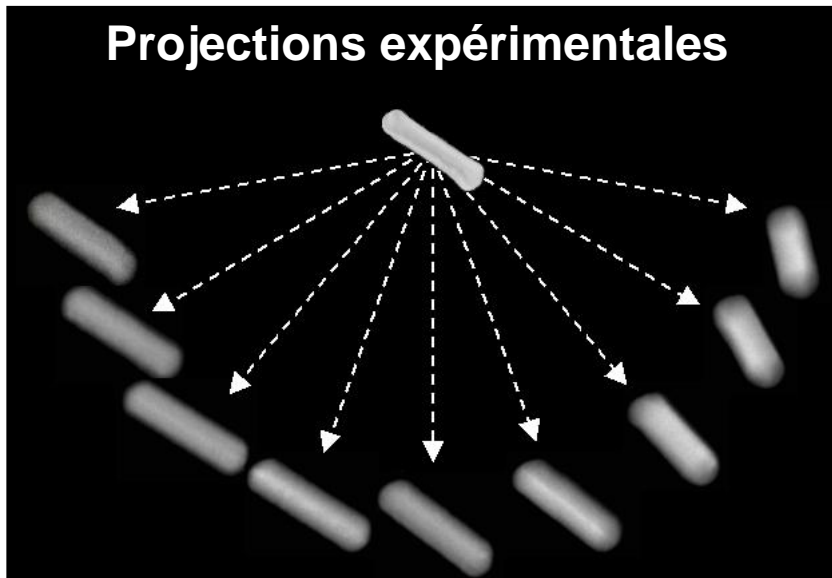
[P.A. MIDGLEY, p. 601-627 in 'Handbook of Microscopy for Nanotechnology', Springer US, (2005)]

[FRANK J., Electron Tomography : Methods for Three-Dimensional Visualization of Structures in the Cell, 2° édition, Springer: New York, (2006) 455 p.]

[P.A. MIDGLEY, M. WEYLAND, p.353-392 dans 'Scanning Transmission Electron Microscopy', éd. S.J. Pennycook, P.D. Nellist, C Springer Science+Business Media, LLC (2011)]

[T. EPICIER, "Tomographie Électronique", p.83-124 dans 'Imagerie 3D en Mécanique des Matériaux', Pub. traité MIM (Hermès Science), (2014), 400 p., ISBN : 9782746245563]

- **Principe de la tomographie par série 'tiltée'**



# 2. Tomographie 'tiltée' dans un Microscopie en Transmission

## 2.2. Reconstruction tomographique : principes algorithmiques

### a) Quelques éléments mathématiques...

- Transformée de Radon

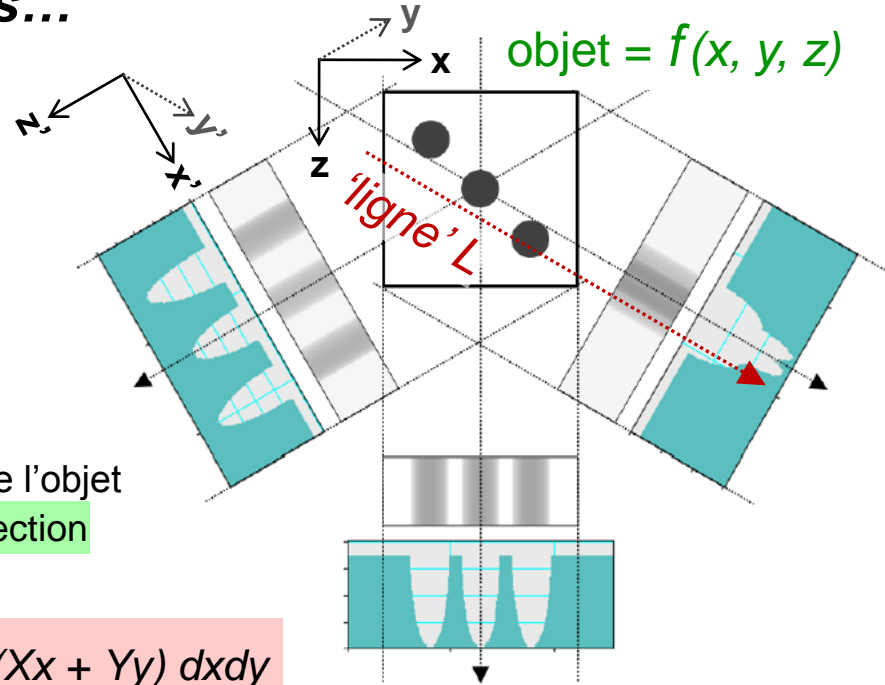
$$R(x', y') = \int_L f(x, y, z) dl$$

[J. RADON, *Berichte Verhandl. Königl. Sächs. Gessellsch. Wiss. Leipzig, Math-Phys.* K1 69 (1917) 262-277]

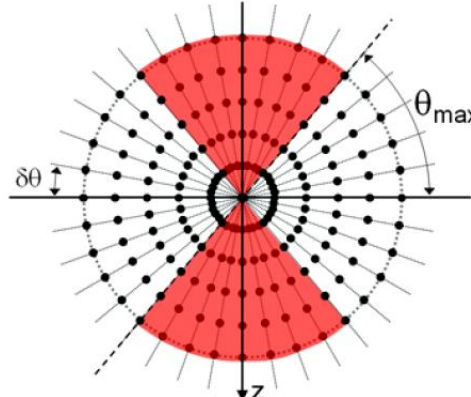
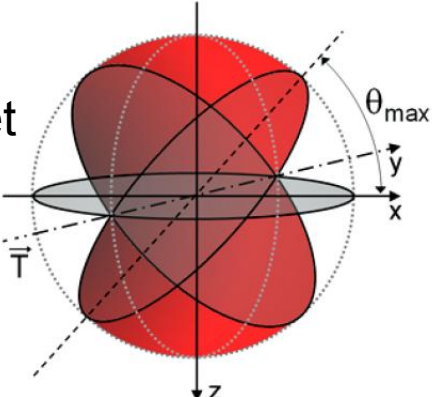
- Théorème de la section centrale

"la section centrale de la transformée de Fourier de l'objet correspond à la transformée de Fourier de sa projection (perpendiculairement à la coupe)"

$$F(X, Y) = \int \left[ \int f(x, y, z) dz \right] (\exp (-2i\pi (Xx + Yy)) dx dy$$



**Espace direct**  
inclinaison de l'objet jusqu'à  $\theta_{max}$  par incrément  $\delta\theta$



### Espace de Fourier

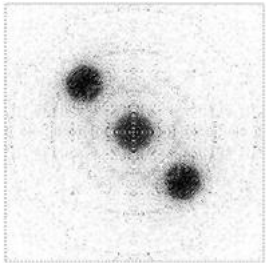
- visualisation du 'volume manquant'
- visualisation du sous-échantillonnage aux hautes fréquences

## 2. Tomographie 'tiltée' dans un Microscopie en Transmission

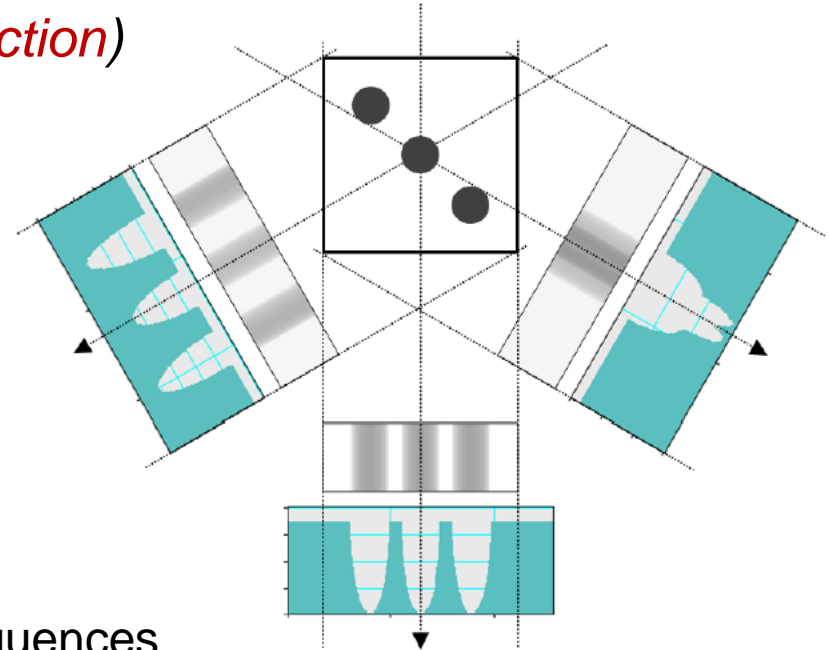
### 2.2. Reconstruction tomographique : principes algorithmiques

b) Base de la reconstruction du volume = TOMOGRAMME :  
la **RÉTRO-PROJECTION** (*Back Projection*)

181 projections  
 $-90^\circ / +90^\circ$   
( $\delta\theta = 1^\circ$ )



3 projections  
 $-60^\circ / +60^\circ$   
( $\delta\theta = 60^\circ$ )



Le **sous-échantillonnage** aux hautes fréquences dégrade la résolution potentielle ; pour compenser cet effet, on **sur-pondère** la contribution des hautes fréquences (**WBP: Weighted Back Projection**)

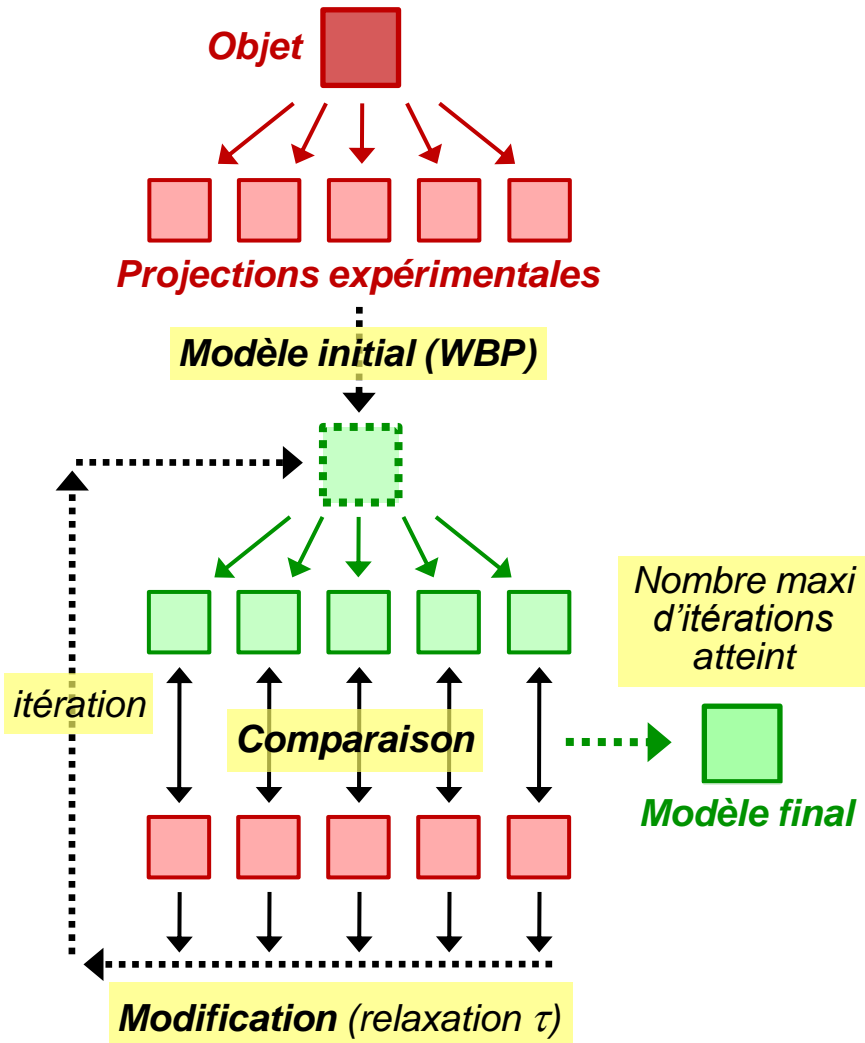
[P.F.C. GILBERT, *Proc. R. Soc. London B* **182** (1972) 89

[M. RADERMACHER, p.245-273 dans '*Electron Tomography : Methods for Three-Dimensional Visualization of Structures in the Cell*', 2<sup>e</sup> édition, Springer: New York, (2006)]

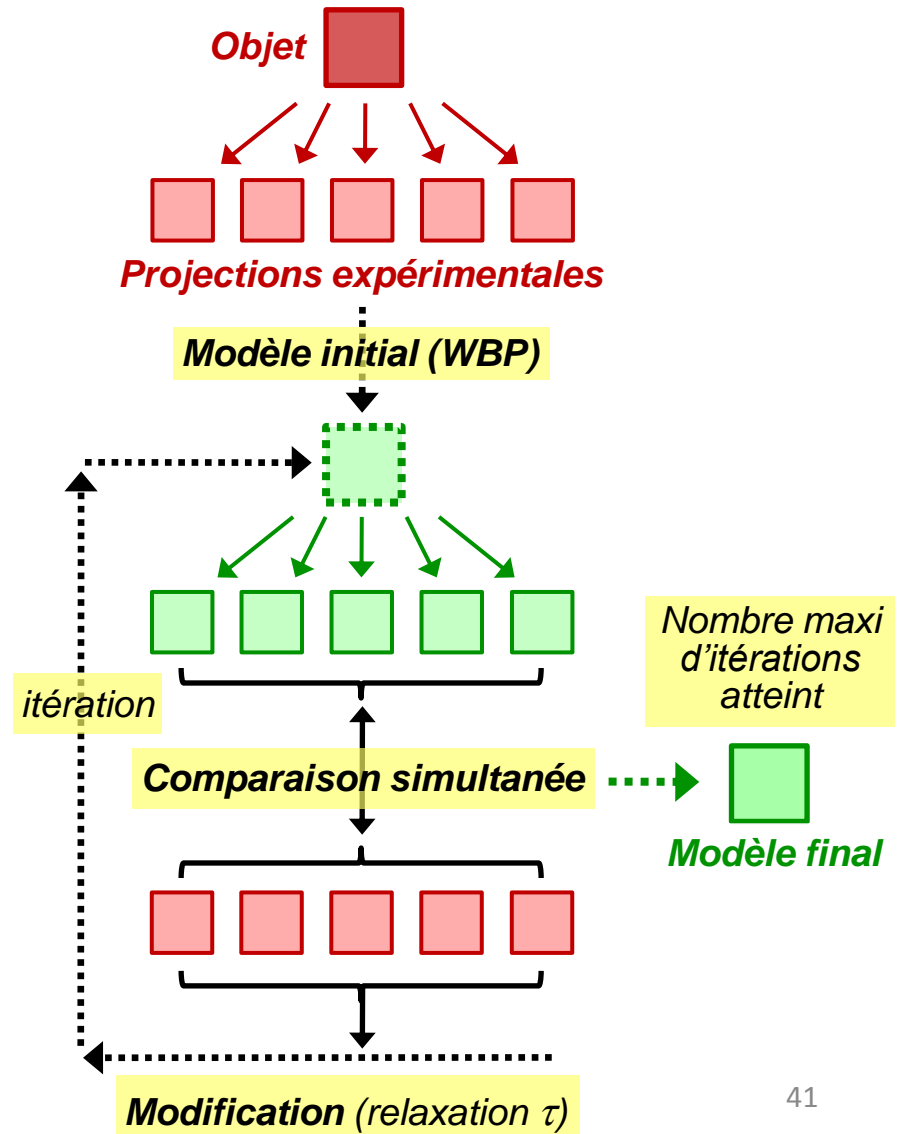


### c) Les méthodes (algorithmes) de reconstruction 'standards'

- **WBP: Weighted Back Projection**
- **ART: Algebraic Reconstruction Technique**



- **SIRT: Simultaneous Iterative RT**



## c) Les méthodes (algorithmes) de reconstruction 'standard'

- **WBP: Weighted Back Projection**

Peu robuste vis-à-vis du bruit

- **ART: Algebraic Reconstruction Technique**

[R. GORDON ET AL., *J. Theor. Biol.* **29** (1970) 471-481]

[R. MARABINI et al., *J. of Struct. Biol.* **120** (1997) 363-371]

- **SIRT: Simultaneous Iterative RT**

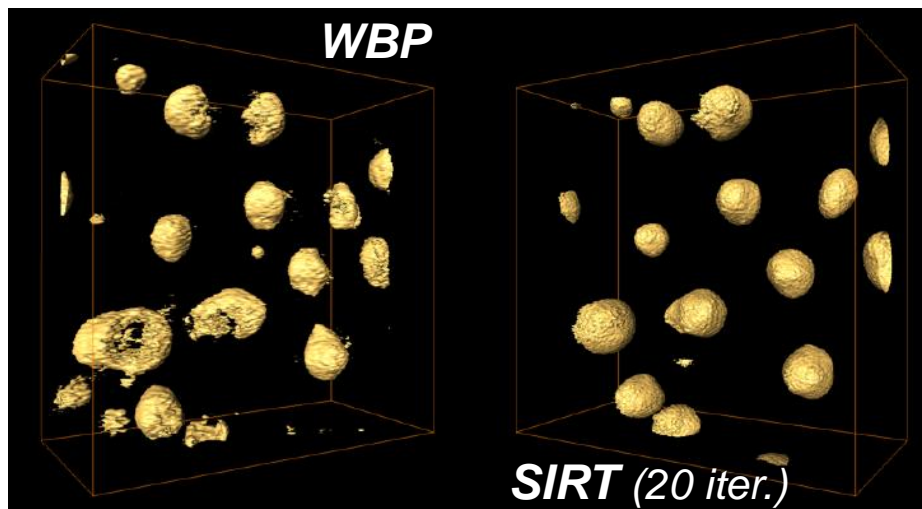
[P. GILBERT, *J. of Theoret. Biol.* **36** 1 (1972) 105-117]

- **SART: Simultaneous Algebraic Reconstruction Technique** (fitrage additionnel...)

[A.H. ANDERSON, A.C. KAK, *Ultrason. Imaging*, **6** (1984) 81-94]

[M. JIANG, G. WANG, *IEEE Trans. on Image Process.* **12** 8 (2003) 957-961]

Méthodes itératives : convergence  $\approx$  5 – 20 itérations (**SIRT / SART plus rapides**)



**NanoParticules Pd**

75 x 75 x 46 nm<sup>3</sup>

[K. SATO et al., *J. Appl. Phys.* **107** (2010) 024304]

## d) Quelques articles de revue sur les algorithmes 'standards'

[R. GORDON G. HERMAN, *Int. Rev. Cytol.* **38** (1974) 111-151]

[R.M. LEWITT *Proc. IEEE*, **71** (1983) 390-408]

[A.C. KAK , M. SLANEY, *Principles of Computerized Tomographic Imaging*, IEEE Press : New York, (1988) 329 p. ; [www.slaney.org/pct/pct-toc.html](http://www.slaney.org/pct/pct-toc.html)]

[J.J. FERNANDEZ, *Micron*, **43** (2012) 1010-1030]

## e) Quelques logiciels disponibles...

### - IMOD

IMOD



<http://bio3d.colorado.edu/imod/>

[J.R. KREMER et al., *J. Struct. Biol.* **116** (1996) 71-76]

[D.N. MASTRONARDE, *J. Struct. Biol.* **120** (1997) 343-352]

### - TOM <http://www.biochem.mpg.de/tom/>



### - TOMOJ (plug-in)

<http://u759.curie.fr/fr/telechargements/softwares/softwares-00734>

[C. MESSAOUDI et al., *BMC Bioinformatics* **8** (2007):288]

Plugin de **ImageJ** [imagej.nih.gov/ij/](http://imagej.nih.gov/ij/) (**Fiji** [fiji.sc/](http://fiji.sc/))



**ImageJ**  
Image Processing and Analysis in Java



### - GATAN<sup>®</sup> Reconstruction Software (DigitalMicrograph)

[http://www.gatan.com/products/software/3D\\_Reconstruction.php](http://www.gatan.com/products/software/3D_Reconstruction.php)



## e) Quelques logiciels disponibles...

[N.R. VOSS et al., *Methods in Enzymology* **482** (2010) 381-392;  
[http://en.wikibooks.org/wiki/Software\\_Tools\\_For\\_Molecular\\_Microscopy](http://en.wikibooks.org/wiki/Software_Tools_For_Molecular_Microscopy)]

EM3D	<a href="http://em3d.tamu.edu">em3d.tamu.edu</a>	2.0	<a href="mailto:grantser@bio.tamu.edu">grantser@bio.tamu.edu</a>	Mac Win	Free Academic	Ress et al. (1999)
IMOD	<a href="http://bio3d.colorado.edu/imod">bio3d.colorado.edu/imod</a>	4.1	<a href="mailto:mast@colorado.edu">mast@colorado.edu</a>	Linux Mac Win	Free GPL	Kremer et al. (1996)  Taylor (2006)
Raptor	<a href="http://www-vlsi.stanford.edu/TEM/software.htm">www-vlsi.stanford.edu/TEM/ software.htm</a>	2.1	<a href="mailto:famat@stanford.edu">famat@stanford.edu</a>	Linux	Free	Amat et al. (2008)
SerialEM	<a href="http://bio3d.colorado.edu/SerialEM/">bio3d.colorado.edu/SerialEM/</a>	2.8	<a href="mailto:mast@colorado.edu">mast@colorado.edu</a>	Win	Free Academic	Mastronarde (2005)
TOM	<a href="http://www.biochem.mpg.de/en/rd/baumeister/tom_e/">www.biochem.mpg.de/en/rd/ baumeister/tom_e/</a>	–	<a href="mailto:tom@biochem.mpg.de">tom@biochem.mpg.de</a>	Linux Win	Free	Nickell et al. (2005)
Tomoj	<a href="http://u759.curie.u-psud.fr/software/u759.html">u759.curie.u-psud.fr/ software/u759.html</a>	2.1	<a href="mailto:cedric.messaoudi@curie.fr">cedric.messaoudi@curie.fr</a>	Linux Mac Win	Free/OS CeCILL	Messaoudii et al. (2007)
TXBR	<a href="http://confluence.crbs.ucsd.edu/display/ncmir/TxBR">confluence.crbs.ucsd.edu/display/ ncmir/TxBR</a>	3.0	<a href="mailto:sph@ncmir.ucsd.edu">sph@ncmir.ucsd.edu</a>	Linux Mac Win	Free	Lawrence et al. (2006)
UCSF Tomo	<a href="http://msg.ucsf.edu/em/EMNEW2/tomography_page.html">msg.ucsf.edu/em/EMNEW2/ tomography_page.html</a>	v7.7.4E4	<a href="mailto:agard@msg.ucsf.edu">agard@msg.ucsf.edu</a>	Win	Free Academic	Zheng et al. (2007)
Xplore3D	<a href="http://www.fei.com/LifeSciences/">www.fei.com/LifeSciences/</a>	–	<a href="mailto:Robert.snyder@fei.com">Robert.snyder@fei.com</a>	Win	Commercial	Schoenmakers et al. (2005)

## f) Autres logiciels (développements récents) ...

### - Equally-Sloped Tomography (méthode basée sur traitement de Fourier)

Gros calculateurs – grande précision

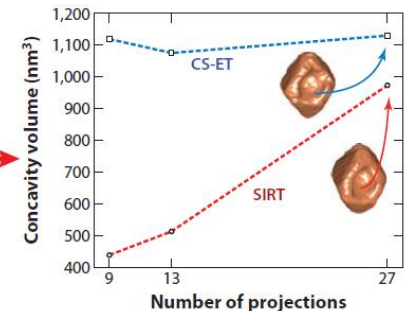
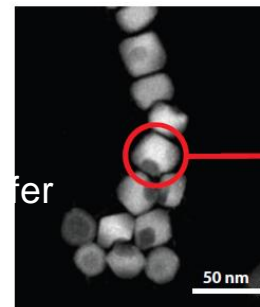
[Y. MAO et al., *IEEE Trans. on Image Proc.* **19** 5 (2010) 1259-1268]

### - Compressed-Sensing (méthode basée sur contraintes numériques)

Segmentation facilitée – convergence rapide

NPs d'oxyde de fer

[Z. SAGHI et al., *Nano Lett.* **11** (2011) 4666–73]

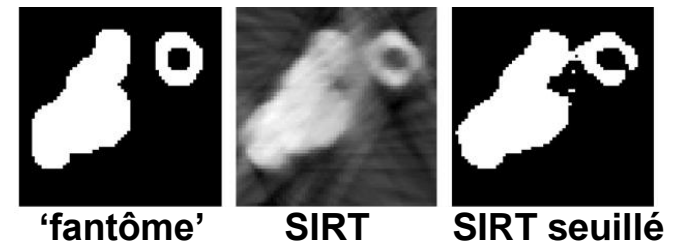
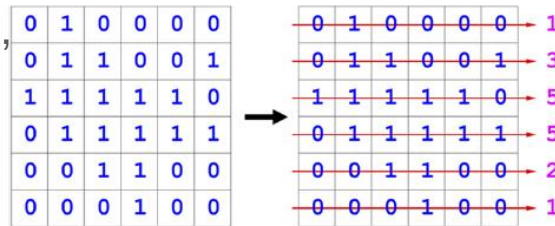


### - Discrete Tomography (méthode basée sur contraintes géométriques : discrétisation sur 'grille' – classes de niveaux de gris)

Convergence rapide – robustesse (peu de données)

[K.J. BATENBURG et al., *Ultramicroscopy* **109** (2009) 730-740]

[J.R. JINSCHECK et al., *Ultramicroscopy* **108** (2008) 589\_604]

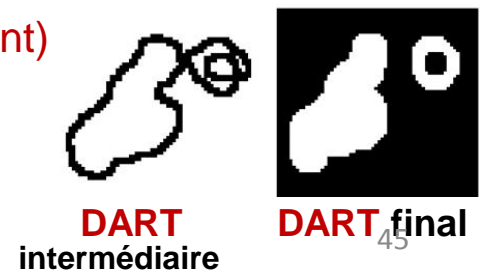


### - Total Variation Method (réduction des effets du volume manquant)

[B. GORIS et al., *Ultramicrosc.* **113** (2012) 120-130]

Comparaison récente de divers algorithmes :

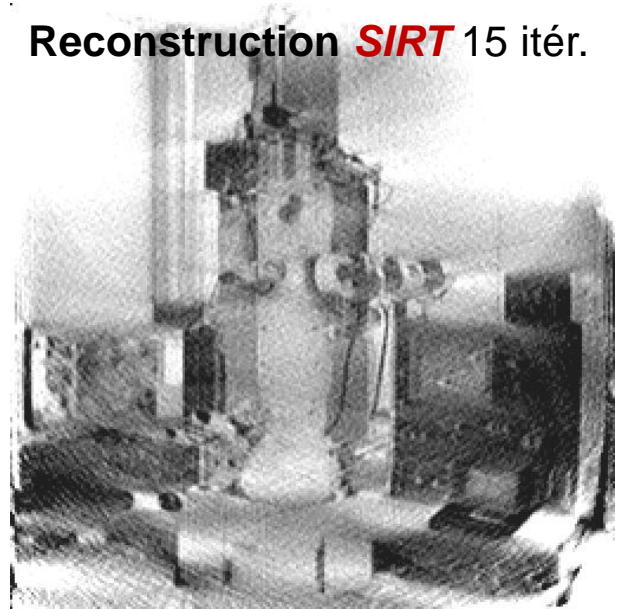
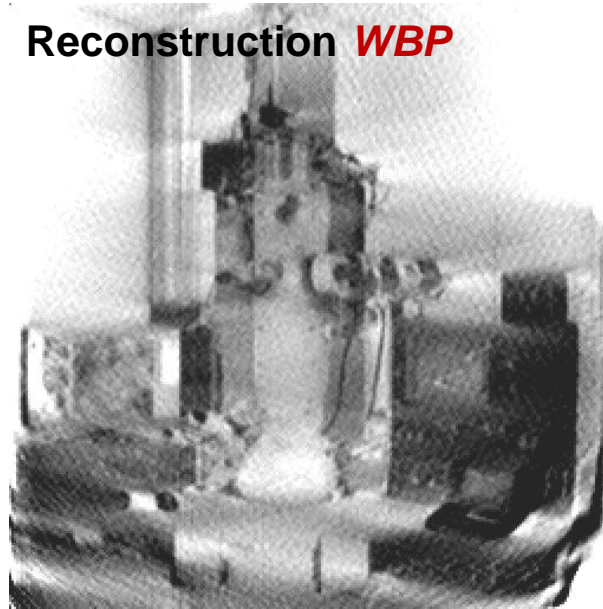
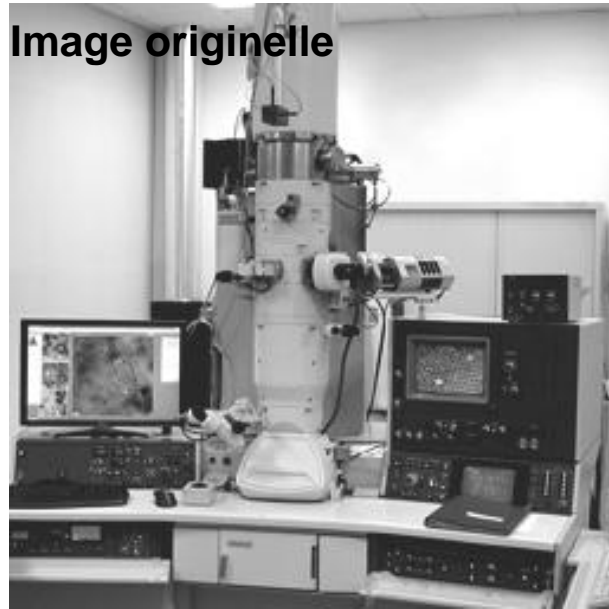
[B. GORIS et al., *Ultramicrosc* **127** (2013) 40-47]



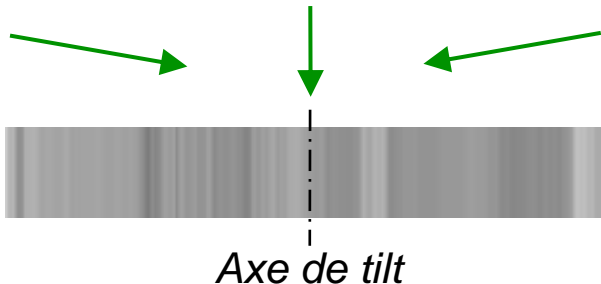
## 2. Tomographie 'tiltée' dans un Microscopie en Transmission

### 2.3. Reconstruction tomographique : illustrations

#### a) approche de simulation de 'fantômes'



161 projections de  $-80^\circ$  à  $+80^\circ$   
par incrément de  $1^\circ$



## 2.3. Reconstruction tomographique : illustrations

### b) Influence des paramètres numériques : nombre de projections

(WBP)

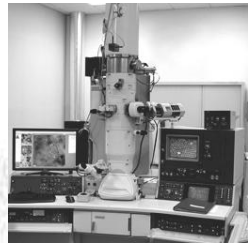
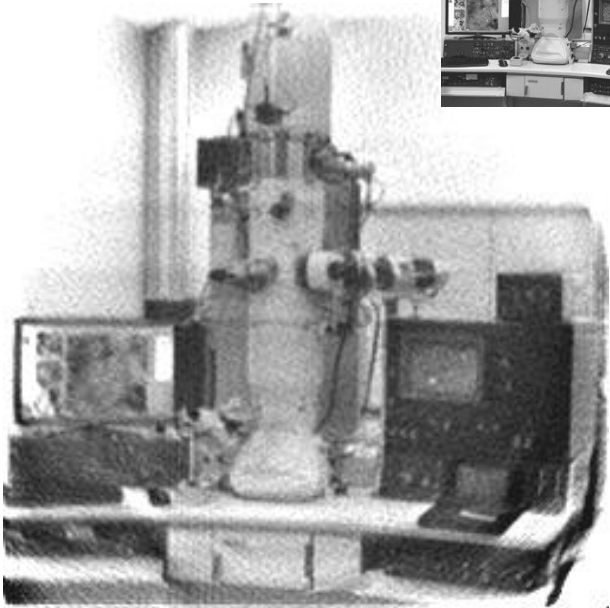
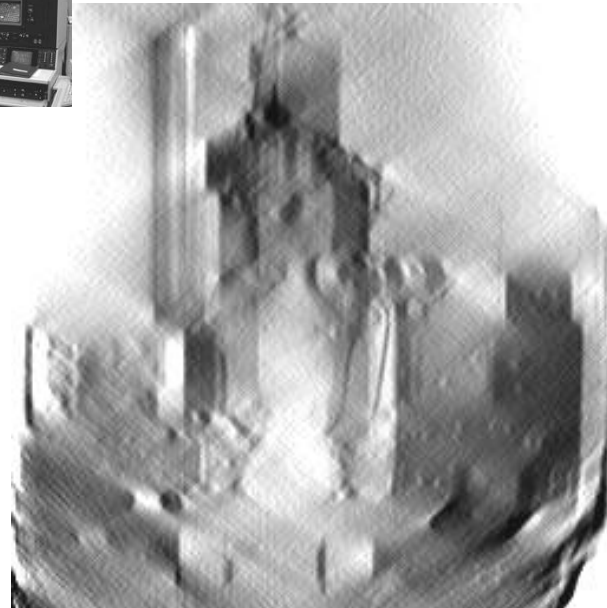


Image originelle



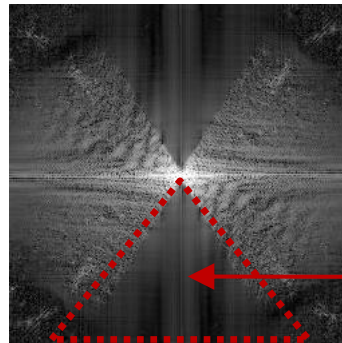
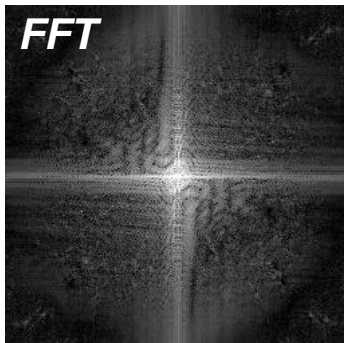
181 projections de  $-90^\circ$  à  $+90^\circ$   
par incrément de  $1^\circ$



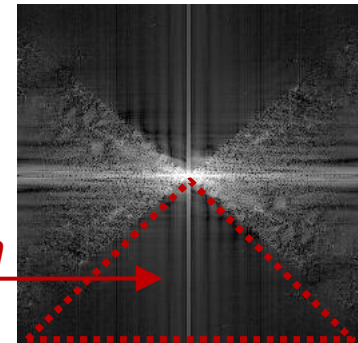
121 projections de  $-60^\circ$  à  $+60^\circ$   
par incrément de  $1^\circ$



81 projections de  $-40^\circ$  à  $+40^\circ$   
par incrément de  $1^\circ$



information  
manquante



## 2.3. Reconstruction tomographique : illustrations

### c) Qualité du positionnement de l'axe de tilt

Axe de *tilt* correct

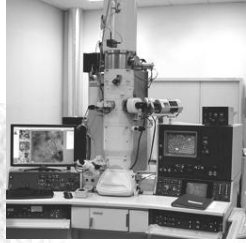
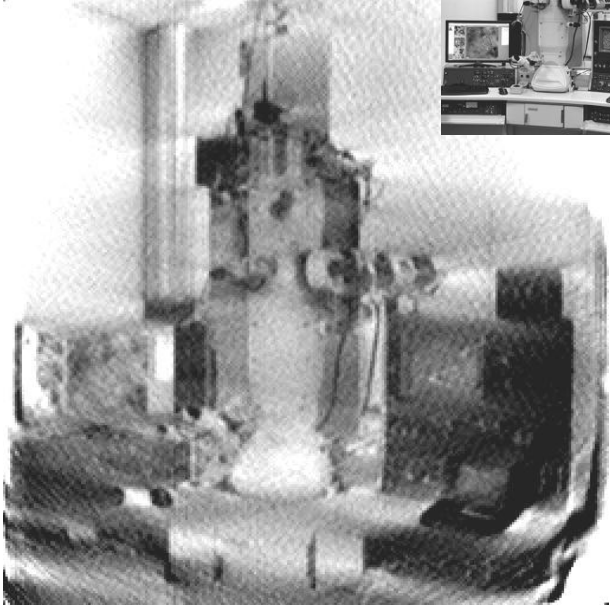
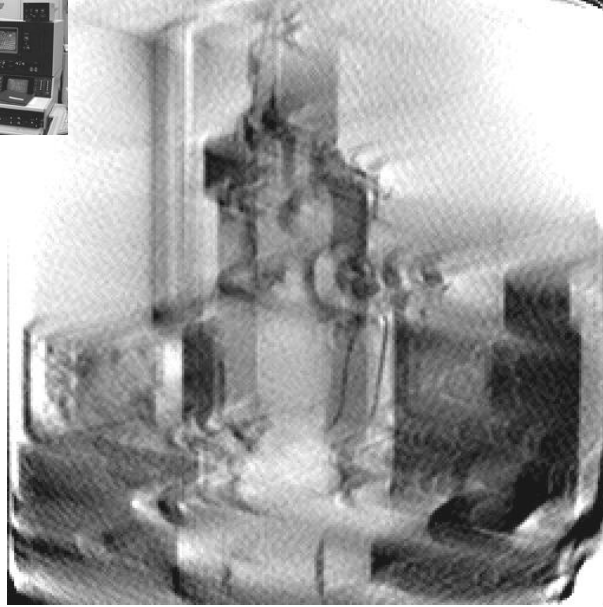
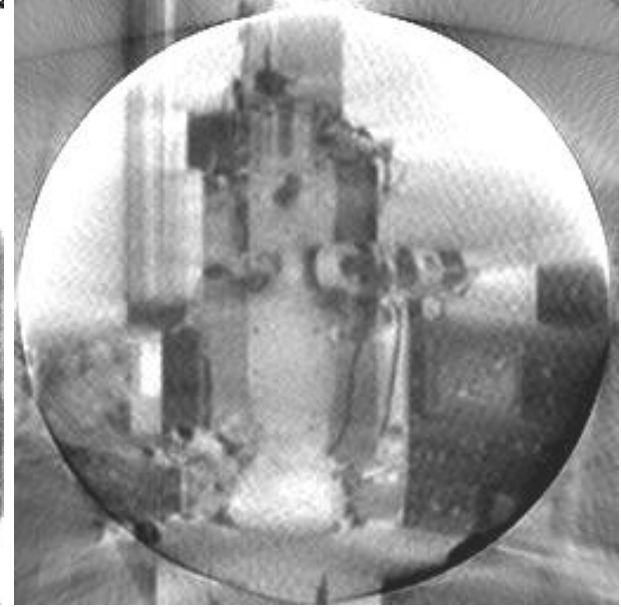


Image originelle

Décalage de l'axe de *tilt*



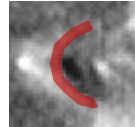
Désorientation de l'axe de *tilt*



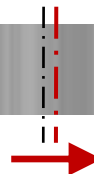
161 projections de  $-80^\circ$  à  $+80^\circ$   
par incrément de  $1^\circ$



Axe de *tilt*



Artefacts  
'boomerang'



Distorsions des  
échelles





## 2.4. Synthèse (quelques chiffres)

### • Élongation le long de Oz

$$\sqrt{\frac{\alpha + \sin\alpha \cos\alpha}{\alpha - \sin\alpha \cos\alpha}}$$

Facteur d'élongation dû au volume manquant  
(inclinaison maximale  $\alpha < 90^\circ$ )

Reconstruction  $\pm 40^\circ$  (WBP)

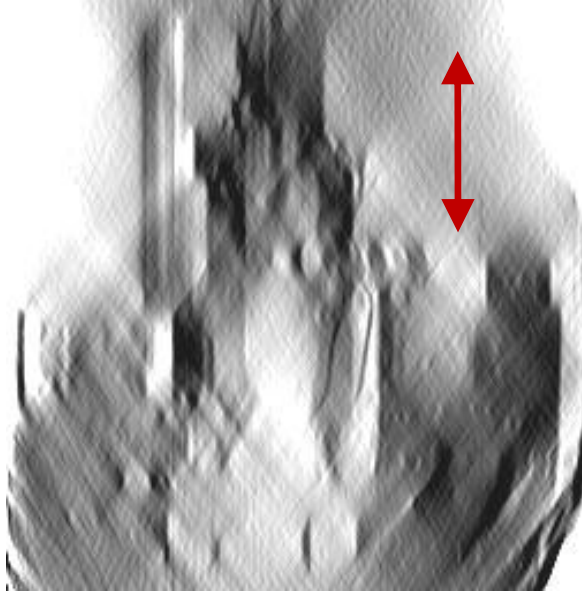
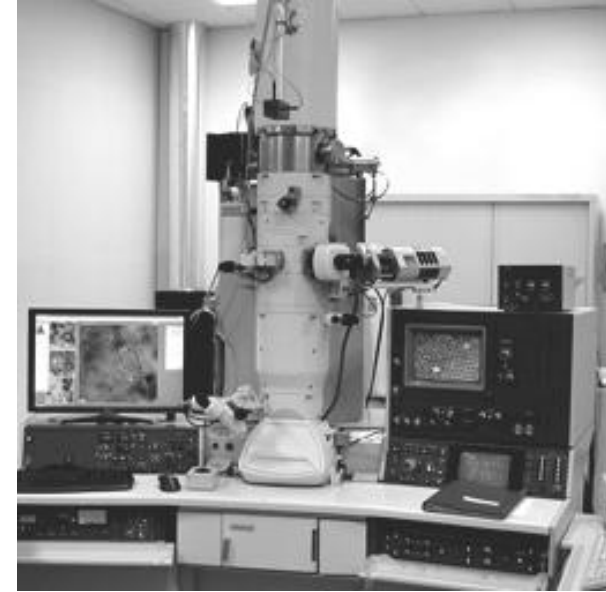


Image originelle



### • Résolution des tomogrammes

- Amplitude d'inclinaison  $2\alpha \approx 120^\circ$  ( $140^\circ$  si possible)
- Incrément de tilt (*tilt step*)  $\approx 1-2^\circ$ , diminution à fort tilt : schéma de SAXTON [W.O. SAXTON, *Ultramicrosc.* **13** (1984) 57-70]
- Estimation de la résolution attendue [R.A. CROWTHER et al., *Proc. R. Soc A* **317** (1970) 319]

$$R_z = \frac{\pi D}{N} \sqrt{\frac{\alpha + \sin\alpha \cos\alpha}{\alpha - \sin\alpha \cos\alpha}}$$

Résolution de Crowther  
si rotation  $\alpha = 90^\circ$

D = diamètre du volume reconstruit

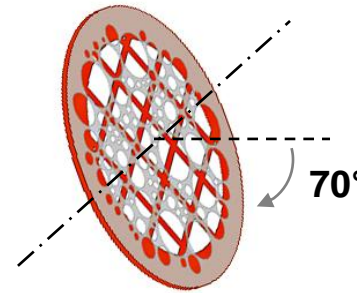
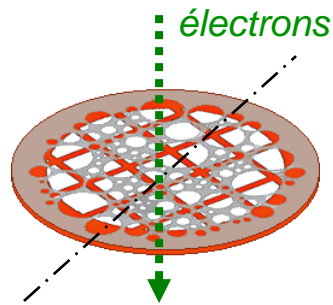
$R_z = 1.7$  nm si D = 50 nm, N = 130 images ( $2\alpha = 130^\circ$ , step  $1^\circ$ )

→ Résolution voisine du nanomètre en tomographie 'tiltée'

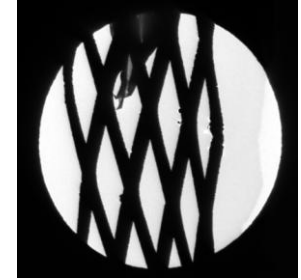
## 2.5. Réglages et ajustements expérimentaux

### a) Géométrie de l'échantillon

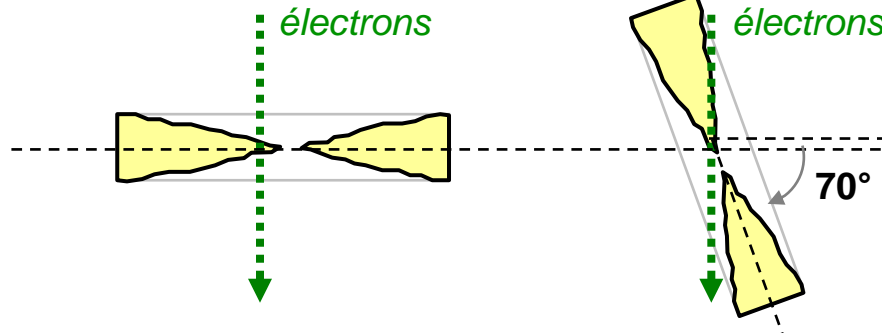
- (nano-)OBJETS supportés / coupes à l'ultra-microtome



Effets d'ombrage possibles...

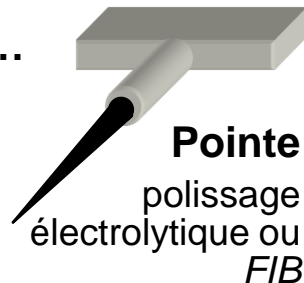


- LAME MINCE

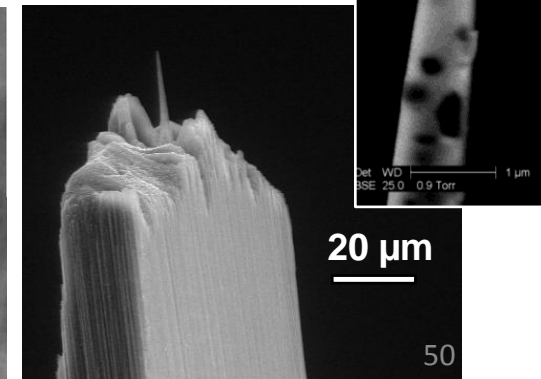


Augmentation drastique de l'épaisseur  $e = 2.9 t$  à  $70^\circ$

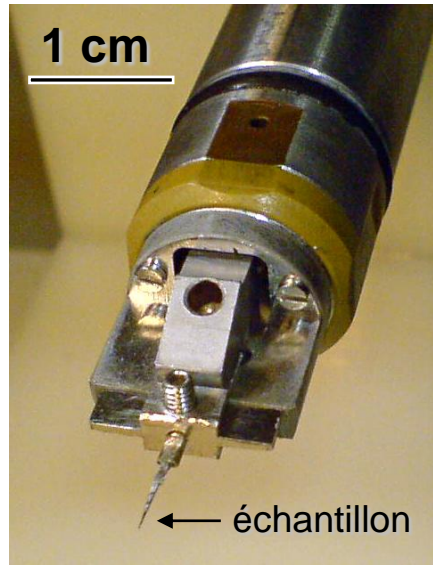
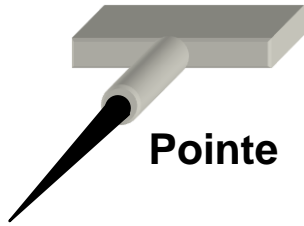
- Vers l'objet idéal...



Épaisseur constante  
PAS d'OMBRAJE  
Sans limitation de 'TILT'



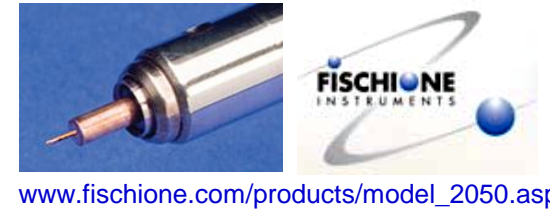
- **PORTE-OBJETS pour POINTES**



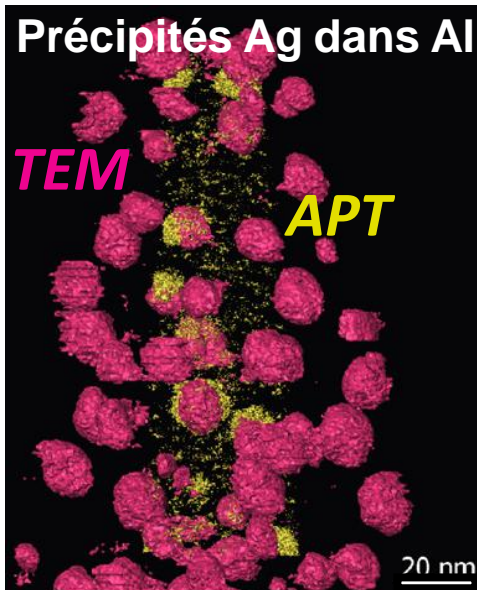
- *Fait maison* (P.O.  $\pm 85^\circ$ )

[S. BENLEKBIR, F. DANOIX, T. EPICIER, H. IDRISSE, *non publié*, (2008)]

- commerciaux (P.O.  $180^\circ$ )

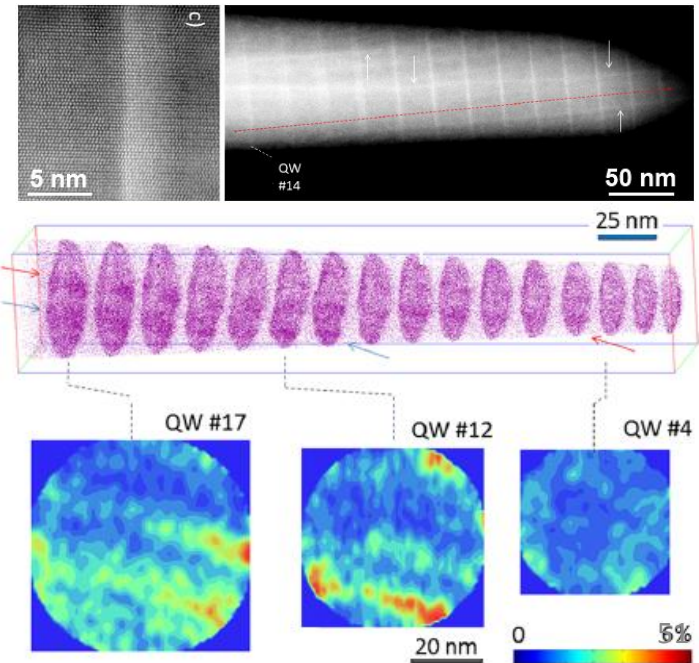


- **Corrélation tomo électronique / sonde atomique**



**Puits quantiques InGaN/GaN**

[L. RIGUTTI et al., *NanoLetters* **107** (2014) 114]

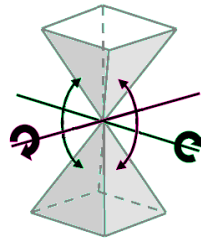
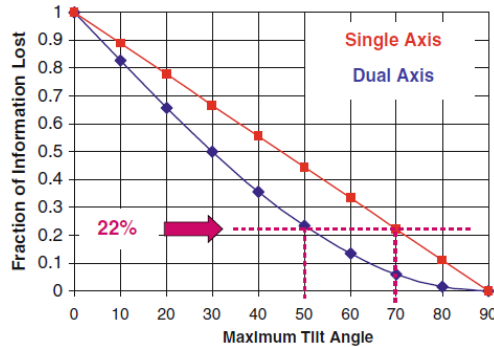


[I. ARSLAN et al., *Ultramicroscopy* **108** (2008) 1579]

## 2.5. Réglages et ajustements expérimentaux

### b) Autres Porte-objets

- PORTE-OBJETS 'Double-tilt' (tomographie multi-axes)



Rotations dans le plan 0° et 90°



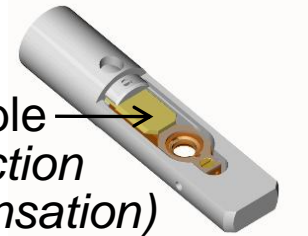
d'après P. MIDGLEY, (2011)

- PORTE-OBJETS 'FROIDS' et/ou CRYO-TRANSFERT (échantillons biologiques)

réservoir azote liquide →



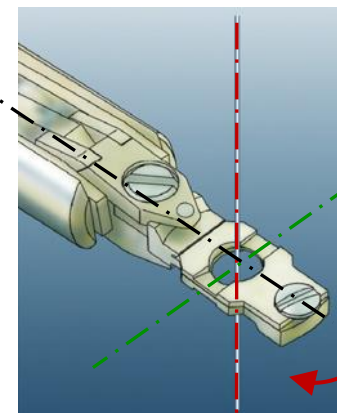
clapet amovible (protection condensation)



rotation  $\alpha$  standard



- PORTE-OBJETS 'Triple-tilt' (conditions de diffraction)



rotation  $\beta \pm 7.5^\circ$

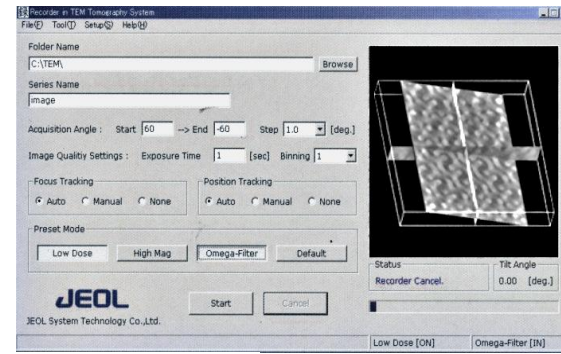
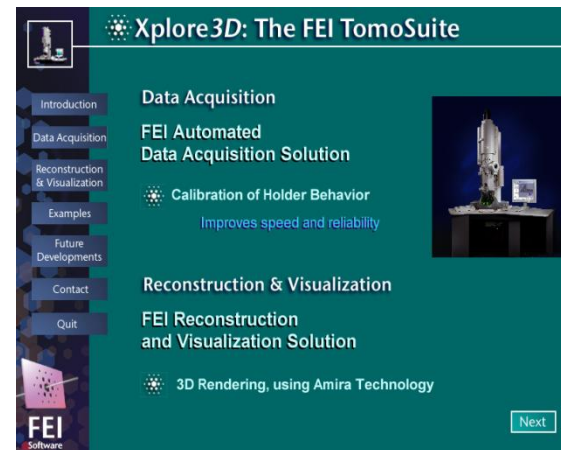
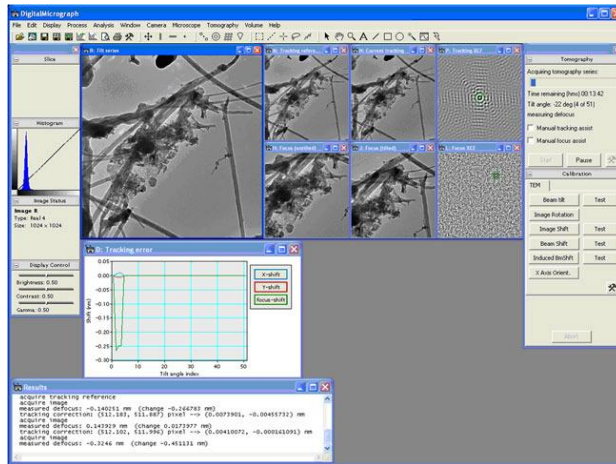
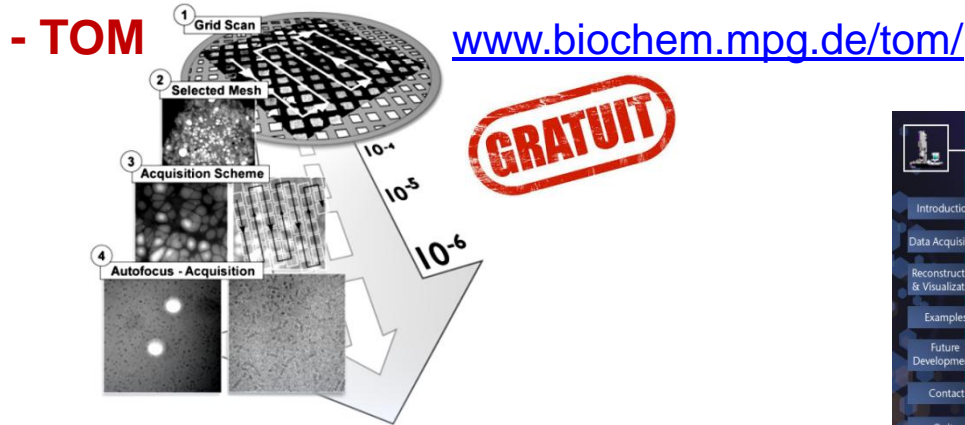
rotation ex-situ  $\gamma \pm 5^\circ$

[S. HATA S et al., *Ultramicrosc.* 111 (2011) 1168-1175]

## 2.5. Réglages et ajustements expérimentaux

### c) Acquisition de la série d'images

- acquisition manuelle (inclinaison, rattrapage, focus, prise d'images...) ou par logiciel automatique ou semi-automatique



- selon le mode d'imagerie, le grandissement, la méthode : entre  $\approx 10$  minutes à quelques heures d'acquisition

## 2.5. Réglages et ajustements expérimentaux

### d) Alignement des images

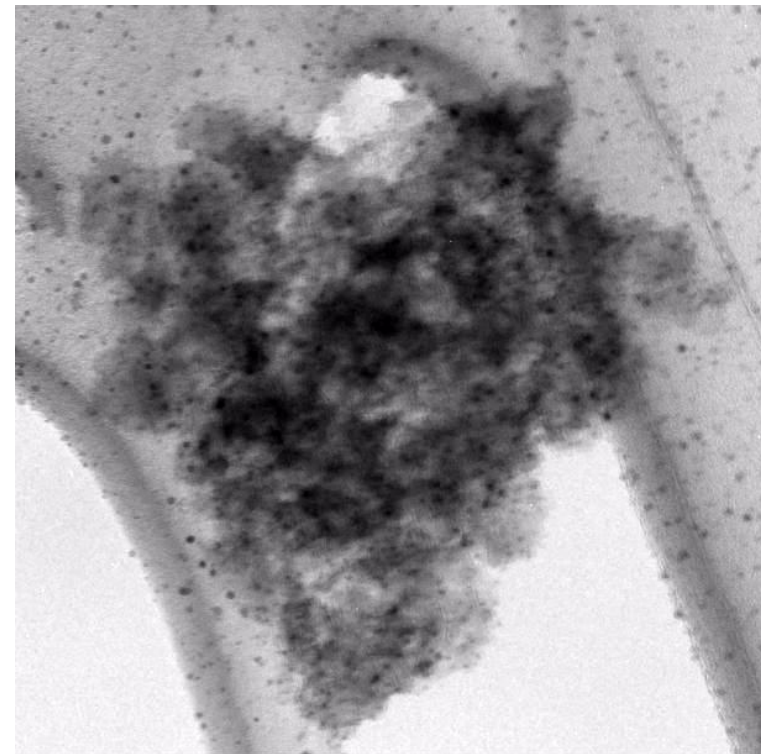
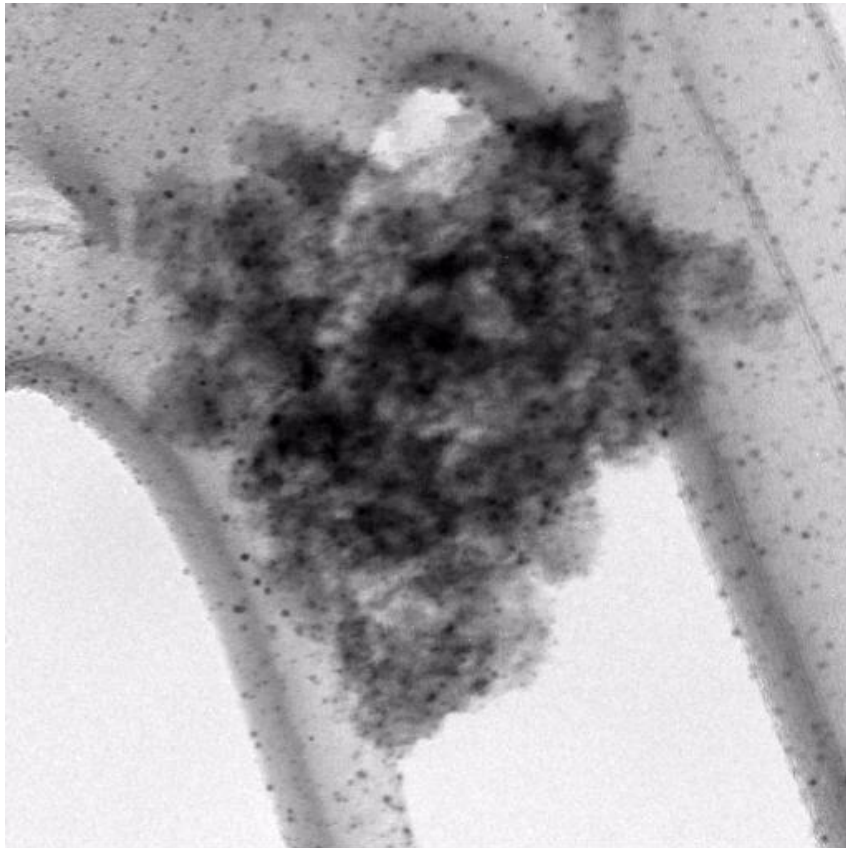
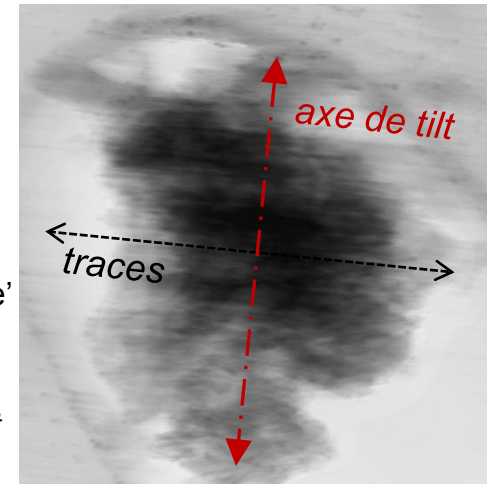
- **Idéal** : dépôt de **NanoParticules** sur l'objet permettant d'aligner les images entre elles et de déterminer la position exacte de l'axe de *tilt*

**Support de catalyseur  $\text{Al}_2\text{O}_3 + \text{SiO}_2$**

(collaboration MATEIS – IFPEN, F)

Série *tiltée*  $-66^\circ / +66^\circ$ , pas  $2^\circ$

Superposition 'transparente' de toutes les images montrant les traces des trajectoires des NPs, perpendiculaires à l'axe de *tilt*



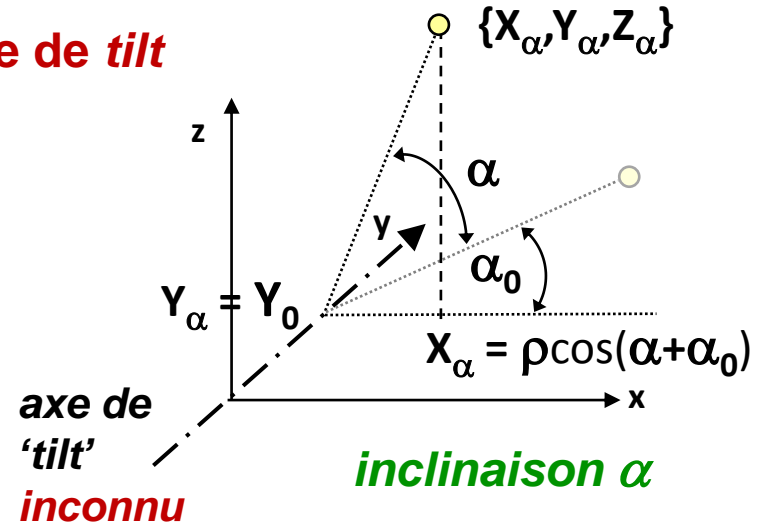
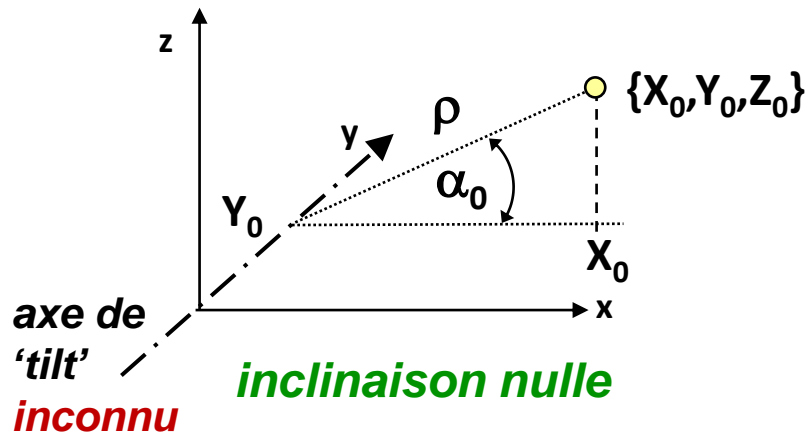
100 nm

## 2.5. Réglages et ajustements expérimentaux

### d) Alignement des images

- **Idéal** : dépôt de NanoParticules sur l'objet permettant d'aligner les images entre elles et de déterminer la position exacte de l'axe de *tilt*

#### Suivi d'une trajectoire de NP durant la série de *tilt*



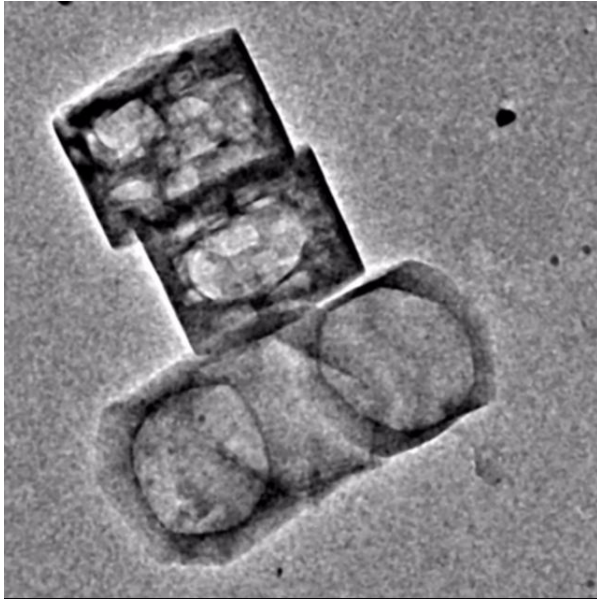
Si le repère est bien positionné (axe de tilt correct) :

- La coordonnée projetée  $X_\alpha$  de chaque particule suit une loi linéaire en fonction de  $\cos(\alpha + \alpha_0)$  - chaque  $\alpha_0$  peut être déterminé en optimisant la régression linéaire  $X_\alpha = f(\cos(\alpha + \alpha_0))$
- La coordonnée projetée  $Y_\alpha$  reste constante quel que soit  $\alpha$

- **Autres méthodes** : alignement par corrélation croisée ou algorithmes spécifiques [D. CASTAÑO-DÍEZ et al., *J. of Structural Biology* **170** (2010) 117–126]

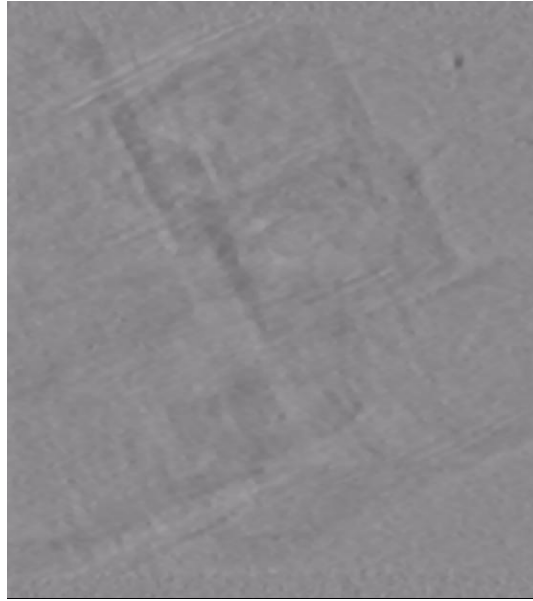
## 2.6. Visualisation et analyse des tomogrammes

### 1) Acquisition ✓



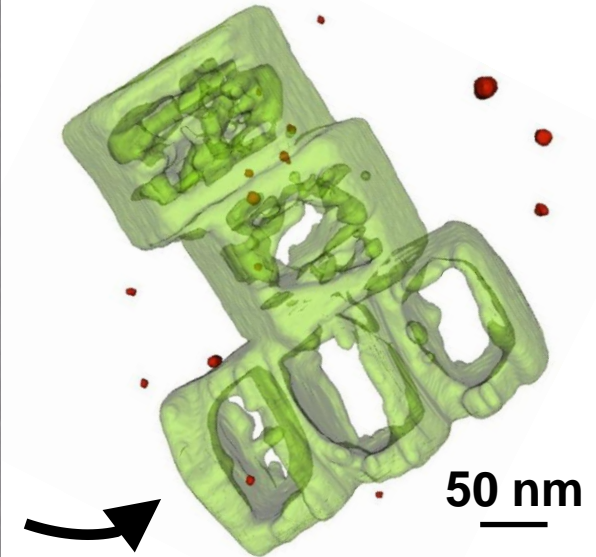
Série *tiltée*

### 2) Reconstruction ✓



TOMOGRAMME

### 3) Modèle 3D ? Visualisation ? Analyse quantitative ?



[T. EPICIER et al., *Proc. IMC2014*]

- segmentation / binarisation du tomogramme
- Logiciel de visualisation / rendu 3D
- Logiciel de traitement d'images '3D' pour quantification



# 3. APPLICATIONS

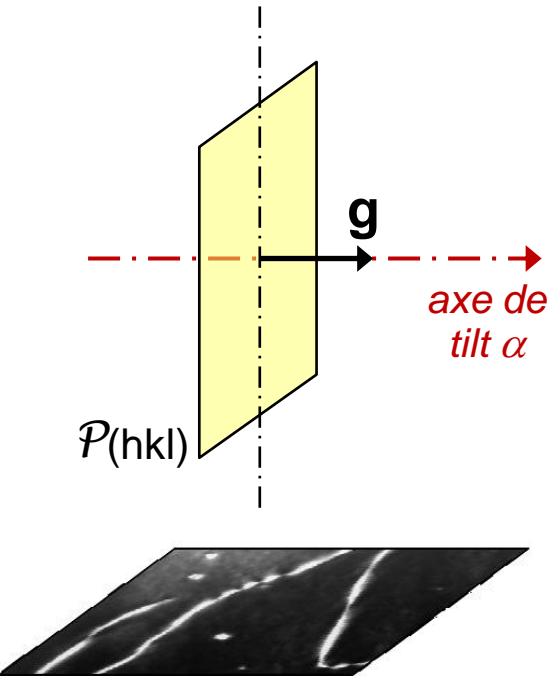
## 3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)

### a) Tomographie et CONTRASTE de DIFFRACTION

● **Dislocations**

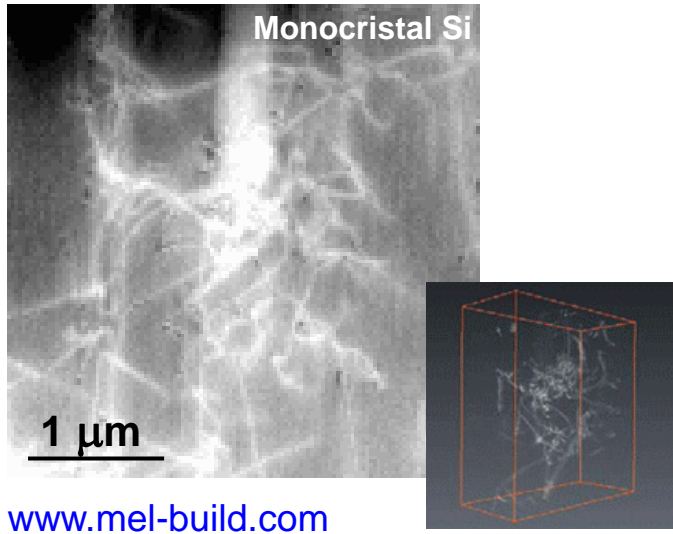
[BARNARD J.S. et al., *Science* 313 (2006) 319]

[TANAKA, M. et al., *Scripta Materialia* 59 (2008) 901-904]



400 nm GaN

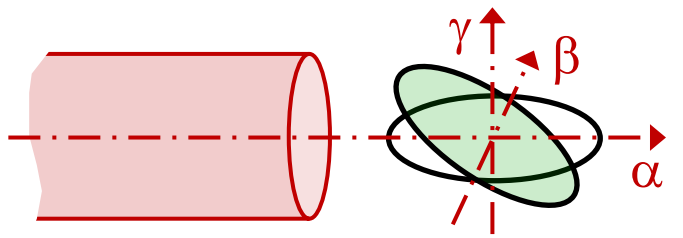
[www.sciencemag.org/content\\_suppl\\_2006\\_07\\_20\\_313.5785,319,DC\\_11125783S1](http://www.sciencemag.org/content_suppl_2006_07_20_313.5785,319,DC_11125783S1)



[www.mel-build.com](http://www.mel-build.com)

HATA (High Angles Triple Axis)  
holder:  $\alpha : \pm 83^\circ, \beta : \pm 7^\circ, \gamma : \pm 5^\circ$

Champ Sombre en Faisceau Faible  
(Weak Beam Dark Field)



[S. HATA S et al., *Ultramicrosc.* 111 (2011) 1168-1175] 57

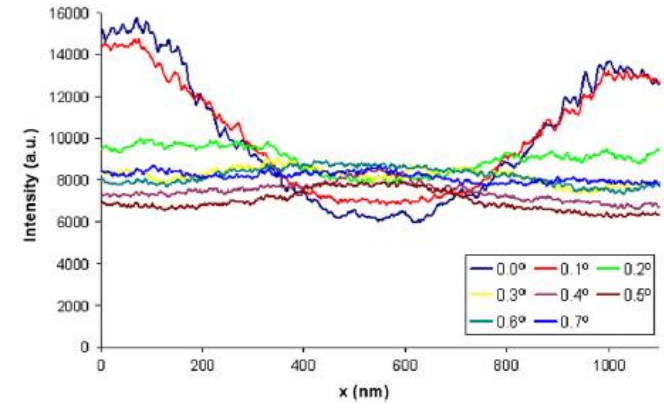
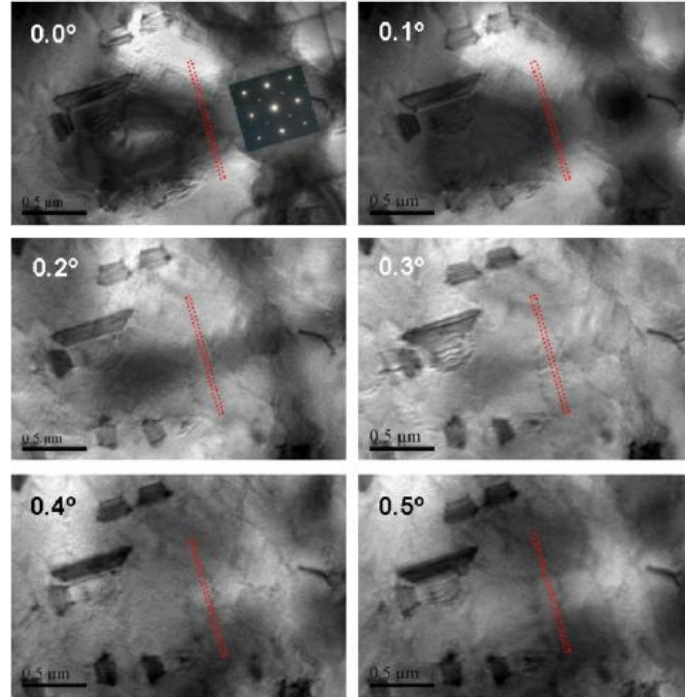
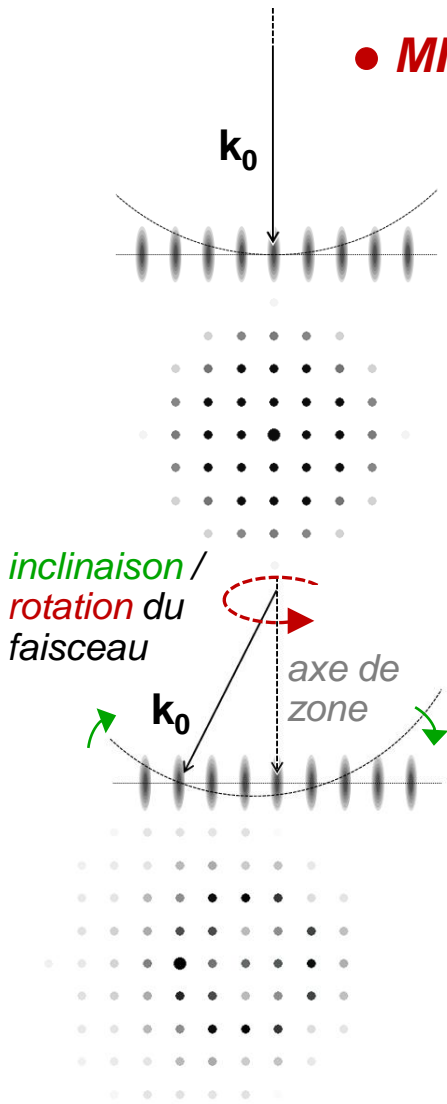
# 3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)

## a) Tomographie et CONTRASTE de DIFFRACTION

- **MINIMISER le CONTRASTE de DIFFRACTION en Champ Clair**

[GEMMI M., NICOLOPOULOS S.,  
*Ultramicrosc.* **107** (2007), 483-494]

Fautes d'empilement dans une hétérostructure  
InAlAs-InGaAs-InP (vue plane [001])



[REBLED J.M. et al., *Ultramicrosc.* **111** (2011), 1504-1511]

**réduction des interactions multi-ondes**  
(Al [001], calculs dynamiques 50 nm)

# 3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)

## a) Tomographie et CONTRASTE de DIFFRACTION

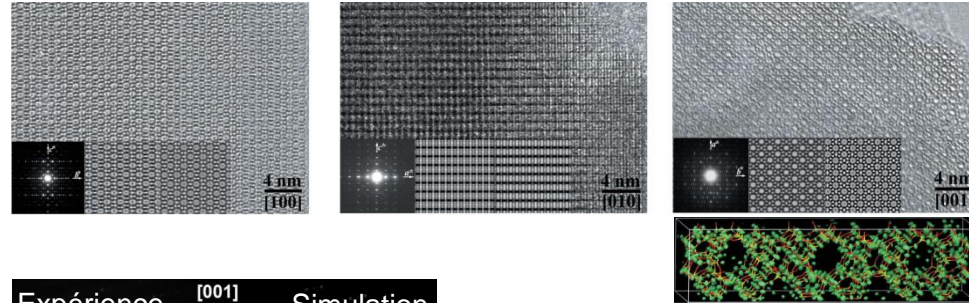
### ● APPROCHES TOMOGRAPHIQUES en MODE DIFFRACTION

**Cristallographie électronique** : détermination de structures cristallines (*structure refinement*)

#### - Approches 'multi-2D' par Haute Résolution

Par exemple :

[X. ZOU, S. HOVMÜLLER, *Acta Cryst.* **A64** (2008), 149-160]

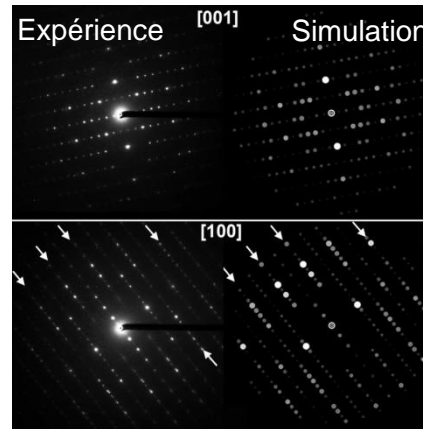


#### - Exploration tri-dimensionnelle du réseau réciproque (tomographie en diffraction)

Par exemple :

[T.E. GORELIK et al., *J. of Microscopy*, **244** Pt 3 (2011), 325-331]

[M. GEMMI et al., *Acta Cryst.* **B68** (2012), 15-23]

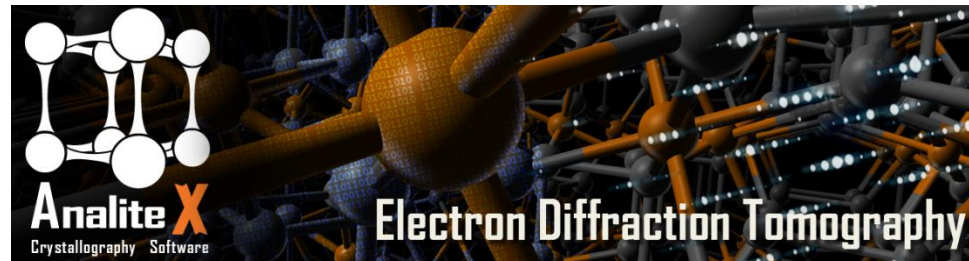


Diffraction en précession

- Simulations cinématique / dynamique et visualisation 3D :

**emap, eslice** <http://www.analitex.com>

[P. OLEJNIKOV, *Cryst. Res. Technol.* **46** 6 (2011) 569-579]

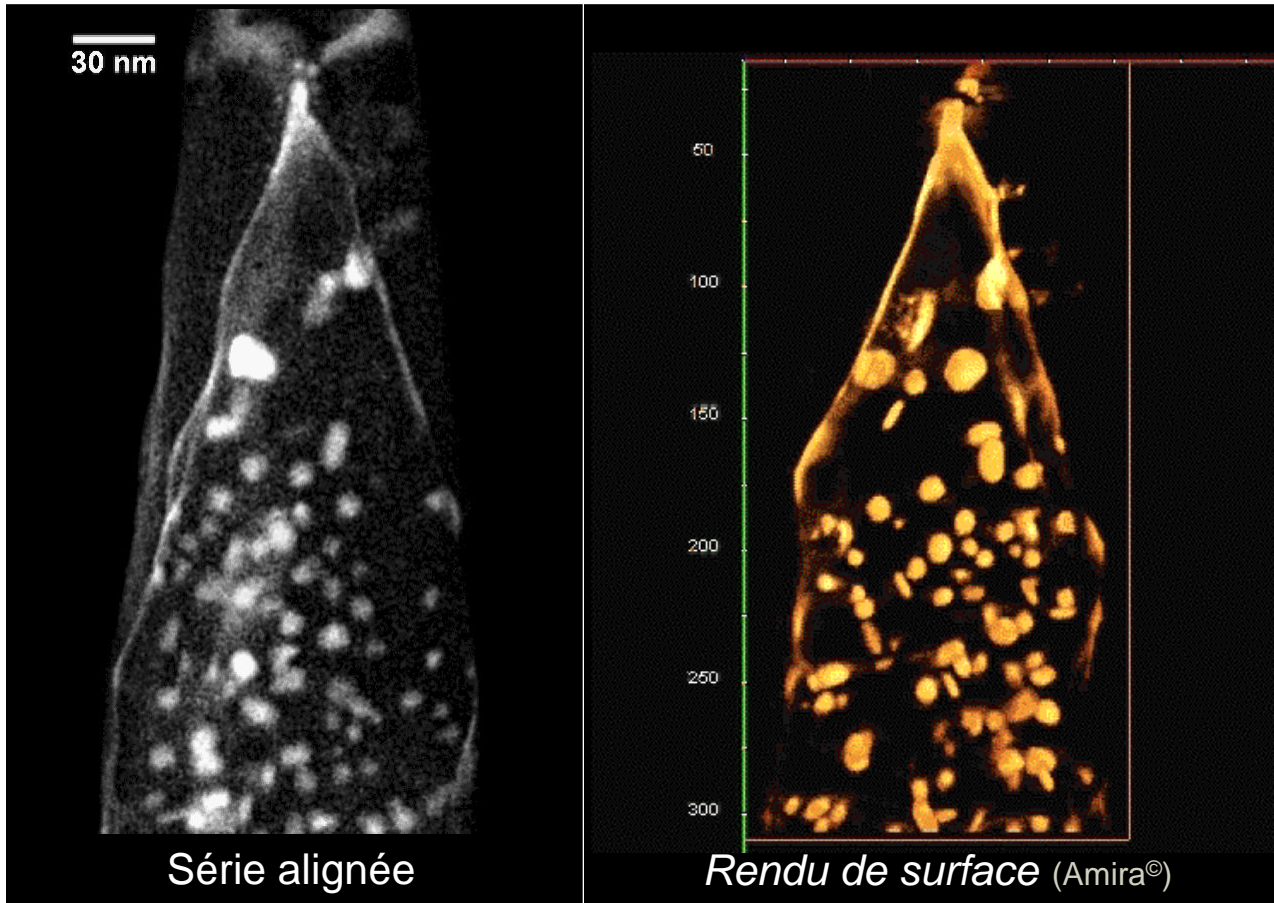


# 3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)

## b) Précipitation dans des alliages métalliques

### • MgZn<sub>2</sub> dans une matrice d'aluminium

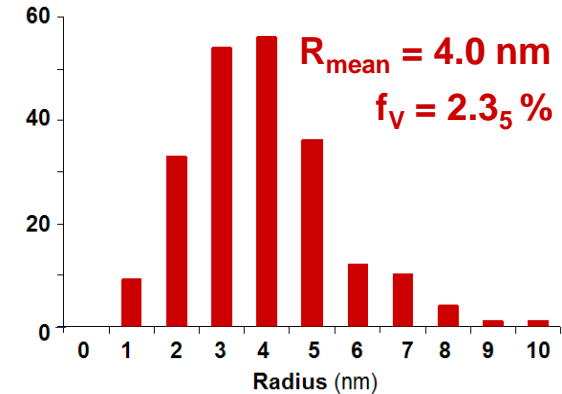
[T. EPICIER et al., *Proceed. EMC 2008*, vol. 1, Springer Verlag: Berlin (2008), 309-310]



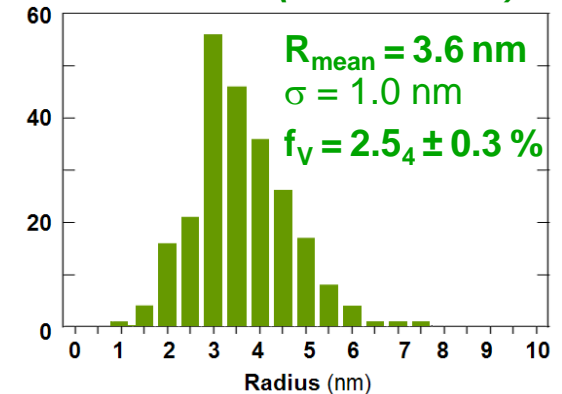
Série alignée

Rendu de surface (Amira®)

### STATISTIQUES (250 précipités)



### littérature (SAXS+TEM)\*



Série 'tiltée' -52° / 69° (121°), pas 1°, 300K

\*[M. DUMONT et al., *Acta Materialia* 53 (2005), 2881]

# 3.1. Illustrations d'approches tomographiques (en Sciences des Matériaux)

## b) Précipitation dans des alliages métalliques

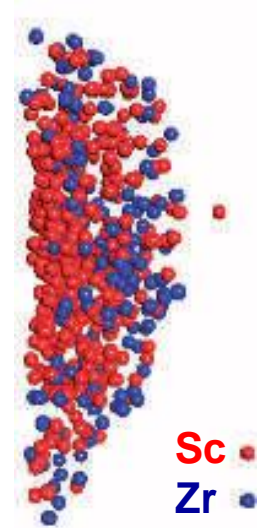
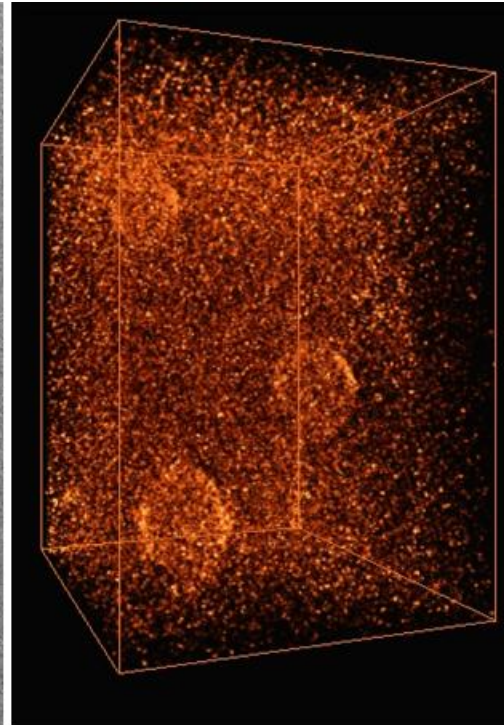
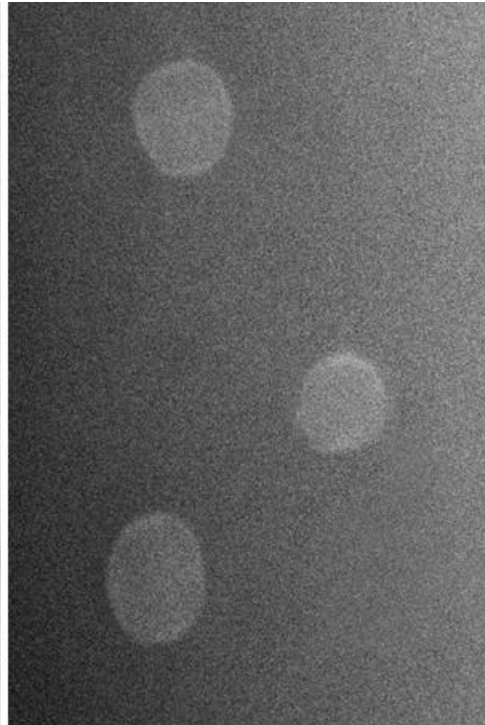
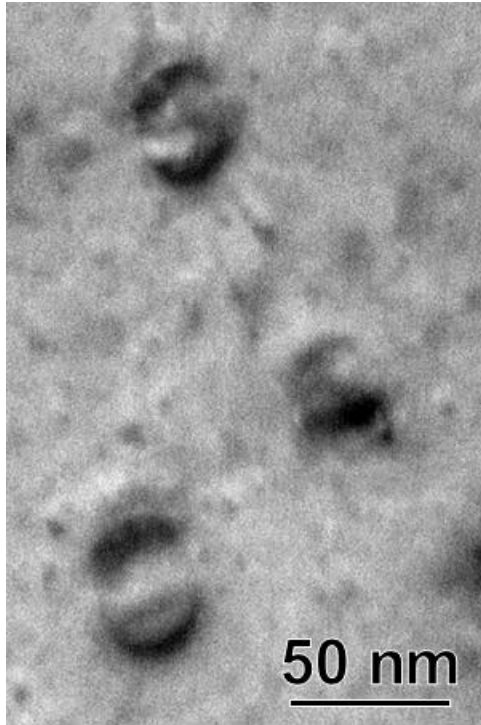
- **Al<sub>3</sub>ZrSc dans Al** [EPICIER T., K. SATO, non publié]

MET Champ Clair

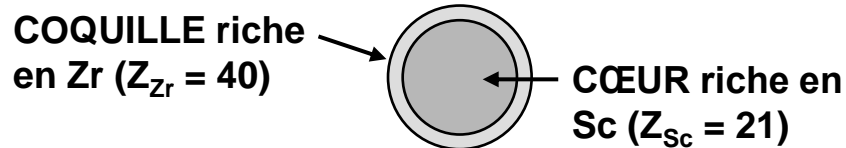
STEM-HAADF

rendu de surface  
(TOMO-STEM)

détail périphérie  
Sonde Atomique  
Tomographique



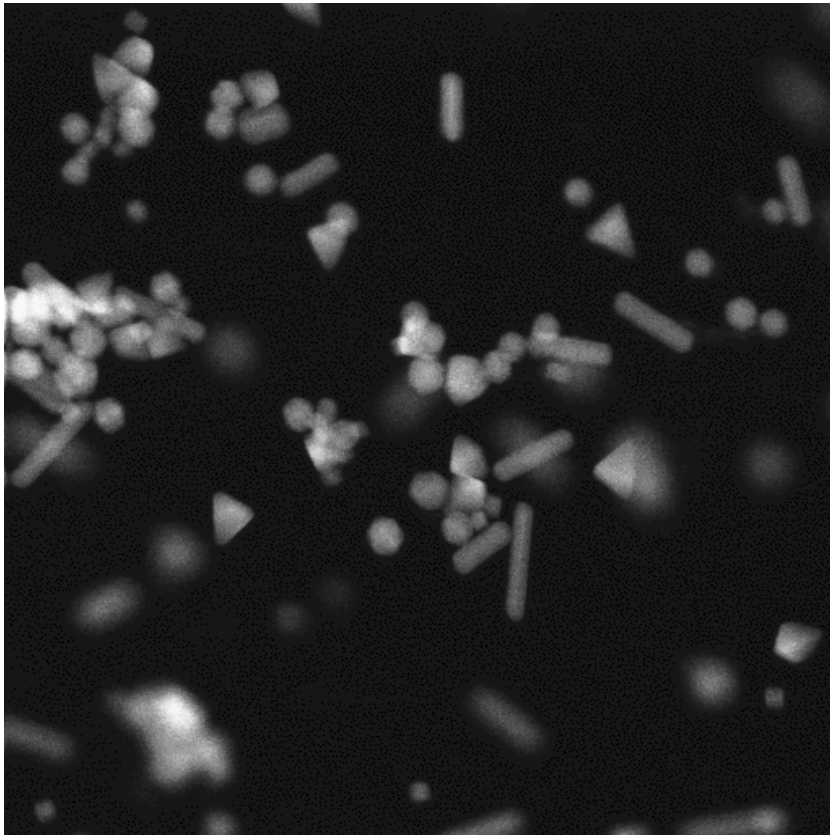
[E. CLOUET et al.,  
*Nature Materials* 5  
(2006) 486]



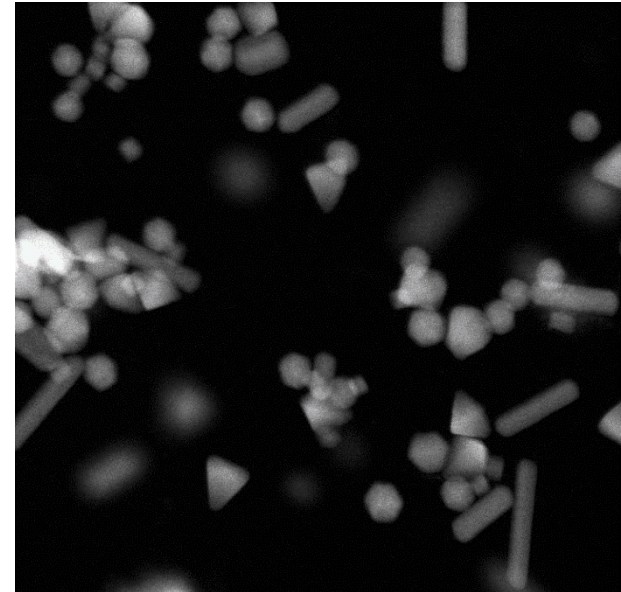
## c) Nanoparticules

### • Formes de nanoparticules de Palladium

[S. BENLEKBIR et al., *Phil. Mag. Letters* 89 2 (2009), 145-153]

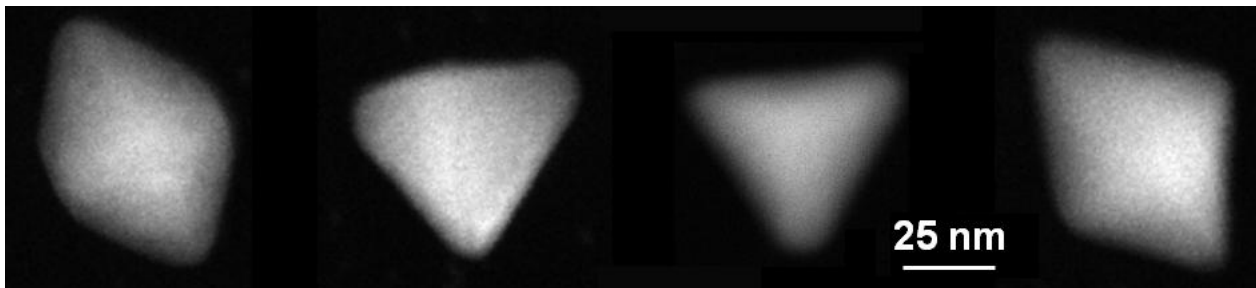


0.1  $\mu\text{m}$



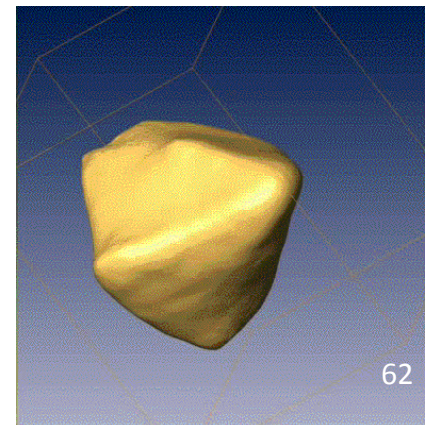
série  
alignée  
'croppée'

série 'tiltée' brute (non alignée),  $-43^\circ / +67^\circ$ , pas  $2^\circ$



25 nm

bipyramide

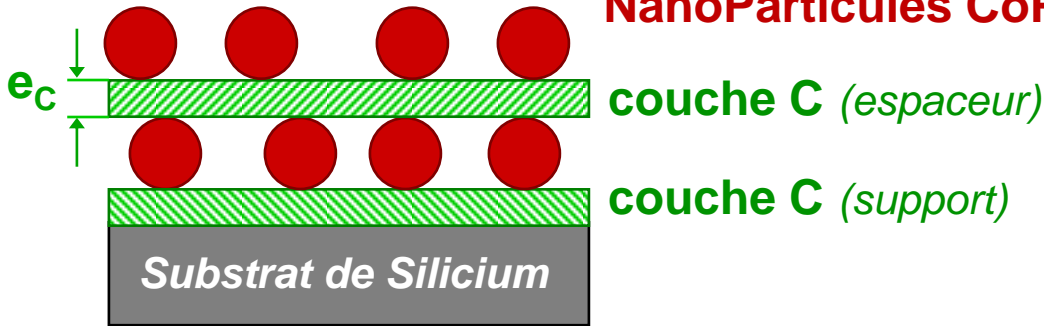


62

• 'bi-couche' CoPt

[T. EPICIER, F. TOURNUS, K. SATO, T. KONNO, *non publié*]

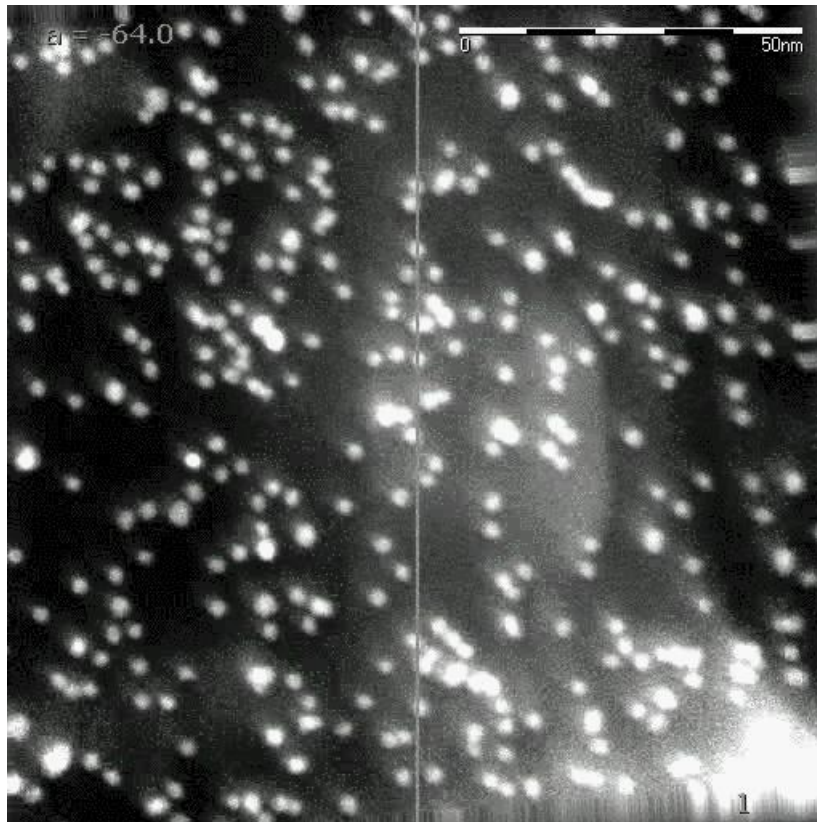
NanoParticules CoPt,  $\varnothing \approx 2.8$  nm



'Multicouches' : dépôt par *Low Energy Cluster Beam Deposition* d'une grande densité de NPs pour meilleur signal SQUID sans interactions magnétiques inter-particules

[N. BLANC, thèse, Université-Lyon 1, (2009)]

Bi-couche  
NPs CoPt



FEI TITAN 300 kV  
(correcteur de  $C_s$   
sur lentille objectif)

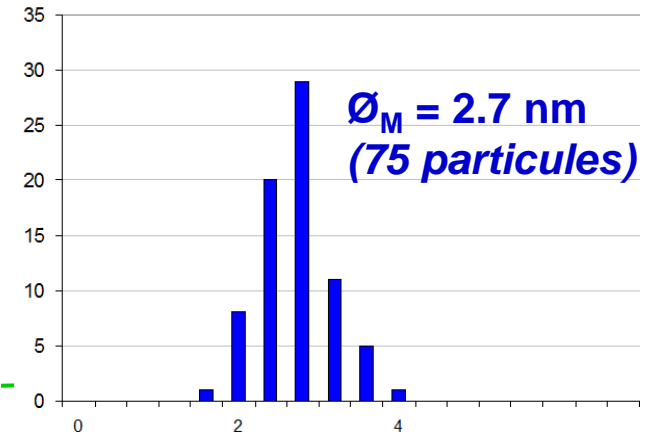
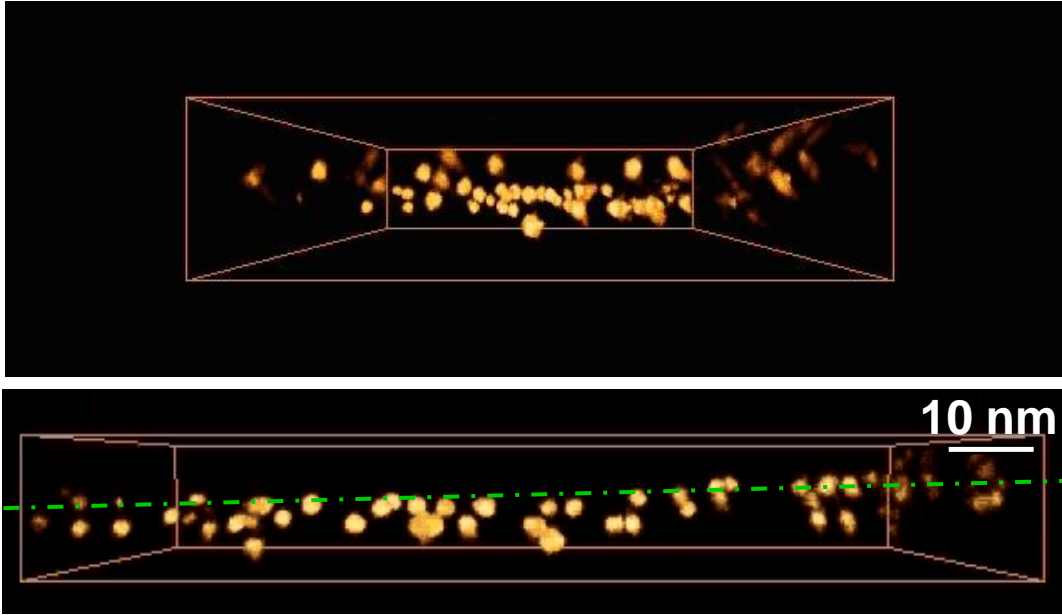
Tohoku University,  
Sendai-Japan



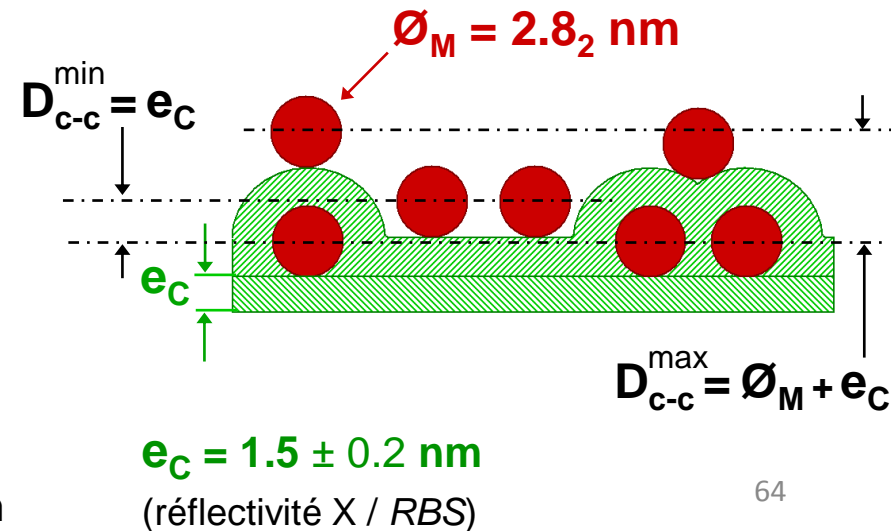
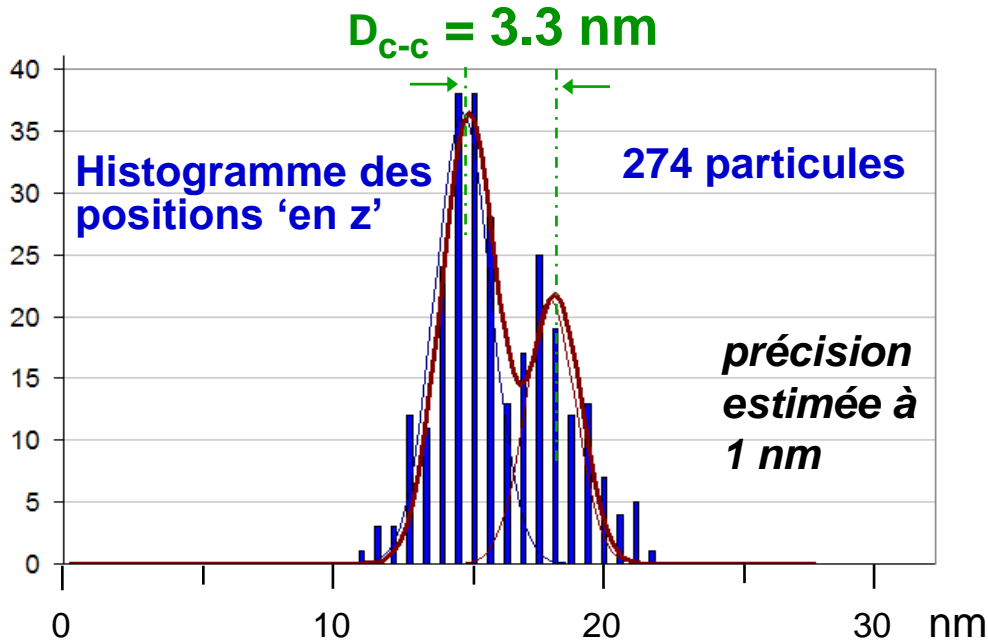
Série 'tiltée' alignée, -64 / 70°, *step* 2°

# Reconstruction typique (WBP)

[T. EPICIER, F. TOURNUS, K. SATO, T. KONNO, *non publié*]



$\varnothing_M = 2.8_2 \text{ nm}$  (274 particules)





## 3.2. DÉVELOPPEMENTS ACTUELS

### a) Résolution en tomographie MET

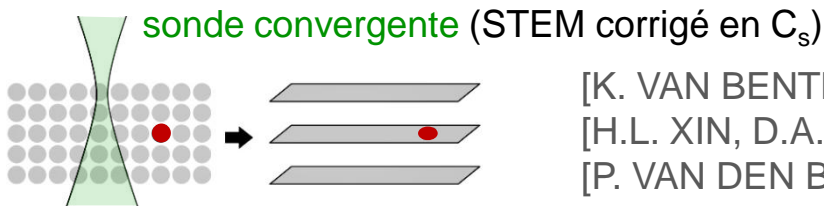
- Approche 'classique'

- Tomographie 'simple' ou 'double' axe de rotation
- Alignement par 'corrélation' (après calibration du déplacement de l'axe de 'tilt')
- Échantillon 'standard' (lame mince, coupe ultramicrotome, nano-objets supportés,...)
- Irradiation contrôlée (...)

Résolution optimale attendue  $\approx 1 \text{ nm}^3$



- STEM 'confocal'



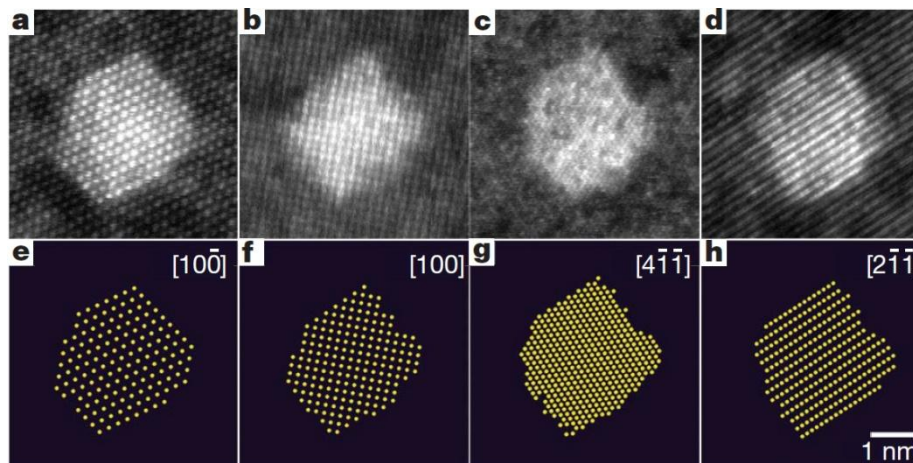
[K. VAN BENTHEM et al., *Appl. Phys. Lett.*, **87** (2005), 034104]

[H.L. XIN, D.A. MULLER, *J. Electron Microscopy*, **58** 3 (2009), 157-165]

[P. VAN DEN BROEK et al., *Ultramicrosc.*, **110** (2010) 548-554]

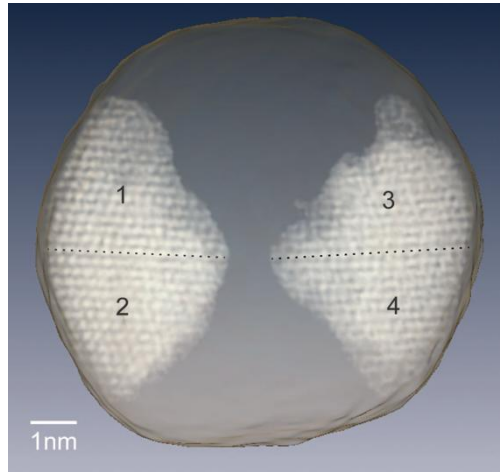
- Approches 'haute résolution' (*atomiques dans les cristaux*)

**Discrete Tomography** : compter les atomes (*STEM-HAADF*) le long de quelques directions cristallographiques [S. VAN AERT et al., *Nature* **470** (2011), 374-377]



**Clusters Ag dans Al**

## • Approches 'haute résolution' (*atomiques dans les cristaux*)



[M.C. SCOTT, *Nature*, **483**, 4 (2012) 444]

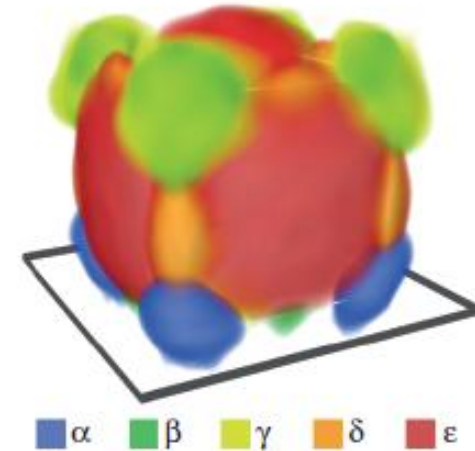
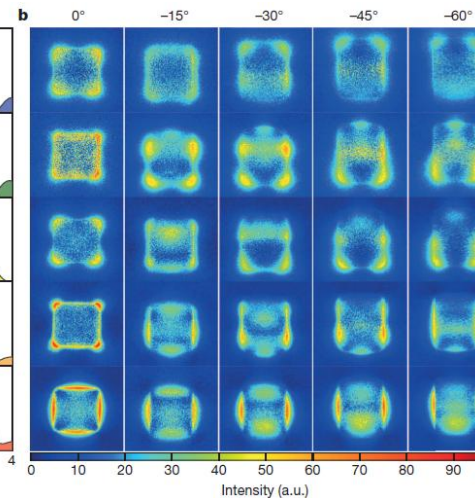
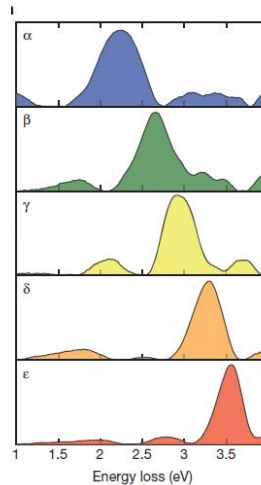
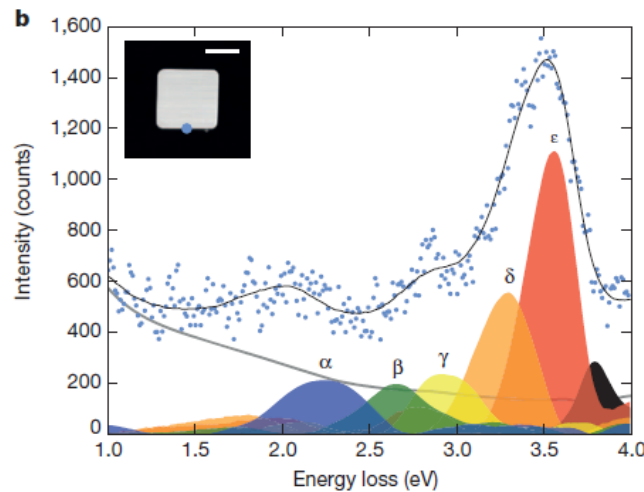
- Nanoparticule d'or icosahédrique
- 68 projections, amplitude de tilt  $\approx \pm 70^\circ$
- Reconstruction **Equally Sloped Tomography** sans a priori

[Y. MAO et al., *Phys. Rev.* **B72** (2005) 052103]

## • Tomographie 'plasmonique'

[O. NICOLETTI, *Nature*, **502** (2013) 80]

- Cartographie 3D des (fréquences de) Résonances Plasmons de Surface d'une Nanoparticule d'Ag



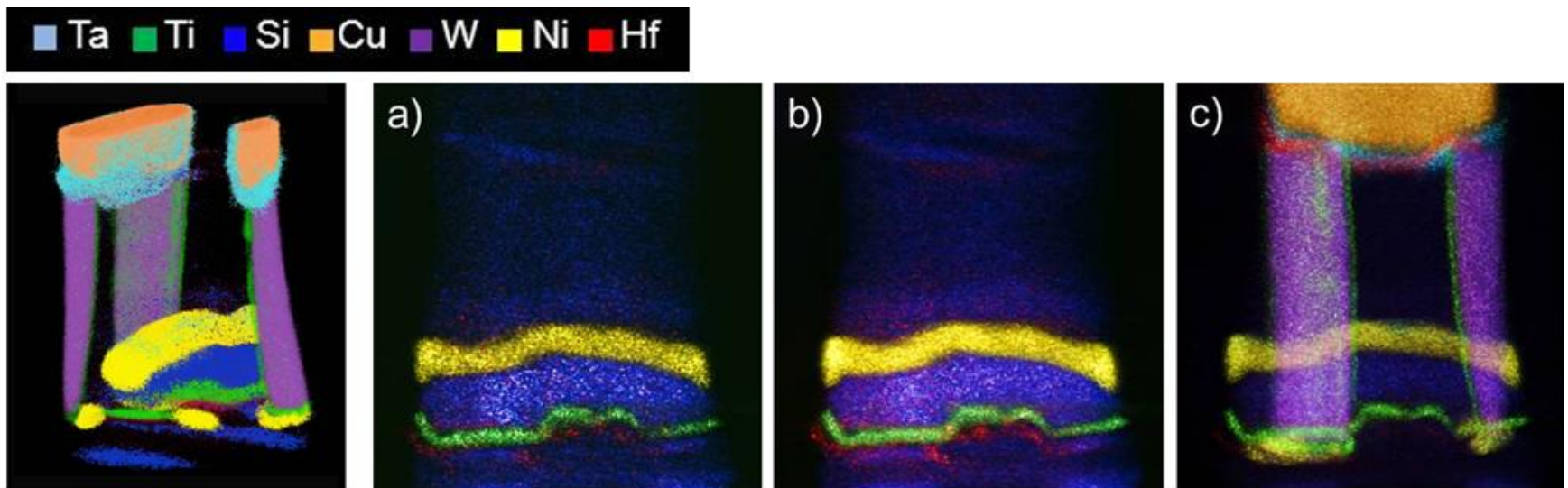
## 3.2. DÉVELOPPEMENTS ACTUELS

### b) Tomographie analytique en mode EDX

#### • Quelques références...

- Premiers essais... [G. MÖBUS et al., *Ultramicroscopy* **96** (2003) 433-451]
- Nano-pyramides de GaN [WILDESON I.H. et al., *J. Appl. Physics* **108** (2010), 044303]
- <http://www.fei.com/products/transmission-electron-microscopes/chemistem.aspx>

#### • Microscopes dédiés cartographie EDX ultra-rapide (FEI, Osiris 200 kV)



**Transistor FDSOI** (pointe FIB 150 nm, série 'tiltée'  $-90^\circ / +90^\circ$ , pas  $2^\circ$ , 5' d'acquisition par carte, 120 kV). a) projection d'une couche ; b) tranche projetée 20 nm ; c) dispositif entier.

[K. LEPINAY et al., *Micron*, **47** (2013) 43]

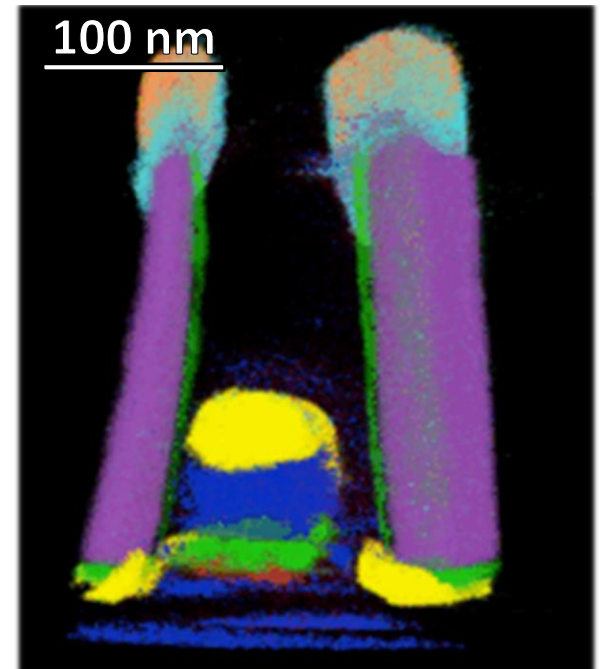
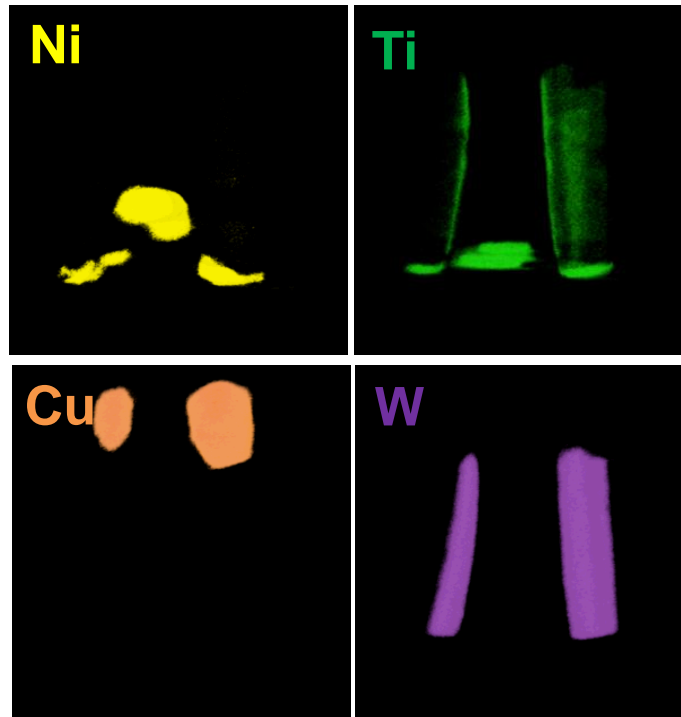
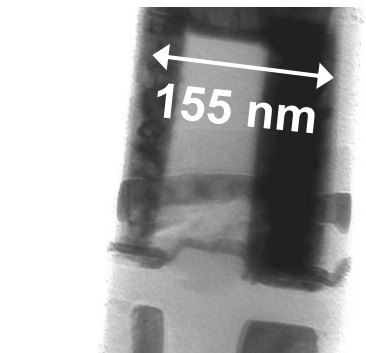
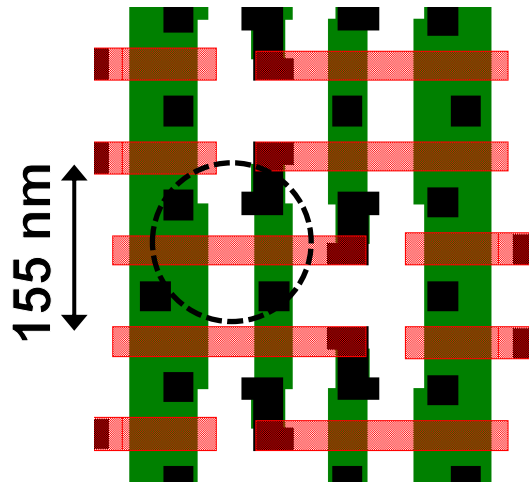
[A. GENC et al., *Ultramicroscopy* **131** (2013) 24]

Résumé des conditions expérimentales : 120 kV, courant de sonde 1.2 nA, cartes EDX 800 x 800 pixels (5'/carte), pas de *tilt* 2° (amplitude 180°), temps total 7 hr 30'

Rendus 3D élémentaires

Vue composite

SRAM 28nm Layout

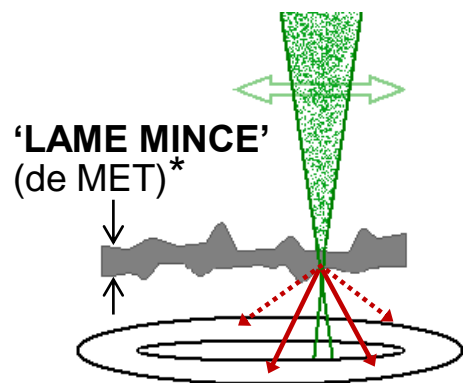


# 3.3. Tomographie en mode basse tension (MEB)

## a) Idées générales

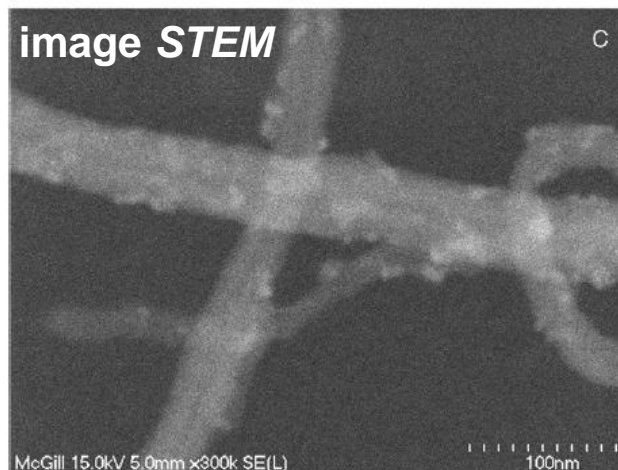
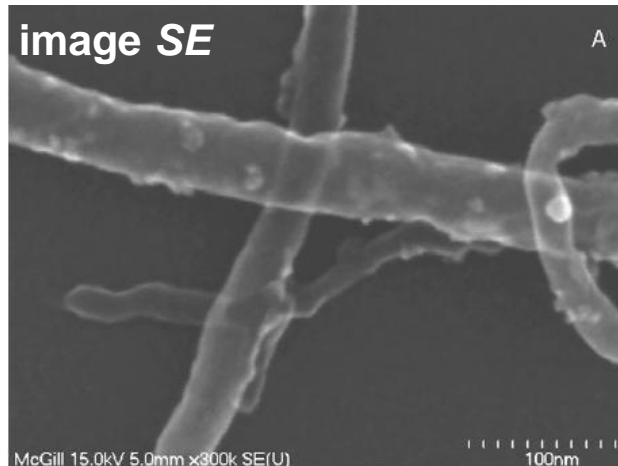
- **Imagerie de nanotubes de carbone**

**low-voltage STEM :**  
mode **STEM** en **MEB**



\* épaisseur jusqu'à *qqs*  $\mu\text{m}$

[C. PROBST et al., *Micron*, **38** (2007) 402-408]

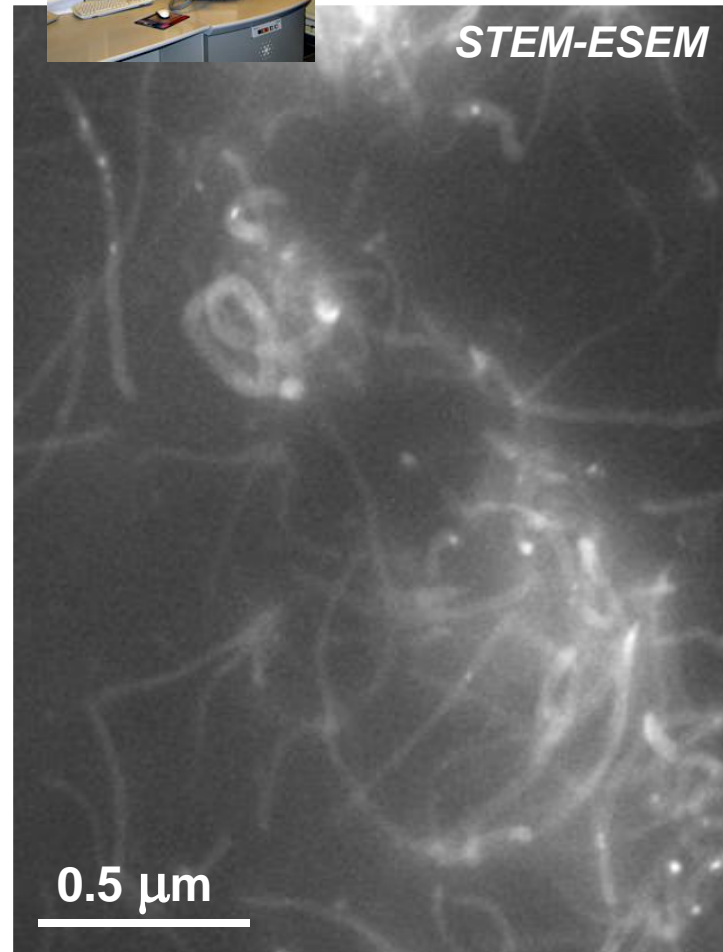


**Nanotubes de carbone (CNTs)**



FEI XL30 30 kV

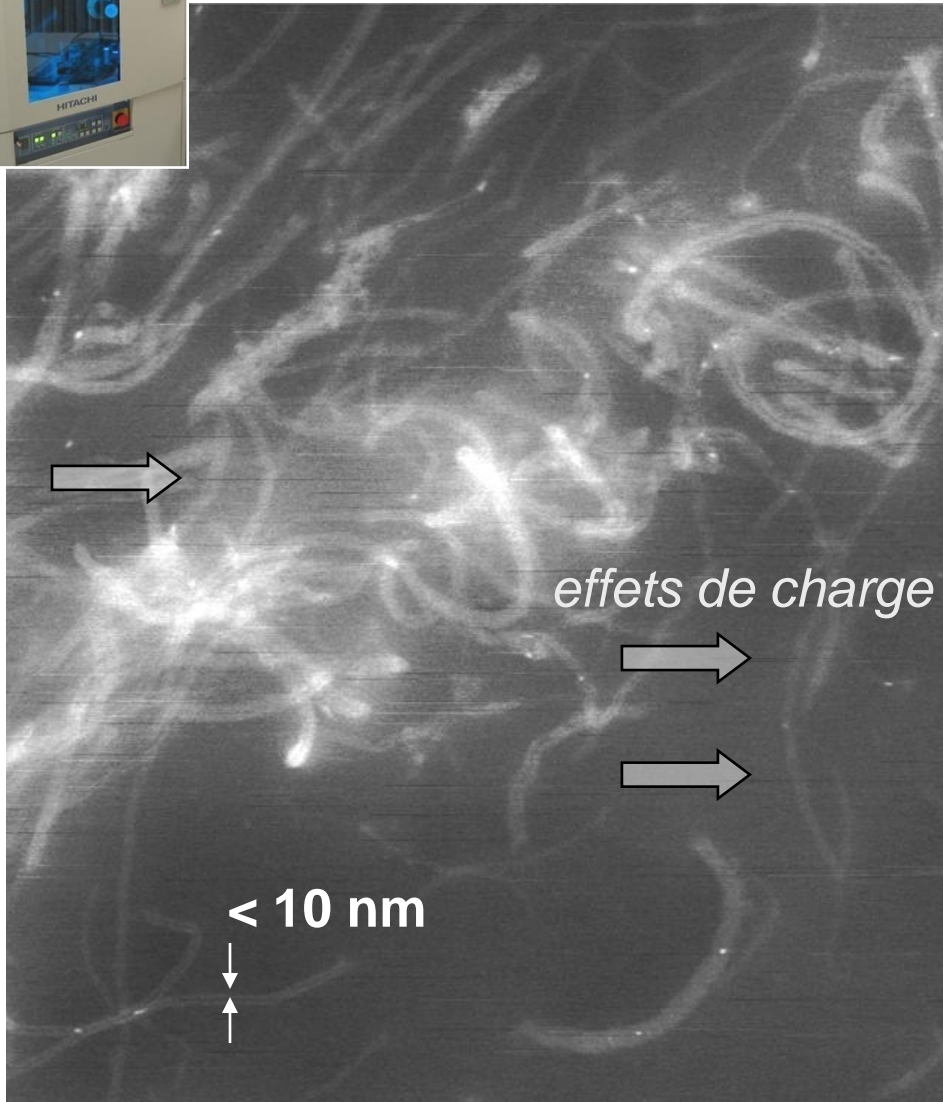
[Y. LIU, thèse (2013), INSA-Lyon]



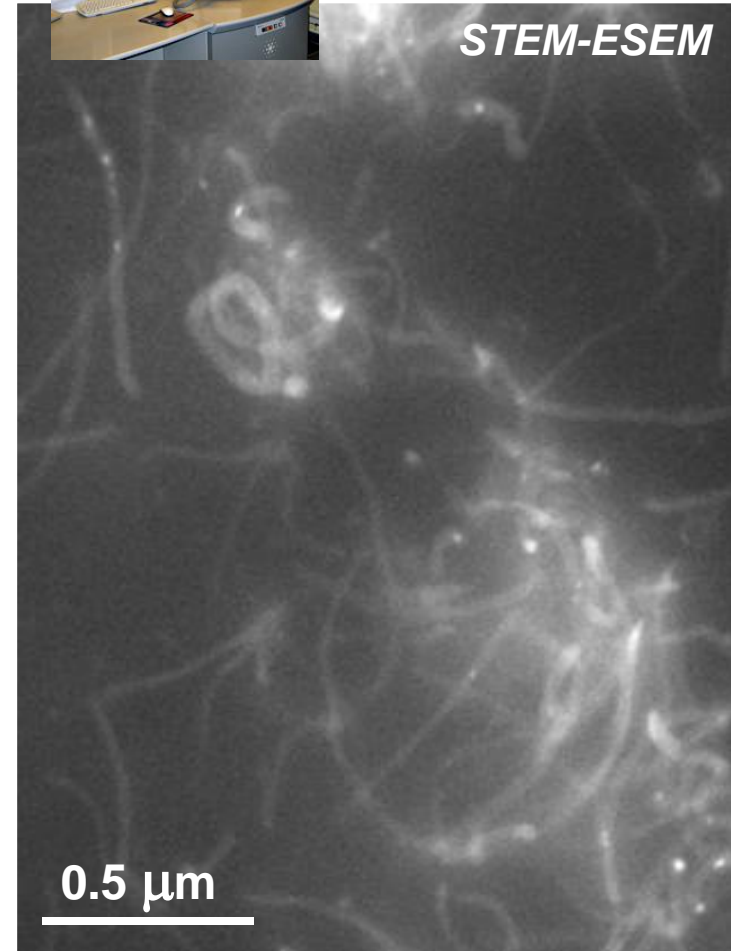
**nanocomposite PSA-Bu @ CNTs**



**HITACHI S-5500**  
Tohoku University  
SENDAI, Japan

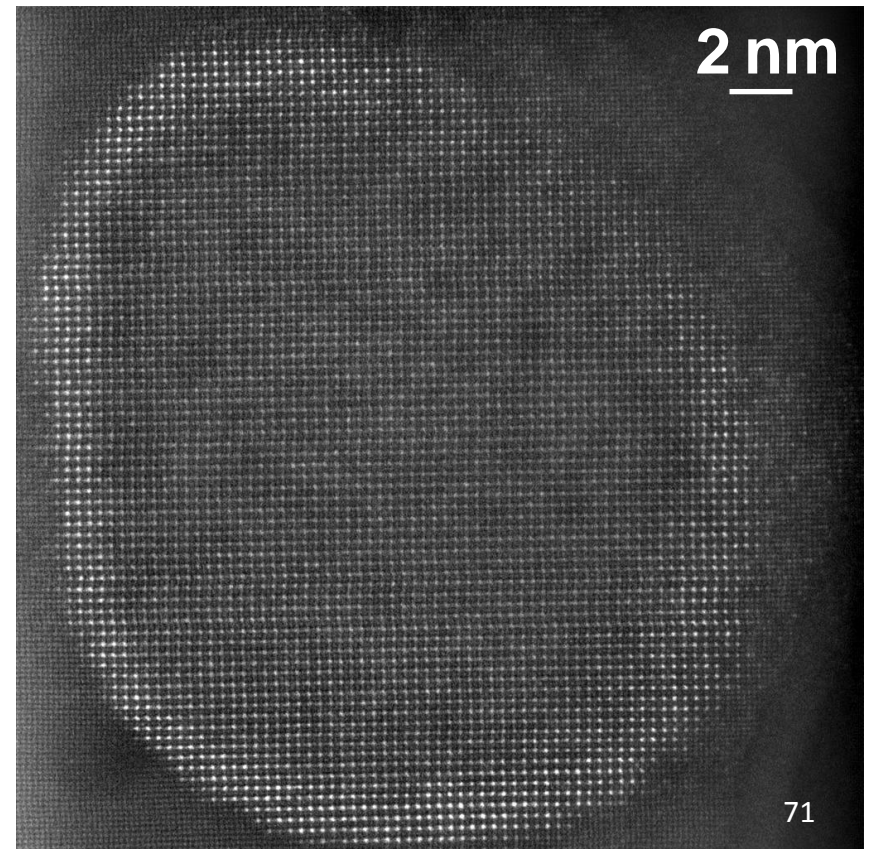
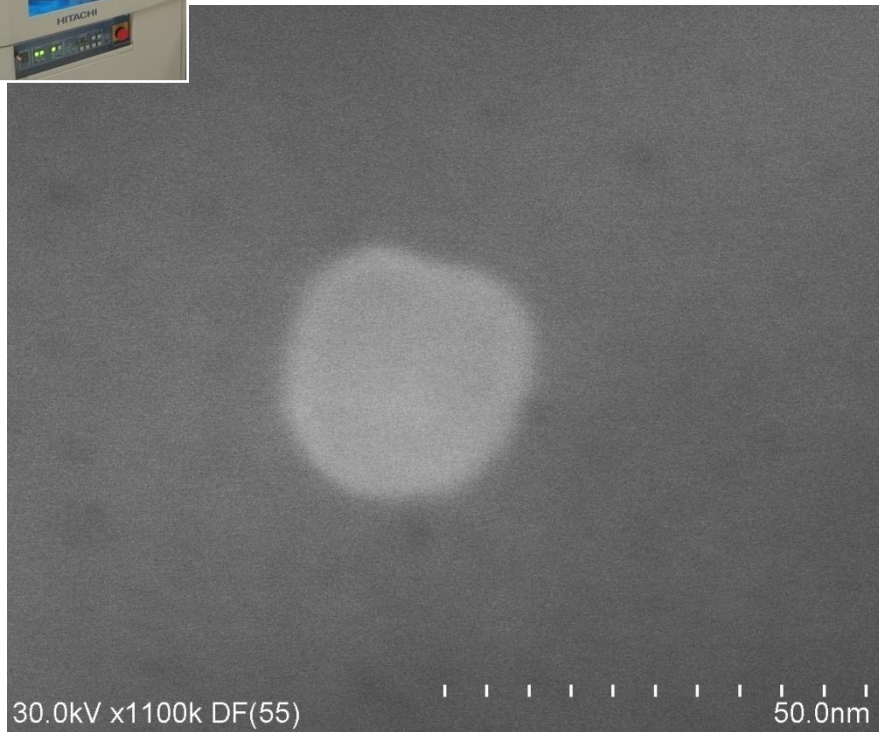
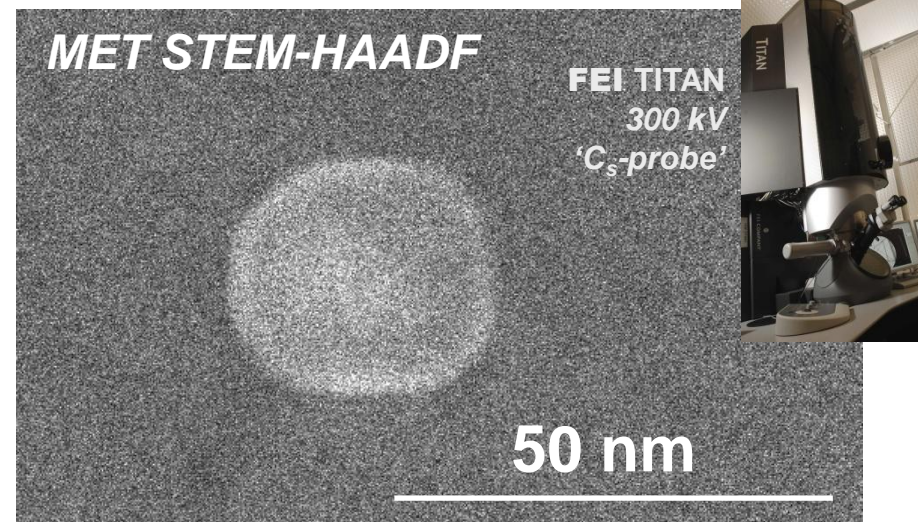


**FEI XL30 30 kV**  
[Y. LIU, thèse (2013),  
INSA-Lyon]



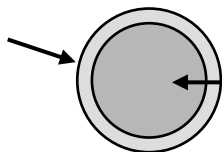
**nanocomposite PSA-Bu @ CNTs**

• **Précipités  $Al_3ZrSc$  dans Al**

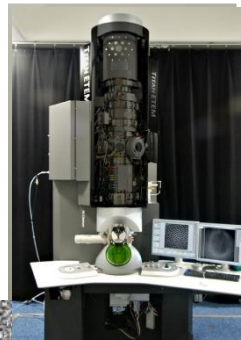


$I_{HAADF} \propto Z^2$  (relation plus complexe en MEB)

COQUILLE riche en Zr ( $Z_{Zr} = 40$ )



CŒUR riche en Sc ( $Z_{Sc} = 21$ )



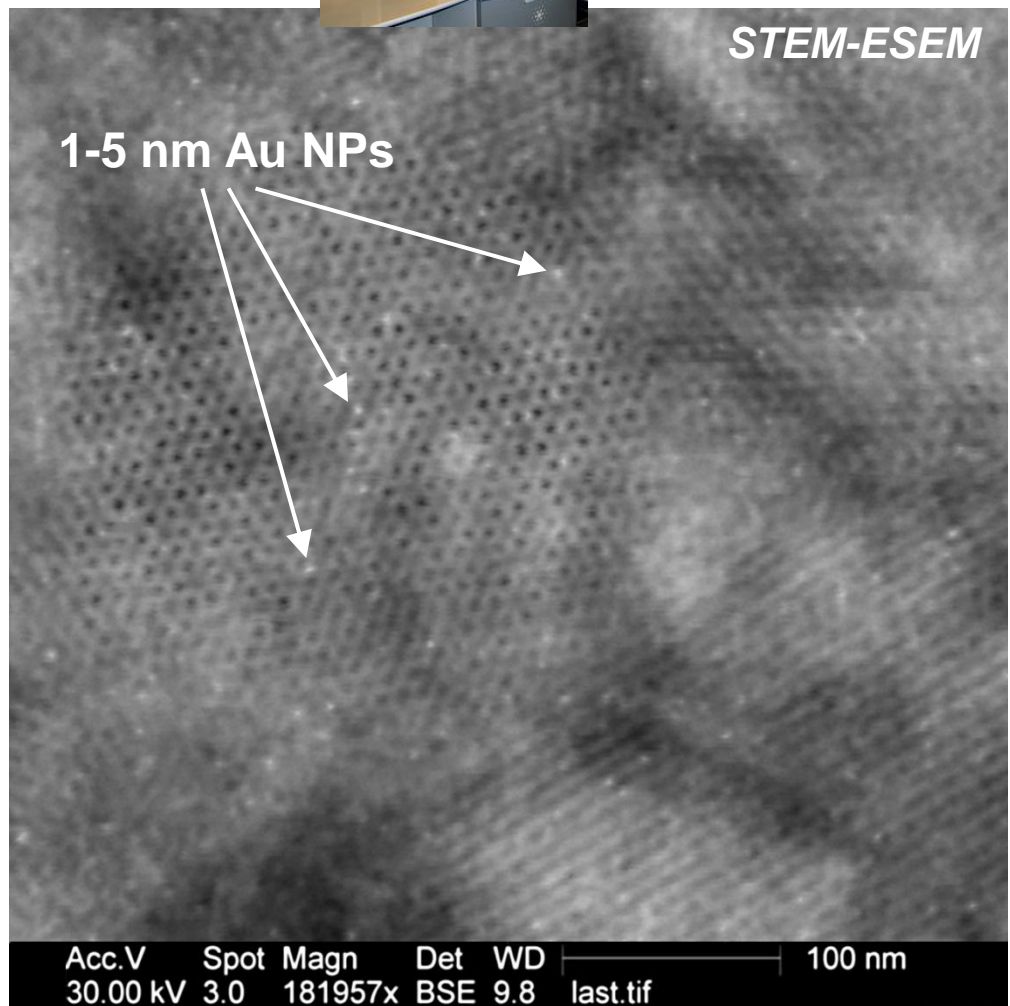
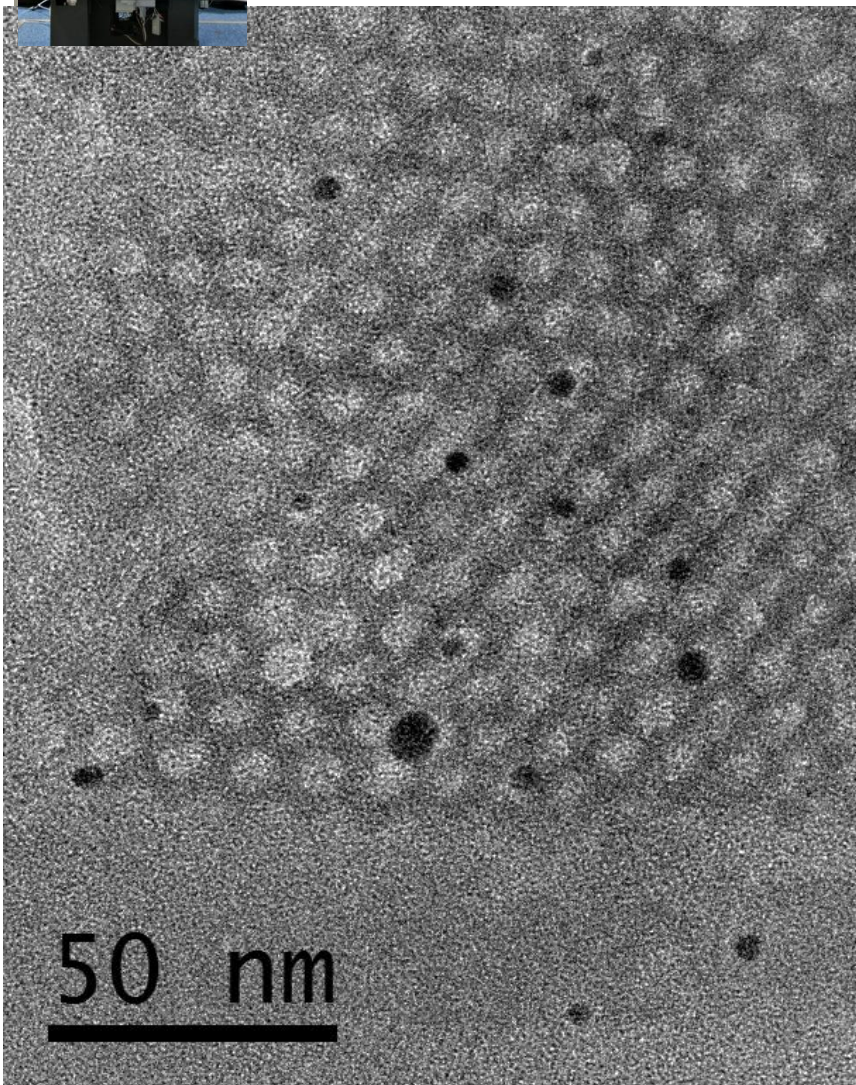
TITAN ETEM 80 kV



- *NPs Au sur silice mésoporeuse SBA15*



FEI XL30 30 kV





• Précipitation de carbures de Niobium dans un acier (répliques d'extraction)

STEM en MEB

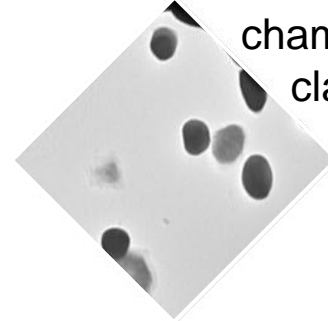
HAADF en MET



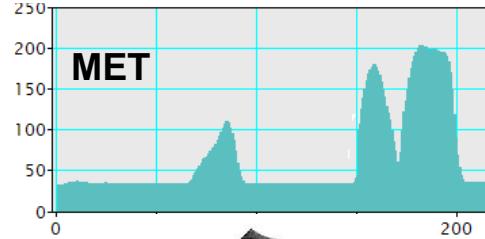
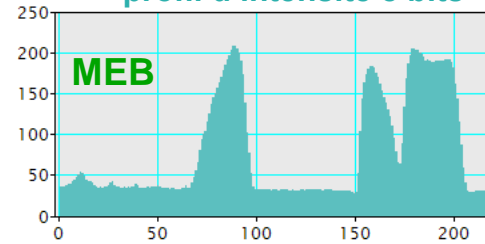
2010F 200 kV



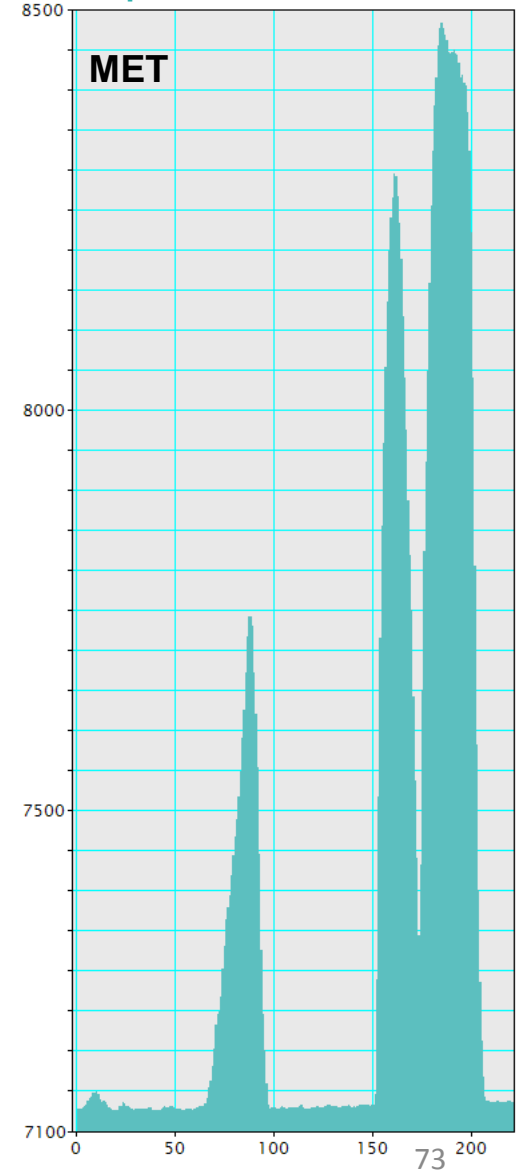
MET  
champ  
clair



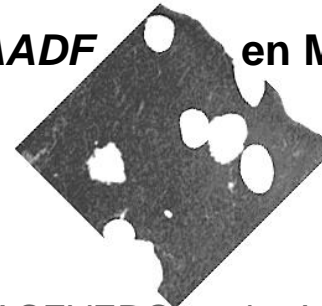
profil d'intensité 8 bits



profil d'intensité 16 bits



HAADF en MET



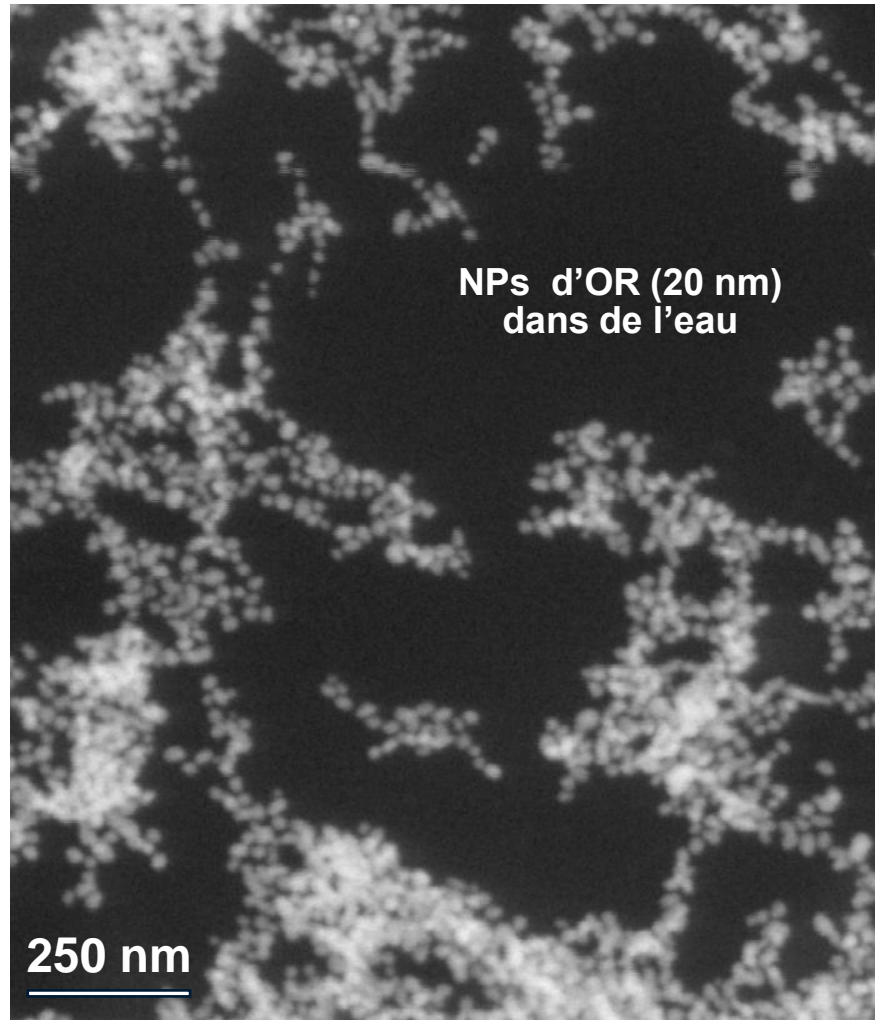
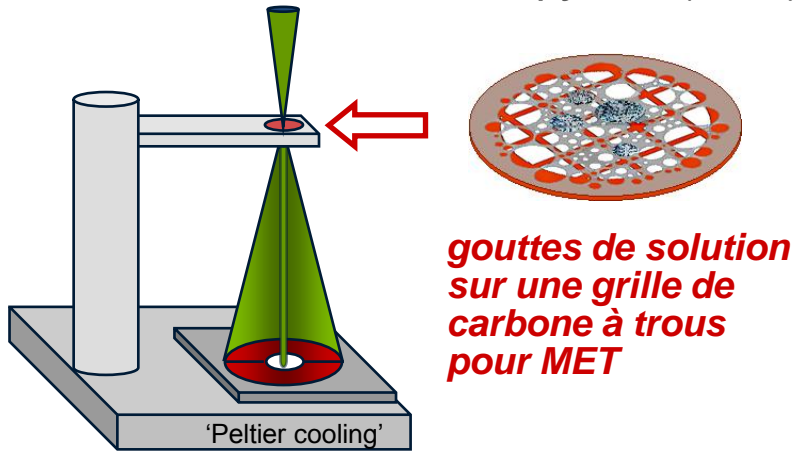
précipités (V,Nb)C sur  
réplique de carbone  
(alliage FeVNbC, 4 jours à  
1200°C)

1 μm

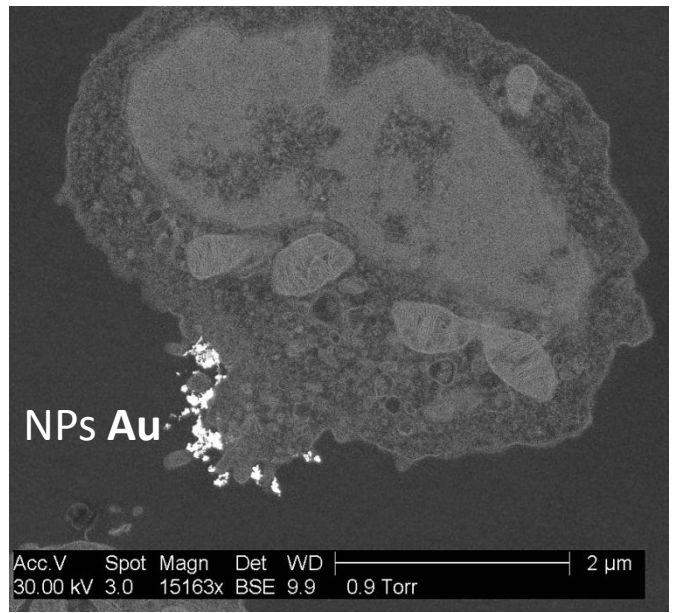
• **Sciences du Vivant (WET-STEM)**

**Observation de liquides en STEM-en-ESEM (MEB Environnemental)**

[A. BOGNER et al., *Ultramicroscopy* **104** (2005), 290–301]



**Interaction NPs - cellules**

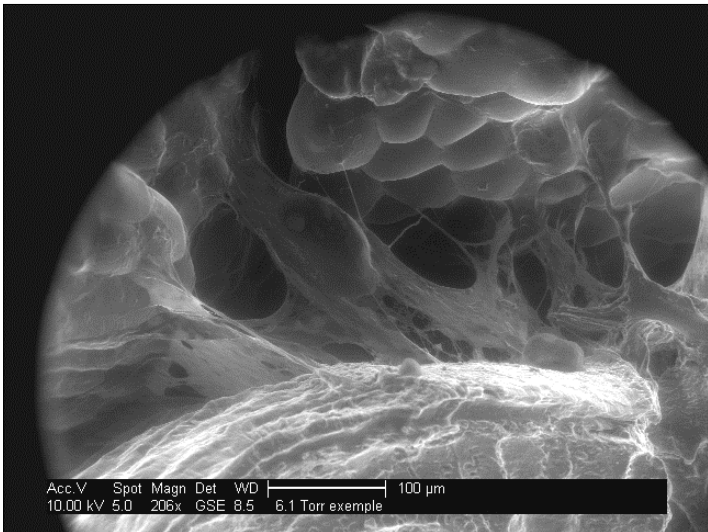


[W. RIMA, thèse (2013) /NSA de Lyon]

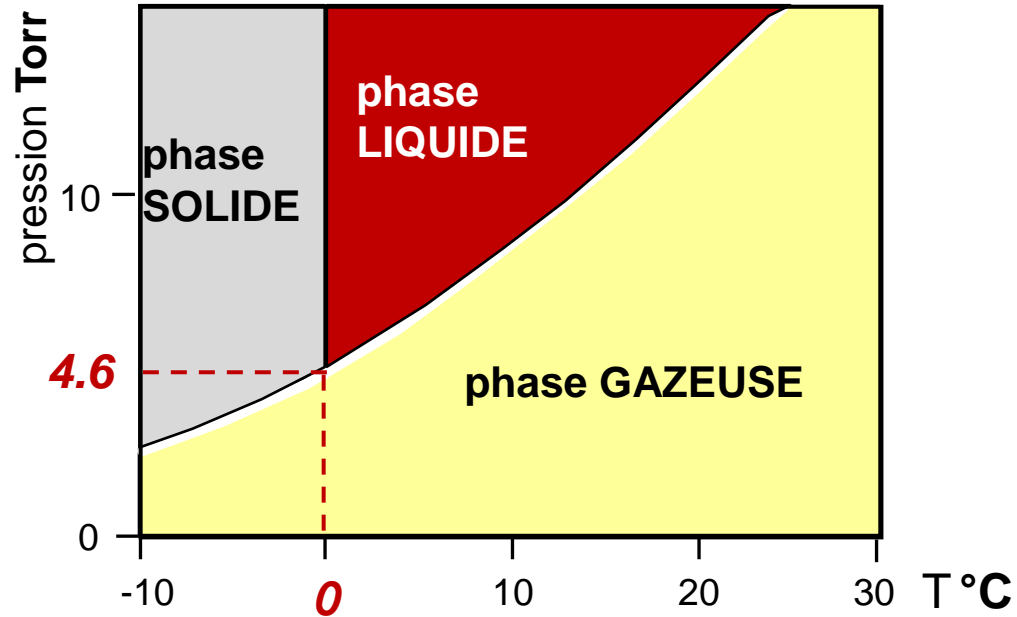
**30 kV, 5.2 Torr** (échantillon P. PERRIAT, MATEIS)<sup>74</sup>

• **Observation de liquides en STEM-en-ESEM (MEB Environnemental)**

**Sciences du Vivant (WET-STEM)**

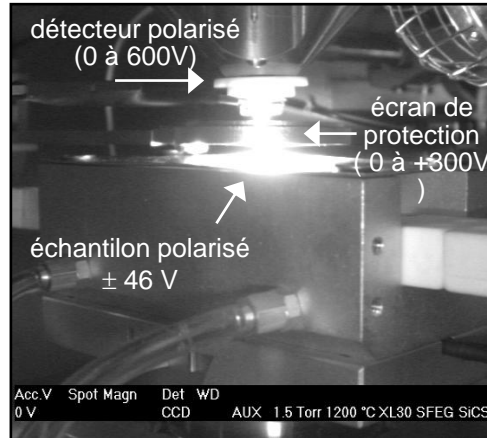


*Diagramme ternaire de l'eau*



Fibres collagènes liant l'intestin d'un rat aux cellules de graisse  
**10 kV, 6.1 Torr H<sub>2</sub>O, 1°C**

# Un exemple en Sciences des Matériaux : résistance à la corrosion d'outils de coupe (P. STEYER et coll., MATEIS)

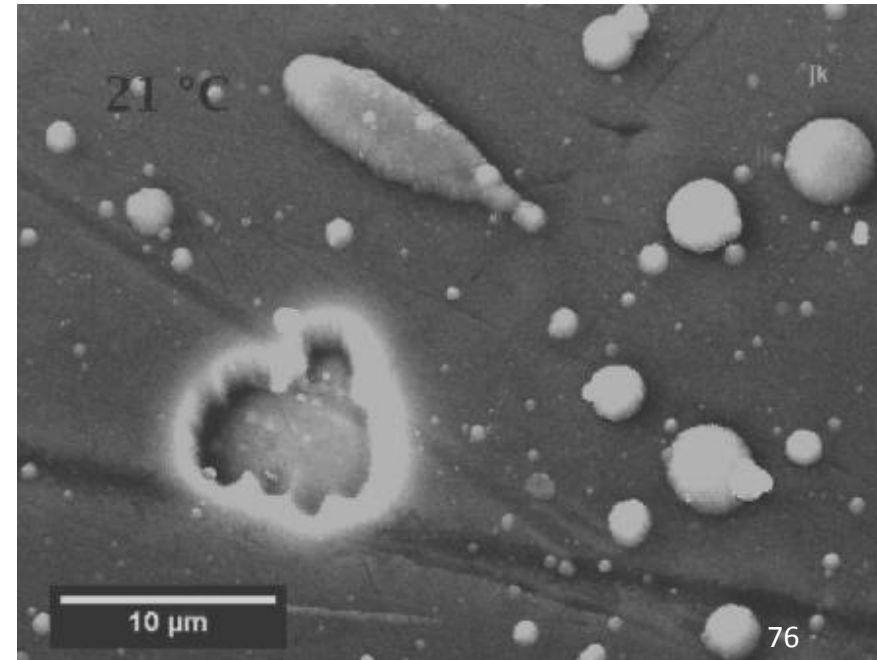


Caméra IF, 1200°C

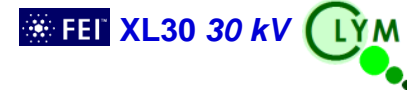


$P_{H_2O} : 2-5 \text{ Torr}$

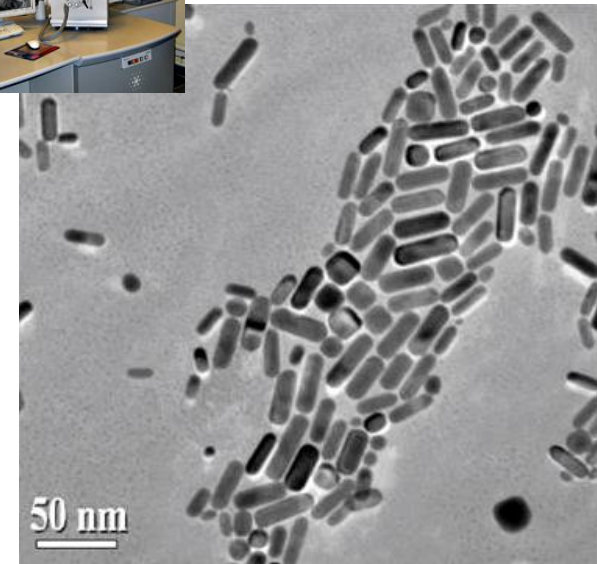
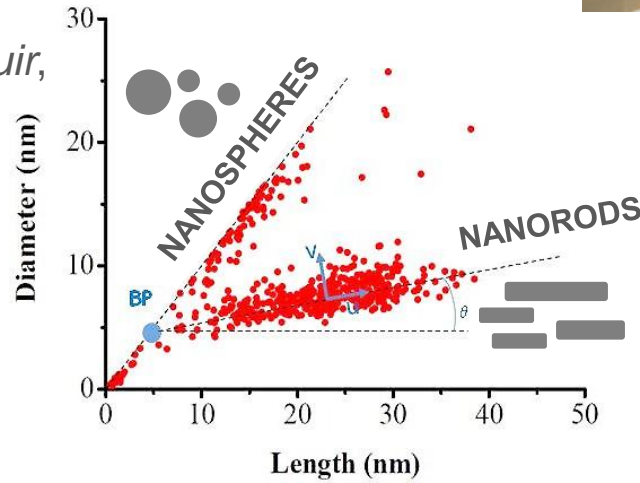
$T_{amb} < T^\circ < 1000 \text{ }^\circ\text{C}$



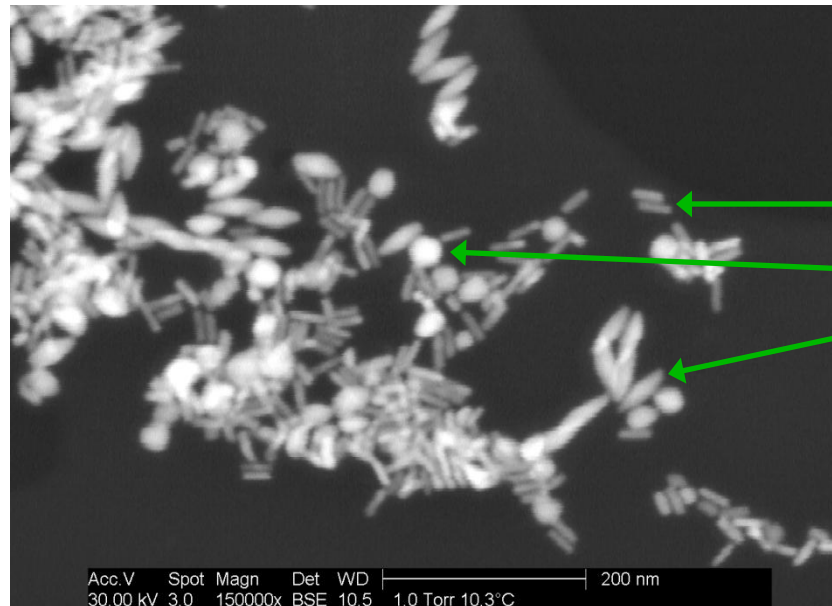
• **WET-STEM : NPs d'argent en solution**



[F. HUBERT, F. TESTARD,  
G. RIZZA, O. SPALLA, *Langmuir*,  
26 (2010) 6887-6891]



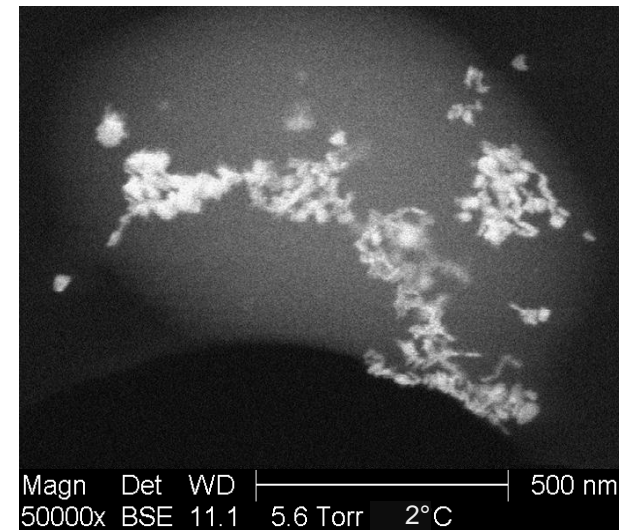
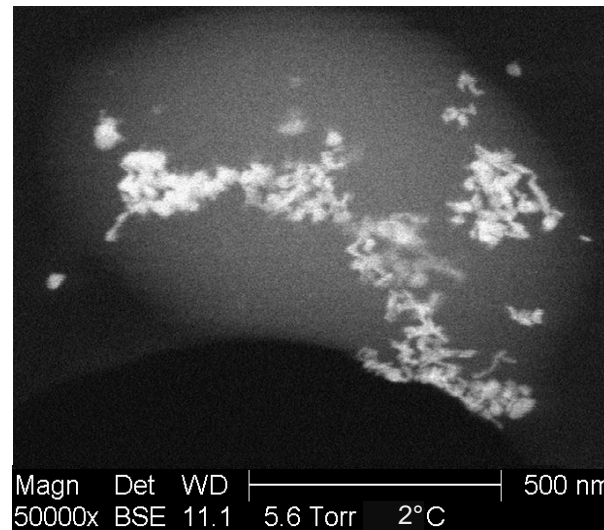
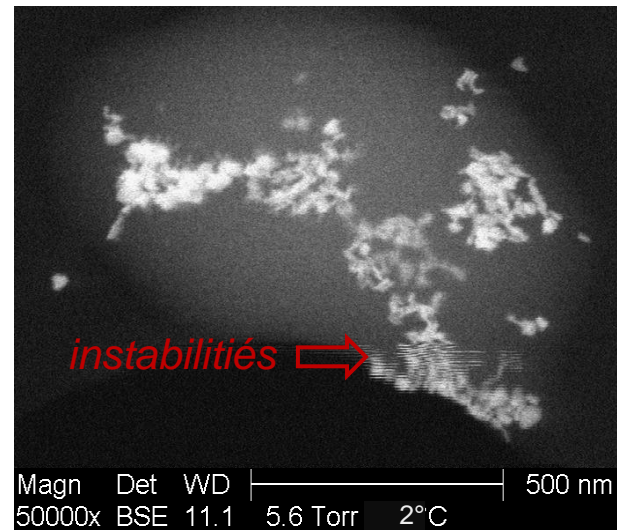
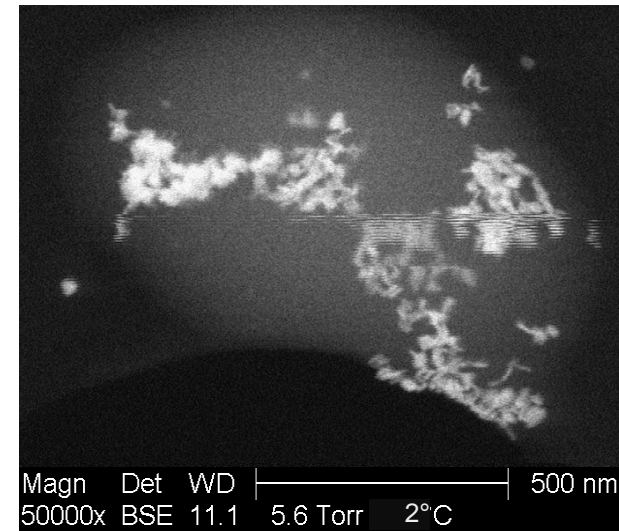
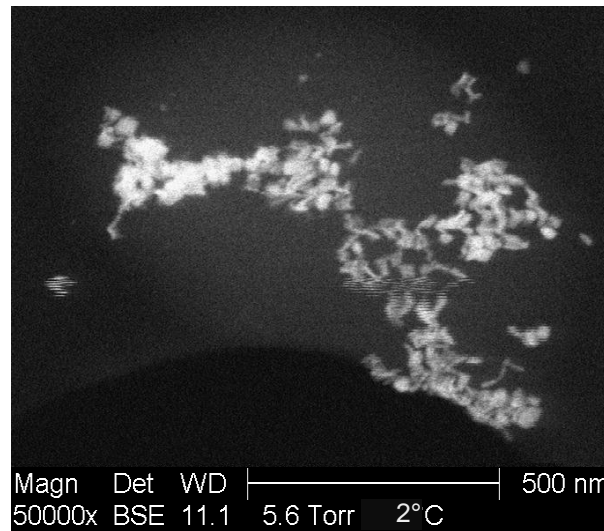
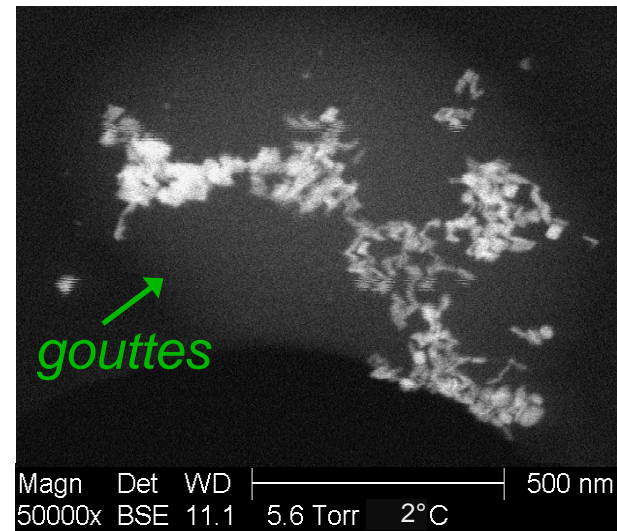
**STEM 'sec'**



**NANOBÂTONNETS**  
**NANOSPHERES**  
**NANO-BIPYRAMIDES**

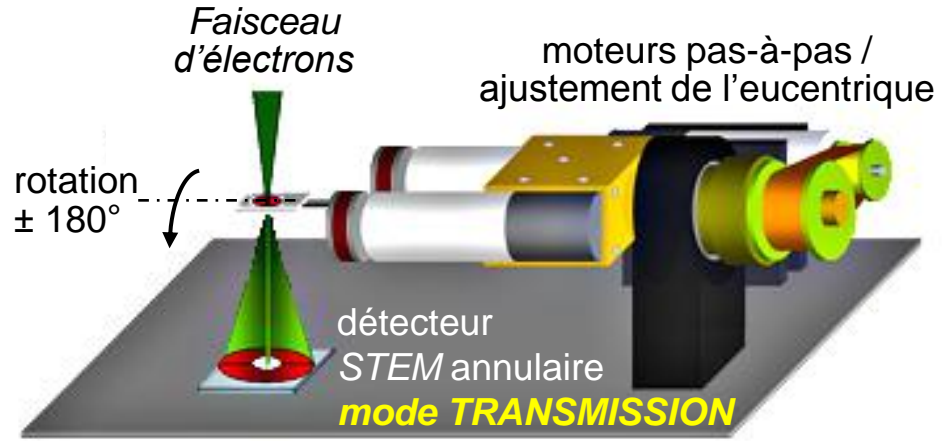


# Essais de croissance en liquide



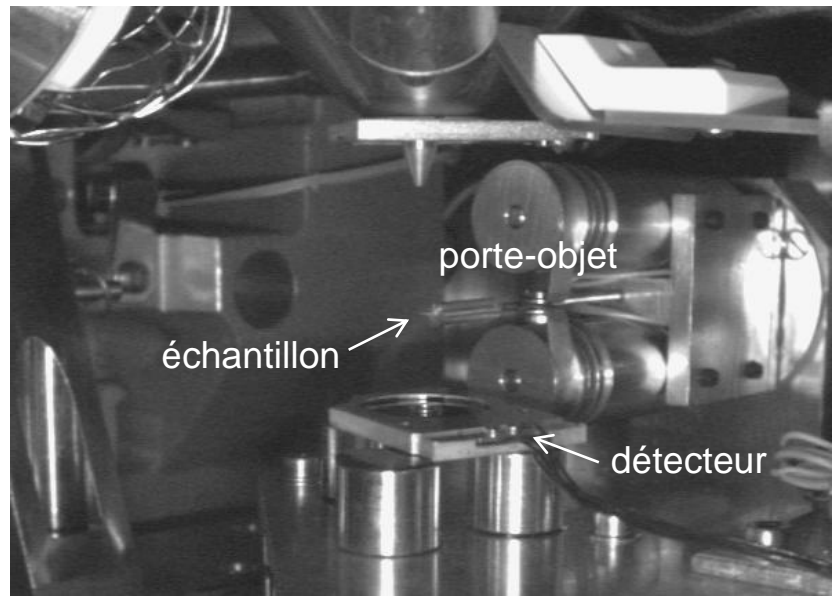
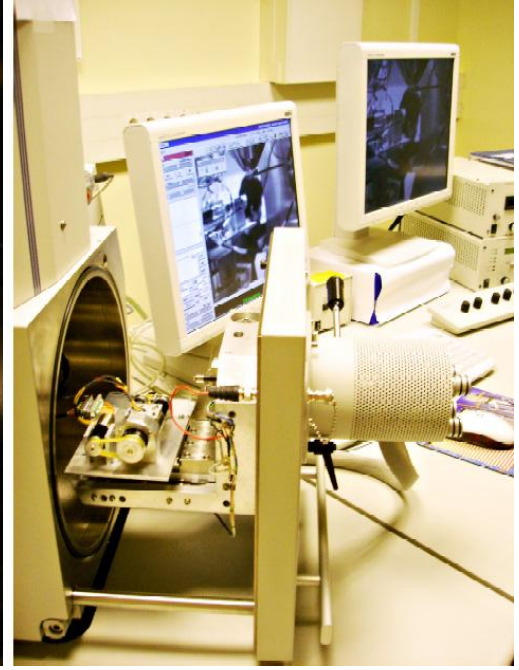
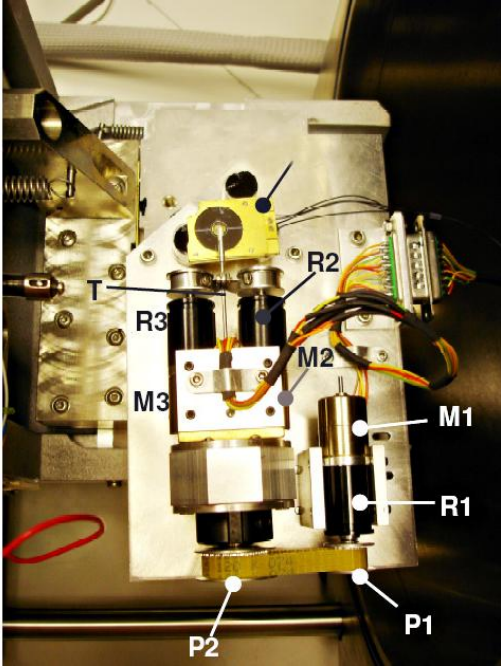
*Densification rapide du liquide avec le temps (précipitation/cristallisation du surfactant)*

# b) Tomographie 'tiltée' en mode STEM en MEB



brevet FR06-09-708, (2006)

[P.JORNSANOH et al., *Ultramicrosc.* 111 8 (2011), 1247-1254]

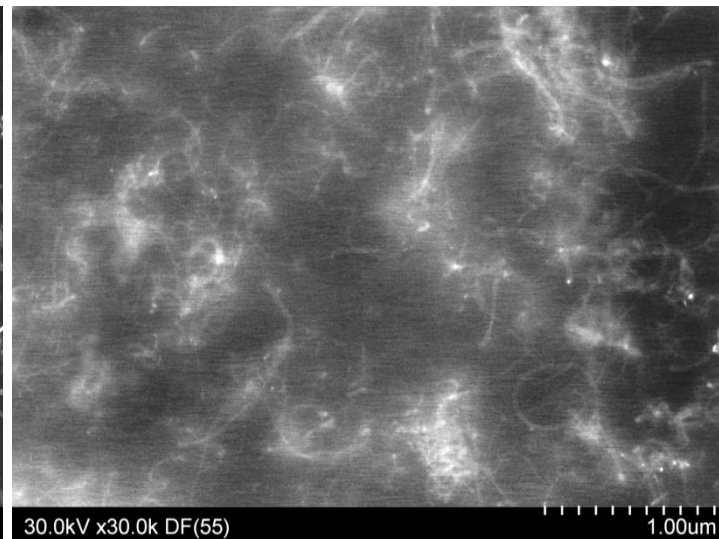
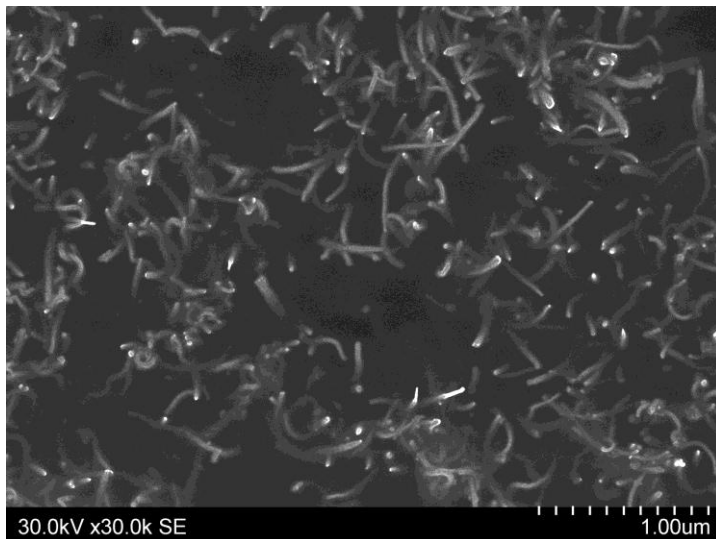
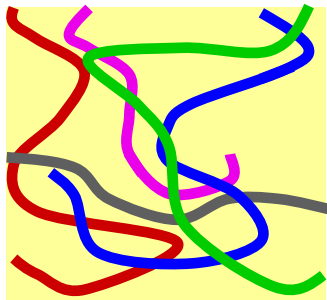


• **Exemple : nanocomposite polymère + nanotubes de carbone CNTs@P(S-BuA)**

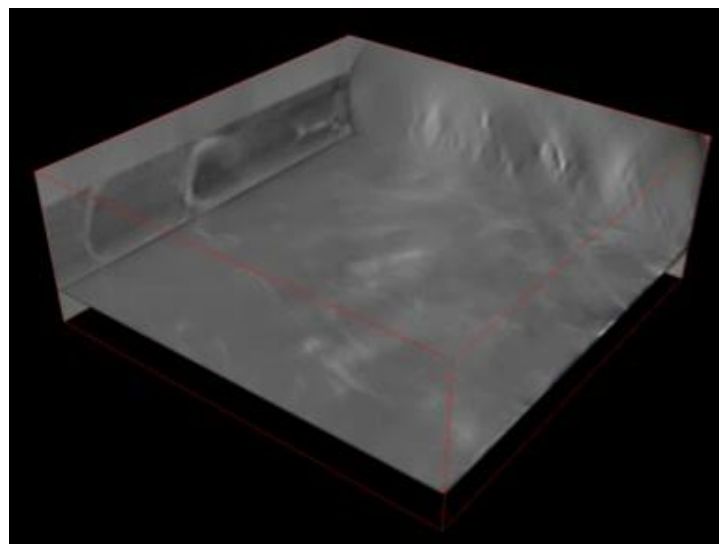
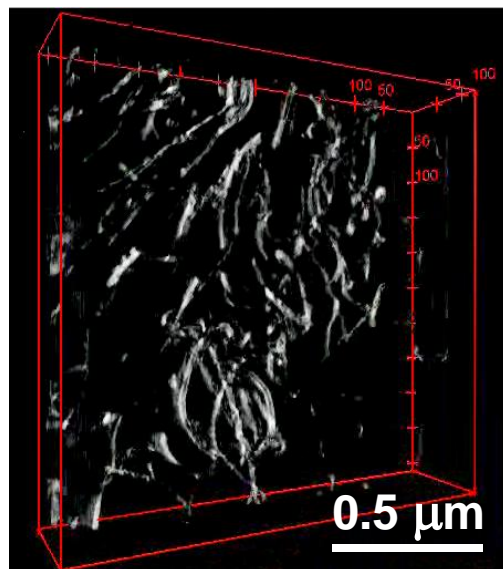
[Y. LIU, thèse (2013), *INSA-Lyon*]

Image *SE*

Image '*STEM - DARK FIELD*'



**HITACHI S-5500**  
Tohoku University  
SENDAI, Japan



série 'tiltée',  $-40^\circ / 40^\circ$  (pas  $1^\circ$ )

reconstruction TomoJ, ART 10 itérations  
(épaisseur  $\approx 350$  nm)



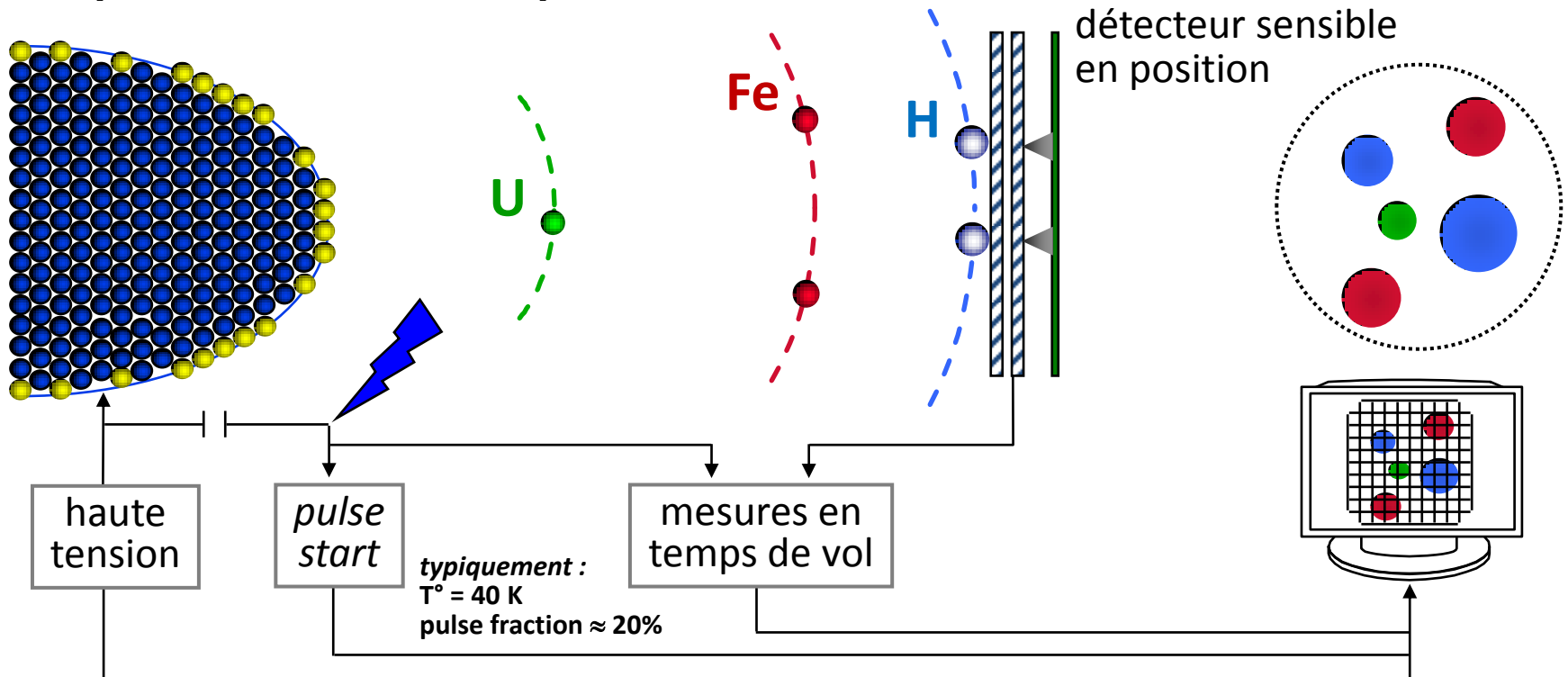
# 3.4. SONDE ATOMIQUE TOMOGRAPHIQUE

## a) Introduction

- Limitations de la tomographie électronique

- Manque de résolution (petits objets, amas, résolution atomique)
- Manque de sensibilité et de précision en matière d'analyse chimique (composition des phases, solutions solides,...)

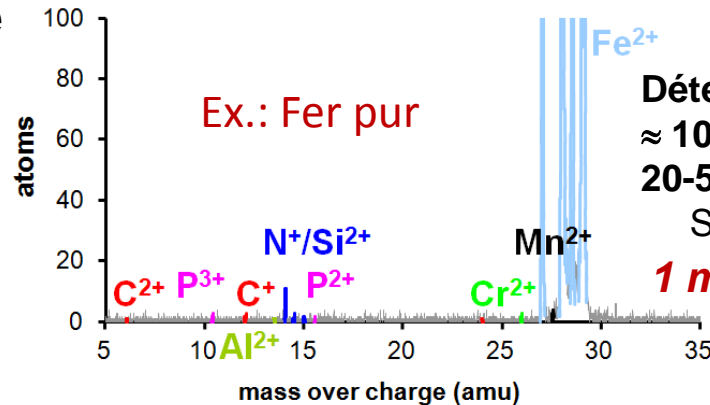
- Principe de la sonde atomique



## b) Performances de la Sonde Atomique

### • Sensibilité chimique

Spectre de masse



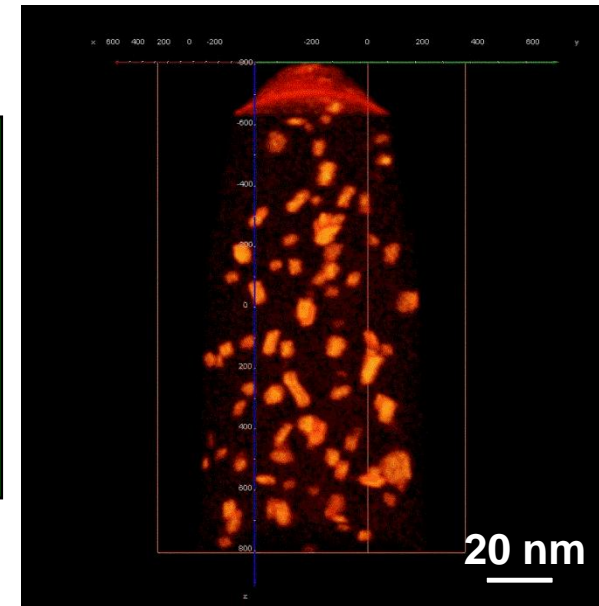
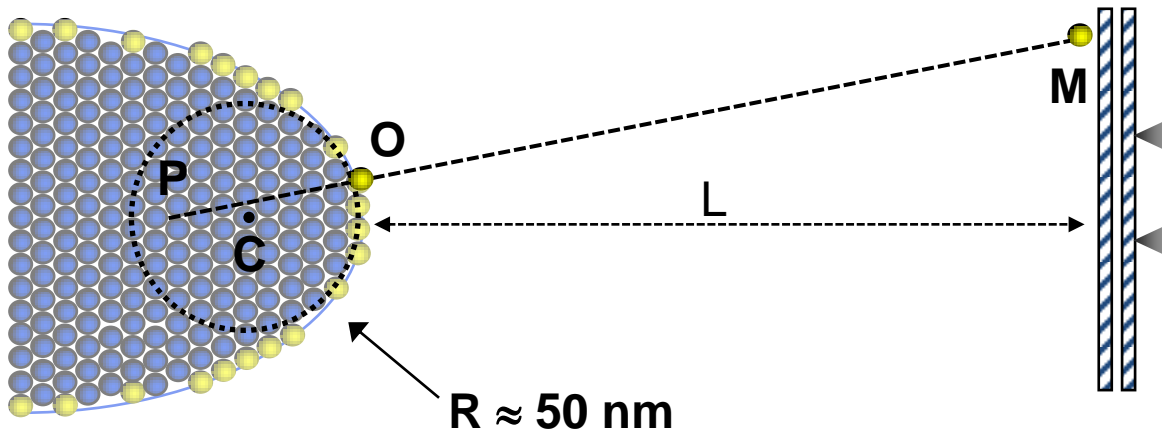
Détection dans un acier :  
 $\approx 10$  ppm at. : C, N, B, P, Si

20-50 ppm at. : métaux de transition

Si > plusieurs millions d'ions collectés

**1 million d'ions  $\approx 15 \times 15 \times 100 \text{ nm}^3$**

### • Tomographie en sonde atomique



Précipités  $\text{MgZn}_2$  dans Al

**Position vraie  $O(x_O, y_O)$  calculée à partir de la position de l'impact  $M(x_M, y_M)$  d'après la géométrie et la cristallographie de la pointe (détermination de  $R, C, P, \dots$ )**

### c) Limitations de la sonde atomique

- **Lourd à mettre en œuvre**

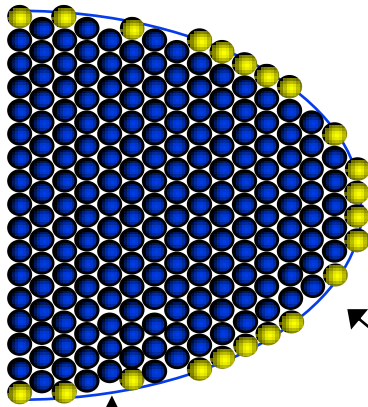
- **Artefacts connus**  
aberrations de trajectoires, effets 'loupe' locaux, ions moléculaires,...

[F. VURPILLOT et al., *Appl. Phys. Lett.* **76** (2000) 3127]

[B. GAULT et al., *Ultramicrosc.* **111** (2011) 448]



- Nécessite un échantillon **CONDUCTEUR** ou **faiblement isolant** (semi-conducteurs)



$$E \sim V/bR$$

b : facteur dépendant de l'environnement électrostatique (b = 2-10)

pour V=10 kV, R = 50 nm, b = 2.5 : **E = 40 V/nm**

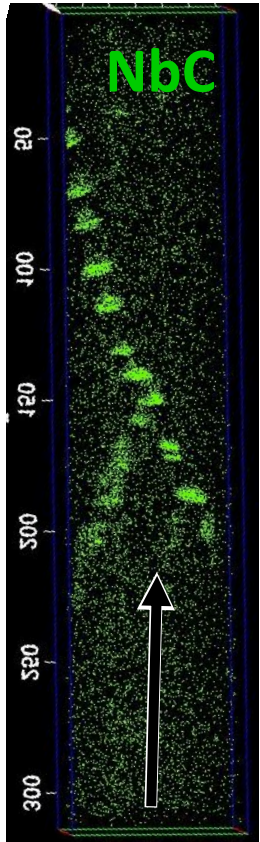
$$R \approx 50 \text{ nm}$$

haute  
tension

$$V \approx 2-20 \text{ kV}$$

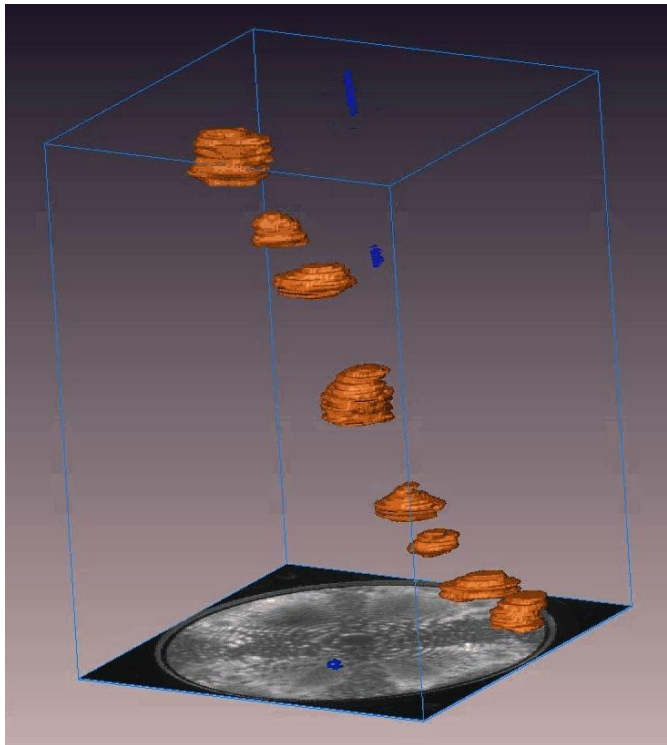
- **Inapplicable à la matière biologique**

## d) Deux exemples...



60 x 60 x 300 nm<sup>3</sup>

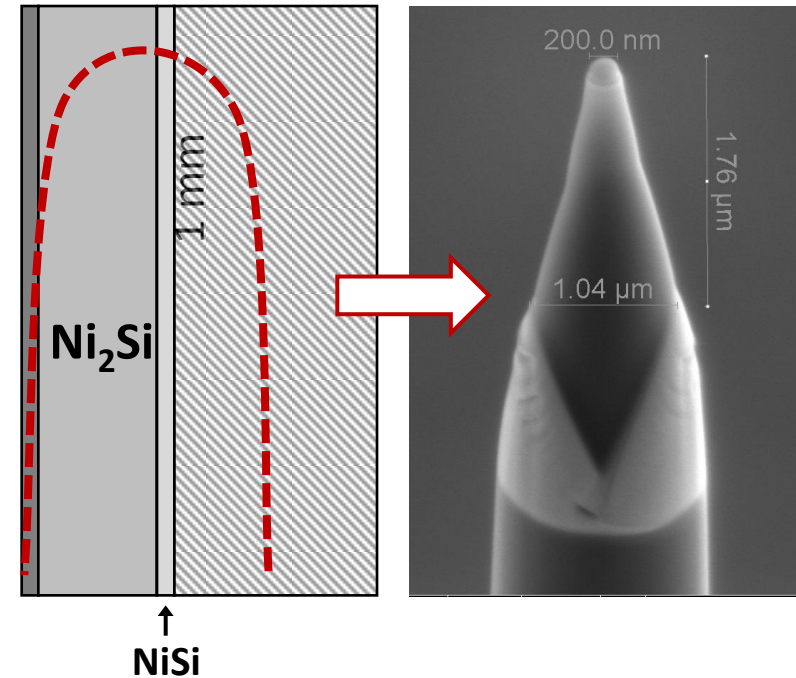
**Carbonitrides dans un acier**  
(alignement sur dislocation)



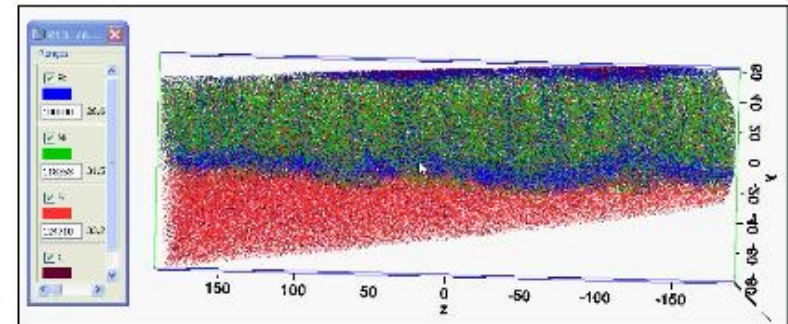
25 x 25 x 40 nm<sup>3</sup>

(F. DANOIX, GPM-Rouen)

## Ségrégation chimique dans des siliciures de Nickel



↑  
NiSi



[D. MANGELINCK et al., *Scripta Mater.*  
62 8 568 (2010)]

## 3.5. TOMOGRAPHIE en mode ENVIRONNEMENTAL

### a) Contraintes du mode environnemental

Par définition, l'objet évolue en mode environnemental : l'approche tomographique (tridimensionnelle) n'est possible que si la réaction (l'évolution) est suffisamment lente (éventuellement contrôlable) devant le temps d'acquisition des images projetées. En d'autres termes, **l'acquisition doit être rapide.**

### b) Essais de tomographie en WET-STEM en MEB

Silice mésoporeuse hydrophile observée en tomographie en **ESEM** sous différentes conditions d'humidité [K. MASENELLI-VARLOT, *Microscopy & Analysis*, (2014), à paraître]

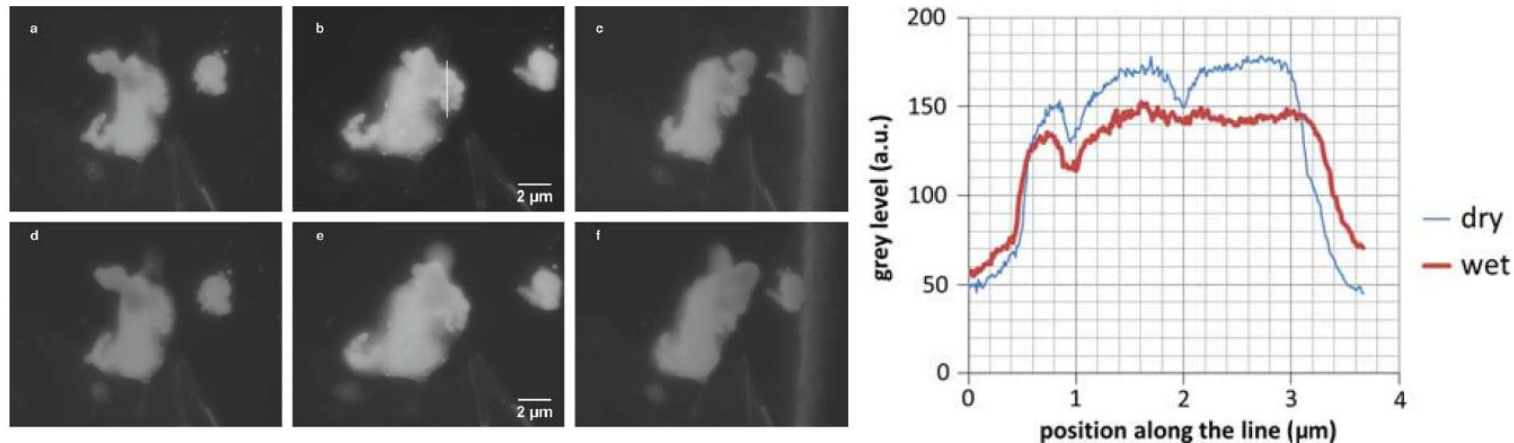




Figure 4: raw images obtained on a hydrophilic MCM-41 grain (a), (b), (c) in the dry state (H<sub>2</sub>O pressure 4.5 torr) and (d), (e), (f) after water condensation (H<sub>2</sub>O pressure 6 torr). The tilt angles were set to 50° for (a) and (d), 0° for (b) and (e) and -50° for (c) and (f). Acceleration voltage 30 kV, probe size 3; magnification 7,500; temperature 2°C; pixel size 13 nm. g: Plot profile along the line represented on (b) showing a decrease of the contrast inside the MCM41 grain.

**En cours de développement** : expériences environnementales en **ESEM** sous conditions oxydantes ou réductrices à haute température (T. EPICIER et al., MATEIS-CLYM)

emc2016  
Lyon • France  
www.emc2016.fr

The 16<sup>th</sup> European  
**MICROSCOPY CONGRESS**

Convention Center - 28<sup>th</sup> August - 2<sup>nd</sup> September

Organised by  and under the auspices of  & IFSM



UNIVERSITÉ DE LYON



Rhône-Alpes

# Merci de votre attention

**Doctorants : Wael RIMA, Hui YUAN, Yang LIU, Samir BENLEKBIR, Kevin LEPINAY**

**Collègues : Karine MASENELLI-VARLOT, Annie MALCHÈRE, Lucian ROIBAN, Bertrand VAN DE MOORTÈLE, Agnès BOGNER, Philippe STEYER, Frédéric DANOIX, Pierre-Henri JOUNEAU, Toyohiko KONNO, Sergio MARCO, Cédric MESSAOUDI**