

# Numérisation d'électrodes poreuses en or par analyse FIB-SEM

A. BAUX<sup>a</sup>, G. COUEGNAT<sup>a</sup>, D. LASSEUX<sup>b</sup>,  
A. KUHN<sup>c</sup>, N. MANO<sup>d</sup>, G. L. VIGNOLES<sup>a</sup>

- a. Laboratoire des Composites Thermostructuraux (LCTS), CNRS UMR 5801 Université de Bordeaux, CEA, Safran, 33600 Pessac, France,  [<Nom>@lcts.u-bordeaux.fr](mailto:<Nom>@lcts.u-bordeaux.fr)
- b. Institut de Mécanique et d'Ingénierie, CNRS UMR 5295 Université de Bordeaux, Bordeaux INP, Arts & Métiers ParisTech, INRA, Esplanade des Arts et Métiers, Talence Cedex 33405, France
- c. Institut des Sciences Moléculaires, CNRS UMR 5255, Université de Bordeaux, Bordeaux INP, 16 Avenue Pey Berland, 33607 Pessac, France
- d. Centre de Recherche Paul Pascal, CNRS UMR 5031, Université de Bordeaux, Avenue Albert Schweitzer, 33600 Pessac, France

## Résumé:

*Ce projet est dédié à une approche « bottom-up » visant à optimiser la conception de matériaux d'électrodes poreuses équipant des batteries bio-enzymatiques et des biocapteurs. Ces dispositifs fonctionnent sur la base de réactions électrochimiques enzymatiques complexes couplées à un transfert de masse (glucose et O<sub>2</sub>) et à un transfert d'électrons au sein des pores de la structure et depuis / vers la surface des pores. Dans le cas de matériaux fortement poreux, le rapport entre la surface volumique globale (où se produit l'échange d'électrons) et le volume total du matériau est très élevé, ce qui donne des densités de courant beaucoup plus grandes que sur une électrode solide non poreuse de la même taille. Des techniques, basées sur le dépôt de billes de silice sur substrat d'or par procédé Langmuir-Blodgett, suivi d'une électrodéposition d'or et d'une dissolution des billes, ont été utilisées pour synthétiser des matériaux poreux en or pur avec des pores sphériques de diamètre de l'ordre du micromètre. L'objectif du projet est de modéliser la structure poreuse de l'électrode. Tout d'abord, une description des caractéristiques géométriques a été réalisée par l'acquisition et l'analyse d'images. La structure contient non seulement un gradient de rayons de pores sphériques, mais également un certain degré de désordre dû à des défauts d'arrangements locaux. Les dimensions des parois séparant les pores étant d'environ 100 nm, un microscope électronique à balayage à faisceau ionique focalisé (FIB-SEM) a été utilisé afin d'obtenir une reconstruction 3D du milieu poreux. La segmentation et la binarisation des images ont été faites à la fois manuellement et automatiquement. Plus de 600 coupes MEB (SEM) (25 nm entre 2 images) permettent d'avoir après reconstruction une image 3D d'une partie de l'électrode. La forme des connexions entre les sphères, les distances entre les sphères et leurs diamètres peuvent maintenant être analysés.*

## Abstract:

*This project is dedicated to a bottom-up approach to optimize the design of porous electrode materials devoted to biofuel cells and biosensors. These devices operate on the basis of complex enzymatic electrochemical redox reactions coupled to mass transfer of substrates (glucose and O<sub>2</sub>) and electron transfer within the pores of the structure and from/to the pore surfaces. The advantage of using porous materials for these devices lies in the very large internal surface area (where electron exchange takes place) to overall material volume ratio, yielding much larger current densities than on a bare solid electrode of the same size. Some very interesting techniques, based on templating silica beads on gold substrate with a Langmuir-Blodgett deposition step followed by electroplating of gold and beads dissolution have been elaborated to synthesize porous materials made of pure gold having a typical spherical pore size of the order of the micrometer. The objective of the project is to model the porous structure of the electrode. First, a determination of the geometrical characteristics can be achieved through image acquisition and analysis. The structure not only contains a gradient of hollow spherical pore radii, but also some degree of disorder due to local arrangement defects; the radii of the windows separating the pores is also locally variable. Since pore window dimensions are around 100 nm, Focused Ion Beam-Scanning Electron Microscopy (FIB-SEM) has been performed to obtain a 3D reconstruction of the porous medium. Segmentation and binarization of images were made both manually and automatically using Fiji and Python. More than 600 SEM (SE) images (25 nm between 2 images) yield a 3D image of a part of the electrode. The shape of the connections between spheres, the distances between spheres and the sphere diameters now can be analyzed.*

**Mots clefs : Electrodes poreuses ; opales inverses ; FIB-SEM ; traitements d'images.**

## 1 Introduction

Le développement de batteries bio-enzymatiques et de bio-capteurs est un domaine extrêmement prometteur car ces objets allient l'utilisation d'énergies alternatives à une miniaturisation poussée. Les applications sont nombreuses en tant que microsystèmes comme : capteurs électroanalytiques, alimentation électrique pour dispositifs actifs ou passifs implantables dans le corps humain (pompes, valves, actuateurs, ...). Ces biocomposants peuvent être fabriqués à partir de milieux à porosité contrôlée au sein desquels les réactions rédox hétérogènes prennent place pour assurer la conversion d'énergie chimique en énergie électrique ou réciproquement. L'idéal est de combiner une grande surface développée par unité de volume à une bonne accessibilité des espèces chimiques arrivantes et partantes, mais ces deux prérequis sont antagonistes. Cette question d'optimisation n'a pour l'instant pas été abordée de façon systématique et rationalisée.

Le projet « MOMA : Modeling of porous electrodes for an Optimized MATERIAL design » consiste à utiliser une méthode de type "bottom-up" (micro-macro) pour optimiser le design d'électrodes poreuses en or destinées à équiper des bio-systèmes. L'objectif est ici d'élucider la dépendance des caractéristiques de l'électrode vis-à-vis de sa microstructure, dépendance ensuite exploitée pour optimiser l'architecture porale. On propose pour cela une approche dite de « matériau virtuel », basée sur une caractérisation fine des éléments structuraux et morphologiques des électrodes, permettant ensuite de générer des domaines de calcul adéquats pour la simulation du transfert et des réactions électrochimiques.

Le travail commence par une préparation des milieux poreux par une méthode de réplcation d'empilements réguliers de nano-billes de silice, donnant une structure de type « opale inverse » ; ensuite, une acquisition d'images est faite sur ces milieux pour alimenter les calculs. Comme les tailles de pores sont entre 10 et 100 nm, on peut envisager essentiellement trois techniques :

- i) la tomographie X est envisageable et a déjà été appliquée sur des objets similaires [1]. Cependant cette technique est essentiellement disponible sur quelques lignes de rayons X synchrotron [2], donc plutôt difficile d'accès.
- ii) la tomographie sous MET est également envisageable [3] et a déjà été appliquée pour déterminer l'arrangement des pores dans une opale inverse [4] ou bien des pores dans des mousses [5].
- iii) une autre technique est le faisceau d'ions focalisé couplé à la microscopie électronique à balayage (FIB-SEM) [6]. L'application de cette méthode a été concluante pour l'étude d'une électrode poreuse de pile à combustible avec des pores allant de 5 à 200 nm [7] ; cependant, quelques traitements d'image spécifiques sont nécessaires [8].

Dans ce document, on fait état des premiers résultats des acquisitions d'images par la technique de « FIB-SEM », que nous avons choisie en fin de compte pour sa facilité d'accès et sa bonne résolution spatiale. On rappellera dans un premier temps la technique de préparation des électrodes, qui est bien connue, puis on décrira la procédure d'acquisition et les premiers résultats.

## 2 Fabrication des électrodes

Avant de s'intéresser à la numérisation des électrodes, voyons comment ces dernières sont élaborées :

- Tout d'abord, un film de silice (billes de 1  $\mu\text{m}$  de diamètre) est déposé sur un substrat en or (cylindre plein de diamètre 250  $\mu\text{m}$  et de longueur 4 cm) par la technique Langmuir-Blodgett (LB) [9]. Avant toute manipulation, un nettoyage des billes de silice (3 lavages à l'EtOh + 1 lavage au chloroforme) et des substrats d'or (plasma) est primordial pour obtenir une couche de billes de silice homogène. Le procédé est automatisé (avec possibilité de faire la manipulation la nuit) et le nombre de couches désirées est choisi par l'opérateur (il faut environ 15 min pour former une couche).
- Ensuite, un dépôt d'or est réalisé par technique électrochimique sur les billes de silice [10]. Pour ce faire, un dispositif d'électrodéposition avec 3 électrodes est utilisé : (i) Référence Ag/AgCl, (ii) Contre électrode en carbone (iii) Electrode de travail : couches de billes de silice sur fil d'or. Le potentiel appliqué permettant la réduction de l'or ( $\text{Au}^{3+} + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Au}$ ) est de 0,66 V/ Ag/AgCl. Il est possible de contrôler qualitativement l'homogénéité du dépôt sur les différentes couches de silice.
- Afin d'obtenir une structure uniquement formée d'or (fil support + réseau poral), les électrodes sont trempées pendant 5 min dans de l'acide fluorhydrique (HF). Cette technique permet d'éliminer toute trace de silice. La **figure 1** résume schématiquement le procédé de synthèse des électrodes.

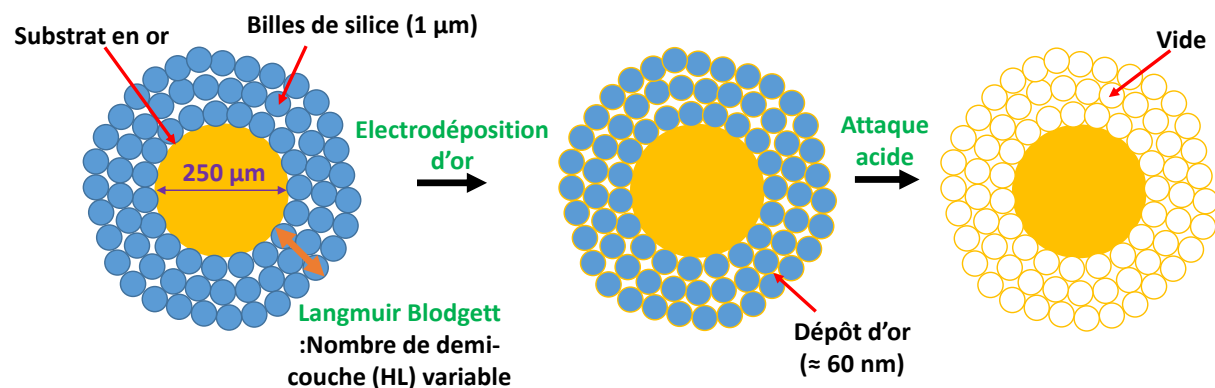


Figure 1 – Schémas descriptifs du procédé de synthèse des électrodes.

### 3 Obtention des images

#### 3.1 Acquisition par FIB-SEM

Le premier objectif de ce travail est de reconstituer en 3D le réseau poral d'or. Un instrument d'imagerie par faisceaux d'ions focalisés (FIB) utilise un faisceau d'ions finement localisé pour modifier et numériser en image l'échantillon choisi. Le FIB est principalement utilisée pour créer des sections transversales très précises d'un échantillon pour le soumettre ultérieurement à un procédé d'imagerie par MEB par exemple. À titre supplémentaire, l'imagerie FIB peut servir à numériser directement l'échantillon en images, en détectant des électrons émis soit par le faisceau ionique, soit par le faisceau électronique. Pour un volume d'échantillon donné, l'objectif est donc de réaliser le maximum de coupes pour pouvoir accroître la qualité de la reconstruction 3D. Dans notre cas, l'analyse a été réalisée au Centre de Microcaractérisation Raymond Castaing de Toulouse. Le volume analysé est de l'ordre de  $15\,000\ \mu\text{m}^3$  (cube de  $25\ \mu\text{m}$  de côté). 600 coupes successives ont été faites avec un pas de  $25\ \text{nm}$ , pour une durée totale d'acquisition de 14 h. De ce fait, seule une toute petite partie du réseau poral de l'électrode a pu être observée (on rappelle que les électrodes ont une longueur de 4 cm). La principale crainte était l'écrasement des pores lors du passage du faisceau d'ions. Ce phénomène de « rideau » (bien connu des spécialistes) n'a pas eu lieu, et après un dépôt de platine sur la surface à analyser (en guise de protection), des coupes hautement résolues ont pu être réalisées. En voici deux exemples sur les **figures 2.a,b**. Comme on peut le voir sur la **figure 2.c**, une quantité non négligeable de « sphères » apparaissent trouées, ce qui signale l'existence de connexions entre les sphères. Ce phénomène est aussi visible sur l'observation en surface en **figure 2.d**. Il faut noter que cette technique est destructive au vu de la puissance du faisceau d'ions (**Figure 2.d**).

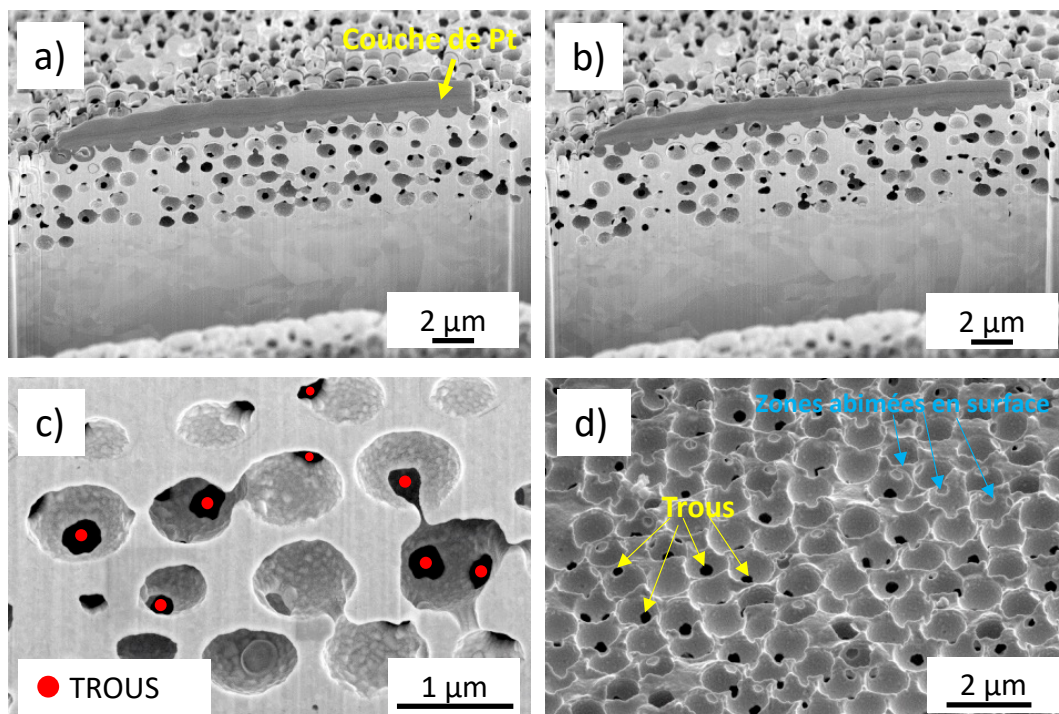


Figure 2 – (a) (b) (c) Exemples de coupes (MEB) du réseau poral d'or, obtenues par découpe FIB, (d) état de surface après découpe FIB.

## 3.2 Traitements des images

Après obtention des différentes coupes, un travail d'analyse d'images a été réalisé pour reconstruire en 3D le réseau poral. Pour ce faire, on distingue plusieurs étapes :

- Les séries d'images obtenues nécessitent un réalignement en raison de l'angle entre les colonnes FIB et MEB (52°), des problèmes de dérive rencontrés lors de l'acquisition (perte de focalisation, problèmes environnementaux...), et d'une résolution différente dans le plan et la profondeur de l'image [11]. Les séries peuvent être réalignées par des programmes gratuits comme ImageJ [12] ou Fiji [13], ou commerciaux comme Avizo [14] ou Amira [15].

- La seconde étape, cruciale, consiste à segmenter (binariser en noir et blanc) les images MEB. Cette étape est délicate du fait de la profondeur de champ visible sur chaque image MEB (ce qui n'est pas du tout le cas en tomographie classique). On parle de « shine-through artifact » [8]. Pour ce faire, trois différentes méthodes ont été envisagées :

- \* Une segmentation dite manuelle où, pour chaque image, on vient manuellement recouvrir chaque pore d'un cercle noir (**Figure 3.a**). Ce travail est très fastidieux, mais après 35 h (nécessaires pour segmenter 300 images), les résultats sont excellents après seuillage par ImageJ (**Figure 3.b**).

- \* Une segmentation dite « automatique » suivant les principes décrits par Salzer et al. [8]. Cette technique n'a malheureusement pas donné de résultats satisfaisants.

- \* Une segmentation dite « par apprentissage » où on utilise un logiciel gratuit et disponible en ligne (ilastik) [16] qui permet de faire de la segmentation par apprentissage (**Figure 3.c**). En peu de temps CPU, la totalité de l'empilement (1200 coupes au total) est segmenté (**Figure 3.d**).

Quelques post-traitements (filtre bilatéral, érosion-dilatation, suppression des objets de trop petit diamètre) permettent de peaufiner la qualité des images segmentées.

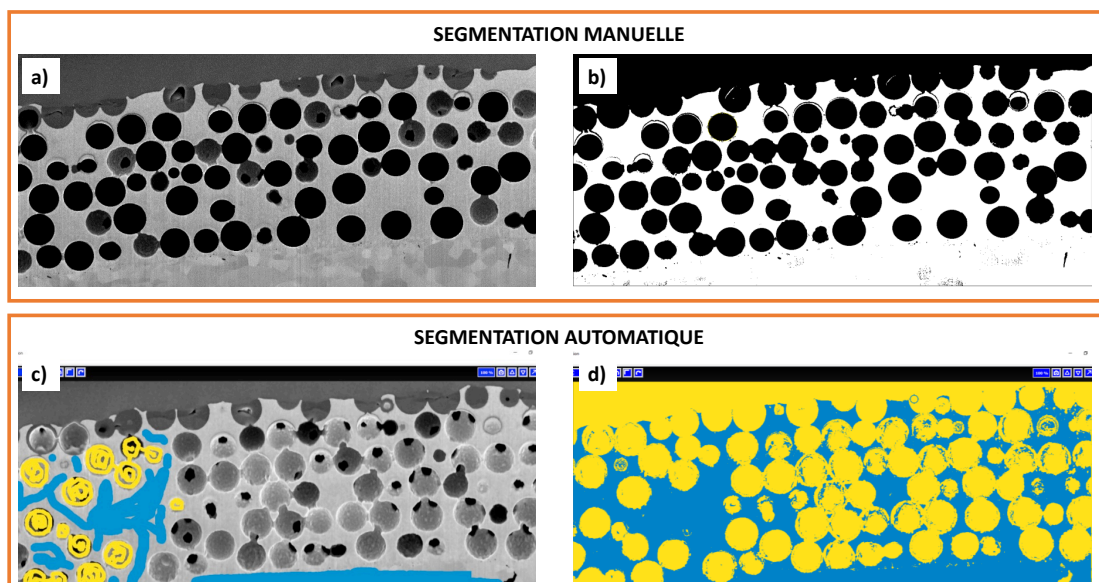


Figure 3 – (a) exemple de segmentation manuelle d'une image MEB, (b) résultat de la segmentation manuelle après seuillage, (c) exemple de segmentation automatique avec le logiciel ilastik d'une image MEB, (d) résultat de la segmentation automatique après seuillage.

- La dernière étape du processus consiste à reconstruire en 3D le réseau poral en compilant l'ensemble des coupes successives segmentées. Pour ce faire, différentes fonctions du logiciel Avizo ont été utilisées. Après séparation des différentes entités et suppression des zones inexploitable (dépôt de platine, sphères coupées...) (**Figure 4.a**), on dispose d'une image numérisée de bonne qualité d'un

empilement de sphères de diamètre 1  $\mu\text{m}$  plus ou moins compact. La **Figure 4.b** montre le résultat sur la région obtenue par segmentation manuelle.

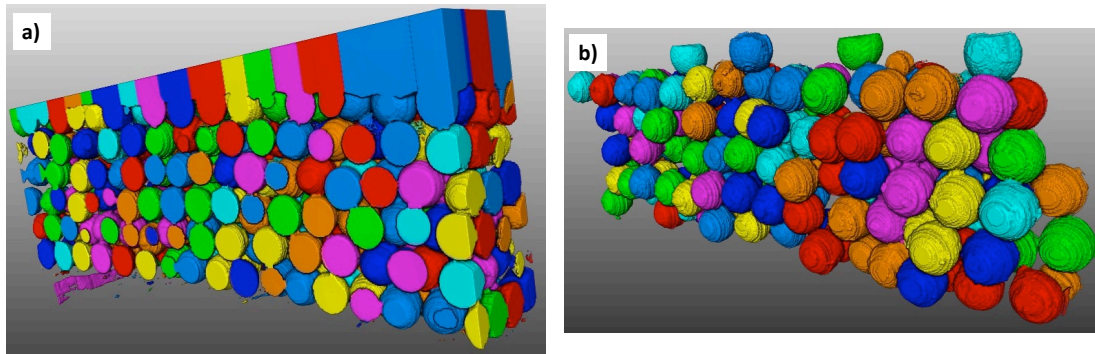


Figure 4 – (a) reconstruction 3D de l'ensemble de l'empilement (300 coupes car segmentation manuelle), (b) réseau poral reconstitué après suppression des zones non exploitables.

Une fois le travail de reconstitution terminé, il est enfin possible de déterminer les paramètres clés pour une application en tant que biocapteur :

- La surface spécifique peut être calculée par un maillage iso-surface.
- La méthode des marcheurs aléatoires permet de déterminer la tortuosité du réseau poral [17].
- Un code Python utilisant les modules « Scipy » et « Scikit-image » permet de déterminer le nombre de connexions par sphère et leur géométrie [18] (**Figure 5**), paramètres indispensables pour quantifier le transfert électronique.

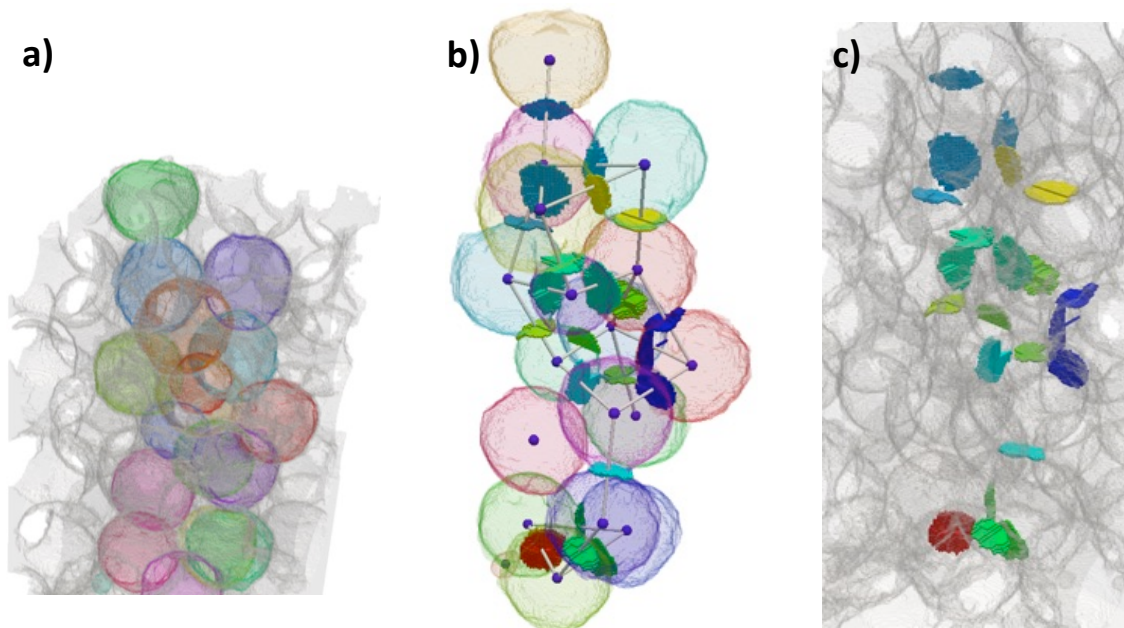


Figure 5 – (a) exemple de reconstruction 3D avec PYTHON, (b) mise en avant du nombre de connexions par sphère, (c) mise en avant de la forme des connexions par sphères.

Comme on peut le voir sur la **figure 5** (qui a été obtenue sur la zone segmentée manuellement, laquelle ne mesure que l'équivalent de trois sphères de large), des résultats intéressants sont déjà obtenus (par exemple la taille et la forme des fenêtres, en **figure 5.c**). On constate aussi que, à de très rares exceptions près, toutes les sphères sont liées les unes aux autres par des fenêtres et constituent un réseau poreux complètement percolant. Il apparaît nécessaire de travailler sur une zone plus grande pour obtenir une statistique significative sur les connexions entre les sphères. Ce travail est en cours de réalisation.

## 4 Conclusion et perspectives

Dans le but de disposer d'images 3D précises et exploitables de la structure de l'espace poral d'une électrode poreuse micrométrique, une chaîne de traitements a été mise au point. Elle consiste à effectuer une acquisition d'images par FIB-SEM, puis divers traitements d'images permettant tout d'abord la reconstruction, puis la segmentation. Des images 3D de bonne qualité ont été obtenues par segmentation manuelle, mais elles sont trop fastidieuses à obtenir sur une zone suffisamment large. Par contre, une technique de segmentation automatique « par apprentissage » a permis de contourner cette difficulté. Les résultats préliminaires sont très encourageants : il sera bientôt possible de faire une analyse détaillée de ces électrodes poreuses. Ainsi, la simulation des phénomènes de transport en compétition avec les réactions électrochimiques directement dans des images réelles pourra être entreprise ; également, il sera possible de générer des images virtuelles avec des propriétés statistiques équivalentes aux images réelles. Enfin, on pourra jouer sur les paramètres statistiques des images pour mener une campagne d'optimisation rationalisée de ces électrodes poreuses en vue de leur application finale dans des dispositifs bio-implantables.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Claudie Josse, du Centre de Microanalyses Raymond Castaing de Toulouse, pour son aide sur les acquisitions de données FIB-SEM. Des discussions fructueuses avec François Cadiou (INSA Lyon, laboratoire MATEIS) ont permis d'avancer sur le traitement des images. Ce travail a été financé par l'ANR sous le n° de projet ANR-17-CE08-0005 (MOMA).

## Références

- [1] Y. C. K. Chen-Wiegart, S. Wang, Y. S. Chu, W.-J. Liu, I. McNulty, P. W. Voorhees, and D. C. Dunand, Structural evolution of nanoporous gold during thermal coarsening. *Acta Mater.* 60(12) (2012) 4972-4981.
- [2] J.-D. Moreau, P. Cloetens, B. Gomez, V. Daviero-Gomez, D. Néraudeau, T. Lafford, T. A., Tafforeau, P., Multiscale 3D Virtual Dissections of 100-Million-Year-Old Flowers Using X-Ray Synchrotron Micro- and Nanotomography. *Microsc. Microanal.* 20 (1) (2014) 305-312.
- [3] S. Koneti, L. Roiban, D. Farrusseng, J. Huve, T. Epicier, Electron Tomography of entrapped iron nanoparticles in silicalite-1 (Fischer-Tropsch catalyst), European Microscopy Congress 2016: Proceedings (2016) 133-134.
- [4] B.-H. Huang, C. C. Wang, C. H. Liao, P. W. Wu, and Y. F. Song, Structural characterization of colloidal crystals and inverse opals using transmission X-ray microscopy. *J. Coll. Interf. Sci.* 426 (2014) 199-205.
- [5] E. Biermans, S. Bals, E. Beyers, D. Wolf, J. Verbeeck, P. Cool, and G. Van Tendeloo, Electron tomography of mesostructured cellular foam silica, pages 301-302. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008.
- [6] L. Holzer, F. Indutnyi, P.H. Gasser, B. Munch, M. Wegmann, Three-dimensional analysis of porous BaTiO<sub>3</sub> ceramics using FIB nanotomography, *J. Microsc.* 216(1) (2004) 84-95.
- [7] T. Terao, G. Inoue, M. Kawase, N. Kubo, M. Yamaguchi, K. Yokoyama, T. Tokunaga, K. Shinohara, Y. Hara, and T. Hara, Development of novel three-dimensional reconstruction method for

- porous media for polymer electrolyte fuel cells using focused ion beam-scanning electron microscope tomography. *J. Power Sources*, 347 (2017) 108-113.
- [8] M. Salzer, T. Prill, A. Spettl, D. Jeulin, K. Schladitz, and V. Schmidt, Quantitative comparison of segmentation algorithms for fib-sem images of porous media. *J. Microsc.*, 257(1) (2015) 23-30.
- [9] K. B. Blodgett, Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface, *J. Am. Chem. Soc.*, 57(6) (1935) 1007-1022.
- [10] R. Szamocki, S. Reculosa, S. Ravaine, P. N. Bartlett, A. Kuhn, R. Hempelmann, Tailored mesostructuring and biofunctionalization of gold for increased electroactivity. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45 (8) (2006) 1317–1321.
- [11] Y. Liu, « Tri-3D » electron microscopy tomography by FIB, SEM and TEM: application to polymer nanocomposites, thèse de l'université de Lyon, 2013, N° 2013-ISAL-0076. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01077950/file/these.pdf>.
- [12] C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri, NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nature methods* 9(7) (2012) 671-675.
- [13] J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise et al., Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nature methods* 9(7) (2012) 676-682.
- [14] Avizo for Materials Science, logiciel distribué par ThermoFischer Scientific, <https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/industrial/electron-microscopy/electron-microscopy-instruments-workflow-solutions/3d-visualization-analysis-software/avizo-materials-science.html> (page consultée le 8/4/19).
- [15] Amira for Life & Biomedical Sciences, logiciel distribué par ThermoFischer Scientific, <https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/industrial/electron-microscopy/electron-microscopy-instruments-workflow-solutions/3d-visualization-analysis-software/amira-life-sciences-biomedical.html> (page consultée le 8/4/19).
- [16] C. Sommer, C. Strähle, U. Köthe, F. A. Hamprecht. ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. In *Proceedings of Eighth IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2011)*, Chicago, 30 Mars-2 Avril 2011, pp. 230–233.
- [17] G. L. Vignoles, C. Mulat, C. Germain, O. Coindreau, and J. Lachaud, “Benefits of X-ray CMT for the modelling of C/C composites”, *Adv. Eng. Mater.* 13(3) (2011) 178-185.
- [18] J. Gostick, Versatile and efficient pore network extraction method using marker-based watershed segmentation, *Physical Review*, E96 (2017) 23307 (15p.).