

Dissertation

Anwendungen der
Ionen- & Elektronenmikroskopie
im Grenzgebiet zwischen
Nanostrukturphysik und Biologie

Martin Gottschalk

8. November 2017

Universität Bielefeld
Fakultät für Physik

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Bielefeld, den 8. November 2017

(Martin Gottschalk)

Gutachter:

Prof. Dr. Andreas Hütten

Prof. Dr. Thomas Huser

Copyright © 2017 Martin Gottschalk

Universität Bielefeld, Fakultät für Physik

Center for Spinelectronic Materials & Devices

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
2	Methoden & physikalische Grundlagen	13
2.1	Dual-Beam-System	13
2.1.1	Rasterelektronenmikroskop	16
2.1.2	Fokussierter Ionenstrahl	18
2.1.3	EDX-Möglichkeiten an der FIB	22
2.1.4	Gas-Deposition	24
2.1.5	Lamellen-Präparation an der FIB	26
2.1.6	Abbildung und Strukturierung schlecht oder nicht leitender Materialien	29
2.2	E-Beam-Lithografie	32
2.3	Sputtern & Ionenätzen	35
3	Kontaktierung & Charakterisierung einzelner Nanopartikel	37
3.1	Motivation	38
3.2	Kontaktierung mittels Gasdeposition in der FIB	39
3.2.1	Auswertung des Tunnelcharakters mittels Brinkmann-Fit	41
3.3	Würfelförmige Magnetit-Partikel	42
3.3.1	Partikelsynthese	42
3.3.2	Elektrische Widerstandsmessungen	43
3.4	Sternförmige Magnetit-Partikel	45
3.4.1	Partikelsynthese	45
3.4.2	TEM-Auswertung	46

3.5	Kryo-Erweiterung und Anwendungsmöglichkeiten	50
3.5.1	Anwendungsmöglichkeiten	52
3.6	Fazit	53
3.7	Ausblick	54
4	Herstellung von Heusler-Partikeln via Elektronenstrahlithografie	57
4.1	Die Heusler-Legierungen und ihre Eigenschaften	58
4.2	Herstellung mittels Elektronenstrahlithografie	60
4.2.1	Das Konzept der Herstellung	60
4.2.2	Belichtung der Punktstruktur	63
4.2.3	SIMS-Ätzen der Säulen-Struktur	65
4.2.4	Freistellung der Partikel	67
4.3	Quantitative Abschätzung der Ausbeute	68
4.4	Nachweis der Heusler-Partikel	69
4.5	Fazit	72
4.6	Ausblick	72
5	Untersuchung physikalischer Reizgebung zur Stammzelldifferenzierung	75
5.1	Biologische Grundlagen zu Stammzellen und ihrer Differenzierung	76
5.2	Einfluss der Porengröße auf die Differenzierung	78
5.3	Biologischer Nachweis einer vorliegenden Osteogenese	81
5.4	Herstellung einer geeigneten Topologie mittels Elektronenstrahl- lithographie	83
5.4.1	Nanoporen mit Positivlack als Basis	83
5.4.2	Nanoporen mit Positivlack als Ätzmaske	84
5.5	Fazit	89
5.6	Ausblick	90
6	Zusammenfassung & Ausblick	91
	Literaturverzeichnis	97
	Abbildungsverzeichnis	107
	Tabellenverzeichnis	109

A Publikationen und Tagungen	111
A.1 Publikationen	111
A.2 Tagungen	112
B Strom-Spannungsmessungen von Nanopartikeln (Kap. 3)	113
C Danksagung	115

Einleitung

Durch die interdisziplinäre Zusammenarbeit der verschiedenen Naturwissenschaften ergeben sich stetig neue Fragestellungen, die beantwortet werden wollen, neue Anwendungen, die entwickelt werden können.

Der fortwährende Drang Systeme kontinuierlich zu minimieren rückt quasi-0D-Objekte wie Nanopartikel als Bindeglied zwischen makroskopischen Materialien und Molekülen oder atomaren Strukturen immer weiter in den Fokus.

„Le Rôle de l'infiniment petit dans la nature est infiniment grand.“

Die Rolle des unendlich Kleinen in der Natur ist unendlich groß.

– Louis Pasteur

Dieser Satz geht auf Louis Pasteur, einen der Gründer der Mikrobiologie, zurück und obwohl in einem anderen Kontext ausgesprochen, so trifft er doch ebenso auf Nanostrukturen und -partikel zu.

Neben bekannten Funktionen von magnetischen Nanopartikeln in rein physikalischen Systemen wie magnetoresistiven Sensoren oder magnetooptischen Speichermedien bieten sich zunehmend Möglichkeiten für biomedizinische Verwendungszwecke.

Insbesondere im Hinblick auf die *in vivo*¹ Anwendbarkeit bergen Nanopartikel mit ihrer kontrollierbaren Größe im Bereich von Viren (20 – 450 nm) bis hinunter zu Proteinen und Genen (> 2 nm) ein großes Potential bewussten Einfluss

¹In vivo sind Vorgänge, die im lebenden Organismus selbst stattfinden, *in vitro* hingegen bezeichnet Vorgänge in künstlicher Umgebung außerhalb des Organismus.

auf eine Zelle auszuüben [1]. Magnetische Partikel können durch ein externes Magnetfeld im Organismus „aus der Ferne kontrolliert“ werden, Medikamentenverabreichung in bestimmte Regionen des Körpers, z. B. in einen Tumor, sind dadurch denkbar [2]. Ein Energieübertrag durch ein alternierendes Magnetfeld auf die Nanopartikel erzeugt Hitze im umgebenden Gewebe, was als magnetische Hyperthermie bezeichnet wird und in der Zerstörung tumorösen Gewebes helfen kann.

In der Biologie und regenerativen Medizin sind die Vorgänge von großer Bedeutung, die das Verhalten von Zellen kontrollieren lassen. Stammzellen mit ihrem großen Differenzierungspotential in verschiedenste Zellen geben eine Möglichkeit die körpereigenen Heilungsprozesse zu unterstützen. Diesen Prozess ohne teils gravierende Nebenwirkungen durch bspw. krebsfördernde biochemische Wachstums- und Differenzierungsmittel einzuleiten ist nicht nur in der Grundlagenforschung, sondern auch in konkreten Anwendungen von besonderer Bedeutung.

Diese Arbeit stellt einige grundlegende Methoden zur Herstellung und Charakterisierung von Nanostrukturen mittels Ionenstrahlstrukturierung und Elektronenstrahlithografie vor, die als Grundlage für sowohl die Entwicklung von physikalischen Analysemethoden (z. B. granularen TMR-Sensoren) als auch für biologische Anwendungen anhand einer topologischen Differenzierungsinduktion von Stammzellen dienen.

Diese Arbeit ist so aufgebaut, dass in Kapitel 2 die vorrangig und wiederholt benutzten Prozesse und Analyseverfahren und die dazugehörigen Maschinen vorgestellt werden. Die Verfahren, die lediglich vereinzelt vorkommen, werden in den Unterkapiteln selbst auf das Wesentliche beschränkt kurz vorgestellt. Die Kapitel 3 – 5 beginnen jeweils mit einer kurzen Einführung, welche konkrete Fragestellung motiviert, gefolgt von den spezifischen physikalischen oder biologischen Grundlagen, die das jeweilige Kapitel zu Eigen hat.

In Kapitel 3 wird eine bereits entwickelte Methode zur Kontaktierung von einzelnen Nanopartikeln (ursprünglich 100 nm Durchmesser [3]) mit Hilfe eines Dual-Beam-Systems weiter angepasst, um den Anforderungen einer Kontaktierung kleinerer Partikel zu entsprechen. Diese Methode wird am Beispiel von würfelförmigen Eisenoxid-Partikeln angewandt, deren elektrischer Widerstand gemessen wird. Ein Fit nach Brinkmann dieser Messungen erlaubt Rückschlüsse auf die Liganden-Schichtdicke der Nanopartikel zu ziehen, welche als Tunnelbarriere fungieren. Des Weiteren werden erste Strukturuntersuchungen von

sternförmigen Eisenoxid-Partikeln im TEM durchgeführt, anhand derer versucht wird Erkenntnisse über die Oxidationsstufe und damit auch das magnetische Verhalten im Hinblick auf die besondere Form der Partikel zu gewinnen. Die benutzten Nanopartikel sind Teil aktueller, noch nicht abgeschlossener Forschung. Der Fokus liegt auf den gegebenen Möglichkeiten einer Charakterisierung solcher Partikel.

Kapitel 4 beschäftigt sich mit einem Ansatz zur physikalischen Herstellung von Nanopartikeln, welcher grundsätzlich allgemein anwendbar auf dünne Schichten als Ausgangsmaterial ist und hier am Beispiel der Heusler-Legierung Ni_2MnGa demonstriert wird. Das vorgestellte elektronenlithografische Verfahren dient zur Vorbereitung der Abklärung der Fragestellung, inwiefern die spezifischen Eigenschaften des Heuslers sich beim Übergang von dünnen Schichten zu Nanopartikeln verändern.

Eine Untersuchung zur Induzierung einer osteogenen Differenzierung von humanen Stammzellen durch physikalische Reizgebung ist Thema des Kapitels 5. Auf Basis der Erkenntnis, dass Poren von 30 nm Durchmesser in einer Titan-Oberfläche eine solche Differenzierung herbeiführen können [4], werden weitere Untersuchungen durchgeführt. Ziel ist eine Abgrenzung des genauen Durchmesserbereichs, welcher zu einer Induktion führt, wozu Membranen zufällig verteilter Poren unterschiedlicher Größen verwendet werden. Alternative Optionen zur Erzeugung definierter Strukturen in dem Größenbereich werden vorgestellt, um eventuelle weitere Abhängigkeiten der Differenzierung, wie z. B. den Abstand der Poren, ergründen zu können.

Methoden & physikalische Grundlagen

In diesem Kapitel werden die in dieser Arbeit angewandten Methoden, Gerätschaften und ihre physikalischen Grundlagen vorgestellt. Die Tiefe der Beschreibungen ergibt sich aus der Relevanz der jeweiligen Anwendungen. Der Fokus liegt dabei auf dem Dual-Beam-System mit seiner Bildgebung und seinen Strukturierungsmöglichkeiten sowie der Elektronenstrahlithografie im Rasterelektronenmikroskop.

2.1 Dual-Beam-System

Das Herzstück dieser Arbeit ist das *Helios NanoLab 600* Dual-Beam-System der Firma FEI. Es handelt sich hierbei um eine Kombination eines Rasterelektronenmikroskops (REM) und eines fokussierten Ionenstrahl-Mikroskops (engl.: Focused Ion Beam Microscope kurz: FIB). Zur Unterscheidung des REM, welches für die Elektronenstrahlithografie in dieser Arbeit benutzt wird und ein separates Gerät darstellt (siehe Kap. 2.2), dient fortan das Kürzel FIB als Bezeichnung für das Dual-Beam-System.

Die Qualität der Bildgebung mittels Elektronenstrahl ist deutlich besser als die mittels Ionenstrahl, weshalb dieser zur strukturellen Analyse genutzt wird. Dazu stehen verschiedene Detektoren wie auch ein EDX-System der Firma Edax zur Verfügung. Der Vorteil des Ionenstrahls liegt in seiner Fähigkeit zur additiven oder destruktiven Bearbeitung von Proben. Die additive Strukturierung ergibt

sich aus der Benutzung mehrere Gasinjektionssysteme (kurz: GIS). Eine kurze Gegenüberstellung der wichtigsten Teilchenstrahleigenschaften ist in Tabelle 2.1 (S. 16) dargestellt (basierend auf [5]).

Ein Dual-Beam-System bietet somit die Möglichkeit zur Oberflächenstrukturierung und hochauflösenden Bildgebung. Dazu befinden sich Elektronen- und Ionensäule in einem Winkel von 52° ausgerichtet auf einen Koinzidenzpunkt, zu dem die Stage bewegt werden kann. Die Freiheitsgrade der Stage sind neben der Bewegung in x-, y- (± 15 mm) und z-Richtung (± 10 mm) die volle Rotation um 360° , so wie die Verkippung zwischen -10° und 60° . Bei 0° fällt der Elektronenstrahl senkrecht auf die Probenoberfläche, entsprechend bei 52° der Ionenstrahl.

Der Fokus des Elektronenstrahls lässt sich per Auswahl automatisch anpassen, wodurch die Fokusebene ausgehend von einer planaren Oberfläche dynamisch während des Rasterns geändert wird. Damit ist auch mit schrägem Blickwinkel ein durchgehend scharfes Bild gewährleistet. Der optimale Arbeitsabstand liegt bei 4 mm im Koinzidenzpunkt, gemessen von der Spitze des Polschuhs der Elektronensäule zur Probenoberfläche. Um die euzentrische Höhe mikrometergenau einzustellen, wird der (abhängig vom Winkel der Verkippung) senkrechte Partikelstrahl auf einen markanten Punkt fokussiert und anschließend die Höhe der Stage angepasst, bis der im Winkel dazu befindliche Strahl ebenfalls auf diesen Punkt fällt.

In Abbildung 2.1 (S. 15) ist der schematische Aufbau des Dual-Beam-Systems zu sehen. Durch zwei verschiedene Stage-Sockel, auf denen die Probenhalter befestigt werden, oder das komplette Entfernen dieser, ist es möglich bis zu 45 mm hohe Proben einzubauen. Im letztgenannten Fall wäre ohne eine Befestigung über den Stage-Sockel eine Verkippung mangels Halt nicht möglich. In den folgenden Unterkapiteln werden kurz die verschiedenen Elemente des Systems und deren Verwendungsmöglichkeiten vorgestellt.

Wegen des Umfangs werden die folgenden Beschreibungen auf die benutzten Verfahren beschränkt, obgleich ein Dual-Beam-System noch weitere interessante Anwendungsmöglichkeiten bietet. Wenn nicht explizit beschrieben, so entstanden die in dieser Arbeit verwendeten Bilder durch das REM des Dual-Beam-Systems.

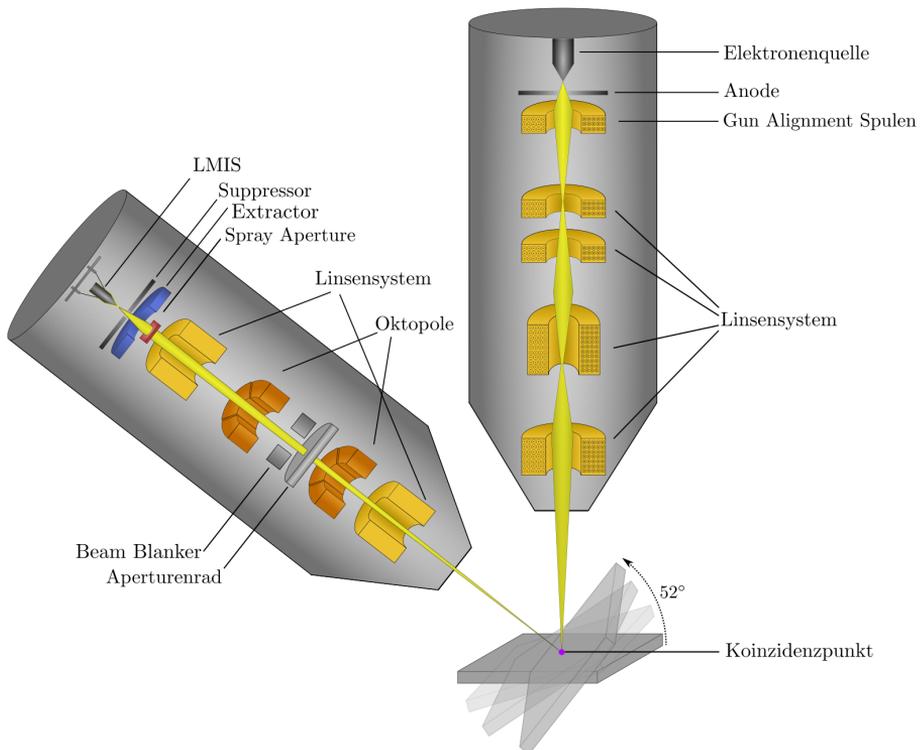


Abbildung 2.1. Schematischer Aufbau eines Dual-Beam-Systems mit der entsprechenden Geometrie der einzelnen Komponenten. Beide Partikelstrahlen (im Winkel von 52° zueinander), sowie das GIS sind auf den Koinzidenzpunkt 4 mm unter der Elektronensäule ausgerichtet.

Eigenschaft	Elektronen	Ionen (Ga ⁺)
Elementarladung	-1	+1
Durchmesser	0,01 pm	200 pm
Masse	$9,1 \times 10^{-31}$ kg	$1,2 \times 10^{-25}$ kg
Geschwindigkeit (30 kV)	$1,0 \times 10^8$ m · s ⁻¹	$2,8 \times 10^5$ m · s ⁻¹
Geschwindigkeit (2 kV)	$2,6 \times 10^7$ m · s ⁻¹	$7,3 \times 10^4$ m · s ⁻¹
Impuls (30 kV)	$9,1 \times 10^{-23}$ kg · m · s ⁻¹	$3,4 \times 10^{-20}$ kg · m · s ⁻¹
Eindringtiefe (2 kV in Eisen)	25 nm	4 nm
Eindringtiefe (30 kV in Eisen)	1800 nm	20 nm
Eindringtiefe (30 kV in Polymer)	12000 nm	60 nm
Signal pro 100 Teilchen (20 kV)		
- Sekundärelektronen	50 - 75	100 - 200
- Substratatome	0	500

Tabelle 2.1. Quantitative Gegenüberstellung der wichtigsten Strahleigenschaften eines Elektronen- und Ionenstrahls [5].

2.1.1 Rasterelektronenmikroskop

Wie ein Lichtmikroskop Licht zur Abbildung verwendet, werden bei einem Rasterelektronenmikroskop Elektronen benutzt. Die Erzeugung des Elektronenstrahls geschieht mittels einer Schottky-Feldemissionskathode (engl.: field emission gun, kurz: FEG) durch Anlegen eines mehrere kV starken elektrischen Feldes an einer Wolframspitze. Durch Aufheizen in die Nähe des Schmelzpunktes wird die Elektronenausbeute erhöht und erlaubt den Austritt. Der so erzeugte Strahl durchläuft eine Reihe elektromagnetischer Linsen, Alignment- und Raster-Spulen, bevor er auf die Probe trifft und deren Oberfläche abrastert.

Die auf die Elektronen durch das Linsensystem wirkende Kraft ist die Lorentz-Kraft (2.1), welche am häufigsten für schnelle Partikel niedriger Masse benutzt wird. Die Stärke des an die Spulen angelegten Stromes bestimmt das erzeugte Magnetfeld und damit die Brechung des Strahls.

$$\vec{F}_L = -e \left(\vec{v} \times \vec{B} \right) \quad (2.1)$$

mit e als Elementarladung, \vec{v} als der Geschwindigkeit des Elektrons und \vec{B} als das erzeugte magnetische Feld. Zusätzlich kann eine weitere magnetische Linse zugeschaltet werden, um in den für das System höchstauflösenden Immersionsmodus zu wechseln. Zu bedenken ist dabei die Magnetisierung der Probe.

Makroskopisch große, ferromagnetische Proben können sich je nach Befestigung ablösen und an oder in die Elektronensäule gezogen werden. Ein Komposit aus Nanopartikeln mit einer vernetzten Ligandenschicht bspw. zeigte eine Aufrichtung von Fortsätzen der Probe im Magnetfeld. Neben der Einstellung des Fokus und der Stigmatoren zum Ausgleich des Astigmatismus spielt die Linsenausrichtung in diesem Modus eine größere Rolle als im Standardmodus. Dabei wird der Strahl relativ zur letzten Linsenapertur bewegt, um einen Shift, eine laterale Bewegung des Strahls, während der Fokussierung zu verhindern [6]. Erst dadurch lassen sich die Stigmatoren in x- und y-Richtung optimal einstellen und das maximale Auflösungsvermögen wird erreicht.

Die Beschleunigungsspannung kann zwischen 1 kV und 30 kV und der Strom zwischen 1,3 pA und 22 nA gewählt werden. Bei 15 kV ergibt sich eine maximale Auflösung von 0,8 nm. Eine rudimentäre Übersicht, welcher Parameterbereich sich für welche Anwendung eignet:

- 20 kV / 170 - 340 pA: Standardwerte für eine ausgewogene Bildgebung.
- 5 kV / 47 - 170 pA: Zur Abbildung von nanoskalaren System, wie z. B. Nanopartikeln. Es besteht eine hohe Oberflächensensitivität und ein geringer Einfluss durch die Elektronenenergie.
- 20 - 30 kV / 1,4 - 2,7 nA: EDX-Messungen in diesem Bereich gewährleisten sowohl eine ausreichende Signalstärke als auch hinreichende Anregungsenergie für die meisten Elemente (näheres in Kap. 2.1.3).

Je nach angelegter Spannung und vorliegendem Material variiert die Eindringtiefe der Elektronen zwischen mehreren nm und wenigen μm [5]. Der auf die Probe treffende Elektronenstrahl löst mehrere Prozesse aus (siehe Abb. 2.2), die jeweils durch verschiedene Detektoren und ihre Modi erfasst werden können. Am häufigsten werden Sekundärelektronen (SE) zur Bildgebung benutzt. Bei diesem inelastischen Stoßprozess werden durch einen Energieübertrag Elektronen der

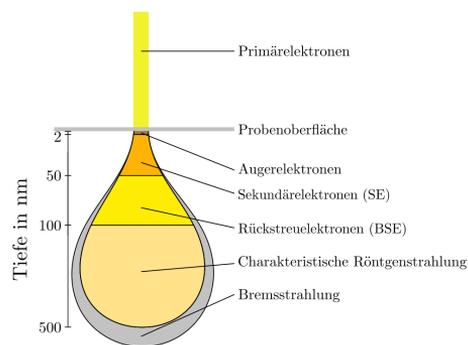


Abbildung 2.2. Die „Elektronenbirne“ veranschaulicht die ausgelösten Signale der eindringenden Elektronen und deren maximalen Tiefenursprung.

Probenatome herausgelöst, welche nach ihrem Austritt aus der Oberfläche nur einige Elektronenvolt (eV) an Energie besitzen. Der Bereich, aus dem diese niederenergetischen SE ausdringen, ist folglich nur einige nm tief. Der SE-Modus gibt damit Aufschluss über die Topologie der Oberfläche, da an Kanten und Rändern auch seitlich SE aus der Probe detektiert werden können. Eine nanoskopisch glatte Fläche wäre beispielsweise ein einziges Grau, während ein darauf befindliches Nanopartikel (NP) ein höheres Signal liefert und weiße Ränder vorweist.

Interessanter Nebeneffekt durch die Detektion, die zumeist durch einen seitlich angebrachten Everhart-Thornley-Detektor auftritt, ist der Eindruck von Licht und Schatten; Flächen zum Detektor geneigt erscheinen durch höheres Signal heller, abgewandte Flächen dunkler. Werden nicht die SE, sondern die in diesem inelastischen Prozess ebenfalls entstehenden Röntgenstrahlen aufgenommen, so wird von einer energiedispersiven Röntgenspektroskopie gesprochen (siehe Kap. 2.1.3).

Eine andere Detektionsmöglichkeit ergibt sich aus den elastischen Stoßprozessen des Primärstrahls. Die rückgestreuten Elektronen (engl. backscattered electrons, kurz: BSE), welche eine Energie von mehreren kV haben, können aus einer Tiefe von bis zu mehreren μm detektiert werden. Die Streuwahrscheinlichkeit der Elektronen ist elementabhängig und steigt mit der Ordnungszahl der Elemente. Schwerere Elemente erscheinen heller und leichtere dunkler. Der BSE-Modus eignet sich dadurch in besonderem Maße zur Darstellung von Materialkontrasten. Für die weitestgehend winkellos rückgestreuten Elektronen befindet sich ein zweiter, ringförmiger Detektor im Linsensystem der Elektronensäule.

Bei metallischen bzw. leitenden Proben können die Beschleunigungsspannung und der Strom weitestgehend beliebig gewählt werden. Auf die besonderen Begebenheiten und Einschränkungen bei elektrisch schlecht oder nicht leitenden Proben wird in Kapitel 2.1.6 näher eingegangen.

2.1.2 Fokussierter Ionenstrahl

Der Aufbau und das zugrunde liegende Prinzip sind bei einem fokussierten Ionenstrahlmikroskop ähnlich wie bei einem Elektronenmikroskop (siehe Abb. 2.1, S. 15). Die Ionen werden erzeugt, im 0,5 - 30 kV Bereich beschleunigt und auf die Probenoberfläche fokussiert. Die maximale Auflösung bei 30 kV beträgt 4 nm. Die einzelnen Bilder werden über das Abrastern des Teilchenstrahls über die Oberfläche erzeugt; das Signal der Sekundärelektronen kann detektiert wer-

den. Der entscheidende Unterschied liegt in der Masse und damit auch im Impuls. Die Lorentz-Kraft würde gemäß 2.1 bei den schwereren, respektive langsameren Ionen zu gering für die benötigte Krafteinwirkung ausfallen, weswegen stattdessen elektrostatische Linsen benutzt werden. Deren Kraft auf die Partikel ist mit

$$\vec{F}_{\text{el}} = -q \cdot \vec{E} \quad (2.2)$$

geschwindigkeitsunabhängig.

Aufgrund ihrer hohen kinetischen Energie mit einem 370-fach größeren Impuls (siehe Tab. 2.1, S. 16) verändern die Ionen die Oberfläche. Eine Bildgebung ist wegen der ebenfalls erzeugten Sekundärelektronen zwar möglich, wird jedoch immer begleitet von einer Kontamination oder Zerstörung der Oberfläche. Der Vorteil und eigentliche Zweck des Ionenstrahls in einem solchen Gerät ist die gezielte Strukturierung von Oberflächen. In der destruktiven Variante werden Probenatome in den Dimensionen des Ionenstrahldurchmessers herausgeschlagen. Grundsätzlich ist jegliches denkbare Muster ätzbar¹. Von einzelnen Punkten bis zu komplexen Mustern oder sogar dem Übertragen von ins System geladenen Bildern, deren Kontrast in Ätztiefe übersetzt wird. Die gebräuchlichsten analytischen Anwendungen sind das Erstellen von Crosssections oder Lamellen für ein Transmissionselektronenmikroskop² (TEM). Auf die additive Variante mittels GIS wird in Kapitel 2.1.4 näher eingegangen.

Die häufigste Quelle für Ionen ist eine Flüssigmetall-Ionenquelle (engl.: liquid metal ion source, kurz: LMIS) bestehend aus einem Reservoir für das ionisierbare Metall, einer Wolframspitze und einer ringförmigen Elektrode, dem Extractor. Das verbreitetste Element ist Gallium (Ga), welches gleich mehrere Vorteile in seiner Benutzung vorweist [5]:

- Der Schmelzpunkt liegt mit $T_S = 29,8 \text{ }^\circ\text{C}$ vergleichsweise niedrig, sodass es leicht im flüssigen Zustand zu halten ist.
- Ein geringer Dampfdruck ermöglicht die Benutzung von reinem Ga, anstatt in Form einer Legierung mit einem zusätzlichen Massenfilter.

¹Der Begriff Ätzen bezieht sich auf den physikalischen Vorgang, bei dem beschleunigte Ionen zum Abtragen/Heraus schlagen von Oberflächenatomen genutzt werden.

²Ein Transmissionselektronenmikroskop arbeitet typischerweise mit Beschleunigungsspannungen von 100 - 200 kV, sodass die durch eine dünne Probe transmittierenden Elektronen detektiert werden können.

- Durch die geringe Volatilität haben die Quellen eine lange Lebensdauer von ca. $400 \mu\text{Ah} \cdot \text{mg}^{-1}$.
- Ga ist einerseits schwer genug, um schwerere Elemente ätzen zu können, andererseits nicht zu schwer, als dass Bereiche leichter Elemente sofort zerstört würden.

Das verflüssigte Ga fließt aus dem Reservoir Richtung Wolframspitze, an der sich mittels Extractor ein Taylor-Kegel von ungefähr 5 nm Durchmesser bildet. Es entsteht ein Gleichgewicht der Oberflächenspannung und der elektrostatischen Kraft, welches durchbrochen werden muss. Die Extractor-Spannung senkt die Potentialbarriere des Galliums an der Kegelspitze, wodurch eine Feldevaporation ermöglicht und die Ionisation gestartet wird. Eine an den Suppressor angelegte Spannung wiederum reduziert und begrenzt den entstandenen Ionenstrom auf konstante $2 \mu\text{A}$ [7]. Der von der Quelle ausgehende Ionenstrom bleibt während der Benutzung konstant und kann daher auf eine Lebensdauer der Quelle von 1000 h beziffert werden.

Die Ionen werden durch ein Potential durch die Ionensäule hindurch beschleunigt und fokussiert. Zunächst werden von der Spray Aperture nur Ionen in einem bestimmten Raumwinkelbereich durchgelassen. Die passierenden Ionen durchlaufen als nächstes die erste elektrostatische Linse, welche analog einer Kondensorlinse fungiert. Der erste von zwei Oktopolen dient zur Anpassung des Stigmatismus, der zweite erzeugt die Rasterbewegung des Strahls. Dazwischen befindet sich das Aperturenrad, welches eine Reihe durchschaltbarer Öffnungen verschiedener Größe besitzt, wodurch sich der auf die Probe auftreffende Strom gezielt begrenzen lässt. Das Aperturenrad bietet die Möglichkeit elf verschiedene Ströme einzustellen. Die Ionen tragen konstant Material vom Aperturenrad ab, weshalb es über die Zeit zu einer Aufweitung und damit zu einer ungewollten Erhöhung (mehr als das 10-fache) der Stromstärke kommt. Eine zweite elektrostatische Linse fokussiert den Ionenstrahl auf einen Durchmesser von weniger als 10 nm auf die Probenoberfläche.

Generell bedeutet ein höherer Strom einerseits ein stärkeres Signal, was die Bildgebung verbessert, andererseits jedoch auch eine größere Beeinflussung der Probe. Es ist für den individuellen Fall abzuwägen, ob ein höherer Strom mit einer geringeren Strukturierungsauflösung vorzuziehen ist. Ein grober Leitfadens für die zu benutzende Stromstärke sieht wie folgt aus:

1,5 pA: Der kleinste einstellbare Strom. Das Kontrastsignal ist sehr „verrauscht“, aber die Auflösung einer Strukturierung ist wegen des minimalen Strahldurchmessers maximal.

28 pA: Die Bildqualität genügt einer genauen Positionierung von Ätzmustern, während der Einfluss auf die Oberfläche ohne längere Scans gering bleibt.

0,93 pA - 0,28 nA: Ströme zum Polieren von Crossections und Lamellen.

2,8 nA: Ein hoher Ionenstrom, der für eine erste grobe Erstellung von Crossections und Lamellen verwendet wird.

Die angegebenen Ionenströme beziehen sich auf eine Beschleunigungsspannung von 30 kV. Wird diese reduziert, so senken sich auch die Ströme. Als Beispiel werde die Herstellung einer Crossection betrachtet.

- I. Zunächst wird mit 2,8 nA ein abgestuftes Rechteck in die Oberfläche geätzt.
- II. Nun wird bei 0,28 nA die Crossection erweitert, bis sie in einen vom ersten Schritt unbeeinflussten Bereich vordringt. Dieser Prozess heißt Cleaning Crossection, anstatt die gesamte Struktur zeitgleich zu ätzen wird Material Linie für Linie entfernt.
- III. Die feinste und schonendste Materialabtragung ergibt sich aus einer Spannung im einstelligen kV-Bereich und einem Strom < 100 pA.

Aufgrund der hohen Dauer eines solchen Ätzens in III. werden diese Parameter lediglich für ein finales Polieren genutzt. Die laterale Amorphisierung³, die mit steigender Ionenenergie zunimmt, kann so auf wenige nm reduziert werden (Bsp. Si: 30 kV \rightarrow 22 nm zu 10 kV \rightarrow 13 nm [8][9]). Für Lamellen, die eine für das TEM taugliche Dünne von 20 - 60 nm haben müssen, ist der dritte Punkt somit ein unerlässlicher Schritt für eine Minimierung der Präparationsschäden.

³Amorph bedeutet, dass es keine Kristallstruktur gibt; Amorphisierung ist entsprechend das Aufbrechen vorhandener Kristallstrukturen durch die Energie der Ionen.

2.1.3 EDX-Möglichkeiten an der FIB

Neben der einfachen Bildgebung und Strukturierung bietet die FIB auch die Möglichkeit zur energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDX). Bei dieser Materialanalyse lösen die hochenergetischen Elektronen des SEM gebundene Elektronen der Probenatome aus, deren Leerstellen durch energetisch höher gelegene Elektronen des Atoms aufgefüllt werden. Dabei wird ein Energiebetrag der Differenz des alten und neuen Energieniveaus entsprechend frei und in Form von charakteristischer Röntgenstrahlung ausgesandt.

In Abbildung 2.3 ist dieser Vorgang mit den typischen Übergängen der K- und L-Serie skizziert. Durch eine einzelne Ionisation können mehrere Übergänge induziert werden, bis das Atom erneut in seinen Ursprungszustand gelangt. Das aufgenommene Spektrum setzt sich zusammen aus der Bremsstrahlung, welche den Hintergrund des Spektrums ausmacht, und den Peaks, welche für die Elemente und ihren Anteil stehen (siehe Abb. 2.4, S.23). Durch die Detektion dieser erhält man eine elementaufgelöste Zusammensetzung der obersten Nano- bis Mikrometer der Probe.

Die Energie des Elektronenstrahls sollte $E_0 \approx 2 \times E_{\text{ion.}}$ sein, mit $E_{\text{ion.}}$ als Ionisationsenergie. Sie sollte jedoch auch nicht wesentlich größer sein. Je nachdem, welche Linienserie aufgenommen wird, stellt die Absorption der erzeugten Röntgenstrahlung innerhalb der Probe (Selbstabsorption) einen dominierenden Effekt in der Signaldetektion dar [10]. Grundsätzlich muss der Elektronenstrom groß genug sein, sodass laut Hersteller eine Dead Time zwischen 20 % und 40 % erreicht wird [11]. Typischerweise wird ein Strom im niedrigen einstelligen nA-Bereich dafür gewählt. Die Identifikation der Elementpeaks kann automatisch vom Programm oder manuell

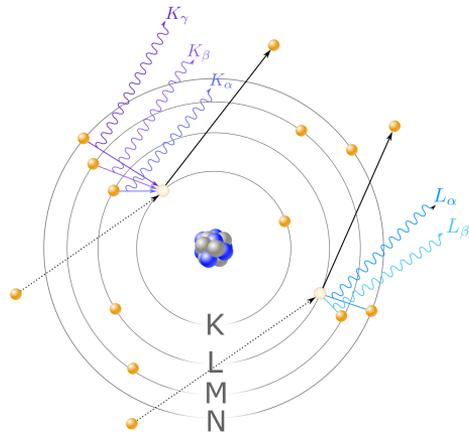


Abbildung 2.3. Je nach Energieniveau des herausgelösten und des diese Lücke auffüllenden Elektrons ergeben sich für den jeweiligen Übergang im betrachteten Element charakteristische Röntgenstrahlen(energien). Diese sind für jedes Element anders und ergeben mit den unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten der Übergänge untereinander einen energetischen Fingerabdruck im EDX-Spektrum.

vorgenommen werden und ergibt die Z-Liste. Ferner lässt sich diese Identifikation durch die Holographic Peak Deconvolution-Methode kontrollieren, in der ein theoretisches Spektrum anhand der Elementauswahl erstellt wird. Bis dahin nicht erfasste Elemente können auf diese Art erfasst werden, was sich insbesondere bei überlagerten Peaks von Vorteil erweist.

Quantitative Analysen des EDX erfordern die sogenannte ZAF-Korrektur, welche sich aus einer Ordnungszahlkorrektur Z, einer Absorptionskorrektur A und einer Fluoreszenzkorrektur F zusammensetzt. Das Produkt dieser Korrekturen wird mit der relativen Intensität des Elementsignals (gemessene Intensität zu theoretischer 100 %-Intensität) multipliziert, um die Gewichtsprozente zu erhalten [12].

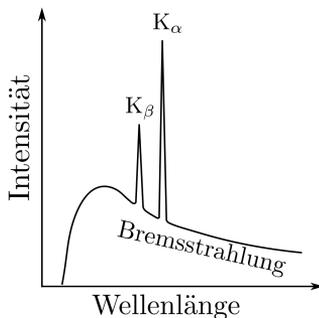


Abbildung 2.4. Aufbau eines EDX-Spektrums mit der Bremsstrahlung als Hintergrund und den elementabhängigen Übergangspeaks.

Zwei besondere Modi an der FIB sind der *Linescan*, bei dem einer Linie entlang Intensitäten aufgenommen werden, und das *Mapping*, bei dem ein elementeigenes Bild durch den Scan von Pixel zu Pixel zusammengestellt wird. Basis für den Linescan bzw. das Mapping ist die Z-Liste eines zuvor aufgenommenen Spektrums. Beide Modi sind qualitativer Natur und ermöglichen Aussagen über das (Nicht-)Vorhandensein von Elementen oder deren relative Intensität zueinander (siehe Abb. 2.5, S. 25). Insbesondere bei Mappings wird für die Überlagerungsbilder jedes Pixel dem stärksten Signal entsprechend gefärbt, wodurch es bei Elementen schwachen, aber nichtsdestotrotz vorhandenen, Signals gegenüber denen stärkeren Signals derart wirken kann, als sei es nicht vorhanden. Für eine eingehende Analyse ist es somit erforderlich sowohl die reinen Elementbilder als auch die überlagerten Bilder zu betrachten.

Eine zusätzliche Option des Mappings ist die Aufnahme eines ganzen Spektrums in jedem Pixelbereich. Dadurch fällt unter vervielfachtem Zeitaufwand die Beschränkung auf die Z-Liste; nachträglich können Elemente der Betrachtung hinzugefügt werden. Im Gegensatz zu einem Spektrum muss die Dwelltime in diesen Modi erhöht werden, damit das aufgenommene Signal eindeutig zuordbar ist. Diese lange Bestrahlung kann zu lokalen Aufladungen und dadurch zu Ablenkungen des Elektronenstrahls führen. Um diesen Effekt auszugleichen

wird eine Drift Correction benutzt. Diese orientiert sich an einem vorab aufgenommenen Bild kleinerer Vergrößerung mit genügend markanten Stellen für einen periodischen Abgleich während der Messung mit dem Ursprungsbild, um gegebenenfalls den Drift auszugleichen.

2.1.4 Gas-Deposition

Die Strukturierungsmöglichkeit der FIB beinhaltet zusätzlich zum Ätzen/Entfernen von Material auch ein in situ Gas-Depositionssystem; das Gasinjektionssystem. Dieses funktioniert über den Gasfluss einer einföhrbaren Nadel in Probennähe (siehe Abb. 2.1). Der Abstand der Nadel im hereingefahrenen Zustand beträgt dabei nur ungefähr 100 μm , ausgehend von einem Arbeitsabstand von 4 mm. Der Materialaufwand und der Einfluss auf das Vakuum werden somit gering gehalten.

Die ausgestoßenen Precursor-Moleküle, welche das zu deponierende Material beinhalten, adsorbieren zum Teil an der Oberfläche. Trifft nun einer der Partikelstrahlen auf diese Moleküle, so findet ein Energieübertrag statt, welcher den Precursor in einen volatilen und nicht-volatilen Teil auseinander brechen lässt (siehe Abb. 2.6). Das gewünschte Material wird dann durch Van der Waals Kräfte gebunden. Dabei macht es einen Unterschied, ob die Deposition mittels Elektronen- oder Ionenstrahl durchgeführt wird. Der Übertrag durch Ionen ist um ein Vielfaches größer, wodurch die Depositionsrate höher und der Anteil an Kohlenstoffresten, welcher unvermeidbar ist, geringer ausfällt [13].

Weitere dabei in der Minderheit auftretende Prozesse sind die Einlagerung der benutzten Ionen und das Sputtern von Substrat- und deponierten Atomen. Berücksichtigt werden müssen diese beispielsweise bei der Herstellung einer Lamelle, bei der zum Schutz der Oberfläche vor dem Herausschneiden zwei Platinschichten aufgebracht werden. Die erste wird durch den nicht-invasiven Elektronenstrahl

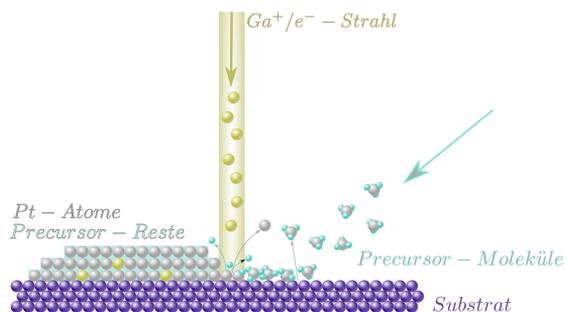
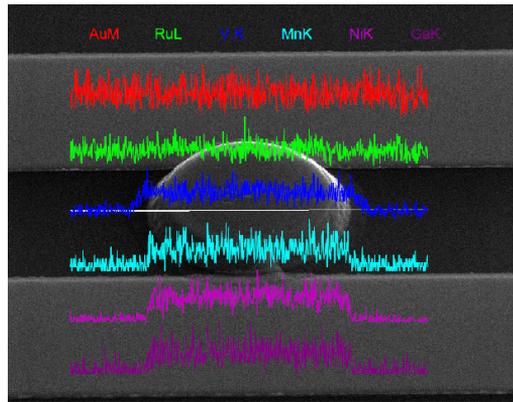
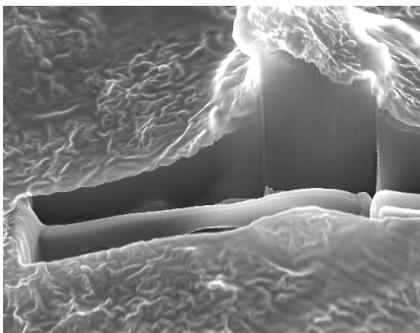


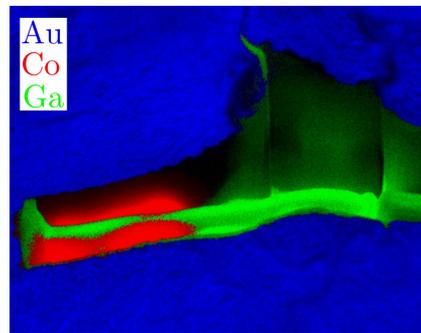
Abbildung 2.6. Schematische Darstellung der gezielten Deposition von Feststoffen (in diesem Fall Platin) aus einem Precursor-Gas durch einen Partikelstrahl.



(a)



(b)



(c)

Abbildung 2.5. (a) Linescan über eine lithografierte Struktur (weiße Linie in der Mitte), welcher anzeigt, dass die Elemente des ursprünglichen Schichtsystems noch vorhanden sind. In (b) ist das SE-Bild eines Mappings (c), welches aus den Einzelbildern der Elemente Gold (Au), Cobalt (Co) und Ga zusammengesetzt wurde. Das Mapping zeigt eine Cross-Section einer mit Gold beschichteten Gelmatrix, in der Co-Nanopartikel eingebettet sind. Gut sichtbar ist das Signal des Ga, welches sich durch die Erstellung der Crosssection überall in dieser abgelagert hat.

erzeugt, die zweite durch den Ionenstrahl, bei dem nebst Deposition zum Teil auch Material abgetragen (geätzt) wird.

Ein Grenzwert für eine überwiegende Deposition liegt bei $6 \text{ pA} \cdot \mu\text{m}^{-2}$ [13]. Insgesamt sind drei verschiedene Precursor-Arten vorhanden. Neben der Deposition von Platin (Pt) als leitendem Material ist es auch möglich einen Isolator auf Kohlenstoffbasis abzuscheiden. Zusätzlich zu diesen beiden in der FIB installierten Systemen gibt es noch weitere Alternativen, die alle auf organischen Precursor-Molekülen basieren. Das Ausgangsmaterial, von Pt zum Beispiel Methylcyclopentadienylplatinum(IV)trimethyl ($\text{C}_5\text{H}_4\text{CH}_3\text{Pt}(\text{CH}_3)_3$), liegt in fester Form vor und muss für die Benutzung leicht erhitzt werden, sodass die Sublimation einsetzt (Bsp. $T_{\text{Pt-Subl.}} = 43, 3^\circ\text{C}$).

Eine dritte Variante für den Einsatz der Platindeposition stellt neben dem Schutz einer Oberfläche und der mechanischen Verbindung die elektrische Kontaktierung dar. Dabei ist zu bedenken, dass mittels Elektronenstrahl deponiertes Pt einen 2 – 3 Größenordnungen höheren elektrischen Widerstand hat als das mittels Ionenstrahl deponierte [14]. Ungeachtet dessen erfordern sensible Systeme, wie z. B. eines mit Nanopartikeln, dass der nicht invasive Elektronenstrahl trotz der schlechteren Kennwerte des Depositionsmaterials verwendet wird. Die Konzentration des Platins beläuft sich dabei nahezu unabhängig von der Energie der Elektronen auf $\sim 20 \%$ [15]. Die Anzahl ausgelöster SE wird im Bereich $< 5 \text{ keV}$ ebenso wie die Depositionsrate maximal [16], ist somit der favorisierte Parameterbereich.

2.1.5 Lamellen-Präparation an der FIB

Die Herstellung einer Lamelle für das TEM erfordert alle bisher vorgestellten Präparationsmöglichkeiten der FIB. Das Ziel ist es einen weniger als 60 nm dünnen Querschnitt einer Probenoberfläche für das TEM vorzubereiten. Eine typische Breite der Lamelle beträgt $10 \mu\text{m}$ mit einer Höhe (Tiefe des Ausschnittes der Probe) von 3 – 4 μm . Der Prozess sieht allgemein wie folgt aus (in eckigen Klammern der Kippungswinkel, wobei 52° für einen senkrechten Einfall des Ionenstrahls steht):

- $[0^\circ / 52^\circ]$ Gas-Deposition von $2 \mu\text{m}$ Pt mittels Elektronen- und Ionenstrahl
- $[52^\circ]$ Ätzen bei 30 kV von Stufen bis zur gewünschten Tiefe an der Lamelle hin; es ergibt sich eine Art Senke mit der Lamelle im Zentrum stehend

- [0°] Nahezu komplettes Ausschneiden der Umrisse der Lamelle durch den Ionenstrahl (U-Schnitt)
- [0°] Heranführung des Omniprobe⁴ und Befestigung an der Lamelle per depositioniertem Pt, gefolgt vom Abtrennen der verbliebenen Verbindung
- [0°] Befestigung am TEM-Lamellenhalter durch Pt und Abtrennung der Lamelle vom Omniprobe durch den Ionenstrahl
- [50° / 54°] Beidseitiges grobes Polieren mit ungefähr 2° Überkippung via Cleaning Crosssection bei 0,28 nA
- [50° / 54°] Materialschonende Abtragung bei 5 kV und 48 pA für die letzte Ausdünnung auf weniger als 60 nm
- [52°] Als Abschluss ein flächiger Beschuss mit 1 kV-Ionen, um die amorphisierte Schicht zu minimieren

Die genannten Parameter sind als Richtwerte zu betrachten. Je nach Erfordernis können sie beliebig angepasst werden. Die Überkippung beim Polieren z. B., die gewährleistet, dass die Lamelle nicht wie im senkrechten Fall leicht keilförmig wird, sondern über den relevanten Bereich eine homogene Dicke aufweist, muss je nach Härte des Materials leicht variiert werden.

Eine High Resolution(HR)TEM-Aufnahme einer Lamelle eines Schichtsystems ist in Abb. 2.7 (S. 28) aufgeführt. Die Dicke der verschiedenen Schichten ist eingezeichnet, auf eine Benennung der genauen Elemente wird aufgrund unveröffentlichter Ergebnisse zu dem System verzichtet. Eine atomare Auflösung von Schichtdicken unter 1 µm wird anhand solcher Lamellen erreicht.

Die Bilder in Abb. 2.7 und 2.8 (S. 29) wurden von Daniela Ramermann an einem JEOL FS-2200 TEM gemacht und von Niklas Dohmeier bzw. Oliver Reimer zur Verfügung gestellt.

In Abb. 2.8 ist eine hochauflösende Aufnahme einer weiteren Lamelle gezeigt. Links ist das Elektronenbild zu sehen, rechts eine sogenannte *Thickness Map*. Für diese Darstellung der relativen Dicke werden zwei Bilder, ein ungefiltertes und

⁴Das Omniprobe ist eine Wolframnadel mit sub-µm feiner Spitze, welches über einen Controller in der Oberflächenebene und in Richtung seiner Hauptachse bewegt werden kann.

ein *Zero-Loss*-Bild⁵ benötigt. Mit Hilfe der Poisson-Verteilung für inelastische Streuung

$$t/\lambda = -\ln\left(\frac{I_0}{I_t}\right) \quad (2.3)$$

mit I_t = absolute (ungefilterte) Intensität und I_0 = Zero-Loss-Intensität lassen sich bei abschätzbarer inelastischer freien Weglänge λ Rückschlüsse auf die lokale Dicke t der Lamelle ziehen [17]. λ ist ein materialabhängiger Wert und wurde in diesem Fall auf 100 nm festgelegt.

Grundsätzlich ist die Thickness Map farblich codiert, wobei Blau für ≤ 100 nm Dicke steht und die Farbe Grün vom Programm des TEMs erst oberhalb von 100 nm gewählt wird. Die Überprüfung lokaler Werte von t ergibt eine Lamellendicke im relevanten Teil des Schichtsystems von maximal 50 nm. Lediglich die Intensitätsmaxima an wenigen Stellen gehen darüber hinaus, bedeuten indes nicht zwangsläufig eine real höhere Dicke. Durch das feste λ wird der Elementzusammensetzung nicht ausreichend entsprochen. Der Bereich des verbliebenen Pts weist eine ungefähre Dicke von 20 – 30 nm auf, der obere Teil des Schichtsystems 25 – 40 nm, bis hin zu 50 nm im unteren Teil.

Die vorgestellte Präparationsmethode gewährleistet somit Lamellen genügender Dünne und Qualität, um HRTEM-Aufnahmen und sich daraus ergebende Analysemethoden an einer Probe durchzuführen.

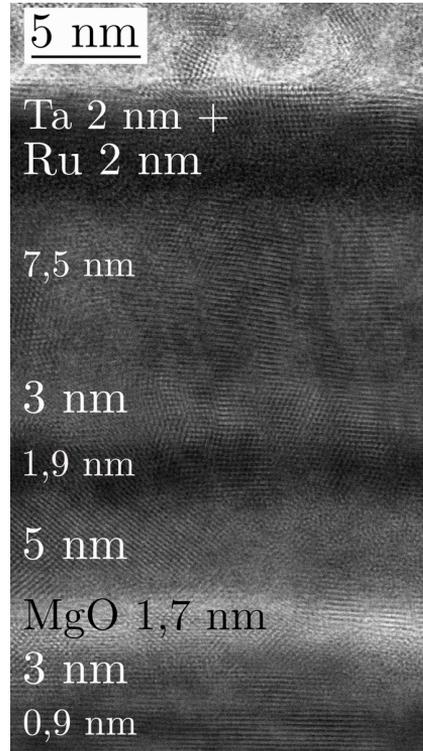


Abbildung 2.7. HRTEM-Aufnahme eines TMR-Schichtsystems. Je nach Material genügt der Kontrast zur Auflösung von sub-nm-Schichten.

⁵Ein Zero-Loss-Bild wird einzig durch Elektronen, die keine inelastische Streuung erfahren haben, aufgenommen.

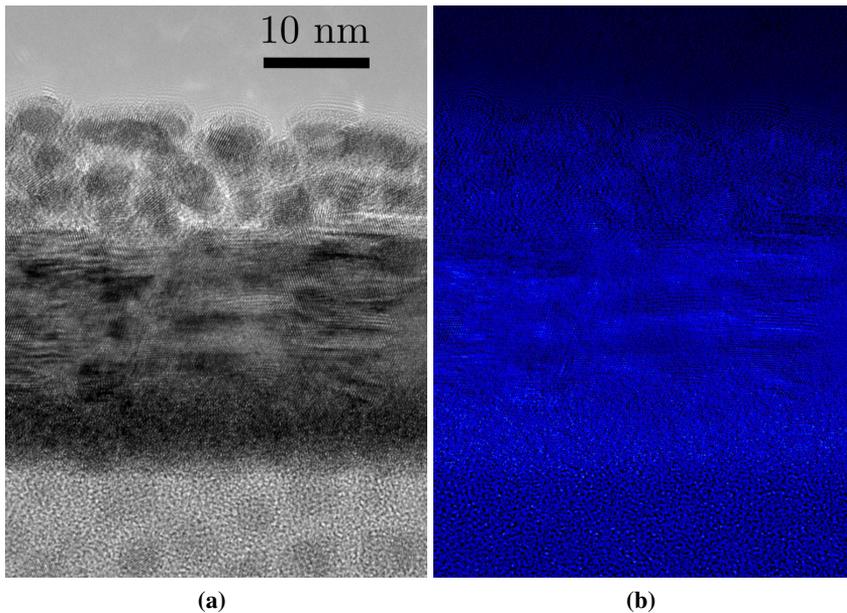


Abbildung 2.8. (a) HRTEM-Aufnahme einer Lamelle, welche im Zentrum ein Schichtsystem zeigt. Oberhalb dessen sind die Reste der Platinschutzschicht mit der dafür typischen Körnung auszumachen; unterhalb das Substrat. (b) Thickness Map des entsprechenden Bereiches, wobei das Vorhandensein einzig der Farbe Blau für eine mittlere freie Weglänge von ≤ 100 nm steht.

2.1.6 Abbildung und Strukturierung schlecht oder nicht leitender Materialien

Elektrisch leitende Proben schwerer Elemente lassen sich grundsätzlich leicht abbilden und strukturieren. Je nachdem, ob eine Oberfläche oder ein Substrat (z. B. Magnesiumoxid/MgO) elektrisch isolierend ist, kann es indes zu Aufladungseffekten kommen. Diese sind kumulativer Natur, d. h. eine längere Bestrahlung verstärkt die Effekte zusehends. Durch sie werden sowohl die Elektronen zur Bildgebung als auch die Ionen zum Ätzen abgelenkt. Wenn es die spätere Verwendung der Probe nicht beeinträchtigt, genügen 2 – 3 nm ge-

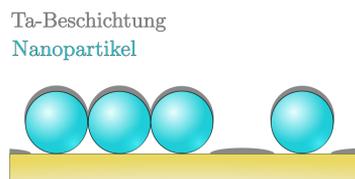


Abbildung 2.9. Bei genügend großen 3D-Strukturen findet keine geschlossene Beschichtung statt. Dies gilt für abgebildete NP wie auch für biologische Strukturen.

sputtertes Tantal (Ta) zur Ableitung auftretender Ladungen bei planaren Proben. Sind die Proben nicht planar, wie in Abb. 2.9 (S. 29) dargestellt, hilft allerdings auch das nur bedingt. Speziell beim Ätzen kann es durch zwischenzeitliche Benutzung des Elektronenstrahls zu einer teilweisen Kompensation kommen; die entgegengesetzten Ladungen gleichen sich aus.

Eine Option namens *iSpy* ermöglicht eben dieses automatisiert mit einstellbaren Zeitintervallen, in denen jeweils ein einzelnes Bild gescannt wird. Bei dem Prozess Cleaning Cross Section wird anstatt eines Zeitintervalls eine Anzahl an zu ätzenden Linien zwischen zwei Elektronenbildern angegeben. Dadurch ist der Fortschritt des Querschnittes zu beobachten, was vor allem bei der Präparation von TEM-Lamellen mit einer Dicke von weniger als 60 nm eine essentielle Rolle spielt.

Besteht die Oberfläche aus leichteren Elementen, die obendrein noch elektrisch isolierend sind, gibt es mehrere Faktoren, die den Handlungsspielraum einschränken. Biologische Proben ohne besondere Behandlung (wie z. B. Anreicherung mit Schwermetallen) fallen in diese beiden Kategorien. Sie bestehen vorwiegend aus Kohlenstoff und anderen leichten Elementen wie Natrium und Kalium oder Chlor, welche eine wesentlich schlechtere Wärmeleitfähigkeit als Metalle und Halbleiter haben (z. B. $0,1 - 1 \text{ W} \cdot (\text{m} \cdot \text{K})^{-1}$ von Polymeren im Gegensatz zu $100 \text{ W} \cdot (\text{m} \cdot \text{K})^{-1}$ für Silizium [18][19]). Bei solchen Oberflächen kann die Energie des Elektronenstrahls bei höheren Strömen genügen zu einer Aufladung und Verformung zu führen. Eine leitende Schicht aus Ta schafft nur bedingt Abhilfe, da ein Großteil der PE dieses durchdringen. Im Gegensatz zu harten Isolatoren können biologische Proben sich dadurch verformen, was besonders bei Vergrößerungen $>100\text{k} \times$ zur Abbildung von Nanostrukturen zu Problemen führt.

Ein Beispiel dafür ist in Abbildung 2.11a (S. 31) gegeben. Die Probe besteht aus einer Matte aus biologischen Fasern, die mit 2 nm Ta besputtert wurde. Trotz dieser Beschichtung kommt es bei langsameren, besser aufgelösten Scans zu einer Verformung.

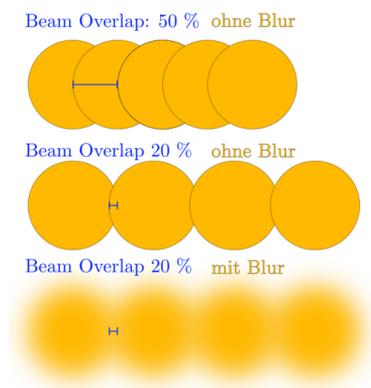


Abbildung 2.10. Veränderung des punktuellen Ätzens (kleinste Einheit eines Ätzmusters) durch Variation des Beam Overlaps und Blurs.

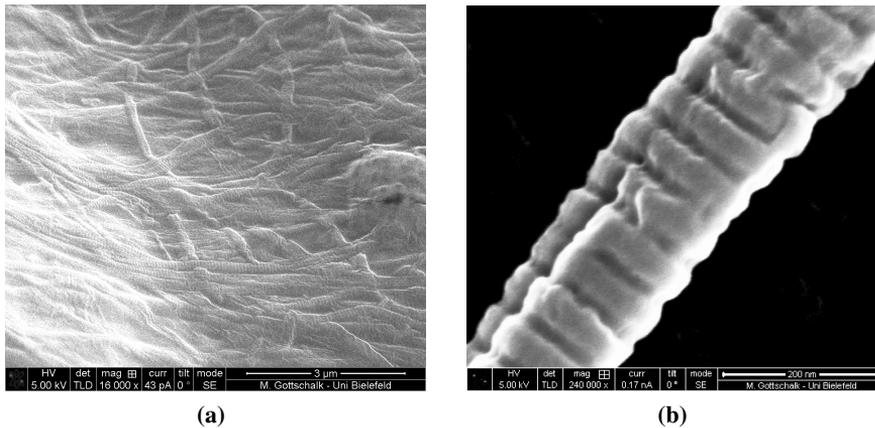


Abbildung 2.11. Qualitätsunterschiede in der Bildgebung bedingt durch die Probenpräparation. In **(a)** zeigt eine Matte aus biologischen Fasern destruktive Aufladungseffekte durch die Belichtung mit Elektronen. **(b)** Hochaufgelöster Scan einer einzelnen Faser auf einem leitenden Substrat, in dem auch die Nanostrukturen der Fasern erkennbar sind.

Die Oberfläche wölbt sich und reißt auf, während Strukturen im zweistelligen Nanometerbereich eingeebnet werden. In einem solchen Fall kann die Bildgebung durch geringe Beschleunigungsspannung und niedrige Elektronenströme, sowie eine geringe Scandauer erleichtert werden, was allerdings zu Lasten des Auflösungsvermögens geht. Es bietet sich an den Elektronenstrahl an einer Stelle zu optimieren, den bestmöglichen Kompromiss aus guter Auflösung und materialschonenden Parametern zu finden, und anschließend „blind“ um mehrere μm zu verfahren, um dort ein einzelnes Bild zu erstellen.

Abhilfe kann ebenfalls durch ein isoliertes Auftragen der Bioproben geschaffen werden. In Abbildung 2.11b ist eine hochaufgelöste einzelne Kollagenfaser (+2 nm Ta) dargestellt, die sich auf einem leitenden Substrat befindet. Anstatt einen Untergrund aus Kohlenstoff wie in Abb. 2.11a aufzuladen, werden durchdringende Elektronen und erzeugte Wärme effektiv abgeleitet. Weitere Hintergrundinformationen zu diesen Aufnahmen von Kollagen finden sich im Kapitel 5.1.

Beim Ätzen mittels Ionen ergeben sich ähnliche Probleme: elektrische Aufladung führt zu einer Verschiebung des Strahls. Kohlenstoffbasierte Proben verformen sich und schmelzen, anstatt effektiv abgetragen zu werden. Wie oben erwähnt können die Strahlparameter angepasst und reduziert werden. In den

erweiterten Einstellungen der Strukturierung lassen sich weitere Parameter anpassen.

Der Beam Overlap als einer von ihnen gibt an, wie hoch die prozentuale Überlappung zwischen Punkten, aus denen jede Ätzstruktur zusammengesetzt ist, sein soll (siehe Abb. 2.10, S. 30). Dessen Reduktion führt zu einer Verringerung der lokalen Wärmeerzeugung während des Ätzprozesses [19]. Des Weiteren kann ein Blur, eine bewusste Unschärfe/Defokussierung, vorgegeben werden, wodurch der Strahldurchmesser größer und die Intensität (Ionen/Fläche) kleiner wird. Im Zuge dieser Arbeit wurden Proben behandelt, bei denen selbst diese angeführten Methoden zu keinem Erfolg führten. Aufgrund dessen wurde die FIB um ein eigens angefertigtes Kryo-Element erweitert, welches im Kapitel 3.5 vorgestellt wird.

2.2 E-Beam-Lithografie

Das in dieser Arbeit zur Elektronenstrahlolithografie verwendete REM ist ein *Leo 1530 Gemini* der Firma Zeiss. Das dazugehörige Lithografieprogramm *Elphy Plus* stammt von der Raith GmbH. Die Beschleunigungsspannung des REM kann zwischen 0,2 kV und 30 kV gewählt werden; mit einer nominellen Auflösung von 1,5 nm bei 20 kV.

Die Lithografie besteht aus der Aufbringung eines polymeren Lacks auf die Probe und die anschließende Belichtung mittels Elektronenstrahl. Begrenzt wird das Auflösungsvermögen einer Strukturierung durch den Proximity-Effekt der SE während der Belichtung. Ausgelöste SE belichten teilweise zusätzlich den Lack in direkter Nähe des einfallenden PE-Strahls, wodurch zwei zu nahe beieinander liegende Strukturen in der Entwicklung verschmelzen. Bei Negativlack beträgt die minimal erreichbare laterale Auflösung 28 nm, bei

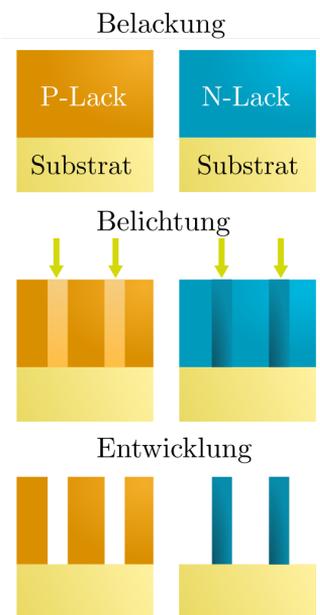


Abbildung 2.12. Unterschied der Strukturierung von Positiv- und Negativlack.

Positivlack, welcher standardmäßig dünner aufgetragen wird, im Optimum 10 nm [20] [21].

Der Unterschied zwischen Positiv- und Negativlack liegt in der Wirkung der einfallenden Elektronen (siehe Abb. 2.12, S. 32). Während bei Positivlack an den belichteten Stellen Molekülbindungen aufgebrochen werden, der Lack löslich in der Entwicklung wird, verhärtet der Negativlack sich durch Vernetzung der Moleküle während der Belichtung. Nach der Entwicklung der Strukturen stehen diese bei Positiv- und Negativlack somit invers zueinander.

Der wichtigste Parameter ist die Area Dose (in $\mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$), welche die Intensität der Elektronen pro Fläche angibt. Analog zum Ionenätzen besteht bei der lithografischen Strukturierung eine Korrelation von Elektronenstrom und Auflösungsvermögen. Niedrige Ströme ermöglichen unter erhöhtem Zeitaufwand kleinere Strukturen. Des Weiteren unterliegt der Kathodenstrom natürlichen Schwankungen, weswegen vor jeder Belichtung der jeweils aktuelle Elektronenstrom mittels eines Faraday-Cups in der Stage gemessen werden muss. Diesen verwendet das Programm, um für die gewünschte Area Dose die Dauer der Belichtung eines Punktes bzw., in Konsequenz, einer Struktur zu ermitteln. Der Begriff Punkt bezieht sich auf die kleinste Einheit bei der Belichtung, jede Struktur ist aus einzelnen Punkten zusammengesetzt. Je nach Stromstärke des Strahls wird die Area Step Size, die den Abstand zwischen zwei solcher Punkte angibt, hoch- oder heruntergesetzt.

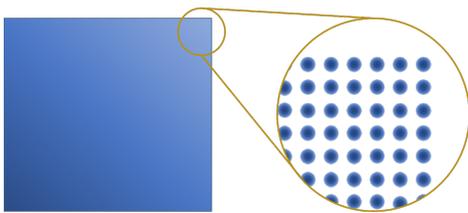


Abbildung 2.13. Schema des Aufbaus lithografischer Strukturen aus einzelnen Punkten, deren Area Step Size groß genug gewählt ist, sodass es zu keiner flächendeckenden Belichtung kommt.

Für eine bündige Belichtung mittels 30 μm Blende beträgt die Area Step Size 5 – 6 nm, für die 60 μm Blende mit ungefähr 15-fachem Strom 50 – 60 nm. Die Area Step Size ist damit vergleichbar mit dem Beam Overlap beim Ätzen in der FIB, einzig, dass dort nicht beliebig große Abstände zwischen zwei Punkten vorgegeben werden können. Eine weitere Einheit, aus der sich größere Strukturen zusammensetzen,

sind die Schreibfelder. Der Mittelpunkt des Schreibfeldes wird über die Stage angefahren und zur Belichtung wird der Elektronenstrahl über das Linsensystem ausgelenkt. Der Standardwert, der auch in dieser Arbeit benutzt wird, beträgt $(100 \times 100) \mu\text{m}^2$.

Ist eine Belichtung von möglichst kleinen Punkten das Ziel, so kann die Area Step Size gezielt so weit hochgesetzt werden, dass es zu keiner vollständigen Belichtung der Fläche, sondern nur einzelner Punkte kommt (skizziert in Abb. 2.13, S. 33). Eine kleinere Einheit für die Belichtung gibt es nicht, weshalb mit diesem Muster minimale Strukturierungen, begrenzt durch die Spotsizes der PE-Strahls, ermöglicht werden. Diese Methode findet an mehreren Stellen in dieser Arbeit Anwendung.

Zu jedem Lack gibt es vom Hersteller einen Richtwert zur Belichtung. Jedoch beziehen sich diese auf ein bestimmtes Substrat und eine spezifische Lackdicke. Ein Dosistest vor der eigentlichen Strukturierung ist in den meisten Fällen somit ratsam, um zu überprüfen, dass die gewünschte Struktur weder über- noch unterbelichtet ist. Beispielsweise zeigte sich in einem Fall eine um bis zu 50 % reduzierte Area Dose für die benötigte Struktur auf einer Legierungs-Oberfläche im Gegensatz zum Si-Substrat des Dosistests. Anstatt mit der ermittelten Dosis die Area Dose selbst anzupassen, wird der Dosisfaktor benutzt. Er fungiert als Vorfaktor für die Area Dose, über den verschiedene Dosen während eines Belichtungsprozesses benutzt werden können, in dem die Area Dose selbst nicht verändert werden kann.

Der grundlegende Prozess sieht folgendermaßen aus:

- I. Auftropfen des Lacks auf die Probe mit anschließendem Spincoaten. Die Umdrehungszahl/Minute gibt dabei die Dicke der resultierenden Lack-schicht vor.
- II. Aushärtung des Lacks durch Temperung der Probe.
- III. Belichtung im REM.
- IV. Entwicklung des Lacks und eventuelles Nachtempern. Dieses kann zusätzlich die Plasmaätzbeständigkeit der entwickelten Strukturen erhöhen.
- V. Ausnutzung der erzeugten Struktur durch Sputtern oder Ionenätzen.
- VI. Entfernen des restlichen Lacks durch einen Remover.

Die in dieser Arbeit verwendeten Lacke, sowie Entwickler, Stopper und Remover sind von der Firma *Allresist*. Auf die lithografierten Strukturen selbst wird zu Anfang der Kapitel 3.2, 4.2 und 5.4 jeweils eingegangen.

2.3 Sputtern & Ionenätzen

An mehreren Stellen in dieser Arbeit wird der Prozess des Sputterns und Ionenätzens Anwendung finden, weshalb diese zwei ähnlichen Prozesse hier kurz erläutert werden sollen.

Sputtern beschreibt einen physikalischen Depositionsprozess, bei dem Proben breitflächig mit einem Element oder einer Legierung beschichtet werden können. Dazu wird in eine Vakuumkammer kontrolliert ein Gas wie z. B. Argon (Ar^+) eingeleitet und von Elektronen ionisiert. Diese Ionen werden durch Anlegen eines elektrischen Feldes in Richtung des Targets, einer Scheibe bestehend aus dem Depositionsmaterial, beschleunigt. Die Targetatome werden über Impulsübertragung herausgeschlagen und können sich auf der gegenüber angebrachten Probe ablagern. Weitere Modifikationen, wie das Anlegen eines Magnetfeldes zur Erhöhung der Ionisationsrate durch die dadurch auf Kreisbahnen befindlichen Elektronen sind möglich.

Das gleiche physikalische Grundprinzip gilt bei der Secondary Ion Mass Spectrometry (kurz: SIMS). In dieser werden, genau wie beim Sputtern, Ar^+ -Ionen ionisiert und beschleunigt. Anstatt eines Targets mit dem Depositionsmaterial ist die Probe selbst dabei das Ziel. Die Ionen schlagen breitflächig die Oberflächenelemente heraus, ohne die Probe (wegen des Edelgasstatus des Ar) zu kontaminieren. Nebenbei werden über ein Quadrupol-Massenspektrometer die abgetragenen (ionisierten) Elemente detektiert. Bei dieser Messmethode werden die Probenionen nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis im Wechselfeld eines Quadrupols selektiert, bevor die passierenden Ionen detektiert werden. Dadurch ist es beispielsweise möglich, in einem Schichtsystem den aktuellen Fortschritt des Ätzprozesses zu beobachten und, in der Zielschicht angekommen, zu beenden.

Der Zweck des Sputterns ist somit die Deposition eines über Ar^+ -Ionen herausgeschlagenen Target-Materials auf der Probe, der der SIMS das homogene und großflächige Ätzen von Proben selbst, und der der FIB das kontrollierte strukturierende Ätzen eines fokussierten Ionenstrahls.

Kontaktierung & Charakterisierung einzelner Nanopartikel

In diesem Kapitel wird eine Möglichkeit aufgezeigt, um einzelne Nanopartikel zu kontaktieren und elektrisch zu vermessen. Chemisch hergestellte Nanopartikel mit Ölsäure als formgebender Ligand werden auf elektronenlithografierte Goldbahnen aufgetropft und anschließend in der FIB mittels Gasdeposition einzeln kontaktiert. Die durchgeführten Strom-Spannungs-(I-U-)Messungen weisen einen Tunnelcharakter vor, welcher mittels Brinkmann-Fit analysiert wird. Die sich daraus ergebende Barrierendicke d von ~ 1 nm liegt in guter Übereinstimmung zu der Größe der Ölsäure-Moleküle, welche in diesem System als Tunnelbarriere agieren.

Zweiter Teil dieses Kapitels sind anfängliche Analysen von sternförmigen NP aus Eisenoxid, die anhand von atomar aufgelösten HRTEM-Bildern auf ihre Kristallstruktur hin untersucht werden. Mit Hilfe einer Fast-Fourier-Transformation dieser Aufnahmen (erläutert in Kapitel 3.4.2) werden die markantesten Gitterebenenabstände daraus extrahiert, um ggf. eine charakteristische Gitterkonstante eines der möglichen Eisenoxide ausfindig zu machen.

Die Partikelsynthese wurde von Dr. Axel Dreyer durchgeführt, die Aufnahmen an einem JEOL FS-2200 TEM von Daniela Ramermann.

3.1 Motivation

Magnetische Sensoren aus granularen Systemen mit Nanopartikeln sind vielversprechend für höhere Sensitivitäten. Aktuelle Forschungsergebnisse (bis dato unveröffentlicht) bezüglich eines gepressten makroskopischen Superkristalls aus superparamagnetischen¹ Eisenoxid-Nanopartikeln belegen die Möglichkeit der Detektion eines externen magnetischen Feldes durch den TMR-Effekt. Dieser kommt durch die Ligandenschicht aus Ölsäure zustande, welche eine Tunnelbarriere darstellt. Ferner weist das System eine Abhängigkeit seines elektrischen Leitverhaltens von mechanischem Stress, der auf das System ausgeübt wird, vor. Eine thermische Behandlung führt zur Verlinkung der organischen Ölsäuremoleküle. Dabei können durch die stärker interagierenden magnetischen Streufelder der Partikel ferromagnetische² Domänen ausgebildet werden.

Simulationen zu möglichen TMR-Amplituden sternförmiger Strukturen haben am Beispiel eines dreilagigen Schichtsystems gezeigt, dass vermutlich infolge einer hohen Formanisotropie eine Magnetisierung in Richtung der Spitzen vorliegt [22]. Die berechneten lokalen Extrema im TMR-Effekt sind geeignet für eine hochaufgelöste Detektion von magnetischen Partikeln auf kurze Distanz. Es stellt sich somit die Frage, inwiefern sternförmige Nanopartikel, bedingt durch ihre Geometrie, als Kandidaten für bspw. GMR- und TMR-Systeme auf granularer Basis geeignet oder sogar vorteilhaft durch ihre formbeeinflusste Magnetisierung sind. Die hier untersuchten Sternpartikel können in unterschiedlichen Variationen des Eisenoxids vorliegen und je nach Oxid ergeben sich unterschiedliche magnetische Eigenschaften. Aufgrund dessen ist eine nähere strukturelle Untersuchung von Interesse, welche Phase, vielleicht lokal auf einen Bereich des Partikels beschränkt, vorliegt.

Diese Arbeiten veranschaulichen die Bedeutung einer genauen Charakterisierung von Nanopartikeln und ihres Aufbaus.

¹Superparamagnetismus bezeichnet die Eigenschaft von ferro- und ferrimagnetischen Partikeln sich unterhalb einer bestimmten Größe wie ein Paramagnet mit großem magnetischen Moment zu verhalten. Das heißt, ohne externes Magnetfeld wird eine bleibende Magnetisierung durch thermische Anregung verhindert.

²Beim Ferromagnetismus richten sich die magnetischen Momente der Atome sowie die, größer betrachtet, Weißschen Bezirke (Domänen einer Magnetisierung) parallel zueinander aus.

3.2 Kontaktierung mittels Gasdeposition in der FIB

Das in diesem Kapitel genutzte Verfahren zur elektrischen Kontaktierung von einzelnen Nanopartikeln wurde in meiner Masterarbeit „Kontaktierung einzelner Co-Nanopartikel“ [3] erarbeitet und erfuhr im Laufe dieses Projektes einige notwendige Anpassungen für kleinere als 100 nm Partikel, auf die im Folgenden detailliert eingegangen werden soll.

Das Prinzip ist von makroskopischen Dimensionen von Leiterbahnen bis auf die nanoskopische Dimension des einzelnen NPs einen exklusiven Stromfluss zu gewährleisten. Als Substrat wird Silizium mit einer obersten Schicht aus 500 nm SiO₂ gewählt, sodass die Oberfläche elektrisch isoliert. Elektronenstrahl-lithografie wird zur Herstellung von Kammstrukturen im Positivlack benutzt. Kammstrukturen, deren Basis das jeweilige Kontaktpad ($\sim 150 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$) darstellt, weisen viele parallele Leiterbahnen auf.

Jeweils zwei solcher Kämmen liegen entgegengesetzt ineinander, ohne direkten Kontakt der einzelnen Zähne zu haben. Die hohe Zahl der Zähne von 10 – 20 Stück pro Kamm soll eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Finden einzeln vorliegender NP gewährleisten; in den Zwischenräumen von 1 μm Breite sind später die einzelnen NP zu finden. Der Positivlack *AR-P 617.03* wird für 30 Sekunden bei 5000 Umdrehungen pro Minute gespincoated und für 2 Minuten bei 85 °C getempert, was zu einer finalen Dicke von 90 nm führt. Lithografiert wird mit der 60 μm -Blende bei einer Area Dose von 150 $\mu\text{As}/\text{cm}^2$. Zur Entwicklung werden der Entwickler *AR 600-55* und der Stopper *AR 600-60* verwendet, gefolgt von einer einminütigen Temperung bei 130 °C auf einer Heizplatte.

Nach der Belichtung und Entwicklung werden durch Sputterdeposition die Leiterbahnen aus 5 nm Ta und 60 nm Au hergestellt. Nachdem mittels Remover der restliche Lack entfernt wurde, kann eine Lösung mit NP aufgetropft werden. Die richtige Konzentration dieser Lösung wird vorab auf einem Standardsubstrat im REM ermittelt. Einerseits müssen genügend NP grundsätzlich zwischen den Leiterbahnen zu finden sein, andererseits jedoch nicht zu viele, da diese sonst zu

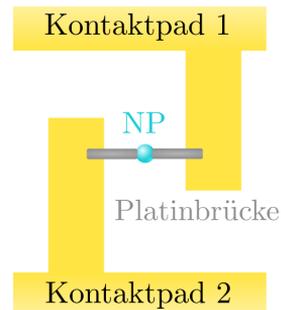
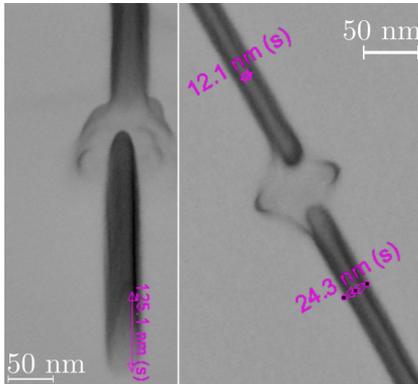
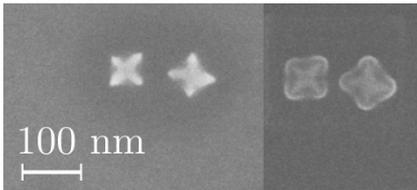


Abbildung 3.1. Schema der Nanopartikeleinzelkontaktierung.

großen Clustern (Anhäufungen) agglomeriert vorliegen, welche zu Kurzschlüssen führen.



(a)



(b)

Abbildung 3.2. (a) Kleinstmögliche Pt-Bahnen zur Kontaktierung eines einzelnen NP von 60 nm Durchmesser. (b) Veränderung der NP durch Elektronenbestrahlung.

als 100 nm herzustellen. Die Vergrößerung beträgt dabei 120k. Zur besseren Kenntlichmachung wurden die Bilder farblich invertiert.

In der Abbildung 3.2b ist der Einfluss des Energieübertrags des Elektronenstrahls deutlich erkennbar. Die eigentlich sternförmigen Partikel (links) sind durch das Scannen und die daraus resultierende Kohlenstoffablagerung quasi deformiert (rechts). Um diesen Effekt zu minimieren wird von dem jeweiligen NP zur Kontaktierung nur ein Snapshot³ für die Positionierung der Depositionsstruktur und ein weiterer im Anschluss an den Prozess zur Kontrolle gemacht.

³Ein Snapshot ist die Bilderstellung durch einmaliges Rastern frei wählbarer Geschwindigkeit, welches vor allem beim Ionenstrahl für eine minimalinvasive Bildgebung benutzt wird.

In der FIB werden mittels elektronenstrahlinduzierter Gasdeposition zwei Leiterbahnen mit einem NP verbunden (siehe Abb. 3.1, S. 39). Je nach Größe der Partikel wird hierbei bereits das untere Auflösungslimit für diese Art der additiven Strukturierung erreicht. Wo bei NP von ca. 100 nm Durchmesser Rechteck-Strukturen ausreichen, muss für kleinere Partikel eine Kombination aus jeweils einer Linie und einem Rechteck strukturiert werden. Eine Linie ist die dünnstmögliche einstellbare Struktur, entscheidend ist die nominelle Höhe. Sofern realisierbar, sollte der elektrische Widerstand des Pts kleiner als der des NPs sein.

Die nebenstehende Abbildung 3.2a zeigt zwei ineinander eingefügte Bilder einer testweisen Depositionen an sternförmigen NP. Mit Hilfe von Linienstrukturen bei einem eher geringen Strom von 86 pA ist es möglich Pt-Bahnen mit einer Dicke von 25 nm und einer Höhe größer

Die Messungen der Transporteigenschaften werden an einem konventionellen 2-Punkt-DC-Messstand durchgeführt. An diesem wäre es auch möglich ein maximales Magnetfeld von 2000 Oe anzulegen. Mit diesem vorgestellten Ansatz ist es zusätzlich realisierbar Cluster von NP zu kontaktieren. Je nach der gewünschten Größe müssen lediglich die Abstände der Kämmen und die Konzentration der NP-Lösung angepasst werden.

3.2.1 Auswertung des Tunnelcharakters mittels Brinkmann-Fit

Zur Auswertung des elektrischen Tunnelcharakters der NP wird ein Fit basierend auf einer trapezförmigen Beschreibung der Tunnelbarriere von Brinkman et al. [23] verwendet. Dieser Fit basiert auf der WKB-Näherung (Wenzel-Kramers-Brillouin), welche die Tunnelwahrscheinlichkeit durch eine Potentialbarriere variabler Höhe durch Zerlegung in kleine, rechteckige Teilbarrieren beschreibt [24]. Der Brinkmann-Fit erwies sich bereits im Falle der Co-NP aus [3] als geeignet zur Beschreibung der als Trapezbarriere fungierenden Ölsäure-Moleküle. Charakteristika einer solchen Barriere sind die Barrierendicke d , die mittlere Barrierenhöhe $\bar{\varphi}$, und die Barrierenasymmetrie $\Delta\varphi$. Für kleine Spannungen ($eU \ll \varphi$) kann die differentielle Leitfähigkeit $G = dj/dU$ als Polynom 2. Ordnung in U geschrieben werden:

$$G = \frac{dj}{dU} = A(\bar{\varphi}, d) \cdot U^2 + B(\bar{\varphi}, \Delta\varphi, d) \cdot U + C(\bar{\varphi}, d) \quad (3.1)$$

Die konstanten Vorfaktoren A , B und C sind eine Funktion der Barrierenparameter und können als solche geschrieben werden:

$$\bar{\varphi}^2 = \frac{e^2 C}{32A} \left[\ln \left(\frac{h^3}{\sqrt{2\pi} e^3 m_{\text{eff}}} \sqrt{AC} \right) \right]^2 \quad (3.2)$$

$$d = -\frac{\hbar}{\sqrt{8\bar{\varphi}m_{\text{eff}}}} \ln \left(\frac{h^3}{\sqrt{2\pi} e^3 m_{\text{eff}}} \sqrt{AC} \right) \quad (3.3)$$

$$\Delta\varphi = -\frac{12\hbar \cdot \bar{\varphi}^{3/2} \cdot B}{\sqrt{2m_{\text{eff}} \cdot e \cdot d \cdot C}} \quad (3.4)$$

Die mittlere Stromdichte beschreibt den Strom pro Fläche, also $dj = dI/2 \cdot A_F$, und erfordert Näherungen betreff des elektrischen Kontaktes zu den NP.

- Die NP haben eine natürliche Größenverteilung, der bei der Auswertung nur bedingt entsprochen werden kann, da hochaufgelöste Bilder zur Bestimmung des individuellen Durchmessers des NP und seine Umgebung zu sehr beeinflussen würde.
- Die genaue Kontaktfläche der NP kann nicht exakt bestimmt werden, da einerseits die Geometrie im Falle der Stern-Partikel zu komplex ist und andererseits das Pt nie exakt gleich deponiert wird bei unterschiedlichen NP. Deshalb wird als Vereinfachung $A_F = \frac{1}{4} \cdot 4\pi r_{NP}^2 = \frac{1}{4} \cdot \pi d_{NP}^2$ gesetzt.
- Über die effektive Masse der Elektronen m_{eff} kann keine Aussage getroffen werden, weshalb diese $m_{\text{eff}} = 1 \cdot m_e$ gesetzt wird.

Ein Indiz für die vorliegende Güte des Fits liefert das Bestimmtheitsmaß (R-Quadrat), welches mit der Berechnung des Fits ebenfalls angegeben wird. Das Bestimmtheitsmaß reicht von -1 bis +1, wobei der Wert 1 eine 100 %-ige Anpassung zu den Messwerten beschreibt. Der Wert 0 hingegen steht für keinerlei Zusammenhang zwischen Anpassung und Messwerten. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß (kor. R-Quadrat) richtet sich zusätzlich nach den Freiheitsgraden bzw. unabhängigen Variablen. Im Fall des Brinkmann-Fits sind das A, B und C. Die Güte des Fits verbessert sich durch diese Korrektur des Bestimmtheitsmaßes.

Es sei angemerkt, dass der Brinkmann-Fit seine Funktion als Näherung und Vereinfachung bereits bei zwei aneinander liegenden NP verliert, durch die sich zwei Einfach- und eine Doppelbarriere ergeben. Im Falle von Clustern aus Nanopartikeln gibt es diverse Tunnelbarrieren, gleichsam viele mögliche Strompfade in Reihen- und Parallelschaltung.

3.3 Würfelförmige Magnetit-Partikel

3.3.1 Partikelsynthese

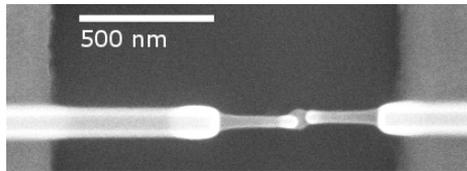
Die in diesem Unterkapitel vermessenen würfelförmigen NP wurden durch Thermolyse von Eisen(III)hydroxidoxid ($\text{FeO}(\text{OH})$) in 1-Octadecen in Anwesenheit von Ölsäure bei 320 °C hergestellt. Durch die im Vergleich zu Kapitel 3.4 längere Reaktionszeit bilden sich bereits während der Thermolyse Magnetit-NP in Würfelform von ca. 60 nm Durchmesser. Diese entwickeln sich langsam zu Hämatit weiter, wodurch auch Mischphasen enthalten sein können.

3.3.2 Elektrische Widerstandsmessungen

Im Folgenden werden einzelne Ergebnisse der I-U-Messungen beispielhaft präsentiert. Eine Zusammenfassung wird tabellarisch aufgeführt, die dazugehörigen (nicht vorher aufgeführten) Messungen sind dem Anhang zu entnehmen.

Um eine Referenz zu den aufgenommenen I-U-Kennlinien der NP zu erhalten, werden mehrere reine Pt-Brücken untersucht. Die Parameter der Deposition dafür sind die gleichen. Dies ermöglicht eine Abschätzung zum Systemwiderstand ohne den internen und den Kontakt-Widerstand des NP. Die Messungen ergeben einen elektrischen Widerstand im niedrigen $G\Omega$ -Bereich, im Mittel $3,77 G\Omega$.

Ein Beispiel einer erfolgten Kontaktierung ist in Abbildung 3.3 zu sehen. Wie in Kapitel 3.2 beschrieben, werden zwei Linien im direkten Kontakt zum NP deponiert, bevor jeweils ein



Rechteck höherer Breite und Dicke diese mit den Leiterbahnen links und rechts verbindet. In Abb. 3.4 (S. 44) ist eine der I-U-Messungen mit dem dazugehörigen Brinkmann-Fit dargestellt. Q14 steht dabei für die Nummerierung der einzelnen Kammstrukturen mit Kontaktpads (Q für Quadrant). Die nicht-lineare Steigung entspringt dem Charakter des Tunnelns, wodurch sich in der differentiellen Leitfähigkeit eine Parabel ergibt, an der der Brinkmann-Fit angewandt werden kann.

Abbildung 3.3. Beispiel einer zweistufigen Kontaktierung eines NPs von ungefähr 80 nm Durchmesser. Die Helligkeit korreliert dabei mit der Dicke des Pts.

Neben der Barrierenhöhe $\bar{\phi}$, der Barrierendicke d , der Barrierenasymmetrie $\Delta\phi$ und dem Kor. R-Quadrat, welche sich alle aus dem Fit ergeben, wird auch der elektrische Widerstand $R_{\text{Ext.}}$ aufgeführt. Dieser wird aus dem Extremum, also dem Strom bei 2 V, nach $R = U/I$ abgeleitet. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tab. 3.1 (S. 44) zusammengetragen.

Es zeigt sich ein sehr differentes Bild in den Ergebnissen. Die Barrierendicke liegt im Mittel bei 1,00 nm, was den Literaturwerten zur Dicke der Ligandenschicht aus Ölsäure im annehmbaren Maße entspricht ($d = 1,17 \text{ nm}$ [3][25]). Die Barrierenhöhe und -asymmetrie hingegen unterliegen nennenswerten Schwankungen. Die sich ergebenden Parameter aus dem Brinkmann-Fit gehen auf die Form und den Verlauf des Graphens ein, sollten nichtsdestotrotz nicht komplett

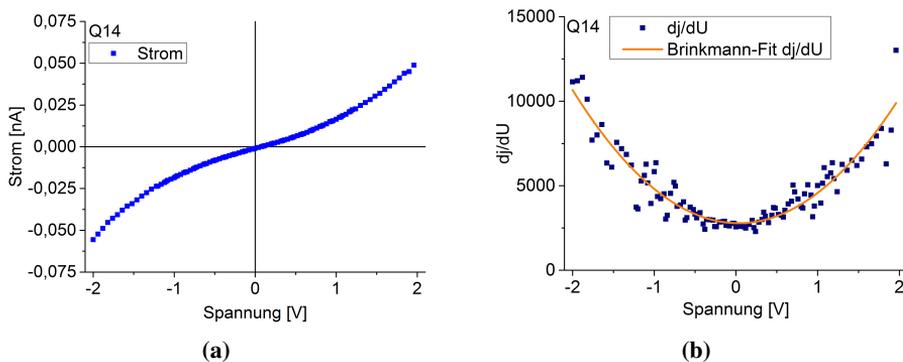


Abbildung 3.4. (a) zeigt eine Strom-Spannungs-Messung eines einzelnen Nanopartikels. Der Tunnelcharakter zeigt sich dabei in der nicht-konstanten Steigung. Dadurch weist die differentielle Leitfähigkeit (b) eine Parabelform auf, an der der Brinkmann-Fit ansetzt, wie in gelb eingezeichnet.

Quadrant	$\bar{\varphi}$ [eV]	d [nm]	$\Delta\varphi$ [eV]	$R_{\text{Extr.}}$ [G Ω]	Kor. R-Quadrat
Q3	5,27	1,04	-1,15	77	0,87
Q4	5,76	0,99	-0,90	66	0,21
Q8	7,04	0,868	-0,92	27	0,69
Q9	4,84	1,06	0,55	37	0,85
Q12	6,03	0,897	-1,28	93	0,70
Q14	5,11	1,03	-1,11	40	0,87
Q15	4,50	1,10	-2,48	46	0,52
Mittelwert	5,38	1,00	-1,04	49	
Standardabw.	0,79	0,08	0,82	24,3	

Tabelle 3.1. Ergebnisse der elektrischen Kontaktierung einzelner würfelförmiger Magnetit-NP.

gesondert vom elektrischen Widerstand betrachtet werden, da die Qualität beider Angaben Rückschlüsse auf die Aussagekraft getätigter Messungen zulässt.

Dass die Angaben für die Tunnelparameter mit Vorsicht zu betrachten sind, zeigt sich im korrigierten Bestimmtheitsmaß. Der höchste Wert liegt mit 0,87 im akzeptablen Maße an der 1, der niedrigste Wert mit 0,21 ist hingegen sehr niedrig.

Der ermittelte elektrische Widerstand befindet sich im mittleren bis hohen zweistelligen $G\Omega$ -Bereich mit einer großen Standardabweichung von 24,3 $G\Omega$. Es ist unklar, woher diese großen Schwankungen des Widerstandes zwischen den einzelnen Partikeln genau kommen, ob es probenbezogene Einflüsse sind, oder vielmehr Messartefakte, die sich aus dem Aufbau ergeben. Unter probenbedingten Einflüssen wäre z. B. die jeweilige Größe des Partikels oder die genaue Kontaktfläche des Pts zu verstehen. Diese können, von Partikel zu Partikel, in relevanter Weise variieren. Seitens des Messaufbaus ist von Beeinträchtigung der Signalaufnahme auszugehen, da die gemessene Größenordnung der Widerstände bei einem Innenwiderstand der Messbox von lediglich einem $G\Omega$ deutlich zu hoch ist. Durch Leckströme des eingebauten Operationsverstärker kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, welches systembedingte und welches probenbedingte Ströme sind.

In Anbetracht dieser Überlegungen sind die generierten Ergebnisse mit genügend Skepsis zu betrachten, was ihre Aussagekraft über die real Eigenschaften der Nanopartikel angeht. Ein alternativer Messaufbau oder eine Anpassung des vorhandenen sind in Betracht zu ziehen, worauf im Ausblick dieses Kapitels eingegangen wird.

3.4 Sternförmige Magnetit-Partikel

3.4.1 Partikelsynthese

Die Synthese der in diesem Unterkapitel verwendeten NP ist die gleiche, wie die der würfelförmigen in Kapitel 3.3.1, bis auf die kürzere Reaktionszeit. Es entstehen Eisenoxidpartikel in Sternform (siehe Abb. 3.5) mit einem Durchmesser von ca. 80 nm. Die Kristallstruktur ist die des Wüstit (FeO), welche als metastabil anzusehen ist. Durch weitere Oxidation kann sich im Laufe der Zeit Magnetit (Fe_3O_4) oder Hämatit (Fe_2O_3) herausbilden.

Das Wüstit ist ein Antiferromagnet⁴, Magnetit hingegen ein Ferrimagnet⁵. Bei Nanopartikeln aus Wüstit führt eine Oxidation über Zeit dazu, dass sich ein Core-Shell-Partikel mit dem antiferromagnetischen Kern FeO und einer Hülle aus dem ferrimagnetischen Fe₃O₄ bildet [26].

3.4.2 TEM-Auswertung

Aufgrund des metastabilen Zustands des Wüstits ist es von Interesse zu überprüfen, in welchem Zustand sich die sternförmigen NP befinden und ob dieser einheitlich für das ganze Partikel ist. Dazu werden TEM-Aufnahmen einzelner Partikel gemacht, anhand derer versucht wird mittels Fast-Fourier-Transformation (FFT) Rückschlüsse auf die vorliegende Kristallstruktur zu ziehen.

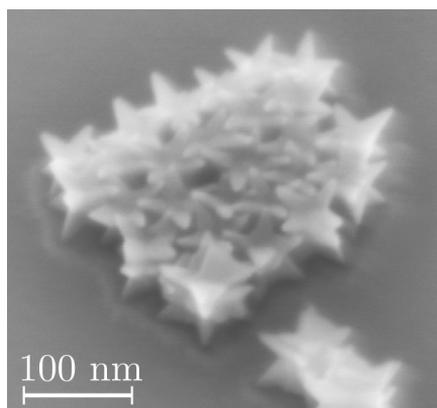


Abbildung 3.5. Ein kleiner, einlagiger Cluster der synthetisierten sternförmigen Nanopartikel.

Eine FFT dient der Ermittlung einer vorliegenden Periodizität eines Signals und dessen Darstellung im k-Raum. Der k-Raum ist der reziproke Raum eines Kristallgitters. Seine Vektoren stehen senkrecht zu den Netzebenen des Kristalls und haben als das Reziproke des Netzebenenabstandes die Dimension einer inversen Länge. Dieses Prinzip ist zweidimensional auf Bilder anwendbar, wie am vorliegenden Beispiel atomarer Auflösung mit genügend Kontrast. Anhand des aufgeführten TEM-Bildes (Abb. 3.6, S. 47) eines Sternpartikels wird versucht die Periodizität des Kristallgitters zu ermitteln. Mit Hilfe der frei verfügbaren Auswertungs-Software Gwyddion wird eine 2D-FFT auf zwei Teilbereiche des Sternpartikels angewandt.

Diese Bereiche (Detail 1 & Detail 2 in Abb. 3.7, S. 49) durchlaufen eine FFT-Filterung, für die in einer entsprechenden Maske die stärksten Signale ausgewählt

⁴Bei einem Antiferromagneten kompensieren sich die magnetischen Momente innerhalb des Kristalls, sodass seine Gesamtmagnetisierung gleich 0 ist. Im einfachsten Fall liegen sich die Spins der Weißschen Bezirke genau antiparallel gegenüber.

⁵Ferrimagnetismus ist eine schwächere Form des Ferromagnetismus. Die Weißschen Bezirke liegen sich wie beim Antiferromagneten antiparallel zueinander, jedoch überwiegt das magnetische Moment einer Richtung, wodurch es letztlich zu einer Magnetisierung kommt.

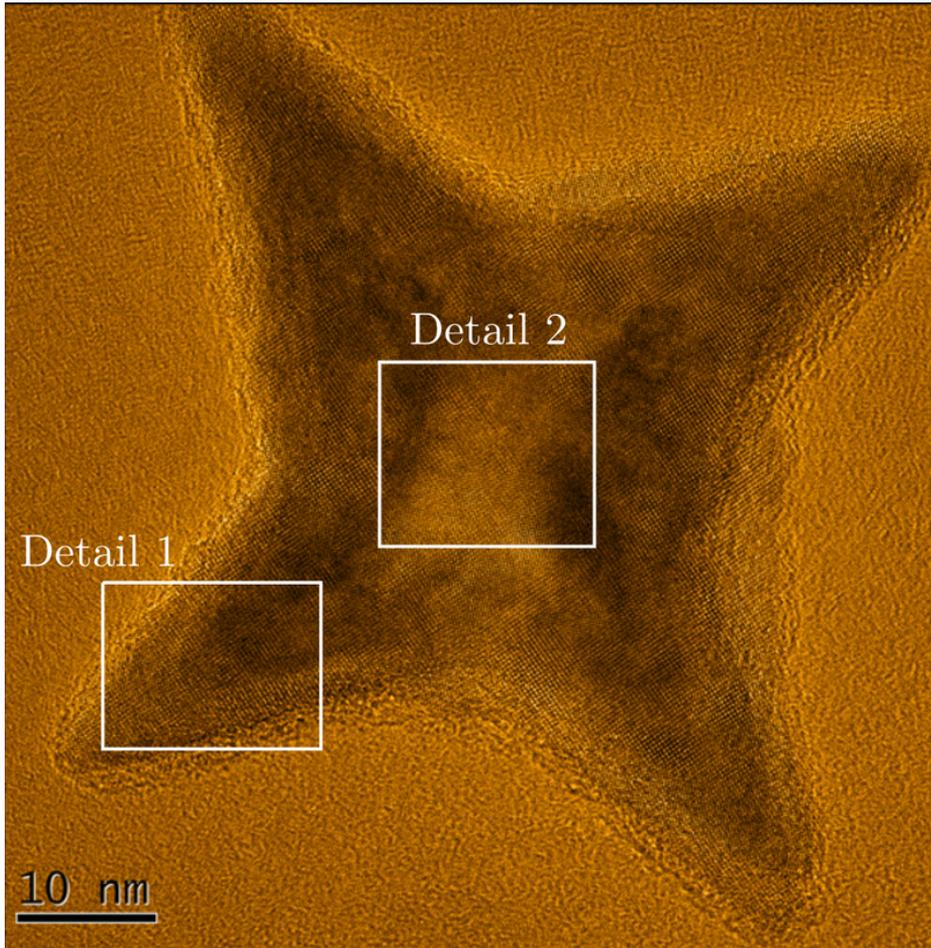


Abbildung 3.6. TEM-Aufnahme eines einzelnen Stern-Partikels. Markiert sind die Detailvergrößerungen der Abb. 3.7. Gut erkennbar ist der strukturlose äußerste Rand des Partikels, welcher der Hülle aus Liganden zugeordnet werden kann.

werden. Das Resultat, ein Bild mit den lediglich stärksten Periodizitäten, ist in zweiter Reihe gezeigt. Auf dem linken Bild ist gut erkennbar, wie die klaren Strukturen der Bildmitte oben links und unten rechts unscharf werden, da an den dortigen Stellen im Originalbild der Rand des Partikels ist, somit keine klare Kristallstruktur vorliegt, die zur FFT-Filterung beitragen könnte. In dritter Reihe aufgeführt ist der Realteil der FFT-Filterung. Ohne eine Zonenachsenrichtung lassen sich ad hoc anhand dieser Bilder keine näheren Aussagen über die konkrete Kristallgitterstruktur tätigen, jedoch können die nächsten Abstände zum Mittelpunkt als Indiz fungieren. Die kleinsten Abstände im k -Raum entsprechend dabei den größten einer periodischen Struktur im Originalbild und ggf. sind die so ermittelten Abstände charakteristisch für eine spezifische Form des Eisenoxids.

Es ergibt sich ein maximaler Gitterebenenabstand von ungefähr $3,1 - 3,3 \text{ \AA}$ für die Spitze, $2,9 - 3,0 \text{ \AA}$ für das Zentrum. Der Unterschied zwischen den Bereichen fällt eher gering aus. Die nächstkleineren Abstände sind mit $2,11/2,74 \text{ \AA}$ für die Spitze und $2,19/2,44 \text{ \AA}$ für das Zentrum ebenfalls eher graduell abweichend voneinander. Ausgehend von der Datenbank des *Materials Project* [27], welche computergestützt die theoretischen Eigenschaften von Materialien errechnet, finden sich mehrere Varianten sowohl des Wüstits (FeO), des Magnetits (Fe_3O_4) als auch des Hämatits (Fe_2O_3), die über einen Gitterparameter im Bereich von 3 \AA verfügen.

Mit den vorliegenden Messungen ist es folglich nicht möglich nähere Aussagen über die genaue Zusammensetzung der Sternpartikel zu machen. Andere Analyseverfahren, auf die im Ausblick des Kapitels eingegangen wird, können indes weitere Erkenntnisse generieren.

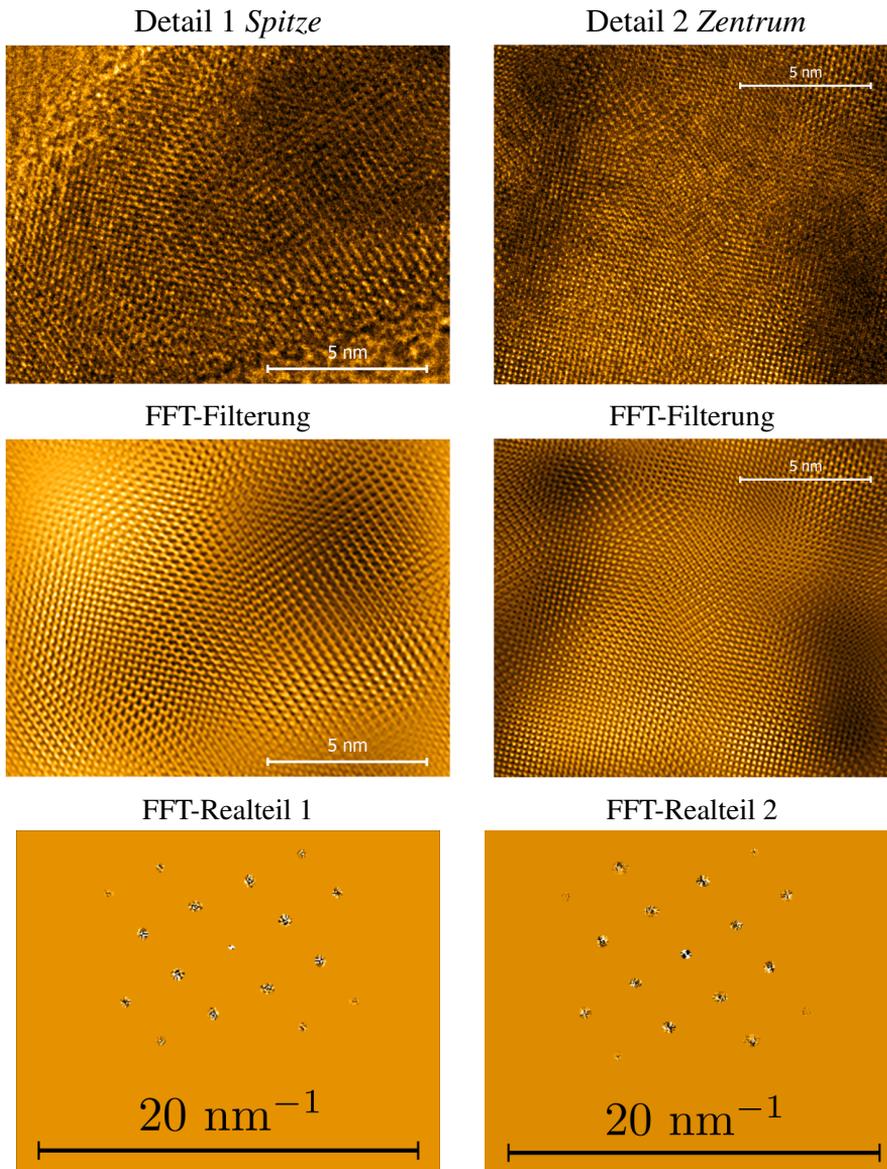


Abbildung 3.7. Die zwei Spalten geben jeweils von oben nach unten die Detail-Vergrößerung aus Abb. 3.6 wieder, die Filterung nach der FFT, sowie den Realteil des FFT-Filters.

3.5 Kryo-Erweiterung und Anwendungsmöglichkeiten

Grundsätzlich lassen sich Metalle und Legierungen leicht mittels Ionenstrahl ätzen. Es gibt Unterschiede in der Härte der Materialien gegenüber dem Ätzen, welche sich in der benötigten Zeit für ein bestimmtes zu entfernendes Volumen widerspiegeln, aber der Prozess ist der gleiche. Im vorangegangenen Kapitel wurden bereits die Schwierigkeiten bei Proben leichter, bindungsschwacher Elemente, wie Kohlenstoff, erläutert.

Im Zuge einer Kooperation mit Thomas Rempel (AG Hütten) war es notwendig zur ungefähren Verteilung von Nanopartikeln in einem nicht näher zu beschreibenden Schmierstoff auf Polymer-Basis mehrere Crosssections zu machen. Trotz der in Kapitel 2.1.6 beschriebenen Anpassungen war es bei diesem Stoff nicht möglich, effektiv in die Tiefe zu ätzen. Stattdessen zeigte sich eine verformte und geschmolzene Oberfläche als Resultat (siehe Abb. 3.8a, S. 50). Es wurde, wenn überhaupt, nur wenig Material entfernt und ebenso wirkt es, als ob abgetragenes Material sich über Redeposition⁶ am gegenüberliegenden Ende wieder ansammelt.

⁶Das ungewollte erneute Anlagern von herausgeschlagenen Atomen wird Redeposition genannt.

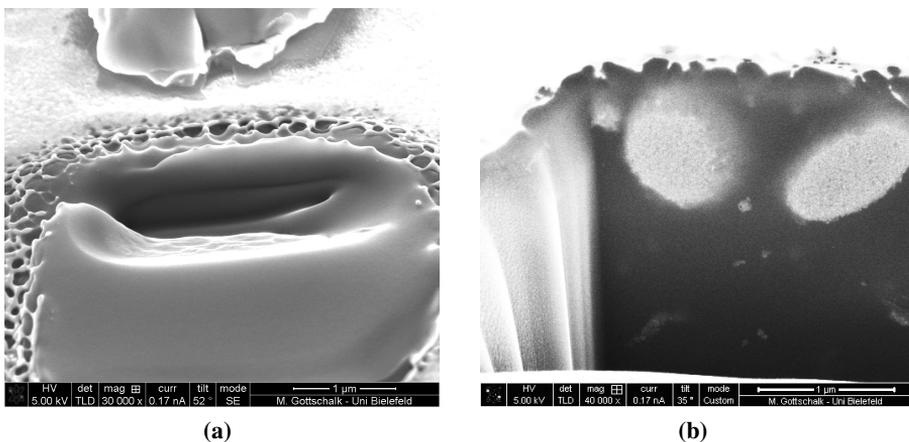


Abbildung 3.8. (a) Ein polymerbasierter Schmierstoff erlaubt bei Raumtemperatur keine klare Crosssection. Die Beobachtungen während des Ätzens zeigten Schmelzen und „Kochen“ mit Blasenbildung und -platzen. Mit Hilfe der Kryo-Erweiterung ist die Erstellung einer scharfen Crosssection erfolgreich (b) und eine Analyse der Partikelverteilung wird möglich.

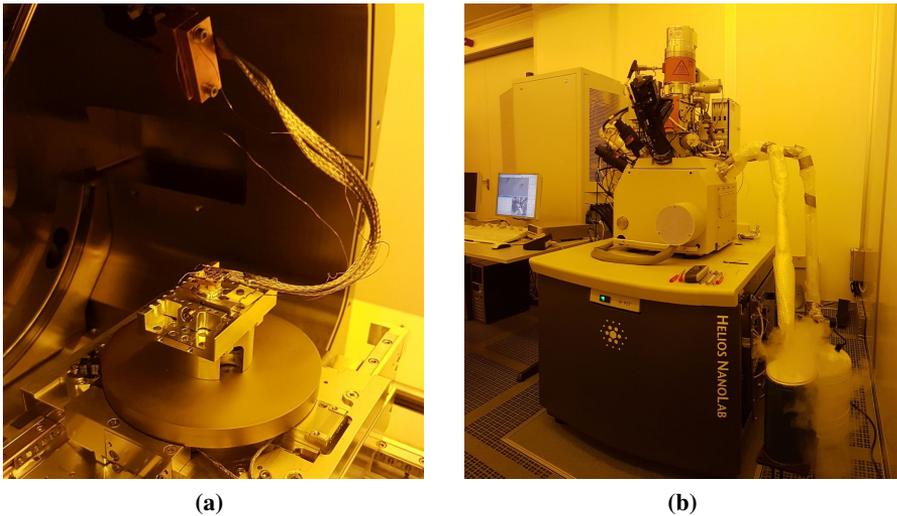


Abbildung 3.9. (a) Innenansicht des Kryo-Umbaus. Eine Litze ist zwischen zwei über Rohre mit flüssigem Stickstoff gekühlte Kupferblöcke geklemmt und verbindet sich mit dem Kupferblock des eigens angefertigten Probenhalters. (b) Außenansicht der Stickstoffzuführung mittels unter Druck stehenden Dewar im Betrieb.

Abhilfe schaffen soll das Herunterkühlen der Proben in den Bereich um die 250 K, sodass trotz lokaler Erwärmung des Ionenstrahls das zu entfernende Materialvolumen im festen Zustand verbleibt. Ein erweiterndes Bauelement wurde für die FIB angefertigt, welches mit flüssigem Stickstoff in der Lage ist die benötigte Abkühlung zu gewährleisten. Dazu wird flüssiger Stickstoff aus einem Druckbehälter (Dewar) durch ein Rohr geleitet, welches durch einen Flansch in die Hauptkammer zu zwei Kupferblöcken und anschließend wieder hinaus führt (Außenansicht in Abb. 3.9b). Zwischen den beiden in der Kammer befindlichen Kupferblöcken ist eine Litze aus Aluminium eingeklemmt, welche zu einem kleinen Kupferblock, auf dem die Probe mit Leitsilber geklebt wird, führt (Abb. 3.9a).

Dieser Probenkupferblock befindet sich auf vier thermisch isolierenden Keramikelementen, welche ihrerseits auf einem Standardprobenhalter befestigt sind. Die Ermittlung der Temperatur erfolgt über ein an der Probe befestigtes Thermocouple, dessen Leiter ebenfalls über eine elektrische Durchführung nach außen zu einem Messgerät führen. Einerseits müssen Litze und Thermocouple von ihrer Länge her ein gewisses Spiel haben, da zur Probenmontage die komplette Stage

mit der Hauptschleuse aufgezogen wird. Andererseits wird die Stage zum Ätzen der Crosssection in Richtung der großen Kupferblöcke gekippt und die Litze dadurch gestaucht, wobei es zu keinem (thermischen) Kontakt mit einem anderen Element der Stage oder Kammer kommen darf.

Die in 3.9a (S. 51) dargestellte Montage ist die einzige funktionierende Anordnung, andere Arten der Ausrichtung und Befestigung führen zu thermischen Kurzschlüssen. Ein über eine Schraube festgeklemmtes Plastikplättchen ist mit dem Thermocouple umwickelt ebenfalls in der Stage befestigt, um während Bewegungen die mechanischen Spannungen auf dem Endstück zu minimieren und ein Abreißen zu verhindern. Abbildung 3.10 zeigt den zeitlichen Verlauf der Kühlung.

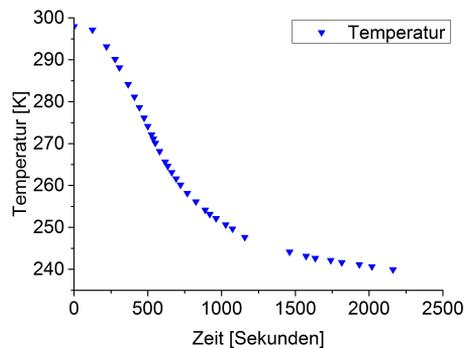


Abbildung 3.10. Der protokollierte Temperaturverlauf während der Kühlung durch flüssigen Stickstoff. Messpunkt ist der Probenkupferblock.

Es wurden minimale Temperaturen von -37 °C erreicht, die ein erfolgreiches Ätzen in den Schmierstoff ermöglicht haben (Abb. 3.8b, S. 50). Die Zeit im Temperaturbereich unterhalb von -20 °C betrug ungefähr 60 Minuten. Während der aktiven Kühlung sind hochaufgelöste Aufnahmen im Immersionsmodus nicht realisierbar, da der konstante Stickstofffluss zu Vibrationen der FIB führt. Die Standardauflösung ist zu gering und deshalb hiervon nicht betroffen.

3.5.1 Anwendungsmöglichkeiten

Diese neue Technik erweitert das Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten. Die Präparation von Proben, die sich bei Raumtemperatur aufgrund lokaler Erhitzung durch den Ionenstrahl unzureichend ätzen lassen, wird dadurch erschlossen. Ein größerer Dewar, welcher über einen längeren Zeitraum den Aufbau mit flüssigem Stickstoff versorgen kann, ermöglicht zudem zeitaufwendige Methoden wie das

Slice and View⁷ zur 3D-Rekonstruktion von Crosssections, welche bis zu einem Tag dauern können.

Eine TEM-Lamelle auf diese Art herzustellen ist als unrealistisch einzustufen, da das Omniprobe zu ihrem Herauslösen aus der Oberfläche auch thermischen Kontakt herstellen würde und je nach Material das eine weitere Bearbeitung verhindert. Denkbar wäre jedoch im Falle von hinreichend kleinen biologischen Proben ($\leq 20 \mu\text{m}$) beispielsweise eine im gekühlten Zustand aufgebrachte Platinschicht, welche sich als stabilisierende Matrix um die Zelle legt. Nach dem finalen Polieren, welches noch mit der an der Probe befestigten Lamelle geschehen müsste, kann die Lamelle herausgehoben und auf einem entsprechenden Lamellenhalter für das TEM befestigt werden.

3.6 Fazit

Die Kontaktierung einzelner Nanopartikel mit einem Durchmesser von 60 nm ist mittels Gasdeposition in der FIB gelungen. Der Vorgang der Kontaktierung musste dabei im Vergleich zu [3] den kleineren Dimensionen angepasst werden, da der strahlinduzierte Einfluss auf kleinere Partikel relativ gesehen zunimmt. Für die Positionierung der Depositionsstruktur ist eine gewisse Vergrößerung vonnöten, durch die die Kohlenstoffablagerungen während des Scannens sichtbar zunehmen. Es muss eine Linie gewählt werden, um der geringen Größe der Partikel gerecht zu werden und keine Überlappung der Pt-Bahnen zu riskieren. Nichtsdestotrotz lässt sich eine Grenze der Kontaktierung einzelner Partikel auf diesem Weg bei Durchmessern von ungefähr 50 nm feststellen. Bei noch kleineren Partikeln ist es nicht realisierbar genügend Pt für einen elektrischen Kontakt zu deponieren und zeitgleich zu gewährleisten, dass das Pt der beiden Bahnen sich nicht auf dem Partikel vereint.

Die elektrischen Widerstandsmessungen der einzelnen Partikel ergibt mittels Brinkmann-Fit eine Barrierendicke der Ligandenschicht von 1,00 nm im Mittel, was ca. 15 % von den Literaturwerten abweicht. In Anbetracht der nominellen Abweichung von 0,17 nm, welche im Bereich eines einzelnen Atomradius liegt, erscheint dieses Ergebnis relativ gut. Die sich ebenfalls aus dem Fit ergebenden

⁷Beim Slice and View wird eine definierbare Menge an Material einer Crosssection in vielen dünnen Scheiben abgetragen und in Intervallen ein Bild mittels Elektronenstrahl erzeugt. Die Dicke der Scheiben von typischerweise weniger als 10 nm geben die Tiefenauflösung vor.

Werte für die Barrierenhöhe und -asymmetrie weisen große Differenzen untereinander auf, ebenso wie der berechnete elektrische Widerstand im Extremum. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß verdeutlicht mit seinen breit gefächerten Werten zwischen 0,21 und 0,87 die Schwierigkeit der Fit-Anpassung und der daraus resultierenden Aussagekraft der Ergebnisse. Die Größenordnung des Widerstandes macht die Notwendigkeit einer alternativen Messtechnik deutlich, da der benutzte Aufbau für Messungen derart hoher Widerstände nicht ausgelegt ist.

Ferner konnten sternförmige Eisenoxid-Partikel in ersten Schritten im TEM untersucht werden. Eine FFT-Filterung wurde an hochaufgelösten Bildern durchgeführt und ausgewertet. Der größte ermittelte Gitterparameter beträgt ungefähr 3 \AA und kann für mehrere Eisenoxidvarianten stehen. Für eine Eingrenzung, um welche Phase es sich handelt, fehlen weitere Informationen wie die Zonenachsenrichtung oder die Oxidationsstufe des Eisens.

Um Aussagen zu der Verteilung von NP in kohlenstoffbasierten Matrices machen zu können, wurde die FIB um ein Kryo-Bauelement erweitert, mit dem eine Probe auf bis zu 240 K abgekühlt werden kann. Das schlechte Ätzverhalten leichter Elemente kann dadurch verbessert werden, wodurch ein effektives Erstellen einer Crosssection zur qualitativen Ermittlung der Partikelverteilung in solchen Gelen realisierbar wird.

3.7 Ausblick

Es zeigt sich, dass die Charakterisierung und Vermessung von Nanopartikeln auf mehreren Ebenen besondere Herausforderungen darstellen. Wegen ihrer nanoskopischen Größe müssen Analyseverfahren gewählt werden, die ihnen zum Bulk unterschiedlichen Eigenschaften gerecht werden.

In Bezug auf die elektrischen Widerstandsmessungen sollen in Zukunft weitere Anpassungen vorgenommen werden. Eine Möglichkeit stellt ein Lock-In-Verstärker dar, welcher zur Unterdrückung des Signalrauschens ein Sinus-Signal einspeist, auf dem die eigentliche Messung stattfindet. Bei der Auswertung des Gesamtsignals wird lediglich innerhalb eines Toleranzbereiches des Sinus aufgenommen, wodurch ein Rauschen außerhalb dieses Bereiches wegfällt und das eigentlich zu messende Signal trotz seiner relativ schwachen Stärke besser aufgenommen werden kann. Eine andere Option ist eine Art Elektrometerver-

stärkerbox, die in der Lage ist das schwache Signal in den nanopartikularen Systemen zuverlässig aufzunehmen.

Bei den sternförmigen Partikeln gilt es mit Hilfe von Elektronenenergieverlustspektroskopie (engl.: electron energy loss spectroscopy, kurz: EELS) im TEM zu ermitteln, in welcher Oxidationsstufe sie vorliegen, da ihre magnetischen Eigenschaften abhängig davon stark variieren können. Bei diesem Verfahren wird ein monoenergetischer Elektronenstrahl durch die Probe geleitet und der Energieverlust gemessen, der aus der inelastischen Streuung an den Elektronen der Probenatome resultiert. Die Energieüberträge sind dabei u. a. durch die Bindungszustände vorgegeben, weshalb auf eben diese mit Hilfe des Energieverlustspektrums Rückschlüsse gezogen werden können.

Eine andere Analyseverfahren stellt die Lorentz-Mikroskopie im differentiellen Phasenkontrast dar, anhand derer mit besonderem Augenmerk auf die Spitzen die Magnetisierung der magnetischen Domänen untersucht werden können [28]. In Abb. 3.11 ist dieses Verfahren am Beispiel eines kleinen Clusters von Cobalt-Partikeln veranschaulicht. Farblich codiert, zusätzlich mit Pfeilen zur Anzeige, wohin die Magnetisierung zeigt, muss die Summe der Magnetisierung über einen Bereich immer gleich null sein. Am rechten Rand des Clusters zeigt sich die gegenseitige Beeinflussung der Magnetisierungen durch die große Domäne (grün-gelb).

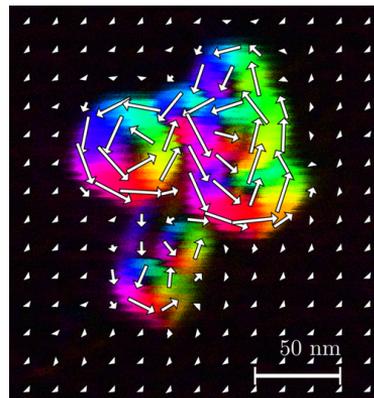


Abbildung 3.11. DPC-Messung von Cobalt-Partikeln, in der die Richtung der Magnetisierung der magnetischen Domänen farblich codiert illustriert ist.

Die Kryo-Erweiterung der FIB bietet neben der dargestellten Anwendung bei Crosssections von NP in Gelen zusätzliche alternative Nutzungen. Im größeren Kontext betrachtet erscheint es vielversprechend biologische Proben, welche normalerweise in ein Harz eingebettet werden müssen, auf diesem Wege effektiv zu ätzen und sie damit den Untersuchungen mittels Crosssection oder 3D-Rekonstruktionen von Slice and View zugänglich zu machen. Sowohl über einen größeren Dewar für eine längere Kühldauer, als auch über eine Anpassung des Messaufbaus für eine bessere thermische Leitung lässt sich die Effektivität zusätzlich steigern. Eine weitere Herangehensweise stellt die Benutzung von Peltier-Elementen dar, die voraussichtlich nicht derart

effizient wie der Aufbau mit flüssigem Stickstoff kühlen werden, dafür jedoch in der Lage sind die Proben ebenso zu heizen.

Herstellung von Heusler-Partikeln via Elektronenstrahlithografie

Das folgende Kapitel basiert auf einer Zusammenarbeit mit Marianne Haase. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt dabei auf der experimentellen Herstellung von Heusler-Nanopartikeln, weswegen diese en détail beschrieben wird; eine anschließende Analyse der hergestellten Strukturen jedoch nur kurz zusammengefasst erfolgt. Eine ausführliche Analyse findet sich in der Dissertation von Marianne Haase, „Martensitische Nanopartikel“[29].

Größenabhängige Effekte sind wichtig für das Verständnis und die Funktionalisierung von Materialien. Es ist bekannt, dass sich beim Übergang vom Bulk zu dünnen Schichten die Eigenschaften eines Heuslers stark verändern können [30]. Eine Motivation dieses Kapitels ist somit die Fragestellung, inwiefern eine Herunterskalierung der Dimensionen die Eigenschaften im Vergleich zu dünnen Schichten verändert. Die lithografische Herstellung von nanoskopischen Heusler-Partikeln soll als Grundlage für spätere Analysen dienen, die dieser Fragestellung auf den Grund gehen können.

Zur Herstellung von Nanopartikeln einer Heusler-Legierung gibt es mehrere Möglichkeiten, wie bspw. eine Gaskondensations-Sputterdeposition, Synthese mittels Precursoren in einem chemischen Ansatz oder mit Hilfe einer Kugelfräs-Technik [31][32]. Eine chemische Synthese funktioniert jedoch nur bei einigen Legierungssorten und ein mechanischer Ansatz durch die Kugelfräs-Technik führt durch den mechanischen Stress dabei zu Phasentransformationen [33–35].

Dieses Kapitel behandelt die Erarbeitung einer elektronenlithografisch basierten Herstellung von nanoskalaren Partikeln einer Heusler-Legierung. Der Vorteil einer solchen physikalischen Herstellungsmethode besteht darin, dass sie einerseits auf jede Legierung anwendbar ist, andererseits kein mechanischer Stress zur Ausbildung der Partikel auftritt. Beleuchtet wird dabei neben dem qualitativen Aspekt einer minimalen Strukturierungsgröße auch der quantitative Aspekt der herstellbaren Maße an Partikeln, die weitere, darauf folgende Anwendungen erlauben.

4.1 Die Heusler-Legierungen und ihre Eigenschaften

Heusler sind eine Klasse von Legierungen, die eine große Bandbreite an Eigenschaften, wie z. B. Ferri- und Ferromagnetismus, Halbleitung, Supraleitung oder Formgedächtniseffekte besitzen können, um nur einige zu nennen [36, 37]. Verschiedene Arten von Heuslern wurden im Laufe der Jahre gefunden, ausgehend von den sogenannten „vollständigen“ Heuslern, deren Stöchiometrie von der Form X_2YZ ist. Dass dem X und Y entsprechende Atom gehört dabei der Gruppe der Übergangsmetalle oder Lanthaniden an, das Z-Atom ist ein (Halb-)Metall aus einer der Hauptgruppen des Periodensystems (siehe Abb. 4.2, S. 59, nach [36]). Es existieren noch weitere Gruppen, wie bspw. die „Halb“-Heusler, deren Stöchiometrie XYZ entspricht.

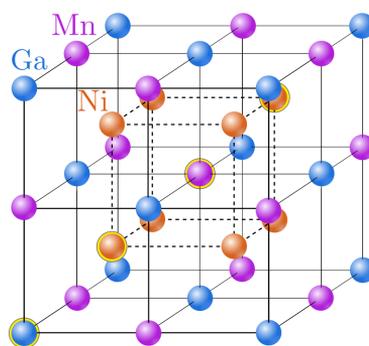


Abbildung 4.1. L_{21} -Struktur des Ni_2MnGa . Gelb umrandet sind die Eckpunkte der vier ineinander verschobenen fcc-Gitter bei $(0,0,0)$, $(\frac{1}{4}, \frac{1}{4}, \frac{1}{4})$, $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$ und $(\frac{3}{4}, \frac{3}{4}, \frac{3}{4})$.

Charakteristikum der vollständigen Heusler ist die L_{21} -Kristallstruktur. L_{21} bedeutet, dass vier flächenzentriert-kubische (engl.: face-centered cubic, kurz: fcc) Kristallgitter jeweils um $1/4$ der Raumdiagonalen ($[111]$) verschoben ineinander liegen. Die vier fcc-Gitter werden den drei unterschiedlichen Elementen zugeordnet. Das Nickel (Ni) ist doppelt so häufig vorhanden, wie jeweils das Mangan (Mn) und das Ga (siehe Abb. 4.1). Die beschriebene Zusammensetzung wird als stöchiometrisch bezeichnet; nicht-stöchiometrisch wären Legierungen, in denen ausgehend von X_2YZ das Verhältnis der Elemente untereinander nicht

X₂YZ Heusler compounds

H 2.20																	He				
Li 0.98	Be 1.57															B 2.04	C 2.55	N 3.04	O 3.44	F 3.98	Ne
Na 0.93	Mg 1.31															Al 1.61	Si 1.90	P 2.19	S 2.58	Cl 3.16	Ar
K 0.82	Ca 1.00	Sc 1.36	Ti 1.54	V 1.63	Cr 1.66	Mn 1.55	Fe 1.83	Co 1.88	Ni 1.91	Cu 1.90	Zn 1.65	Ga 1.81	Ge 2.01	As 2.18	Se 2.55	Br 2.96	Kr 3.00				
Rb 0.82	Sr 0.95	Y 1.22	Zr 1.33	Nb 1.60	Mo 2.16	Tc 1.90	Ru 2.20	Rh 2.28	Pd 2.20	Ag 1.93	Cd 1.69	In 1.78	Sn 1.96	Sb 2.05	Te 2.10	I 2.66	Xe 2.60				
Cs 0.79	Ba 0.89	Hf 1.30		Ta 1.50	W 1.70	Re 1.90	Os 2.20	Ir 2.20	Pt 2.20	Au 2.40	Hg 1.90	Tl 1.80	Pb 1.80	Bi 1.90	Po 2.00	At 2.20	Rn				
Fr 0.70	Ra 0.90																				
		La 1.10	Ce 1.12	Pr 1.13	Nd 1.14	Pm 1.13	Sm 1.17	Eu 1.20	Gd 1.20	Tb 1.10	Dy 1.22	Ho 1.23	Er 1.24	Tm 1.25	Yb 1.10	Lu 1.27					
		Ac 1.10	Th 1.30	Pa 1.50	U 1.70	Np 1.30	Pu 1.28	Am 1.13	Cm 1.28	Bk 1.30	Cf 1.30	Es 1.30	Fm 1.30	Md 1.30	No 1.30	Lr 1.30					

Abbildung 4.2. Illustration, welche Elemente für die jeweiligen Komponenten des X₂YZ-Heuslers in Frage kommen.[36]

2 : 1 : 1 ist, sondern bspw. 2 : 1 - x : 1 + x ist. Diese nicht-stöchiometrischen Heusler-Legierungen können ebenfalls die L₂₁-Struktur aufweisen, zeigen indes differierende physikalische Eigenschaften.

Die hier benutzte Legierung ist der ferromagnetische Heusler Ni₂Mn_{1+x}Ga_{1-x}. Ni₂MnGa gehört zu der Gruppe Heusler, welche eine Transformation der Kristallstruktur vorweisen. Eine solche Transformation wird martensitische Umwandlung genannt, bei der sich durch Belastung oder Temperatur ein Phasenübergang der Kristallstruktur zeigt. Bei diesem fest-zu-fest Phasenübergang ändert sich die Kristallgitterstruktur diffusionslos und in erster Ordnung, was eine abrupte Veränderung der Gitterparameter bedeutet. Es kommt durch die Transformation zu einer Verschiebung der Atome, wodurch die eine Phase die verzerrte Form der anderen darstellt. Eine kubische Struktur wird so z. B. zu einer tetragonalen oder orthorhombischen. Die Hochtemperaturphase, welche die höhere Symmetrie aufweist, wird Austenit genannt; die Niedertemperaturphase mit geringerer Symmetrie Martensit.

Ist die martensitische Umwandlung reversibel, wird von Formgedächtnislegierungen gesprochen, was beim Ni₂MnGa [38][39] ebenso zutrifft. Die meisten von ihnen sind nicht-magnetisch, Heusler mit Mn hingegen sind ferromagnetisch und lassen sich neben der Belastung oder Temperatur obendrein durch ein Magnetfeld transformieren, sofern Austenit und Martensit verschiedene Magnetisierungen

haben [40]. Ni_2MnGa zeigt eben einen solchen magnetischen Formgedächtniseffekt [41] mit magnetfeldinduzierten Formänderungen von bis zu 10 % [42][43]. In Simulationen zum Ni_2MnGa konnte beleuchtet werden, dass beim Übergang vom Bulk-Einkristall zum Nanopartikel die demagnetisierende Vortex-Felder in den Partikeln sowohl die magnetischen Domänen als auch die Reaktion auf Belastung beeinflussen können [44].

4.2 Herstellung mittels Elektronenstrahlolithografie

4.2.1 Das Konzept der Herstellung

Die Idee dieses Kapitels ist es mittels eines *top-down* Ansatzes Nanopartikel der Heusler-Legierung aus einer 60 nm dünnen Schicht herzustellen. *Top-down* bedeutet, dass aus makro- oder mikroskopischen Größenordnungen nanoskopische Strukturen erzeugt werden. Das Gegenteil, *bottom-up*, wäre bspw. eine chemische Synthese von Nanopartikeln, welche aus einzelnen Atomen/Molekülen erwachsen. Im Gegensatz zur Strukturierung in Kapitel 5, in dem Löcher in Positivlack strukturiert und anschließend geätzt wurden, wird hierbei Negativlack benutzt, um Säulen herzustellen und die Umgebung mittels Ar^+ -Ätzens zu entfernen. So werden aus der 60 nm dicken Heusler-Schicht mit makroskopischer Ausdehnung in x- und y-Richtung einzelne Partikel mit weniger als 1 μm Ausdehnung in x und y.

Die verwendeten $\text{Ni}_2\text{Mn}_x\text{Ga}_{2-x}$ -Schichten wurden von Niclas Teichert in einer Sputteranlage der Firma BESTEC hergestellt. Die Deposition fand bei 500 °C mittels Co-Sputtern (zeitgleiches Sputtern mehrere Quellen) eines Ni-Mn-Ga-Legierungstargets, und jeweils eines elementaren Ni- und Mn-Targets statt. Der Druck während des Prozesses lag bei $2,3 \times 10^{-3}$ mbar; die Sputterrate betrug 0,22 nm/s. Die Schichtdicke des Heuslers betrug 60 nm, was mittels Röntgenre-

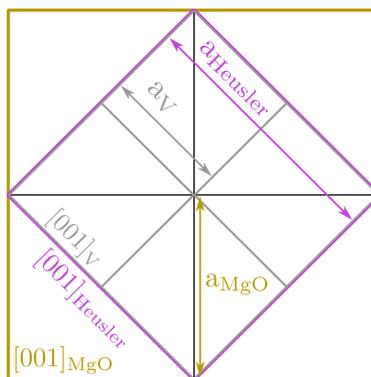


Abbildung 4.3. Skizze des Verhältnisses der Gitterkonstanten von MgO , V , und Ni_2MnGa und der daraus resultierenden epitaktischen Wachstumsrichtung. Die Gitterkonstante des Heuslers beträgt a_{NiMnGa} ($5,83 \text{ \AA}$) $\approx 2 \cdot a_V$ ($3,03 \text{ \AA}$).

flektometrie bestätigt wurde. Als Substrat wurde MgO mit (001)-Orientierung gewählt, auf das 30 nm Vanadium (V) als Buffer-Layer deponiert wurden. Vanadium wächst epitaktisch in [001]-Richtung auf dem MgO, worauf viele Heusler ihrerseits epitaktisch aufgrund des geringen Gitterfehlers aufwachsen. Die Gitterkonstante des Vanadium in [011]-Richtung passt einerseits gut zum MgO in [001] mit $\sqrt{2}a_V = \sqrt{2} \cdot 3,03\text{\AA} \approx a_{\text{MgO}} = 4,212\text{\AA}$ und andererseits in [001]-Richtung zum Heusler $2 \times a_V \approx a_{\text{NiMnGa}} = 5,83\text{\AA}$ [45][46] (siehe Abb. 4.3, S. 60). Der gesamte Prozess und der genaue Schichtaufbau sind in Abb. 4.4 (S. 62) illustriert.

Die Basis der Belichtung des Negativlacks ist eine Punktbelichtung, wobei der Punktabstand versucht wird so minimal wie möglich gehalten zu werden, um die Ausbeute an entstehenden Nanopartikeln zu maximieren. Durch die Entwicklung sollten sich alleinstehende Säulen ergeben, welche als Schutz im nachfolgenden Ar^+ -Ätzen dienen. Die massenspektografische Beobachtung des Ätzens ermöglicht die gezielte Beendigung des Prozesses, sobald das aufgenommene Signal der Heusler-Elemente absinkt. Im gleichen Zuge sollte das Signal des darunter liegenden Vanadiums stark zunehmen. Die Außenseiten der Säulen stellen zu diesem Zeitpunkt einen Querschnitt durch das Schichtsystem (Lack/Ta/Heusler/V) bis zum Vanadium herunter dar.

Anschließend kann durch Nassätzung mit dem kommerziell erhältlichen Ätzmittel *Chrome etch n° 1* der Firma Microchemichals GmbH die V-Schicht aufgelöst und die Partikel dadurch freigestellt werden [47]. Die ätzende Wirkung der Säure wird durch das Spülen bzw. Verdünnen mit Ethanol aufgehoben, sodass die Partikel in dieser Lösung vorliegen. Mit der Lösung ist es möglich die produzierten Partikel zu untersuchen, wie zum Beispiel in der FIB oder im TEM. Weitere Analysemethoden sind die Elektronenbeugung zur Bestimmung der Kristallstruktur oder das Vibrating Sample Magnetometer zur Bestimmung der magnetischen Momente einer Probe bei verschiedenen Temperaturen. Die Ergebnisse aus diesen Messungen sind jedoch nicht mehr Teil dieser Arbeit.

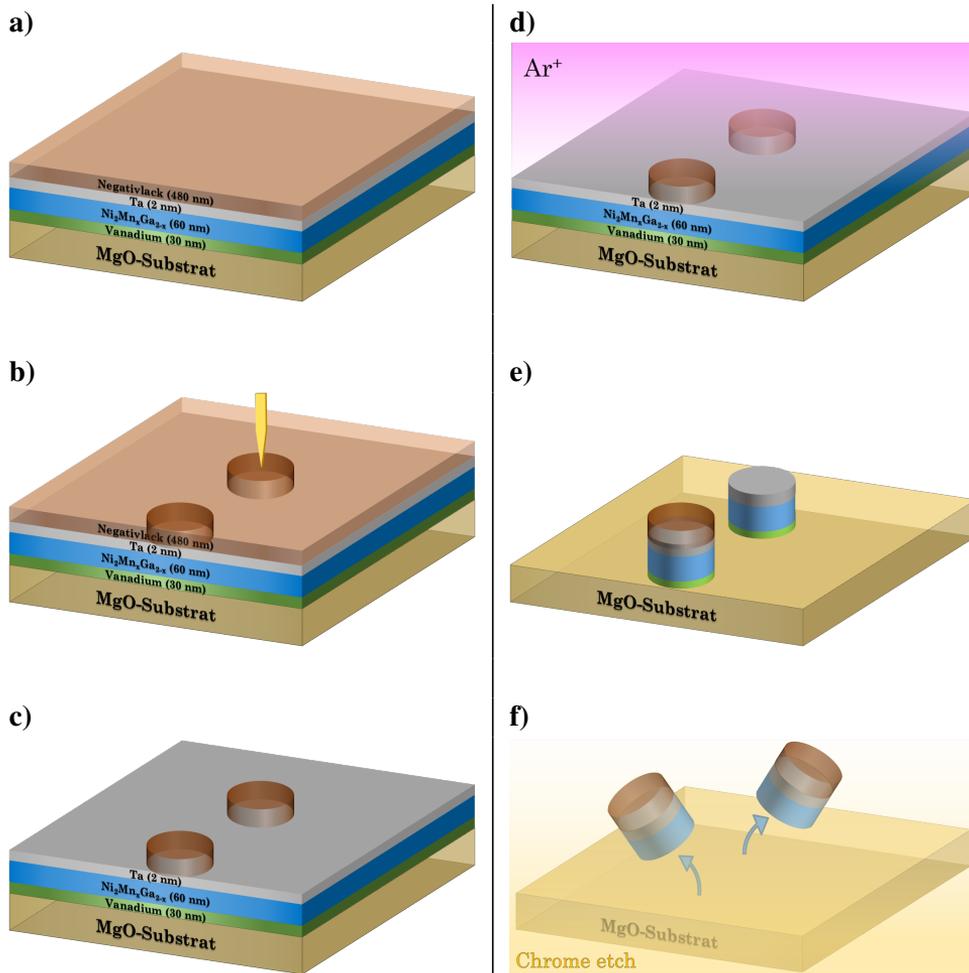


Abbildung 4.4. Die vorhandenen Heuslerschichten werden mit 2 nm Ta als Haftvermittler besputtert und anschließend mit Negativlack bedeckt (a). Im REM wird eine Punktbelichtung durchgeführt (b), sodass nach anschließender Entwicklung Säulen von Lack verbleiben (c). Mittels Ar^+ -Ionen wird die Probe so lange geätzt (d), bis das Signal der Heusler-Elemente verschwindet und das Vanadium-Signal als starker Peak verbleibt. Die so erhaltenen Türmchen aus V, Heusler, Ta und Lackresten (e) werden für die Loslösung vom Substrat in Chrome Etch chemisch geätzt (f).

4.2.2 Belichtung der Punktstruktur

Als Lack wird der Negativlack *AR-N 7520.18* gewählt, welcher durch Spincoating bei 5000 Umdrehungen pro Minute eine ungefähre Dicke von 480 nm hat. Die Temperung dauert 2 Min. bei 85 °C. Entwickelt wird der Lack nach der Belichtung im *AR-300.47* für 8 Minuten, bevor die Probe mit destilliertem Wasser gewaschen wird, um den Entwicklungsvorgang zu stoppen.

Die ersten Versuche der Belackung zeigen, dass der Negativlack ein mangelndes Haftungsvermögen auf den Proben vorweist und sich ablöst. Störende Einflüsse wie Verunreinigungen der Probe sind auszuschließen, da diese vorab jeweils für mehrere Minuten in Aceton und in Ethanol im Ultraschallbad (USB) gesäubert wurden. Das mangelnde Adhäsionsvermögen des Lacks wird als gegebene Eigenschaft hingenommen und Abhilfe geschaffen durch die Sputter-Deposition von 2 nm Ta auf das Schichtsystem, auf dem der Lack anschließend über genügend Haftung verfügt.

Im ersten Schritt der Dosistests wird versucht möglichst kleine Strukturen mit der Punktbelichtung zu erzeugen. Dazu wird die 30 μm Blende am REM ausgewählt, mit der ein Elektronenstrom von ungefähr 0,045 nA die Probe erreicht. Die Area Dose wird auf den Standardwert für diesen Lack von $330 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$ gesetzt [20]. Durchgeführt werden die Dosistests auf einem Si-Substrat, welches vor der Belackung mit wenigen nm Ta besputtert wurde, genau wie bei den späteren Heusler-Schichten der verbesserten Lackadhäsion wegen. In 0,1er Schritten wird der Dosisfaktor von $D = 0,1 - 1$ auf $(100 \times 100) \mu\text{m}^2$ Feldern getestet. Minimale Strukturen mit ≤ 100 nm Durchmesser werden mit einem Dosisfaktor von 0,7 hergestellt (siehe Abb. 4.5). Bei der Dicke der Heusler-Schichten von 60 nm könnte mit diesen Strukturen somit von flachen Säulen gesprochen werden. Jedoch ergibt die Aufskalierung einer solchen Punktbelichtung auf ein Probenstück von $2,5 \times 2,5 \text{ mm}^2$ eine Belichtungsdauer von mehreren Tagen. Ein

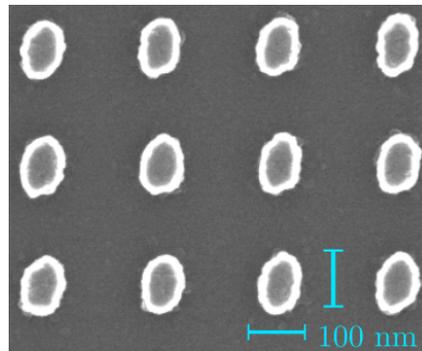


Abbildung 4.5. Dosistest für Negativlacksäulen, welche mit der 30 μm Blende ($\cong 0,045$ nA) belichtet wurden. Säulen mit ≤ 100 nm Durchmesser der Basis sind prinzipiell möglich.

solcher Zeitaufwand für die Strukturierung einer einzigen Probe ist jedoch nicht praktikabel.

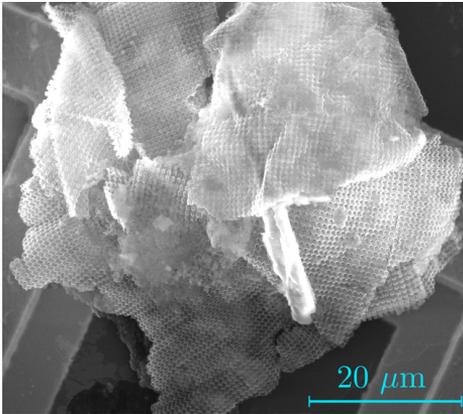


Abbildung 4.6. Bei zu geringem Punktabstand oder zu großer Dosis wird der Negativlack großflächig belichtet, da die periphere Belichtung die Lacksäulen miteinander verbindet. Nach dem Ar^+ -Ätzen und Freistellen ergibt sich eine Art genoppte Schicht. Inwiefern der Heusler in dieser Struktur noch vorhanden ist, ist unklar.

Des Weiteren zeigen die ersten Dosistests die Notwendigkeit einen Punktabstand von mindestens $1 \mu\text{m}$ einzustellen, damit die periphere Belichtung die Säulen der Partikel nicht miteinander verbindet. Ein solcher Fall ist in Abb. 4.6 dargestellt; durch einen zu geringen Punktabstand von 500 nm entsteht eine komplette Schicht, da die periphere, ungewollte Belichtung des Lacks durch den rasternden Elektronenstrahl bündig wird.

Die durch die ermittelten Parameter produzierten Säulen aus Lack haben einen ungefähren Durchmesser von $400 - 500 \text{ nm}$. Aufgrund dieser Dimensionen bei einer Dicke von 60 nm wäre die Form der entstehenden Partikel eher als Heusler-Scheibe zu bezeichnen.

Eine gewisse Varianz der erzeugten Säulen von Probe zu Probe ergibt sich durch den Stigmator des REMs. Die Strahlparameter, wie z. B. Astigmatismus, werden am Rand der Proben an kleinen Unreinheiten, die genügend Kontrast

Die nächstgrößere ($60 \mu\text{m}$ -)Blende mit höherem Strom und weniger kleinen Strukturierungsmöglichkeiten ist somit zu wählen. Der Strom beträgt zwischen $0,65 - 0,7 \text{ nA}$, bei dem die Belichtung für die gleiche Fläche „lediglich“ $8 - 10 \text{ h}$ dauert. Die Dosistests wird in gleicher Weise durchgeführt wie zuvor mit der $30 \mu\text{m}$ Blende, die Area Dose beträgt ebenfalls $330 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$. Hierbei ergibt sich auch das in Kapitel 2.2 erwähnte Beispiel, welches zu der Erkenntnis führt, dass ein Dosistest immer auf dem eigentlichen Schichtsystem durchgeführt werden sollte. Ist der ermittelte optimale Dosisfaktor $0,7$ bei Si als Substrat, so beträgt sie für eine Strukturierung auf dem Heusler nur $0,4$. Bei einer kleineren Dosis sind die Säulen nicht genügend belichtet, wodurch ein Teil von ihnen umgekippt auf der Seite liegt.

bieten, eingestellt, um eine störende Belichtung in der Mitte zu vermeiden. Durch die Oberflächenspannung während des Spincoatings ist der Lack jedoch zum Rand der Probe hin tendenziell dicker. Ein dort justierter Stigmator kann somit zur Mitte der Probe hin seine optimale Einstellung verlieren.

Ein zusätzlicher Faktor ist die Größe der Probe und die daraus erwachsende Dauer der Belichtung. Sowohl durch Höhendifferenzen der verschiedenen Bereiche der Probe (Rand/Mitte) als auch die konstante Benutzung des Elektronenstrahls über fast 10 h verändert sich die Belichtung graduell.

Weder die Form der Säulen, noch der Durchmesser sind am Rand und in der Mitte der Proben die gleichen.

Grundlegend kann trotz dessen von homogen erzeugten Säulen gesprochen werden, die kreisrund oder ansatzweise oval sind (siehe bspw. Abb. 4.7).

Nach der Entwicklung (siehe 4.2.1) können die Proben in der SIMS weiterbearbeitet werden.

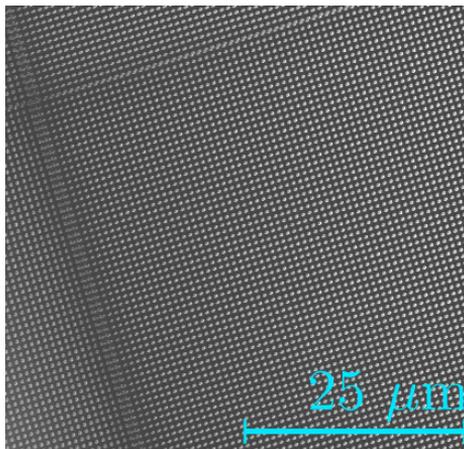


Abbildung 4.7. Übersichtsbild der bestmöglichen Struktur. Die Linien sind der Rand des Schreibfeldes, an dem die dortigen Säulen einen kleineren Abstand vorweisen.

4.2.3 SIMS-Ätzen der Säulen-Struktur

Der Strom, der auf den gesamten Probenhalter trifft, wird bei 270 - 300 μA konstant gehalten. Dadurch, dass der Strom auf dem gesamten Teller gemessen wird, ist die Stromdichte bei gleichbleibendem Strom unabhängig von der Größe der eigentlichen Probe konstant. Der Probenhalter wird um 10° verkippt und während des gesamten Prozesses rotiert. Dadurch soll die Bildung von schrägen Seitenrändern möglichst gering gehalten werden.

Verfolgt werden über das Massenspektrometer die Elemente Ni, Mn, Ga, V und Mg. Nach wenigen Minuten beginnen die Signale der Heusler-Elemente anzusteigen, um nach ungefähr 45 - 50 Minuten wieder abzusinken. Im gleichen Zug steigt das Signal des Vs an, was anzeigt, dass der unbelackte Heusler entfernt wurde. Erreicht das V-Signal sein Maximum, wird der Prozess beendet. Die

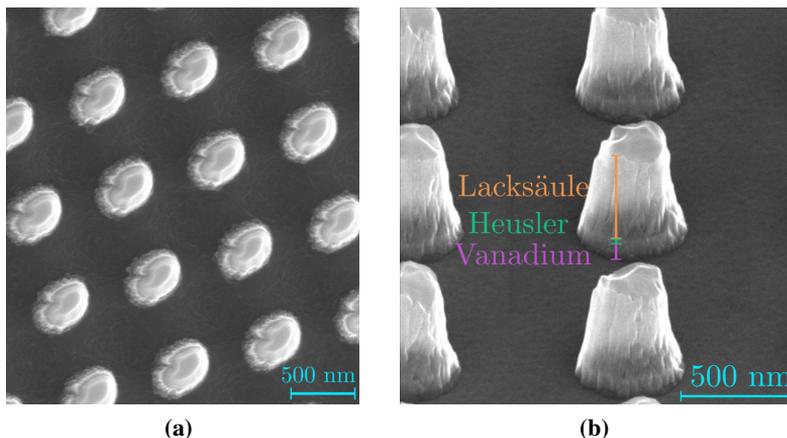


Abbildung 4.9. (a) Heruntergeätzte Heusler-Lack-Säulen von oben betrachtet. Charakteristische Merkmale, wie die Form oder die Kerbe an der linken Seite der Säulen sind homogen vorhanden und damit als Artefakt aus der Belichtung anzusehen. (b) Ansicht der Säulen unter einem Winkel. Als Positiv zu bewerten ist die nur leichte Schräge der Strukturen.

erzeugten Strukturen sind in Abbildung 4.9 zu sehen. Die runde bis leicht ovale Form wurde erfolgreich auf den darunter liegenden Heusler übertragen. Bei genauer Betrachtung lässt sich anhand des Kontrastes eine Schicht zwischen den Lack-Säulen und dem Substrat ausmachen, bei dem es sich vermutlich um den Heusler und das Vanadium handelt.

Eine Bestätigung dessen ergibt ein Linescan in der FIB an einer dieser Scheiben, deren Lacksäule sich abgelöst hat (siehe Abb. 4.8). Der Linescan als eine Variante des EDX erlaubt qualitative Aussagen über das Vorliegen selektierter Elemente. Für stöchiometrische Aussagen fehlt der zusätzliche Faktor der ZAF-Korrektur, der die elementspezifische Signalausbeute widerspiegelt. So ist die Konzentration des Mn trotz des ähnlich großen Signals nicht vergleichbar mit der des Ni.

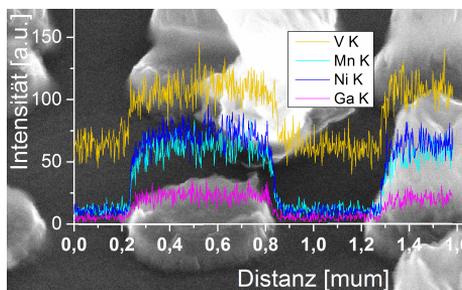


Abbildung 4.8. Linescan durch eine der Scheiben, welcher eine qualitative Aussage über das Vorhandensein der Heusler-Elemente erlaubt.

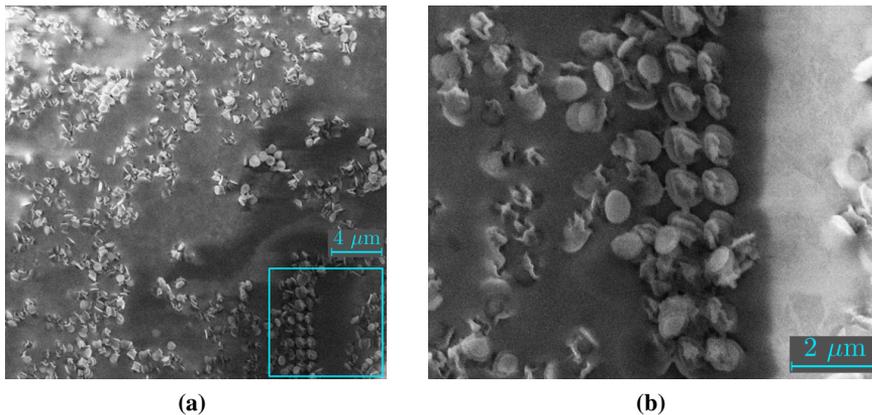


Abbildung 4.10. (a) REM-Aufnahme des Substrates nach dem Säurebad. Die Partikel wurden erfolgreich losgelöst und sind eingebettet in ein nicht näher definierbares Material, welches vermutlich ein Rest des Nassätzens ist. (b) entspricht dem blau markierten Kästchen in (a) mit angepasstem Kontrast. Es liegen sowohl alleinige Scheiben, als auch „Sandwich“-Strukturen vor.

4.2.4 Freistellung der Partikel

Mit Hilfe der Säure Chrome Etch soll im nächsten Schritt das durch das Ar^+ -Ätzen freigelegte Vanadium als Verbindung der Heusler-Scheiben zum Substrat entfernt und die Scheiben dadurch freigestellt werden. Es liegen Erfahrungswerte der benötigten Dauer für das Freistellen von ganzen, mm^2 -ausgedehnten Schichten vor, wobei davon auszugehen ist, dass die Dauer für die sub- μm Schicht unter den Partikeln viel kleiner sein wird.

Die Methode besteht daraus, die Proben lediglich mit Säure zu benetzen, anstatt sie komplett in einem Bad einzutauchen. Lösen sich die Partikel bereits nach einigen Sekunden, so ist das Volumen, in dem sie schwimmen, überschaubar gering. Der Säuretropfen auf dem Substrat wird mit wenigen μl Ethanol vorsichtig abgespült und dadurch verdünnt. Das Substrat liegt dabei auf einem Filterpapier, welches zum Auffangen von Nanopartikeln geeignet ist. Anschließend werden sowohl das Substrat (Abb. 4.10) als auch das Filterpapier (Abb. 4.11, S. 68) auf das Vorhandensein der Heusler-Partikel untersucht.

Auf dem Substrat zeigen sich deutlich Reste des chemischen Nassätzens, in das die erfolgreich freigesetzten Partikel teilweise eingebettet sind. In der Vergrößerung in Abb. 4.10b sind Scheiben in verschiedenen Orientierungen

auszumachen, die dem Heusler zuordbar sind. Unterstützt wird dies durch die ebenfalls sichtbaren Strukturen, die „sandwich“-artig übereinander liegen. Die Vermutung liegt nahe, dass es sich hierbei um Heusler-Scheiben handelt, auf denen Rückstände der Lacksäulen verblieben sind.

Bemerkenswert ist die Menge an Partikelresten, die sich noch auf dem Substrat befinden. Zwar ist Abb. 4.10 nicht repräsentativ für die gesamte Probenoberfläche nach dem Nassätzen, gibt jedoch einen nicht zu vernachlässigenden Anteil wieder. Je größer solche Flächen eingebetteter Partikel auf dem Substrat sind, desto geringer fällt die Ausbeute an freistehenden Partikeln in Lösung aus.

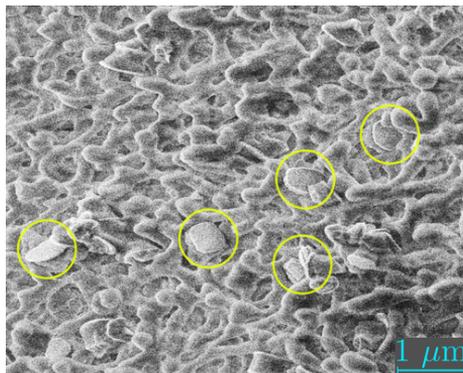


Abbildung 4.11. REM-Aufnahme des Filterpapiers mit Partikeln (in gelb eingekreist).

Auf dem Filter sind ebenfalls Heusler-Partikel zu finden (gelb eingekreist). Diese liegen in geringerer Konzentration als auf dem Substrat vor und sind nur in dem Bereich verortbar, an dem beim Nassätzen und Verdünnen mit Ethanol der Substratrand lag.

Nachdem eine funktionierende Methode zur Herstellung von Heusler-Partikeln entwickelt wurde, gilt es diese näher zu charakterisieren und zu analysieren. Teil dieser Arbeit ist im nächsten Abschnitt eine quantitative Auswertung gefolgt von einer ersten Analyse der Partikel mittels EDX-Mapping am TEM.

4.3 Quantitative Abschätzung der Ausbeute

Insgesamt kann zur Bestimmung der Ausbeute an NP einer $(2,5 \times 2,5) \text{ mm}^2$ mit $1 \mu\text{m}$ Punktabstand folgende Rechnung aufgestellt werden:

$$2500 \cdot 2500 \cdot 1 = 6,25 \times 10^6 \text{ entwickelte Partikel} \quad (4.1)$$

Es wird angenommen, dass durch Randeffekte $1/3$ der Partikel unzureichend belichtet bzw. entwickelt wird und zur Ausbeute nicht beiträgt. Ferner wird der

Verlust durch nicht abgelöste NP (z. B. teilweise am Schreibfeldrand) auf 20 % geschätzt.

$$6,25 \times 10^6 \cdot 2/3 \cdot 80\% = 3,33 \times 10^6 \text{ freigestellte Partikel} \quad (4.2)$$

Die Ausbeute liegt damit bei ungefähr 53 %. Die Masse der erzeugten und freigestellten Partikel kann mit ihren Dimensionen bzw. dem Volumen der kreisrunden Scheiben¹ ($r^2 \pi \cdot d$) und der Dichte von $\rho_{\text{NiMnGa}} = 8 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ [48] wie folgt ermittelt werden:

$$\begin{aligned} V_{\text{NiMnGa}} &= 3,33 \times 10^6 \cdot \left(\frac{500 \text{ nm}}{2} \right)^2 \pi \cdot 60 \text{ nm} = 3,93 \times 10^{-14} \text{ m}^3 \\ &= 3,93 \times 10^{-8} \text{ cm}^3 \end{aligned} \quad (4.3)$$

$$\begin{aligned} m_{\text{NiMnGa}} &= V_{\text{NiMnGa}} \cdot \rho_{\text{NiMnGa}} = 3,93 \times 10^{-8} \text{ cm}^3 \cdot (8 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}) \\ &= 3,14 \times 10^{-7} \text{ g} = 0,314 \text{ } \mu\text{g} \end{aligned} \quad (4.4)$$

Die produzierte Menge freigestellter Partikel ist mit 0,314 μg als gering anzusehen im Vergleich zu typischen Werten chemischer Synthese im mg- bis g-Bereich. Eine verbesserte Ausbeute ergäbe sich durch die Wahl größerer Proben, bei denen die Randbereiche prozentual einen geringeren Anteil an der gesamten strukturierten Fläche haben.

4.4 Nachweis der Heusler-Partikel

Zur ersten Charakterisierung der Partikel werden weitere Proben hergestellt; anstatt auf Filterpapier werden die mit Chrome Etch benetzten Substrate auf ein TEM-Grid² umgekippt und mit Ethanol gespült. Die anschließenden Messungen im TEM werden von Inga Ennen und Marianne Haase durchgeführt.

In Abbildung 4.12 (S. 71) sind beispielhaft zwei Partikel mit den dazugehörigen EDX-Messungen aufgeführt. Es sei erwähnt, dass diese Messungen an

¹Mit Fokus auf das Volumen der Heusler-Scheiben spielen die teilweise vorhandenen Lackreste keine Rolle in dieser Betrachtungsweise.

²Der Standard-Probenhalter für das TEM ist ein kreisrundes Kupfernetz, in dem eine dünne Membran aufgespannt ist, auf der Partikel abgelagert und durchstrahlt werden können.

sich quantitativer Natur sind, da im TEM in jedem Punkt/Pixel ein komplettes Spektrum aufgenommen wird, welches mit den entsprechenden Korrekturfaktoren die Stöchiometrie wiederzugeben vermag. Die hier illustrierte vereinfachte Darstellung ist indes eher als qualitativ zu erachten.

In **a)** sind zwei Partikel im HAADF-Modus³ abgebildet. Gut zu erkennen sind ebenfalls die nach außen gerichteten Lacksäulenreste. Aufgrund der Form der Partikel und der Ansicht des Lacks im Profil kann festgestellt werden, dass die Scheiben auf der Seite liegen. Abbildung 4.12 **b)** stellt ein Überlagerungsbild der einzelnen Elementsignale aus **c)** dar. Die mehr als drei verschiedenen Farben ergeben sich aus der Überlagerung. Die orts aufgelösten Intensitäten der einzelnen Elemente sind in **d)** gezeigt. Links vom Bild befindet sich die jeweilige Farbcodierung, wobei eine höher eingeordnete Farbe einer höheren Intensität entspricht. Zweierlei Feststellungen lassen sich aus diesen Bildern ableiten.

Zum einen nimmt die Intensität zum dünneren Partikelrand hin ab, was vor allem beim Ni mit seiner hohen Konzentration gut sichtbar wird. Das untere Partikel, weitestgehend senkrecht mit seiner Ebene zum Elektronenstrahl, weist aufgrund des größeren Interaktionsvolumens auch die höchste Intensität auf.

Zum anderen geht von jedem Element auch ein Signal an der Position der Lacksäulenreste aus, was mit einer Implantierung der abgetragenen Atome während des Ar^+ -Ätzens erklärt werden kann.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Heusler-Partikel nachgewiesen wurden.

³Im *High Angular Annular Dark Field*-Modus werden die an den Atomkernen unter hohem Winkel gestreuten Elektronen detektiert.

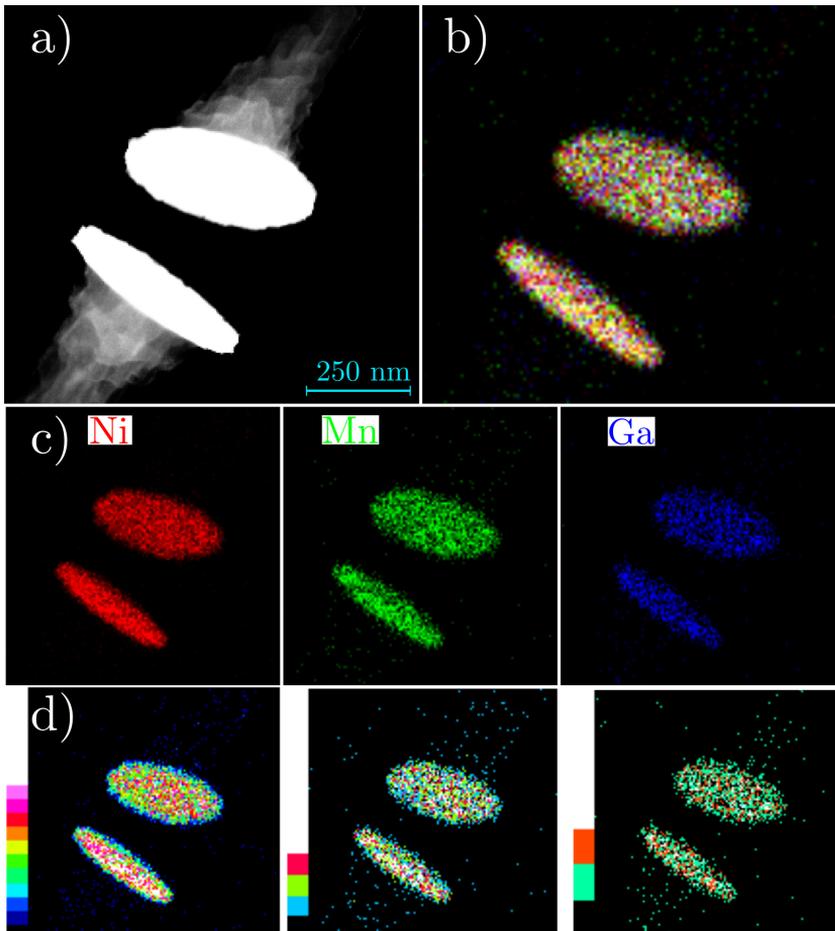


Abbildung 4.12. a) HAADF-Aufnahme zweier Partikel, an denen noch die Lacksäulenreste haften. b) ist ein Überlagerungsbild der einzelnen Element-Signale, welche in c) aufgeführt sind. Während die untere Partikelscheibe nahezu senkrecht steht, liegt die obere mehr in einer Schräge vor, weshalb deren Intensität geringer ausfällt. In d) ist farblich codiert die Intensitätshöhe örtlich aufgelöst. Erkennbar sind ebenfalls schwache Signale der Elemente in den Lacksäulen, welche dort während des Ar^+ -Ätzens implantiert worden sein müssen.

4.5 Fazit

Es ist gelungen mit einer Kombination aus lithografisch erzeugten Säulen und SIMS-Ätzen großflächig einzelne sub- μm -Partikel der Heusler-Legierung Ni_2MnGa aus einer Schicht herzustellen. Das antiproportionale Verhältnis von Belichtungszeit und Minimalstrukturgröße wurde untersucht und eine angemessene Grenze für das Zeit/Mengen-Verhältnis festgelegt. Die aus diesen Abwägungen resultierende Strukturierung erzeugt auf mehreren mm^2 scheibenförmige Partikel mit ungefähr 500 nm Durchmesser bei einer Dicke von 60 nm.

Durch das chemische Nassätzen, welches den Buffer-Layer Vanadium zwischen Heusler und Substrat angreift und entfernt, wurden die Partikel freigestellt. Zunächst wurde die Säure mit den Partikeln auf einem Filter verdünnt und nebst Substrat in der FIB untersucht. Im weiteren Verlauf wurden die Partikel stattdessen auf TEM-Grids aufgebracht und hinsichtlich ihrer Zusammensetzung in einem TEM untersucht.

Eine quantitative Abschätzung der produzierten Partikel zeigt auf, dass eine Ausbeute von ca. 53 % vorliegt und die resultierende Menge an Partikeln hinter der einer chemischen Synthese zurücksteht. Weitere Prozessoptimierungen, wie eine Vergrößerung der strukturierten Fläche zur Minimierung des Anteils der Randeffekte oder ein zusätzlicher Abstand von 500 nm der einzelnen Schreibfelder zur Vermeidung überlappender Belichtung sind möglich und vielversprechend die Ausbeute signifikant zu erhöhen.

Die entwickelte Methode bietet eindeutige Vorteile zu anderen Herstellungsmethoden durch die Homogenität der nicht-invasiven Strukturierung der Partikel, obschon der Zeitaufwand für eher geringe Mengen im Vergleich zur synthetischen oder mechanischen Herstellung als Nachteil anzusehen ist.

4.6 Ausblick

Grundlegend gibt es zwei Arten von Weiterführung der Experimente. Die eine wäre eine genauere Charakterisierung der Partikel und der Unterschiede ihrer physikalischen Eigenschaften im Vergleich zu fixierten und freistehenden Schichten, ausgehend von einzelnen oder wenigen Partikeln. Da die temperaturabhängige Differenz des elektrischen Widerstandes zwischen Martensit und Austenit bei dünneren Schichten zunehmend geringer ausfällt [49, 50], wäre eine weiterfüh-

rende Analyse dieser Eigenschaften an Partikeln eine interessante Fragestellung. Die vorgestellte Methode erlaubt es in Größenbereichen zu arbeiten, in denen bspw. auch der Einfluss von Korngrenzen näher beleuchtet werden kann.

Eine Möglichkeit besteht darin mit einer Variation des Kammstruktur-Ansatzes aus Kapitel 3 zu arbeiten. Dies könnte zum einen über das Auftropfen der freigestellten Partikel geschehen, zum anderen über die Strukturierung der Kammstrukturen um die Ar^+ -geätzten Partikel herum. Die produzierten Mengen freigestellter Partikel sind für den Zweck des Auftropfens einer Lösung von ihnen als eher zu gering zu erachten. Aussichtsreicher erscheint es die Partikel im fixierten Zustand bereits zu kontaktieren. Es ist denkbar, nur in bestimmten Bereichen des Substrats Partikel zu strukturieren, sodass nach dem Ar^+ -Ätzen Kontaktpads und Kammstrukturen neben bzw. zwischen die noch fixierten Heusler-Lack-Säulen gesputtert werden können.

Lithografisch könnte dabei direkt ein Kontakt⁴ zum Heusler hergestellt werden, oder optional über die Gasdeposition in der FIB. Der Vorteil von letztgenanntem wäre die unmittelbare Kontrolle der Deposition im Gegensatz zur Besputterung zuvor strukturierten Lacks. Werden die Dimensionen der Partikel zunehmend kleiner gewählt, wird eine lithografische Kontaktierung wegen des Strukturierungsauflösungsvermögens zunehmend schwieriger. Das Gasdepositionssystem der FIB hat in Kap. 3 bereits bewiesen, dass auch Partikel von 60 nm in x-, y- und z-Richtung kontaktierbar sind. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist die hohe Anzahl an Partikeln, die man zeitgleich kontaktieren und vermessen kann. Störende Einflüsse von individuellen Partikeln werden so herausnormiert.

Sind die Partikel durch die Kontaktierung zusätzlich fixiert, so kann über das Nassätzen versucht werden das Vanadium unter dem Heusler zu entfernen und die Messungen an freistehenden Partikeln durchzuführen.

Die andere Art einer möglichen Weiterführung wäre eine Aufskalierung der hergestellten Partikelmengen, um die Einbringung und Nutzbarkeit für andere Systeme zu überprüfen. Denkbar wäre u. a. eine Integration in eine elektrisch isolierende Matrix, was als granulares TMR-System benutzt werden kann. Nanopartikel aus Heusler-Legierungen sind vielversprechende Kandidaten, welche eine Erhöhung der konventionell erreichten Effektamplituden in Aussicht stellen [34]. Für einen solchen Ansatz wäre die Elektronenstrahlolithografie jedoch weni-

⁴Ein Kontakt ist in diesem Kontext die elektrisch leitende Verbindung der Goldbahnen der Kammstruktur zu den Partikeln

ger geeignet, da der Zeitaufwand für die Strukturierung von nur wenigen μm^2 bereits einen halben Tag betrug. Alternative Herstellungsmethoden sind somit in Betracht zu ziehen. Neben den bereits erwähnten Verfahren der chemischen Synthese oder mechanischen top-down Herstellung wären andere lithografische Verfahren wie die Kontaktbelichtung, welche flächig und homogen durch eine auf dem Lack liegenden Maske diesen belichtet, denkbar. Der Zeitaufwand für die Herstellung einer Maske ist aufgrund ihrer Wiederverwendbarkeit einmalig, die Belichtung mit ihrer Hilfe ausgehend von der UV-Lithografie (welche in Vorversuchen μm -große Punkte belichtete) eine Sache von Sekunden.

Untersuchung physikalischer Reizgebung zur Stammzellendifferenzierung

Dieses Kapitel widmet sich dem gemeinsamen Projekt mit der AG Kaltschmidt, denen an dieser Stelle für die Bereitstellung der Zellkulturdaten und -bilder (Abb. 5.4, 5.1, 5.2) gedankt sei.

Der Fokus liegt dabei auf einer rein physikalisch induzierten osteogenen Differenzierung von Stammzellen aus der Neuralleiste (engl.: neural crest-derived stem cells, kurz: NCSCs), welche für die autologe (Re)Generation von Knochen von großem Interesse ist. Autolog bedeutet, dass der Spender von entnommenen Zellen, nach biologischer *in vitro* Behandlung dieser, auch der Empfänger ist. Eine Idee ist die Entnahme von Stammzellen zur Kultivierung und Differenzierung auf Implantaten, um diese mit einer Oberfläche körpereigener Zellen in den Patienten zu integrieren, was potentiell die Akzeptanz des Körpers durch seine eigenen Zellen verbessern kann.

Das Ziel ist die weitere Untersuchung der bestimmenden Faktoren einer physikalisch induzierten Differenzierung basierend auf den vorangegangenen Arbeiten von Schürmann et al. [4]. Mit Hilfe verschiedener biologischer Nachweismethoden wird gezeigt, dass in der Tat eine nanoporöse Oberfläche in Abwesenheit biochemischer Zusatzstoffe einer osteogenen Differenzierung von NCSCs genügt. Des Weiteren werden mit Hilfe der Elektronenstrahlolithografie verschiedene Oberflächen erzeugt und strukturiert, die ein der Osteogenese genügendes 30 nm

nanoporöses Muster vorweisen. Anhand dessen ist es möglich weitere Parameter wie Porenabstand und -ordnung auf ihren eventuellen Einfluss hin zu untersuchen.

5.1 Biologische Grundlagen zu Stammzellen und ihrer Differenzierung

Stammzellen sind mit ihrer Fähigkeit zur Selbsterneuerung und ihren vielen Möglichkeiten zur Differenzierung in unterschiedlichste Zelltypen wie Nerven-, Knochen-, Muskel- oder Blutzellen wahre Multitalente des menschlichen Körpers (siehe Abb. 5.1). Überdies weisen sie eine hohe Zellteilungsrate auf, wodurch sie besonders interessant für das sogenannte Tissue Engineering (Gewebetachnologie/-züchtung) sind. Bei diesen Verfahren geht es allgemein gesehen darum biologisches Gewebe durch Entnahme und gezielte Kultivierung von Zellen zu züchten, um es anschließend funktional dem Ursprungsorganismus zurückzuführen. Stammzellen lassen sich in verschiedene Gruppen aufteilen, die sich durch ihre Möglichkeiten zur Differenzierung unterscheiden. Eine Auflistung der verschiedenen Stammzelltypen mit absinkendem Differenzierungspotential sieht wie folgt aus:

Totipotenz: Totipotente Zellen sind solche, aus denen durch Differenzierung in embryonische und extraembryonische Zellen ein kompletter, eigenständiger Organismus erwachsen kann. Eine befruchtete Eizelle ist somit totipotent, verliert diese Eigenschaft jedoch nach den ersten Zellteilungen, wodurch die einzelnen Zellen „nur noch“ pluripotent sind.

Pluripotenz: Stammzellen mit der Fähigkeit zur Differenzierung in fast jeden Zelltyp, jedoch ohne die Möglichkeit zu einem eigenständigen Organismus zu werden.

Multipotenz: Diese Stammzellen können in wenige andere Zellformen differenzieren, die nahe Verwandtschaft zeigen.

Unipotenz: Zellen, die nur den eigenen Zelltyp produzieren können. Ihre Eigenschaft der Selbsterneuerung ordnet sie noch den Stammzellen zu.

Die in dieser Arbeit verwendeten Stammzellen stammen von der kranialen Neuralleiste ab und sind in adultem kraniofazialen Gewebe wie z. B. der Haut,

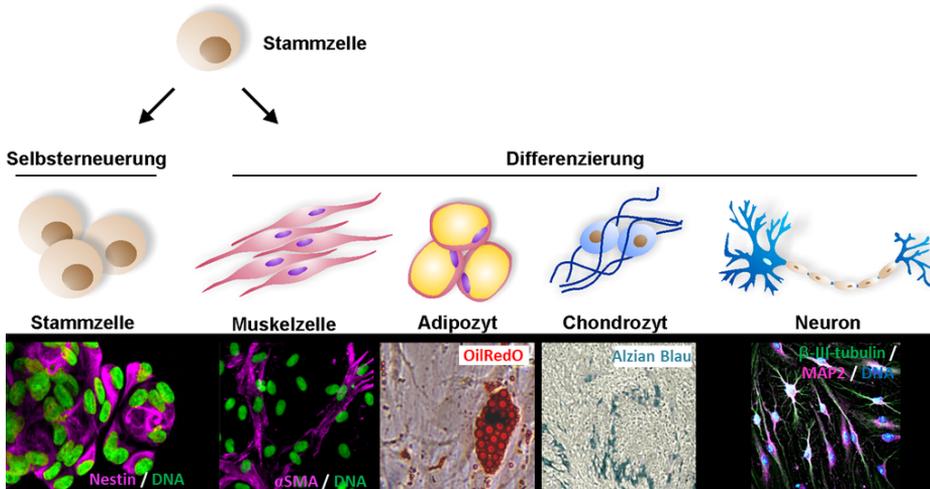


Abbildung 5.1. Schema der verschiedenen Entwicklungsmöglichkeiten einer Stammzelle neben der Selbsterneuerung. Neben der untersuchten Differenzierung in Knochenzellen können sich diese auch zu Muskel-, Fett-, Knorpelzellen und Neuronen entwickeln. Eine anschauliche Darstellung der Zelltypen ist in der untersten Reihe zu sehen.

der Nasenmuschel oder der Mundhöhle zu finden. Dadurch sind sie eine leicht zugängliche Art von Stammzellen und ihre Verwendung unbedenklich. In ihrer Multipotenz können sie zu ektodermen Stammzellen, aus denen sich u. a. Neuronen bilden, oder mesodermen Stammzellen, welche zu Knochen werden können, differenzieren. Wie Kaltschmidt et al. [51] festgestellt haben, besitzen NCSCs mit ihrer hohen Plastizität und ihrem permanenten Vorkommen im erwachsenen Organismus ein hohes Potential für diverse Anwendungen in der regenerativen Medizin. Von den verschiedenen Gruppen kraniofazialer NCSCs werden in dieser Arbeit die der unteren Nasenmuschel (engl.: inferior turbinate stem cells, kurz: ITSCs) verwendet (Abb. 5.2, S. 78), da sie durch ihre leichte Zugänglichkeit und ihr relativ großes Vorhandensein besonders geeignet sind.

Üblicherweise wird die In-Vitro-Osteogenese von kranialen NCSCs durch die Beigabe von verschiedenen biochemischen Substanzen initiiert. Dazu gehört u. a. das künstliche Glucocorticoid Dexamethason, welches immunsuppressive Wirkung besitzt und des Weiteren humane NCSCs zu tumorhaften Phenotypen verändern kann [52]. Zudem kann die Differenzierung von Zellen aus der Neuralleiste in eine osteogene Zelllinie durch die Topologie der Oberfläche vermittelt

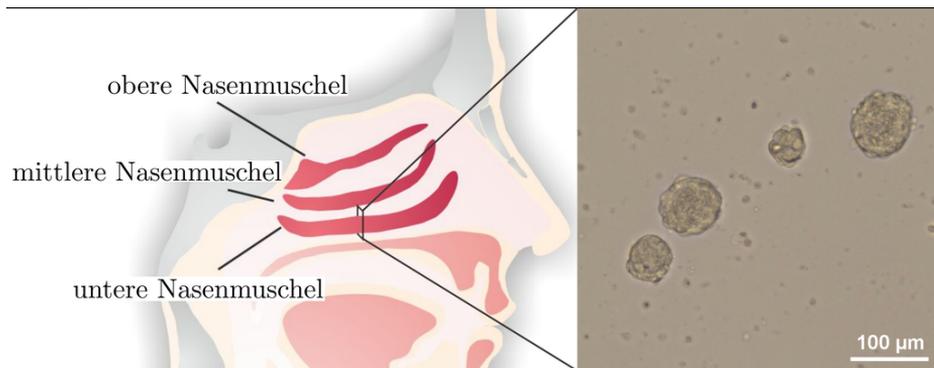


Abbildung 5.2. Gezeigt ist der Ursprung der ITSCs im menschlichen Kopf, wie er bei jedem Erwachsenen vorzufinden ist. Im rechten Teil sind vier Cluster von Stammzellen in einer Lichtmikroskopie-Aufnahme abgebildet.

werden [53]. Da endogene Differenzierung von Zellen topologisch beeinflussbar ist, sollte ein exogener Prozess dies ebenfalls widerspiegeln.

Ein wichtiger Faktor ist das Material, mit dem ein solcher Ansatz realisiert wird, da Zellen unterschiedlich auf verschiedene chemische Elemente reagieren. Titan (Ti) ist bekannt für seine Biokompatibilität und ähnlichen mechanischen Eigenschaften wie Knochen, wodurch es als Material für orthopädische Prothesen weit verbreitet ist [54][55]. Das Ziel ist folglich eine strukturierte Oberfläche zur Einleitung einer Stammzellendifferenzierung zu entwickeln, deren oberste Schicht aus Ti besteht.

5.2 Einfluss der Porengröße auf die Differenzierung

Auch wenn die Mechanismen der Zell-Oberflächen-Interaktion noch nicht vollkommen verstanden wurden, ist der entscheidende Einfluss der Topologie auf zelluläre (Re)Aktionen unbestreitbar. So konnten Park et al. [56] am Beispiel von Mesenchymalzellen auf TiO_2 -Röhren verschiedener Durchmesser nachweisen, dass ein Raum von 15 - 30 nm eine Cluster-Bildung von Integrinen und Formierung von fokalen Adhäsionen begünstigt. Zellaktivitäten waren auf diesen Oberflächen im Gegensatz zu flachem Titan deutlich verstärkt. Bello et al. [57] konnten bestätigen, dass eine nanoporöse Oberfläche die Adhäsionsbildung und Länge der fokalen Adhäsionen, sowie die Reife erhöht. Die Signalgebung innerhalb einer Zelle kann folglich durch die Oberflächenstruktur maßgeblich

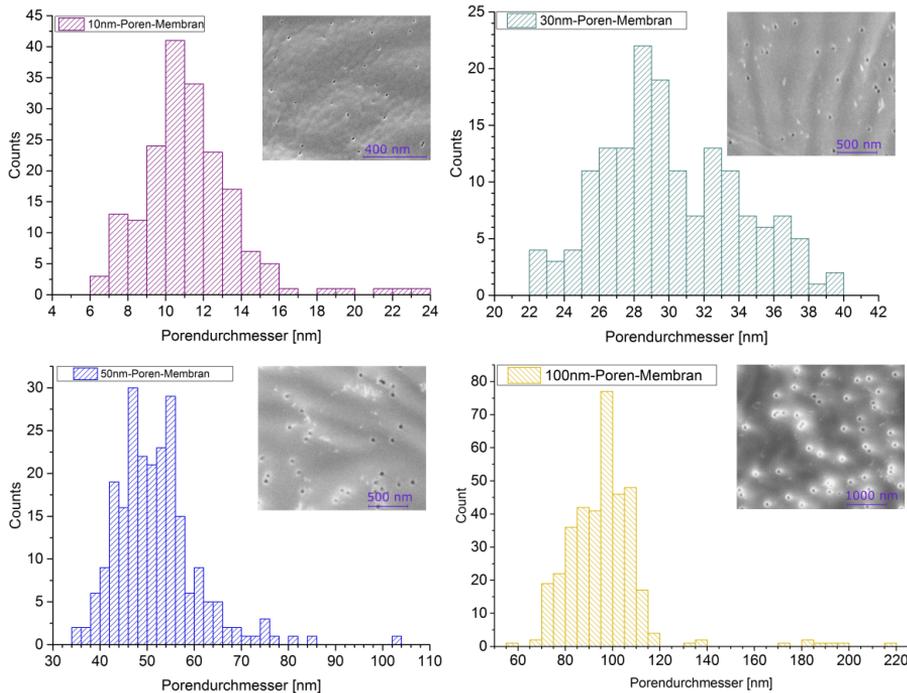


Abbildung 5.3. Histogramme zu den jeweiligen Porendurchmessern. Die Schrittweite der Auftragung beträgt für die 10 nm- und 30 nm-Membran 1 nm; 2 nm für die 50 nm-Membran und 5 nm für die 100 nm-Membran. Vermessen wird immer die längste Seite, wodurch es durch das Überlappen zweier Poren zu den Ausläufern von bis zu zweifacher Größe in den Histogrammen kommt.

beeinflusst werden. Dass eine nanoporöse Struktur von 30 und 150 nm gar zu einer osteogenen Differenzierung von multipotenten Mesenchymalzellen führen kann, wurde von Lavenus et al. [58] gezeigt. Schürmann et al. [4] haben in Bezug auf ITSCs nachgewiesen, dass in Poren von 30 nm durch Integrin-Clusterbildung Osteogenese eingeleitet wird, jedoch nicht bei 100 nm Poren. Die differenzierenden Zellen auf 30 nm Poren wiesen eine Hochregulierung von Integrin-Untereinheiten vor, was mit beschriebenen Ergebnissen anderer Gruppen ein stimmiges Bild ergibt [59][60][61].

Zur genaueren Absteckung, in welchem Bereich der Porengröße eine solche Differenzierung der ITSCs möglich ist, werden weitere Membranen verschiedener Porengrößen von 10, 30, 50 und 100 nm untersucht. Diese Membranen sind kommerziell erhältlich und hergestellt durch die Firma Whatman, Maidstone, UK.

Membran	N gesamt	Mittelwert [nm]	SD [nm]
10 nm Poren	185	11,3	2,6
30 nm Poren	159	30,1	3,9
50 nm Poren	232	52,0	8,8
100 nm Poren	205	92,0	22,1

Tabelle 5.1. Auszählung der Porendurchmesser (N = Anzahl) zufällig gewählter Stellen der jeweiligen Membranen.

Es handelt sich um *Whatman Nuclepore Track-Etched Membranes*, welche aus Polycarbonat bestehen. Als Kontrolle dient ein unstrukturiertes Glassubstrat, auf dem ebenfalls Ti als oberste Schicht aufgebracht wurde. Die Membranen und das Glas wurden in einer Leybold CLAB560 Sputteranlage mit 5 nm Ti beschichtet. Anschließend wurden die Poren in der FIB hinsichtlich Homogenität untersucht. Der Nachweis einer geschlossenen Schicht durch diese Prozessparameter in der gleichen Sputteranlage wurde bereits durch EDX-Messungen von A.Wolff [62] erbracht.

Die Histogramme der Porenvermessung sind in Abbildung 5.3 (S. 79) zu sehen und in Tabelle 5.1 sind die Ergebnisse aufgeführt. Es zeigt sich bei den 10 nm Poren eine große relative Abweichung, die 30 nm Poren weisen eine gute Übereinstimmung mit den nominellen Größen vor, die Poren der 100 nm-Membran sind im Schnitt jedoch zu klein. Unterstrichen wird die breitere Größenverteilung durch die Standardabweichung (SD), trotz derer es indes zu keiner einflusshaften Überlappung zwischen der 50 nm- und 100 nm-Membran kommt. Des Weiteren sei angemerkt, dass die Anzahl überlappender Poren, deren Durchmesser ungefähr doppelt so hoch ist, mit unter 5 % vernachlässigbar gering ausfällt. Ein zu hoher Anteil hätte die Aussagekraft über das Induzierungspotential einer Differenzierung der jeweiligen Porengröße vermindert oder gar komplett in Frage gestellt, da die Induzierung auch von den zu großen Poren hätte ausgehen können.

Die Stammzellisolation und -kultivierung wurde durchgeführt von Matthias Schürmann und Johannes Greiner. Eine Beschreibung dessen findet sich in [4].

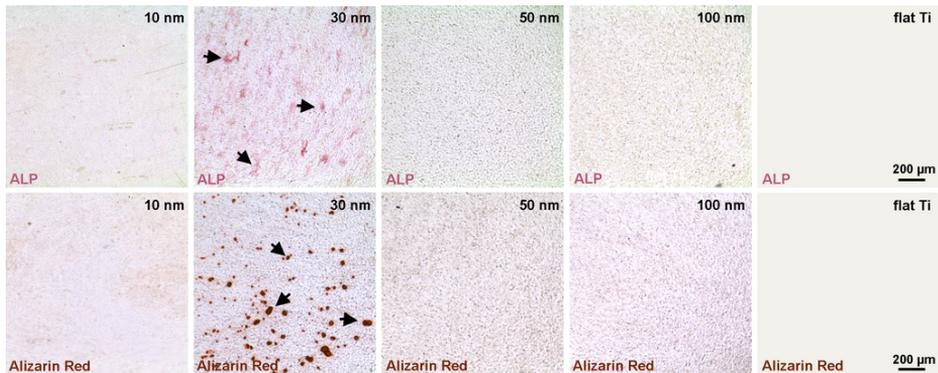


Abbildung 5.4. Sowohl die ALP-Aktivität nach sieben Tagen in der ersten Reihe als auch die Ca²⁺-Ablagerung nach 21 Tagen deuten auf eine ostogene Differenzierung einzig auf den 30 nm Poren hin.

5.3 Biologischer Nachweis einer vorliegenden Osteogenese

Verschiedene Methoden werden zur Bestätigung einer erfolgreichen Differenzierung der ITSCs in Knochenzellen benutzt, welche in diesem Unterkapitel kurz erläutert werden. Im Anschluss erfolgt die Präsentation der Ergebnisse.

- **Alizarin Rot-Färbung:** Die Alizarin Rot-Färbung dient zur Identifikation von Calcium(Ca²⁺)-Ablagerungen in Gewebe. Verantwortlich dafür sind Osteoblasten, welche sich als Vorstufe für neue Knochensubstanz mit Calcium anlagern.
- **Alkalische Phosphatase (kurz: ALP):** ALP sind Enzyme, die in erhöhter Menge z. B. in Knochen zu finden sind. Ihre Aktivität ist ein Indikator für Osteogenese. So weisen Schwangere und Kinder einen erhöhten Wert auf, da sie sich in einem Stadium des Knochenwachstums befinden. Ein abnormaler Grad an ALP im Blut kann somit unter anderem ein Hinweis auf Probleme mit den Knochen wie Knochenbrüche oder Osteoporose sein [63].

Abbildung 5.4 illustriert die Ergebnisse der verschiedenen biochemischen Nachweismethoden, die als Indikatoren für eine ostogene Differenzierung dienen. Die erste Reihe gibt die ALP-Aktivität der Zellen auf den verschiedenen Membranen und flachem Ti wieder, welche nach sieben Tagen überprüft wurde. Nur die

ITSCs auf der 30 nm-Poren-Membran zeigen eine Aktivität. Gleichmaßen sind Calcium-Ablagerungen durch die Alizarin Rot-Färbung nur auf 30 nm-Poren auszumachen. Diese Ergebnisse bedeuten, dass es für die Stammzellen hinsichtlich Differenzierung keinen Unterschied macht, ob sie auf unstrukturiertem Ti, oder auf Poren von 10, 50, oder 100 nm liegen.

Jede der angewandten Nachweismethoden bestätigt vorangegangene Ergebnisse von Schürmann et al. [4]: Einzig 30 nm Poren, ohne biochemische Unterstützung, genügen einer ITSC, um in eine osteogene Differenzierung einzutreten. Des Weiteren erscheint der Toleranzbereich des diesen Effekt induzierende Porendurchmessers sehr eng abgesteckt, da 20 nm im Durchmesser sowohl mehr als auch weniger zu keiner Differenzierung führen. Zusammenfassend genügt es somit nicht, Nanoporen beliebiger Größe in der Oberfläche zu haben. Sie müssen vom Durchmesser her im Bereich von 30 nm ($10 \text{ nm} < \dots < 50 \text{ nm}$) vorliegen, da andernfalls keinerlei Induktion einer osteogenen Differenzierung von ITSCs, ebenso wie beim flachen Ti, vorliegt. Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für eine mögliche Alternative zur biochemisch induzierten Stammzellendifferenzierung mit konkreten Anwendung in der regenerativen Medizin mit z. B. Titanimplantaten als Knochenersatz.

Nachdem erfolgreich anhand von Membranen gezeigt wurde, in welchem Größenbereich Nanoporen einer osteogenen Stammzellendifferenzierung genügen, gilt es in diesem Unterkapitel weitere Parameter auf ihren Einfluss zu untersuchen. Konkret besteht die Frage, inwiefern die inhomogene Verteilung der Nanoporen und damit auch deren mittlerer Abstand, die Differenzierung beeinflusst. Diese Abhängigkeiten können eine entscheidende Rolle spielen, geben sie doch Auskunft darüber, wie aufwendig eine Oberfläche in späteren medizinischen Anwendungen präpariert werden müsste.

Zur Klärung dieser Fragestellung soll elektronenlithografisch eine geeignete Oberfläche hergestellt und anschließend mit Ti als oberster Schicht abgedeckt werden. Die Idee ist es, mittels REM möglichst kleine Poren in Positivlack zu strukturieren, um diesen daraufhin mit wenigen nm Ti zu bedecken (siehe Abb. 5.5, S. 83). Dabei ist es nicht entscheidend, ob der Positivlack durch seine gesamte Dicke hindurch belichtet wird. Vielmehr kommt es auf die durch die Entwicklung erzeugten Löcher im richtigen Größenbereich an, dass diese den erforderlichen Durchmesser vorweisen. Die biologische Kompatibilität des Lacks, selbst mit Ti als Oberfläche, muss in Betracht gezogen und untersucht werden. Die auf die Poren reagierenden Filamente der Zelle begeben sich in diese hinein,

wodurch ein chemischer Einfluss bei Kontakt mit dem unter dem Ti liegenden Lack nicht auszuschließen ist.

5.4 Herstellung einer geeigneten Topologie mittels Elektronenstrahlolithographie

5.4.1 Nanoporen mit Positivlack als Basis

Die Erarbeitung des folgenden Ansatzes geschah in Zusammenarbeit mit Nadine Mill. Der grundlegende Prozess der Elektronenstrahlolithografie wurde bereits in Kapitel 2.2 erläutert, weswegen an dieser Stelle nur kurz auf die Spezifikationen dieses Ansatzes eingegangen wird. Als Substrat dient Silizium mit einer 50 nm nativen SiO_2 -Schicht als Oberfläche. Der benutzte Positivlack *AR-P 617.03* wird durch Spincoating bei 5000 Umdrehungen pro Minute aufgetragen und hat eine ungefähre Dicke von 85 nm [21]. Die Temperung des Lacks dauert 30 Minuten bei 150 °C.

Durch Dosistests wird ermittelt, dass sich bei einer Area Dose von $20 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Standard laut Hersteller: $30 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$) die gewünschte Breite der Löcher im Lack von ungefähr 30 nm ergibt (siehe Abb. 5.6, S. 84). Die benutzte 30 μm Blende des REM führt zu einem Elektronenstrom von ungefähr 0,045 nA, was zur Herstellung von Nanostrukturen im benötigten Größenbereich geeignet ist. Um ein Array von belichteten Punkten zu erhalten wird als Struktur ein Rechteck mit der gewünschten Area Step Size von 200 nm gewählt; anstatt 5 nm, wie für eine bündige Belichtung erforderlich. Dadurch entsteht ein Punktmuster, ein Array von Nanoporen im Lack. Die Belichtungszeit beträgt 10 Stunden für ein Rechteck von $(5 \times 5) \text{mm}^2$. Im Vergleich zur Strukturierung via FIB von A. Wolff [62], wo die Erzeugung einer Fläche von $1 \times 1 \text{mm}^2$ bei einem Lochabstand von 500 nm 16 Stunden dauert, stellt die Lithografie eine große Verbesserung dar. Selbst unter Vernachlässigung des unterschiedlichen Punktabstandes ist die benötigte Zeit für die

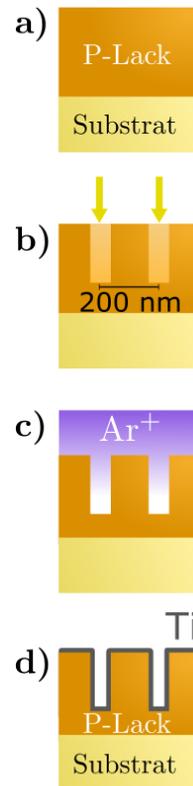


Abbildung 5.5. Porenerzeugung mittels Elektronenstrahlolithografie (b) mit anschließender Sputterung (c + d) von Ti.

Strukturierung eines mm^2 um den Faktor 40 bei der Elektronenstrahlithografie geringer. Nach der Belichtung wird die Probe durch ein Bad in dem Entwickler *AR 600-55* für zwei Minuten, gefolgt von 30 Sekunden in dem Stopper *AR 600-60*, entwickelt. Eine Temperung für 10 Minuten bei $130\text{ }^\circ\text{C}$ sorgt für eine erhöhte Plasmaätzbeständigkeit. Die Besputterung mit 5 nm Ti entspricht den Angaben aus Kapitel 5.2.

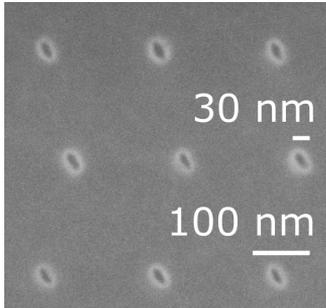


Abbildung 5.6. REM-Bild der strukturierten und Ti-beschichteten Lackoberfläche. Die ovale Form resultiert aus einem leichten Astigmatismus, welcher sich zwar vor der Belichtung optimieren lässt, aber bei Proben von mehreren mm^2 sich im Laufe der Belichtung automatisch etwas wieder verschlechtert.

Bei der Präparation der hergestellten Proben zeigte sich eine großflächige Ablösung der Lackschichten, noch bevor mit der Kultivierung der ITSCs begonnen wurde. Mangelndes Haftungsvermögen des Lacks war eine naheliegende Vermutung, weshalb verschiedene Untergründe für den Lack getestet wurden. Darunter Ti, Glas und Ta. Jede dieser Varianten führte indes zum gleichen Resultat; die Lackschichten lösten sich während der biologischen Präparation ab. Es wird davon ausgegangen, dass der Lack empfindlich auf die verschiedenen Mittel (unterschiedlicher pH-Werte) zur Säuberung und Vorbereitung der Stammzellen reagiert.

Die sich daraus ergebende Konsequenz ist der Verzicht auf Positivlack als Basis für die Nanoporen. Eine weiterführende Alternative besteht darin den Positivlack, der nachgewiesenermaßen im benötigten Größenbereich strukturierbar ist, als eine Art Ätzmaske zu benutzen, was im folgenden Abschnitt beschrieben wird.

5.4.2 Nanoporen mit Positivlack als Ätzmaske

Die Idee in diesem Abschnitt ist es, den strukturierten Lack als eine Maske zum homogenen Ätzen mit Ar^+ -Ionen zu benutzen. Vor dem Positivlack wird zusätzlich eine 60 nm dicke Schicht Gold (Au) gesputtert, da es wesentlich weicher ist als Ti, oder Si als Substrat. Da die Maske aus verbleibendem Lack früher oder später durch das Ätzen komplett abgetragen wird, wird auf diesem Wege sichergestellt eine maximale Lochtiefe in dem weichen Au zu erreichen. Nach dem Ätzen wird der restliche Lack in dem Remover *AR 300-70* im Ultraschallbad

entfernt. Neben der Dosis der Belichtung spielt bei diesem Ansatz auch die Dauer des Ionenätzens eine wesentliche Rolle, weshalb verschiedene Zeiten dafür zu testen sind. Der Strom wird für alle folgenden Versuche bei ca. 180 μA gehalten.

Im Gegensatz zum vorherigen Ansatz spielt bei der Benutzung des Lacks als Ätzmaske die Lochtiefe bzw. die Breite der Löcher eine entscheidende Rolle. Wie in Abbildung 5.7 veranschaulicht, geben die Strukturen im Lack die Form und Ausmaße der in die darunter liegende Schicht geätzten Strukturen wieder.

Zunächst wird ein Dosistest an drei Proben durchgeführt, wobei die Area Dose als $30 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$ gesetzt ist und einzelne Felder von $(100 \times 100) \mu\text{m}^2$ mit verschiedenen Dosen (D) als Vorfaktor für die Area Dose belichtet werden. Mit den drei identischen Proben können anschließend verschiedene Zeiten für das Ionenätzen überprüft werden.

In Abbildung 5.8a (S. 86) ist ein Beispiel für eine zu geringe Ätzdauer von 6 Minuten bei einer Dosis von 0,05 aufgeführt. Es sind bestenfalls deformierte Poren entstanden; weitestgehend wurde sichelförmig in die Schicht geätzt. Anhand dieses Bildes lässt sich feststellen, dass die Belichtung des Lacks nicht einem Zylinder oder umgedrehten Kegel (unter Beachtung eines nicht perfekt-homogenen Elektronenstrahls) entspricht, sondern wesentlich diffuser ist. Die oberflächlichen Strukturen zwischen den Poren sind ein typisches Überbleibsel von entferntem Lack. Eine Ätzdauer von 10 Minuten bringt die erwarteten Poren verschiedener Größen (Abb. 5.8b, S. 86), wohingegen eine längere Ätzdauer von 15 Minuten dazu führt, dass der Lack komplett auf der Oberfläche aushärtet (Abb. 5.8c, S. 86). Selbst anderthalb Stunden im Remover im USB lösen den Lack nicht auf/ab.

In Tabelle 5.2 (S. 87) sind die Ergebnisse der Dosis- und Ätztests kurz zusammengefasst. Die optimalen Parameter dieser Versuchsreihe sind eine Dosis von 0,05 - 0,07 ($\times 30 \mu\text{As}\cdot\text{cm}^{-2}$), gefolgt von einem zehnminütigen SIMS-Ätzen bei

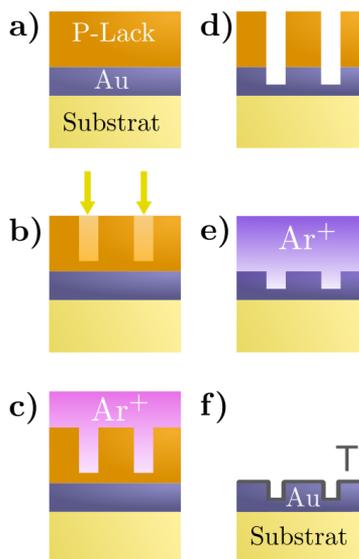


Abbildung 5.7. Durch Elektronenstrahlolithografie (b) werden Poren im Lack hergestellt, wodurch dieser als Maske beim Ionenätzen (c) fungiert. Die Poren werden in die darunter liegende Au-Schicht übertragen (d), welche nach dem Entfernen des restlichen Lacks mit Ti beschichtet werden (e + f).

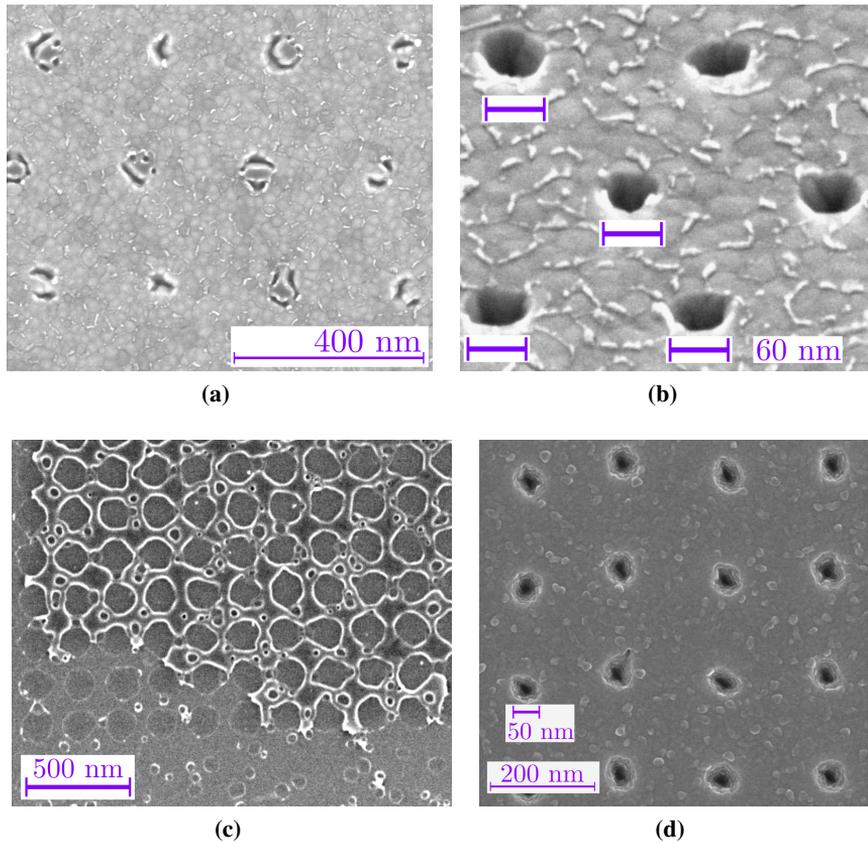


Abbildung 5.8. (a) Eine Ätzdauer von 6 Minuten bei 180 - 200 μA führt zu unvollständigen/unförmigen Poren im mittleren Dosisbereich ($D = 0,05$). (b) 10 Minuten genügen der Übertragung der Poren in die darunter liegende Schicht; 15 Minuten (c) jedoch scheinen den Lack strukturell derart zu verändern, dass ein Ablösen trotz Remover im USB nicht möglich ist. Die ermittelten bestmöglichen Parameter ergeben mit 15 nm Ti-Beschichtung Poren von ungefähr 50 nm Durchmesser (d). Die körnige Oberfläche ist ein prägnantes Merkmal der Ti-Schicht.

Dosisbereich	6 Min. Ätzen	10 Min. Ätzen	15 Min. Ätzen
D: < 0,05	keine Poren	unvollst. Poren	harter & poröser L.
D: 0,05-0,07	unvollst. Poren	Poren	harter & poröser L.
D: 0,08-0,10	unvollst. Poren	größere Poren	Poren & harter L.
D: 0,11-0,13	zu große Poren	überlapp. Poren	kein Lack/Poren

Tabelle 5.2. Zusammenfassung der Ergebnisse der Dosis- und Ätzdauertests. Bei kleinster Dosis und Dauer (D: -0,07/6 Min.) keine Poren zu finden ist so zu verstehen, dass keinerlei Struktur in die Schicht übertragen wurde. Das andere Extremum größter Dosis und Dauer (D: 0,11 – 0,13/15 Min.) bedeutet eine bündige Überbelichtung des Rechtecks, wodurch bei diesem im Gegensatz zu denen kleinerer Dosis (D: 0,08 – 0,10/15 Min.) kein Lack vorhanden war, der durch die zu lange Ätzdauer hätte verhärtet werden können.

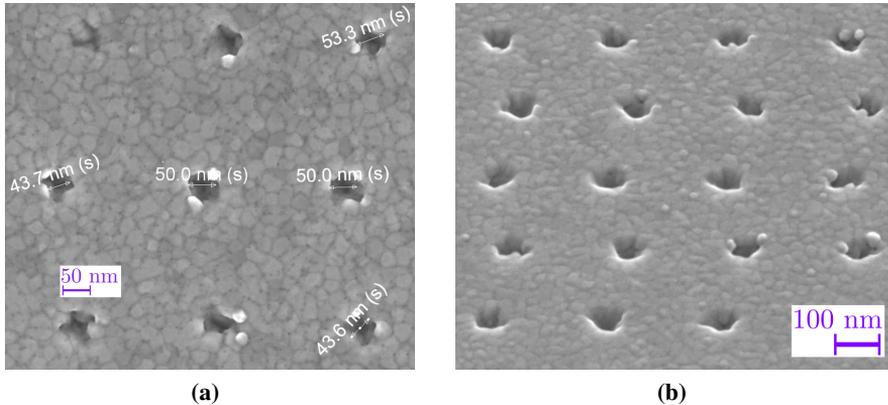


Abbildung 5.9. (a) Aufsicht auf die nachträglich mit Au besputterte Oberfläche. Eine deutliche Deformation der Ränder und ein Auffüllen der Poren sind auszumachen. (b) unterstreicht in Sicht unter einem Winkel diesen Eindruck.

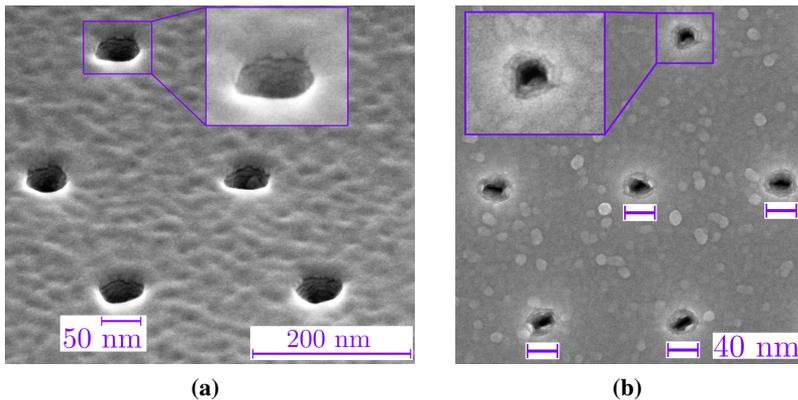


Abbildung 5.10. (a) Eine Besputterung mit 10 nm Ta zeigt keine zusätzliche Verengung der Poren, jedoch verringert sich die Rauheit der Oberfläche. Zusätzlich erscheint die Innenseite der Poren gleichförmiger, im Gegensatz zum Ti bilden sich keine Körner. Das nachträgliche beschichten mit Ti (b) führt zu einem Durchmesser von 40 nm.

180 μ A (siehe Abb. 5.8b, S. 86). Die erreichte Größe von ca. 60 nm liegt jedoch nicht in dem Bereich, in dem mit einer Differenzierung von ITSCs zu rechnen ist; die Membranen haben das bereits gezeigt.

Der nächste Schritt besteht darin, den Porendurchmesser künstlich zu verkleinern. Dazu wird versucht über Sputtern die Poren weiter zu verengen. In Abbildung 5.8d sind mit 15 nm Ti beschichtete Poren zu sehen, welche einen ungefähren Durchmesser von 50 nm vorweisen. Dies stellt zwar eine Verbesserung dar, jedoch keine ausreichende. Zur Überprüfung eines besseren „Verengungspotentials“ werden weitere Elemente als Zwischenschicht des Strukturierten Substrats und der 5 nm Ti-Schicht getestet. Nach dem Entfernen des Lacks werden anstatt 5/15 nm Ti 20 nm Au deponiert (siehe Abb. 5.9, S. 87). Die Oberfläche weist die für Au typische Körnung auf, durch die auch die Porenränder deformiert werden (Abb. 5.9b). Eine weitere Verkleinerung des Durchmessers ist eher gradueller Natur. Gewichtiger wirkt jedoch das Auffüllen der Poren durch das Au, welches in Abb. 5.9a in der Draufsicht gut erkennbar ist.

Als weitere Alternative bietet sich Ta an, da bereits 2 – 3 nm für eine geschlossene Schicht ausreichen, ergo es weniger körnig aufwächst als Au. 10 nm davon wurden gesputtert und anschließend kontrolliert (siehe Abb. 5.10a). Der Porendurchmesser verändert sich, wie zuvor durch das Au oder dickere Ti. Aber sowohl die Oberfläche wie auch die Ränder der Poren erscheinen wesentlich

N gesamt	Mittelwert [nm]	SD [nm]	Min. [nm]	Max. [nm]
260	40,0	4,86	27,2	53,1

Tabelle 5.3. Auszählung der Porendurchmesser der finalen Ta(10nm)-Ti(5nm)-Probe. Die Standard-Abweichung ist mit 12 % nicht als gering zu erachten, jedoch im gleichen Bereich der 30 nm Poren-Membran mit dazugehöriger SD von 13 % .

glatter. Das Ta wächst sehr gleichförmig auf, was sich im vergrößerten Blick in die Pore äußert. Anschließend wird die 5 nm Ti Schicht aufgebracht, welche zu einem finalen Porendurchmesser von 40 nm führt. Eine quantitative Auswertung dieser Probe ist in Tabelle 5.3 zusammengetragen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Au zwar als Substrat aufgrund seiner geringen Härte geeignet ist, für die Verkleinerung der Poren durch das Sputtern jedoch ungeeignet. Sowohl 15 nm Ti wie auch 10 nm Ta reduzieren den Durchmesser auf ca. 50 nm. Das Ta erzeugt dabei die ebenen Oberflächen und Ränder, weshalb eine Kombination aus 10 nm Ta und 5 nm Ti die besten Resultate dieser Versuchsreihe erzielte.

5.5 Fazit

Basierend auf den vorangegangenen Ergebnissen der AG Kaltschmidt [4] ist es gelungen die Bedingungen für eine osteogene Differenzierung von ITSCs weiter einzugrenzen. So scheint der Rahmen für eine topologische Induktion einer osteogenen Stammzellendifferenzierung relativ eng abgesteckt bei 30 nm zu liegen, wohingegen 20 nm mehr oder weniger im Durchmesser keinen topologischen Einfluss und dadurch ebenso keinerlei Osteogenese vorweisen.

Zur weiteren Untersuchung möglicherweise wichtiger Parameter der Oberflächenstruktur wurde mittels Elektronenstrahlithografie eine Ti-Oberfläche erzeugt, die die angestrebten 30 nm Poren vorweist. Der Positivlack, welcher als Basis für die Poren dient, stellte sich jedoch als ungeeignet für die Präparation biologischerseits heraus. Großflächig wird dabei der Lack und damit die erzeugten Strukturen abgelöst.

Eine Alternative bot sich durch die Benutzung des Positivlacks als Ätzmaske an. Dabei wurde versucht die im Lack erreichten 30 nm Poren auf eine darunter liegende Schicht aus Au zu übertragen. Verschiedene Versuchsreihen mit variierender Dosis der Belichtung und Ätzdauer wurden durchgeführt, um möglichst

kleine Poren zu generieren. Das minimal erreichte Strukturgröße des Ar⁺-Ätzens erweist sich als höher als das der Belichtung. Die kleinsten erzeugten Poren haben einen Durchmesser von 50 nm.

Eine letztmögliche Ergänzung bot das nachträgliche Sputtern, um eine Verkleinerung der Poren auf die gewünschte Größe herbeizuführen. Mehrere Elemente wurden getestet und mit einer Kombination aus Ta (10 nm) und Ti (5 nm) wird ein minimaler Durchmesser von im Schnitt 40 nm erreicht. Ob diese Größe einer osteogenen Differenzierung genügt, wurde bis dato nicht überprüft.

5.6 Ausblick

Die bisherigen Ergebnisse bilden eine fundierte Grundlage zur weiteren Analyse und einer späteren möglichen Anwendung der physikalisch induzierten Stammzellendifferenzierung in der regenerativen Medizin. Eine interessante Erkenntnis könnte sein festzustellen, ob bspw. auch die elektronenlithografisch produzierten 40 nm Membran einer Differenzierung genügen. Nicht nur aufgrund der Option derart hergestellter Proben, sondern ferner wegen der Überprüfung zusätzlicher Parameter, wie dem Interporenabstand oder dem Ordnungsgrad der Poren. Dies würde den Rahmen für etwaige Anwendungen und den benötigten Aufwand für optimal erzielbare Ergebnisse vorgeben.

Zusätzliches Erkenntnispotential liegt in der Untersuchung körpereigener Oberflächen, inwiefern in uns selbst bereits das Potential der topologischen Induzierung vorhanden ist, wo die Unterschiede oder Gemeinsamkeiten liegen. Daraus würden sich zwei Optionen ableiten. Einerseits könnten am Beispiel von Prothesen die Oberflächen dahingehend nanoporös strukturiert werden und andererseits je nach körpereigenem Äquivalent, diese, ebenso wie die Stammzellen, autolog zum Einsatz kommen.

Zusammenfassung & Ausblick

In diesem Kapitel werden die Fazite vorangegangener Kapitel erneut kurz zusammengefasst und ein Ausblick für weitere, daran anschließende Forschungsmöglichkeiten gegeben.

Zur Charakterisierung von NP wurden in Kapitel 3 mehrere Methoden als Ansatzpunkt vorgestellt. Eine Kombination aus Kammstrukturen, welche durch Elektronenstrahlithografie entstanden, und in der FIB depositionierten Kontakten aus Pt als verbindendes Element erlaubt elektrische Widerstandsmessungen an einzelnen Nanopartikeln. Aufgrund ihrer geringen Größe von 60 nm, ihrem schlecht leitenden Material aus Eisenoxid und ihrer als Tunnelbarriere agierenden Ligandenschicht aus Ölsäure zeigen sie sehr hochohmige Widerstände im zweistelligen $G\Omega$ -Bereich. Um den Anforderungen eines solchen Systems gerecht zu werden, müssen weitere Anpassungen am Messaufbau vorgenommen werden, um die Aussagekraft der Messwerte gewährleisten zu können. Es wurde versucht anhand von atomar aufgelösten HRTEM-Bildern von Eisenoxid-NP Rückschluss auf ihre Gitterstruktur zu ziehen. Die Partikel liegen sternförmig vor, was für einen metastabilen Zustand aus dem antiferromagnetischen Wüstit (FeO) spricht. Gleichsam ist die Anlage zur Ausbildung einer Mischphase mit ferrimagnetischem Magnetit bekannt, weshalb die eventuelle Bildung eines Core-Shell-Partikels aus diesen Phasen ergründet werden sollte. Die durch eine FFT-Filterung extrahierten Gitterparameter von ungefähr 3 Å sind indes Teil der Gitterstruktur gleich mehrerer verschiedener Eisenoxidphasen, wodurch eine genaue Bestimmung nicht möglich ist. Die vorgeschlagenen Lösungen

den Oxidationszustand durch Lorentz-Mikroskopie im DPC-Modus oder durch EELS-Messungen der Bindungszustände des Eisenoxids zu bestimmen, sind die naheliegenden nächsten Schritte.

Eine elektronenlithografische Herstellung von runden Heusler-Nanopartikeln mit einem Durchmesser von 500 nm aus einer 60 nm dünnen Schicht Ni₂MnGa konnte erfolgreich entwickelt werden. Die Parameter für eine Strukturierung von 100 nm NP wurden zwar ebenfalls ermittelt, erfordern jedoch in der Belichtung von mehreren mm² einen zu hohen Zeitaufwand, um auf praktikable Mengen an freigestellten NP zu kommen. Für eine Charakterisierung der elektrischen Eigenschaften oder des Einflusses der Korngrenzen könnten lediglich kleine Felder mit Heusler-NP strukturiert werden. Daran anschließend würde eine Kammstruktur, wie sie in Kapitel 3 dargestellt wurde, zur Kontaktierung der einzelnen NP deponiert. Durch diesen Kontakt, welcher ebenso als Fixierung beim chemischen Nassätzen agieren kann, kann eine Messung der freistehenden NP erfolgen.

Es konnte bestätigt werden, dass ITSCs nur durch Poren eines Durchmessers von rund 30 nm ($10 < \dots > 50$) zu einer Osteogenese geführt werden. Verschiedene Ansätze mittels Elektronenstrahlithografie Poren dieser Größe herzustellen wurden entwickelt. Die besten Resultate der Strukturierung lieferte dabei der Ansatz lediglich die Oberfläche des Positivlacks zu strukturieren und mit Ti zu bedecken, um die Stammzellen dort direkt aufbringen zu können. Aufgrund der Unbeständigkeit des Lacks während der biologischen Präparation musste hingegen ein Alternativansatz dazu getestet werden. Dieser bestand darin, den Positivlack mit angepassten Strukturierungsparametern für eine (nahezu) durchgängige Belichtung (in z-Richtung) als eine Ätzmaske zu verwenden. Um die daraus resultierenden Poren des Ätzens durch Ar⁺ zu gewährleisten, wurde der Lack auf einer Au-Schicht aufgebracht, welche für seine geringe Härte bekannt ist. Die entstandenen Porendurchmesser lagen im Bereich von 60 nm und sind damit zu groß. Durch nachträgliches Sputtern verschiedener Materialien konnten die Poren weiter verkleinert werden, wobei eine Kombination aus 10 nm des sehr glatt aufwachsenden Ta's und 5 nm Ti's einen minimal erreichten Durchmesser von ungefähr 40 nm ergab.

Die Effizienz solcher Poren wurde bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht getestet, stellt indes eine interessante Ergänzung zu den durchgeführten Tests in dieser Arbeit dar und kann zur Klärung der Fragestellungen, inwieweit die Ordnung

oder der Abstand der Poren eine Rolle für die induzierte Differenzierung spielen, dienen.

Für das angedachte Ziel eine nanoporös strukturierte Oberfläche als Differenzierungsinduzierung für Stammzellen in der Medizin einzusetzen, müssen alternative Verfahren in Betracht gezogen werden. Der Aufwand elektronenstrahl-lithografischer Herstellung über die Erforschung dieser Grundlagen hinaus ist als zu hoch anzusehen. Prothesen sind als Beispiel einerseits makroskopisch groß, flächenmäßig um einen hohen zweistelligen Faktor größer als die in dieser Arbeit hergestellten Proben von $(5 \times 5) \text{ mm}^2$. Andererseits sind sie nicht planar, sondern dreidimensional, was eine in Reihe stattfindende Strukturierung¹ zusätzlich erschwert.

Neben den bekannten Möglichkeiten Nanopartikel im biologisch-physikalischen Grenzgebiet bspw. als Sensoren für biologische Marker zu verwenden, können sie anstatt einzeln funktionalisiert ebenso als vorliegendes Array oder Cluster genutzt werden. So ist es denkbar, dass anstatt eines Lacks, der belichtet werden muss, Nanopartikel als eine Maske zum Ar^+ -Ätzen eingesetzt werden. Die Bedeckung von dreidimensionalen Strukturen wie Prothesen oder Schrauben erscheint durch eine NP-Lösung praktikabel. NP, je nach Größe und Form, weisen in einer Monolage Zwischenräume verschiedener Größen auf. Diese Löcher in der Partikelschicht könnten der Idee des Kapitels 5.4.2 folgend auf eine darunter deponierte Schicht übertragen werden. Aussagen über die eventuellen strukturellen Veränderung der Partikel durch diesen Prozess, ob es z. B. zu einer Art Verschmelzung durch die Redeposition der aus der zugrunde liegenden Schicht herausgeschlagenen Atome kommt, können indes an dieser Stelle nicht gemacht werden. Im Anschluss an das Ätzen ist es vorstellbar das Entfernen der NP durch ein USB, oder im Falle von magnetischen NP durch ein Magnetfeld einzuleiten.

Eine perfekte Monolage ist zwar relativ unwahrscheinlich, aber allein ein stellenweises Vorliegen einer solchen kann eine genügende Dichte an Poren gewährleisten. Zudem findet die Strukturierung durch Ar^+ -Ionen oder einen vergleichbaren Prozess auf mehreren mm^2 bis cm^2 statt, was eine bessere Eignung für makroskopische Proben darstellt.

Eine Alternative bietet sich durch einen vergleichbaren Ansatz zu Kapitel 5.4.1. Weisen die NP in ihren Zwischenräumen eine geeignete Größe auf, so

¹In Reihe bezieht sich auf die Belichtung des Elektronenstrahls, welcher jeden einzelnen Punkt nacheinander erstellt.

können sie selbst die Oberfläche für die Stammzellen stellen. Denkbar ist neben der unmittelbaren Aufbringung auch eine Deposition von Ta oder Ti, was die NP-Schicht stabilisieren kann, da eine bis auf die Zwischenräume geschlossene Schicht des Materials entsteht. Die Biokompatibilität der Ligandenschicht der NP muss überprüft werden, würde mit deponierter Schicht eines für seine Kompatibilität bekannten Materials jedoch gewiss verbessert werden. Ein Vorteil besteht in der Integration der aufgetragenen NP-Schicht in das gesamte System, wodurch ein Entfernen dieser nicht vonnöten ist. Ein anderer Vorteil liegt in der fehlenden Notwendigkeit einer Monolage. Wie viele Schichten an Partikeln sich aufbauen ist weniger entscheidend (außer vielleicht für das Adhäsionsvermögen der gesamten Partikelschicht auf der Probe), solange die oberste Schicht genügend ebene Fläche bietet. Ein zu hohes Maß an Inseln (Haufen) von Partikeln oder Löchern könnte sich als kontraproduktiv erweisen.

Dieser Ansatz ist in der Tat aktuelles Forschungsobjekt und bietet erste, unveröffentlichte Ergebnisse, welche in Abb. 6.1 dargestellt sind. In der ersten Reihe

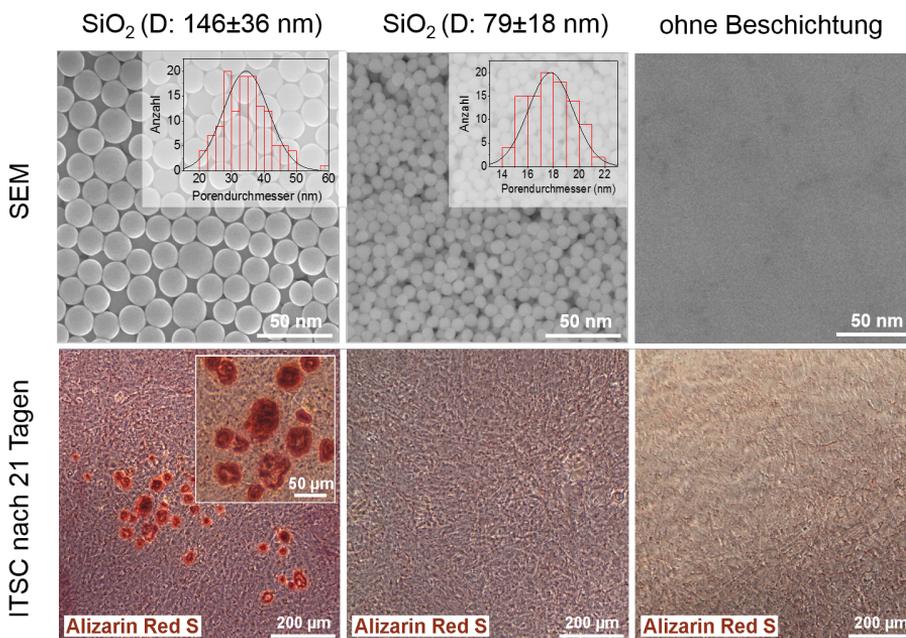


Abbildung 6.1. Ergebnisse der Zellkultivierung von ITSCs auf Nanopartikeln verschiedener Durchmesser und unbeschichtetem Glas. Eine Biomineralisation wird durch Alizarin Rot-Färbung nur auf den NP mit einem Porendurchmesser von 30 – 40 nm nachgewiesen.

sind SEM-Aufnahmen zweier Partikel-Beschichtungen verschiedener Durchmesser und eine Glasoberfläche ohne Beschichtung zu sehen. Zusätzlich sind die Histogramme der Poren, die sich durch den Zwischenabstand der NP ergeben, integriert. In der zweiten Reihe ist der Nachweis durch Alizarin Rot-Färbung aufgetragen, der vorangegangene Ergebnisse bestätigt, dass eine osteogene Differenzierung Poren von ungefähr 30 – 40 nm benötigt, ein Abstand von 16 – 20 nm indes nicht genügt.

Diese Ergebnisse unterstreichen das hohe Potential des Ansatzes über NP-beschichtete Oberflächen großflächig eine physikalisch induzierte osteogene Differenzierung von Stammzellen einzuleiten und dienen als Motivation weiterführende Versuche in diese Richtung vorzunehmen.

Literaturverzeichnis

- [1] V. N. Nikiforov and E. Y. Filinova. *Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles*, pages 393 – 455. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. ISBN 9783527627561. doi: 10.1002/9783527627561.ch10. (Zitiert auf Seite 10)
- [2] S. P. Gubin. *Introduction*, pages 1 – 23. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. ISBN 9783527627561. doi: 10.1002/9783527627561.ch1. (Zitiert auf Seite 10)
- [3] Martin Gottschalk. *Kontaktierung einzelner Co-Nanopartikel*. Master's thesis, Universität Bielefeld, 2 2014. (Zitiert auf Seite 10, 39, 41, 43, 53)
- [4] M. Schürmann, A. Wolff, D. Widera, S. Hauser, P. Heimann, A. Hütten, C. Kaltschmidt, and B. Kaltschmidt. Interaction of adult human neural crest-derived stem cells with a nanoporous titanium surface is sufficient to induce their osteogenic differentiation. *Stem Cell Research*, 13(1):98 – 110, 2014. ISSN 18767753. doi: 10.1016/j.scr.2014.04.017. (Zitiert auf Seite 11, 75, 79, 80, 82, 89)
- [5] N. Yao. *Focused ion beam systems: basics and applications*. Cambridge University Press, 2007. (Zitiert auf Seite 14, 16, 17, 19)
- [6] *Helios NanoLab 400/400S/600 System User's Guide*. FEI Company, 2008. (Zitiert auf Seite 17)
- [7] Dieter Akemeier. *Nano-Prototyping and 3D Bioimaging with Dual Beam Microscopy*. PhD Thesis, Universität Bielefeld, 2013. (Zitiert auf Seite 20)

- [8] J.P. McCaffrey, M.W. Phaneuf, and L.D. Madsen. Surface damage formation during ion-beam thinning of samples for transmission electron microscopy. *Ultramicroscopy*, 87(3):97 – 104, 2001. ISSN 0304-3991. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991\(00\)00096-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3991(00)00096-6). (Zitiert auf Seite 21)
- [9] S. Rubanov and P. R. Munroe. FIB-induced damage in silicon. *Journal of Microscopy*, 214(3):213 – 221, 2004. ISSN 1365-2818. doi: 10.1111/j.0022-2720.2004.01327.x. (Zitiert auf Seite 21)
- [10] F. Eggert. *Grundlagen und Probleme der quantitativen Analytik mittels EDX*, abrufen: Oktober 2017. URL <http://docplayer.org/7816552-Grundlagen-und-probleme-der-quantitativen-analytik-mittels-edx.html>. (Zitiert auf Seite 22)
- [11] *Genesis Spectrum User's Manual*. EDAX Inc., November 2006. (Zitiert auf Seite 22)
- [12] Dr. E. Ecke. *Mikro- und Nanoanalytik*, abrufen: Oktober 2017. URL https://www.tu-ilmenau.de/fileadmin/media/mne_nano/Lehre/Vorlesung/Nanoanalytik/MikroNanoAnalytikSkript.pdf. (Zitiert auf Seite 23)
- [13] *Platinum Deposition Technical Note*. FEI Company, 2007. (Zitiert auf Seite 24, 26)
- [14] R.M. Langford, T.-X. Wang, and D. Ozkaya. Reducing the resistivity of electron and ion beam assisted deposited Pt. *Microelectronic Engineering*, 84(5):784 – 788, 2007. ISSN 0167-9317. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mee.2007.01.055>. Proceedings of the 32nd International Conference on Micro- and Nano-Engineering. (Zitiert auf Seite 26)
- [15] A. Botman, D. A. M. de Winter, and J. J. L. Mulders. Electron-beam-induced deposition of platinum at low landing energies. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 26(6):2460 – 2463, 2008. ISSN 0167-9317. doi: <http://dx.doi.org/10.1116/1.2976576>. (Zitiert auf Seite 26)
- [16] S. Lipp, L. Frey, C. Lehrer, E. Demm, S. Pauthner, and H. Ryssel. A comparison of focused ion beam and electron beam induced deposition processes. *Microelectronics Reliability*, 36(11):1779 – 1782, 1996. ISSN

- 0026-2714. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0026-2714\(96\)00196-5](http://dx.doi.org/10.1016/0026-2714(96)00196-5). Reliability of Electron Devices, Failure Physics and Analysis. (Zitiert auf Seite 26)
- [17] T. Malis, S. C. Cheng, and R. F. Egerton. EELS log-ratio technique for specimen-thickness measurement in the TEM. *Journal of Electron Microscopy Technique*, 8(2):193–200, 1988. ISSN 1553-0817. doi: 10.1002/jemt.1060080206. (Zitiert auf Seite 28)
- [18] C. A. Volkert and A. M. Minor. Focused Ion Beam Microscopy and Micromachining. *MRS Bulletin*, 32(5):389 – 399, 2007. doi: 10.1557/mrs2007.62. (Zitiert auf Seite 30)
- [19] N.D. Bassim, B.T. De Gregorio, A.L.D. Kilcoyne, K. Scott, T. Chou, S. Wierick, G. Cody, and R.M. Stroud. Minimizing damage during FIB sample preparation of soft materials. *Journal of Microscopy*, 245(3):288 – 301, 2012. ISSN 1365-2818. doi: 10.1111/j.1365-2818.2011.03570.x. (Zitiert auf Seite 30, 32)
- [20] ALLRESIST GmbH. *Negativ-E-Beam Resists AR-N 7520*, abgerufen: April 2017. URL www.allresist.de/wp-content/uploads/2016/12/allresist_produkinfos_ar-n7520_deutsch.pdf. (Zitiert auf Seite 33, 63)
- [21] ALLRESIST GmbH. *Positiv-E-Beam Resists AR-P 610er*, abgerufen: April 2017. URL <http://www.allresist.de/ar-p-610/>. (Zitiert auf Seite 33, 83)
- [22] A. Weddemann, A. Auge, C. Albon, F. Wittbracht, and A. Hütten. Toward the magnetoresistive detection of single magnetic nanoparticles: New strategies for particle detection by adjustment of sensor shape. *Journal of Applied Physics*, 107(10), 2010. ISSN 00218979. doi: 10.1063/1.3427549. (Zitiert auf Seite 38)
- [23] W. F. Brinkman, R. C. Dynes, and J. M. Rowell. Tunneling conductance of asymmetrical barriers. *Journal of Applied Physics*, 41(5):1915 – 1921, 1970. ISSN 00218979. doi: 10.1063/1.1659141. (Zitiert auf Seite 41)

- [24] Marvin Walter. Diplomarbeit *Untersuchung der Transporteigenschaften von CoFeB|MgO|CoFeB Tunnelmagnetowiderstandselementen*, 2009. (Zitiert auf Seite 41)
- [25] A. Weddemann, I. Ennen, A. Regtmeier, C. Albon, A. Wolff, K. Eckstädt, N. Mill, M. K-H Peter, J. Mattay, C. Plattner, N. Sewald, and A. Hütten. Review and outlook: from single nanoparticles to self-assembled monolayers and granular GMR sensors. *Beilstein journal of nanotechnology*, 1: 75–93, January 2010. ISSN 2190-4286. doi: 10.3762/bjnano.1.10. (Zitiert auf Seite 43)
- [26] C.-J. Chen, R.-K. Chiang, H.-Y. Lai, and C.-R. Lin. Characterization of Monodisperse Wüstite Nanoparticles following Partial Oxidation. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(10):4258 – 4263, 2010. doi: 10.1021/jp908153y. (Zitiert auf Seite 46)
- [27] *Materials Project*, Oktober 2017. URL <https://materialsproject.org/>. (Zitiert auf Seite 48)
- [28] N. Shibata, S. D. Findlay, Y. Kohno, H. Sawada, Y. Kondo, and Y. Ikuhara. Differential phase-contrast microscopy at atomic resolution. *Nature Physics*, 8(8):611–615, 2012. ISSN 1745-2473. doi: 10.1038/nphys2337. (Zitiert auf Seite 55)
- [29] Marianne Haase. *Martensitische Nanopartikel – Charakterisierung, Vergleich und Herstellung von Ni₅₀Mn_{50-x}Ga_x-Dünnschichten auf Substrat, freistehend und in Form von Nanopartikeln in Bezug auf ihre kristallinen, strukturellen und magnetischen Eigenschaften zur Anwendung für granulare Transportmessungen*. PhD Thesis, Universität Bielefeld, unveröffentlicht, Stand Oktober 2017. (Zitiert auf Seite 57)
- [30] C. Felser and A. Hirohata, editors. *Heusler Alloys*. Springer International Publishing, 2016. ISBN 978-3-319-21449-8. doi: 10.1007/978-3-319-21449-8_5. (Zitiert auf Seite 57)
- [31] Y. Jing, Y. Xu, and J. P. Wang. Fabrication of Heuslar Fe₃Si nanoparticles. *Journal of Applied Physics*, 105(7):2007 – 2010, 2009. doi: 10.1063/1.3074135. (Zitiert auf Seite 57)

- [32] Basit-L. Khalavka Y. Guo Y. Casper F. Gasi T. et al. Wang, C. Probing the Size Effect of Co₂FeGa-SiO₂@C Nanocomposite Particles Prepared by a Chemical Approach. *Chemistry of Materials*, 22:6575 – 6582, 2012. doi: 10.1021/cm1023579. (Zitiert auf Seite 57)
- [33] S. Wurmehl and M. Wójcik. *Structural Order in Heusler Compounds*, pages 87 – 109. Springer International Publishing, 2016. ISBN 978-3-319-21449-8. doi: 10.1007/978-3-319-21449-8_4. (Zitiert auf Seite 57)
- [34] J. Meyer, N. Teichert, A. Auge, C. Wang, A. Hütten, and C. Felser. *Heusler Compounds Go Nano*, pages 111 – 132. Springer International Publishing, 2016. ISBN 978-3-319-21449-8. doi: 10.1007/978-3-319-21449-8_5. (Zitiert auf Seite 57, 73)
- [35] Y. D. Wang, Y. Ren, Z. H. Nie, D. M. Liu, L. Zuo, H. Choo, H. Li, P. K. Liaw, J. Q. Yan, R. J. McQueeney, J. W. Richardson, and A. Huq. Structural transition of ferromagnetic Ni₂MnGa nanoparticles. *Journal of Applied Physics*, 101(6), 2007. ISSN 00218979. doi: 10.1063/1.2713370. (Zitiert auf Seite 57)
- [36] T. Graf, C. Felser, and S. S.P. Parkin. Simple rules for the understanding of Heusler compounds. *Progress in Solid State Chemistry*, 39(1):1 – 50, 2011. ISSN 00796786. doi: 10.1016/j.progsolidstchem.2011.02.001. (Zitiert auf Seite 58, 59)
- [37] C. Felser, L. Wollmann, S. Chadov, G. H. Fecher, and S. S. P. Parkin. Basics and prospective of magnetic Heusler compounds. *APL Materials*, 3(4): 041518, 2015. doi: 10.1063/1.4917387. (Zitiert auf Seite 58)
- [38] G. D. Liu, J. L. Chen, Z. H. Liu, X. F. Dai, G. H. Wu, B. Zhang, and X. X. Zhang. Martensitic transformation and shape memory effect in a ferromagnetic shape memory alloy: Mn₂NiGa. *Applied Physics Letters*, 87 (26):262504, 2005. ISSN 0003-6951. doi: 10.1063/1.2158507. (Zitiert auf Seite 59)
- [39] G. D. Liu, X. F. Dai, S. Y. Yu, Z. Y. Zhu, J. L. Chen, G. H. Wu, H. Zhu, and J. Q. Xiao. Physical and electronic structure and magnetism of Mn₂NiGa: Experiment and density-functional theory calculations. *Phys. Rev. B*, 74:

- 054435, Aug 2006. doi: 10.1103/PhysRevB.74.054435. (Zitiert auf Seite 59)
- [40] A. Vasil'ev, A. Bozhko, and V. Khovailo. Structural and magnetic phase transitions in shape-memory alloys $\text{Ni}_{2+x}\text{Mn}_{1-x}\text{Ga}$. *Physical Review B*, 59(2):1113 – 1120, 1999. ISSN 0163-1829. doi: 10.1103/PhysRevB.59.1113. (Zitiert auf Seite 60)
- [41] K. Ullakko, J. K. Huang, C. Kantner, R. C. O'Handley, and V. V. Kokorin. Large magnetic field induced strains in Ni_2MnGa single crystals. *Applied Physics Letters*, 69(13):1966 – 1968, 1996. doi: 10.1063/1.117637. (Zitiert auf Seite 60)
- [42] H. D. Chopra, C. Ji, and V. V. Kokorin. Magnetic-field-induced twin boundary motion in magnetic shape-memory alloys. *Phys. Rev. B*, 61:R14913 – R14915, Jun 2000. doi: 10.1103/PhysRevB.61.R14913. (Zitiert auf Seite 60)
- [43] A. Sozinov, A. A. Likhachev, N. Lanska, and K. Ullakko. Giant magnetic-field-induced strain in NiMnGa seven-layered martensitic phase. *Applied Physics Letters*, 80(10):1746 – 1748, 2002. doi: 10.1063/1.1458075. (Zitiert auf Seite 60)
- [44] H. H. Wu, A. Pramanick, Y. B. Ke, and X. L. Wang. Real-space phase field investigation of evolving magnetic domains and twin structures in a ferromagnetic shape memory alloy. *Journal of Applied Physics*, 120(18), 2016. ISSN 10897550. doi: 10.1063/1.4967531. (Zitiert auf Seite 60)
- [45] Niclas Teichert. *Shape memory Heusler alloys for thin film applications*. PhD Thesis, Universität Bielefeld, April 2016. URL <https://pub.uni-bielefeld.de/download/2902807/2902808>. (Zitiert auf Seite 61)
- [46] P. J. Webster, K. R. A. Ziebeck, S. L. Town, and M. S. Peak. Magnetic order and phase transformation in Ni_2MnGa . *Philosophical Magazine Part B*, 49(3):295 – 310, 1984. doi: 10.1080/13642817408246515. (Zitiert auf Seite 61)
- [47] Microchemicals. *Chromium Etching*, abgerufen: September 2017. URL [www.microchemicals.com/downloads/applications{_\]notes.html](http://www.microchemicals.com/downloads/applications/{_}notes.html). (Zitiert auf Seite 61)

- [48] GoodfellowUSA. *Magnetic Shape Memory Material Datasheet*, abgerufen: November 2017. URL <http://www.goodfellowusa.com/larger-quantities/alloys/magnetic-shape-memory-material-datasheet/>. (Zitiert auf Seite 69)
- [49] A. Auge, N. Teichert, M. Meinert, G. Reiss, A. Hütten, E. Yüzüak, I. Dincer, Y. Elerman, I. Ennen, and P. Schattschneider. Thickness dependence of the martensitic transformation, magnetism, and magnetoresistance in epitaxial Ni-Mn-Sn ultrathin films. *Phys. Rev. B*, 85:214118, Jun 2012. doi: 10.1103/PhysRevB.85.214118. (Zitiert auf Seite 72)
- [50] N. Teichert, A. Auge, E. Yüzüak, I. Dincer, Y. Elerman, B. Krumme, H. Wende, O. Yildirim, K. Potzger, and A. Hütten. Influence of film thickness and composition on the martensitic transformation in epitaxial Ni-Mn-Sn thin films. *Acta Materialia*, 86(Supplement C):279 – 285, 2015. ISSN 1359-6454. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2014.12.019>. (Zitiert auf Seite 72)
- [51] B. Kaltschmidt, C. Kaltschmidt, and D. Widera. Adult Craniofacial Stem Cells: Sources and Relation to the Neural Crest. *Stem Cell Reviews and Reports*, 8(3):658 – 671, 2012. ISSN 15508943. doi: 10.1007/s12015-011-9340-9. (Zitiert auf Seite 77)
- [52] K. Marynka-Kalmani, S. Treves, M. Yafee, H. Rachima, Y. Gafni, M. A. Cohen, and S. Pitaru. The lamina propria of adult human oral mucosa harbors a novel stem cell population. *Stem Cells*, 28(5):984 – 995, 2010. ISSN 10665099. doi: 10.1002/stem.425. (Zitiert auf Seite 77)
- [53] S. J. Dangaria, Y. Ito, L. Yin, G. Valdré, X. Luan, and T. G.H. Diekwisch. Apatite Microtopographies Instruct Signaling Tapestries for Progenitor-Driven New Attachment of Teeth. *Tissue Engineering Part A*, 17(3-4):279 – 290, 2011. ISSN 1937-3341. doi: 10.1089/ten.tea.2010.0264. (Zitiert auf Seite 78)
- [54] F. Marco, F. Milena, G. Gianluca, and O.i Vittoria. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron*, 36(7):630 – 644, 2005. ISSN 0968-4328. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2005.07.008>. Bone structure in health and disease. (Zitiert auf Seite 78)

- [55] A. Wennerberg and T. Albrektsson. Effects of titanium surface topography on bone integration: A systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 20(SUPPL. 4):172 – 184, 2009. ISSN 09057161. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x. (Zitiert auf Seite 78)
- [56] J. Park, S. Bauer, K. Von Der Mark, and P. Schmuki. Nanosize and vitality: TiO₂ nanotube diameter directs cell fate. *Nano Letters*, 7(6):1686 – 1691, 2007. ISSN 15306984. doi: 10.1021/nl070678d. (Zitiert auf Seite 78)
- [57] D. G. Bello, A. Fouillen, A. Badia, and A. Nanci. A nanoporous titanium surface promotes the maturation of focal adhesions and the formation of filopodia with distinctive nanoscale protrusions by osteogenic cells. *Acta Biomaterialia*, 2017. ISSN 17427061. doi: 10.1016/j.actbio.2017.07.022. (Zitiert auf Seite 78)
- [58] S. Lavenus, M. Berreur, V. Trichet, P. Pilet, G. Louarn, and P. Layrolle. Adhesion and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on titanium nanopores. *European Cells and Materials*, 22(December 2011): 84 – 96, 2011. ISSN 14732262. doi: 10.22203/eCM.v022a07. (Zitiert auf Seite 79)
- [59] H.-A. Pan, J.-Y. Liang, Y.-C. Hung, C.-H. Lee, J.-C. Chiou, and G. S. Huang. The spatial and temporal control of cell migration by nanoporous surfaces through the regulation of ERK and integrins in fibroblasts. *Biomaterials*, 34(4):841 – 853, 2013. ISSN 0142-9612. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.078>. (Zitiert auf Seite 79)
- [60] B. Duan, H. Niu, W. Zhang, Y. Ma, Y. Yuan, and C. Liu. Microporous density-mediated response of MSCs on 3D trimodal macro/micro/nanoporous scaffolds via fibronectin/integrin and FAK/MAPK signaling pathways. *J. Mater. Chem. B*, 5:3586 – 3599, 2017. doi: 10.1039/C7TB00041C. (Zitiert auf Seite 79)
- [61] Y. Song, Y. Ju, Y. Morita, B. Xu, and G. Song. Surface functionalization of nanoporous alumina with bone morphogenetic protein 2 for inducing osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Materials Science and Engineering: C*, 37(Supplement C):120 – 126, 2014. ISSN 0928-4931. doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.01.004>. (Zitiert auf Seite 79)

- [62] Annalena Wolff. *Biomimetics and functional nanostructures*. PhD Thesis, Universität Bielefeld, 2014. URL <https://pub.uni-bielefeld.de/publication/2663142>. (Zitiert auf Seite 80, 83)
- [63] Mary Ellen Ellis. *ALP (Alkaline Phosphatase Level) Test*, abgerufen September 2017. URL <http://www.healthline.com/health/alp?m=0#overview1>. (Zitiert auf Seite 81)

Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematischer Aufbau des Dual-Beam-Systems	15
2.2	Elektronenbirne der Signalauslösung	17
2.3	Auslösung des EDX-Signals durch die verschiedenen Übergänge im Atom	22
2.4	Aufbau eines EDX-Spektrums	23
2.6	Gasdeposition in der FIB	24
2.5	Beispiel eines Linescans und Mappings	25
2.7	HRTEM-Aufnahme einer Lamelle eines TMR-Stacks	28
2.8	HRTEM-Aufnahme einer Lamelle mit einer Thickness-Map	29
2.9	Beschichtung dreidimensionaler Strukturen	29
2.10	Parameter zur Strahlveränderung während des Ätzens	30
2.11	Qualitätsunterschiede in der Abbildung von nicht-leitenden Ma- terialien	31
2.12	Unterschied der Strukturierung von Positiv- und Negativlack.	32
2.13	Die Punktbelichtung der Elektronenstrahlithografie	33
3.1	Schema der Nanopartikeleinkontaktierung.	39
3.2	Grenzen der Pt-Deposition in der FIB	40
3.3	Zweistufige Kontaktierung mittels GIS	43
3.4	Beispielhafte Strom-Spannungs-Messungen und deren Brinkmann- Fit	44
3.5	Stern-Nanopartikel-Aufnahme	46
3.6	TEM-Aufnahme eines Stern-Nanopartikels	47
3.7	FFT-Filterung zweier Teilbereiche des Sternpartikels	49
3.8	Kryo-FIB zum Ätzen kohlenstoffbasierter Matrices	50

3.9	Aufbau der Kryo-Erweiterung	51
3.10	Temperaturverlauf der Kryo-FIB-Anwendung	52
3.11	DPC-Modus der Lorentz-Mikroskopie an Cobalt-NP	55
4.1	Illustration der L2 ₁ -Struktur des Ni ₂ MnGa	58
4.2	Periodensystem mit Markierung der möglichen Komponenten für X, Y und Z des Heuslers	59
4.3	Verhältnis der Gitterkonstanten von MgO, V, und Heusler	60
4.4	Schematische Darstellung des Herstellungsprozesses der Heusler-Partikel	62
4.5	Dosistest für minimale Strukturierung von Negativlacksäulen	63
4.6	Beispiel einer bündigen Belichtung durch zu hohe Dosis oder zu geringen Säulenabstand	64
4.7	Übersichtsbild der bestmöglichen erzeugten Säulen	65
4.9	Auf- und Seitenansicht auf heruntergeätzte Säulen	66
4.8	Linescan an einer einzelnen Heusler-Scheibe	66
4.10	REM-Aufnahme des Substrates nach erfolgreichem Nassätzen	67
4.11	REM-Aufnahme des Filterpapiers mit Partikeln	68
4.12	HAADF- und EDX-Aufnahme zweier Heusler-Partikel	71
5.1	Schema der Stammzellentwicklungsmöglichkeiten	77
5.2	Ursprung der ITSCs im menschlichen Kopf.	78
5.3	Histogramme der Membran-Porendurchmesser	79
5.4	Biologische Nachweismethoden einer osteogenen Differenzierung	81
5.5	Porenerzeugung mittels Elektronenstrahlithografie	83
5.6	Erzeugte Poren im Positivlack	84
5.7	Schema der Übertragung von Poren mit Hilfe von Positivlack in darunter liegende Schichten	85
5.8	Vergleich der hergestellten Poren unterschiedlicher Ätzdauer	86
5.9	Verkleinerung der Poren durch Au-Deponierung	87
5.10	Verkleinerung der Poren durch Ta- und Ti-Deponierung	88
6.1	Zellbiologische Aktivität auf Partikelschichten	94

Tabellenverzeichnis

2.1	Gegenüberstellung der Elektronen- und Ioneneigenschaften . . .	16
3.1	Messergebnisse und Brinkmann-Fit der NP-Einzelkontaktierungen	44
5.1	Auszählung der Porendurchmesser in Membranen	80
5.2	Ergebnisse der Dosis- und Ätzdauertests	87
5.3	Auszählung der finalen Porendurchmesser	89

Publikationen und Tagungen

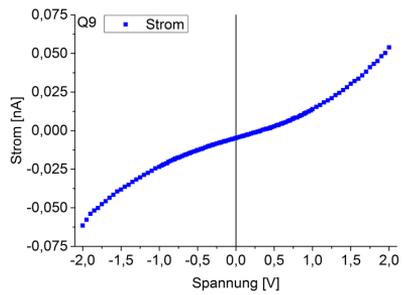
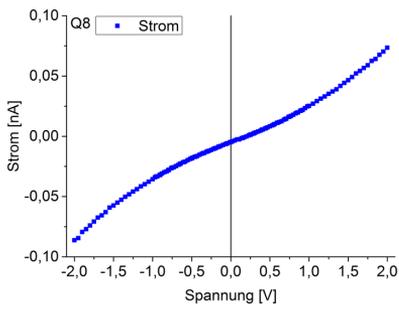
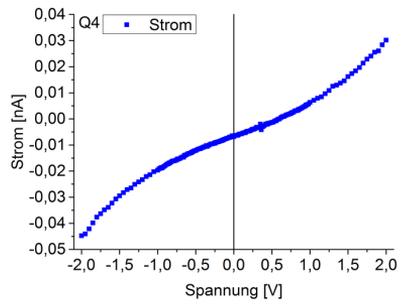
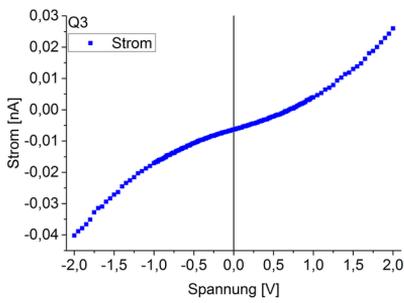
A.1 Publikationen

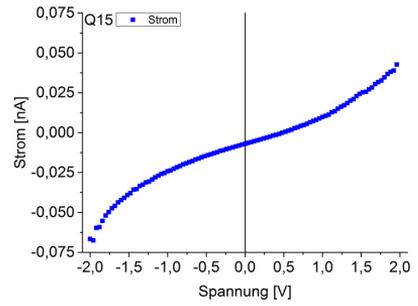
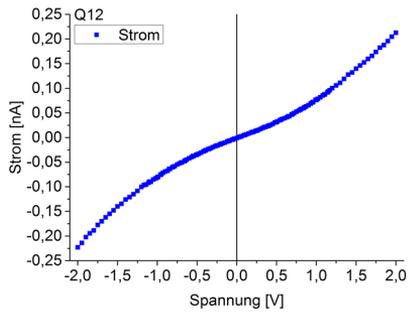
- „*Tribiological Performance of TiO₂-Nanostructured Particles as Oil-Lubricant Additives for Different Iron-Carbon Alloys*“, A. Beel, M. Gottschalk, A. Huetten, K. Toensing, D. Anselmetti, Materials Today (accepted)
- „*Spin and stress-depending transport in nanoparticle supercrystals: On a new way of sensing based on the elastic and chemical properties of organic tunnel barriers*“, A. Dreyer, T. Rempel, M. Gottschalk, R. Zierold, A. Feld, A. Weimer, G.A. Schneider, H. Weller, A. Hütten – in Präparation
- „*Magnetic Sensitive Metallic-Organic Nanocomposit*“, A. Dreyer, M. Gottschalk, A. Hütten – in Präparation
- „*Nature’s secret of initiation osteogenic differentiation of adult human stem cells*“, M. Schürmann, M. Gottschalk, J.F.W. Greiner, P. Heimann, H. Sudhoff, A. Hütten, C. Kaltschmidt, B. Kaltschmidt – in Präparation
- „*Top-Down Approach to fabricate Martensitic Nanoparticles*“, M. Haase, M. Gottschalk, N. Teichert, I. Ennen, A. Hütten – in Präparation

A.2 Tagungen

- *Characterization of Single and Clustered Nanoparticles*, Postervortrag, 581. WE-Heraeus-Seminar, Bad Honnef 2015
- *Characterization of Single and Clustered Nanoparticles*, Postervortrag, DPG Spring Meeting 2015, Berlin 2015
- *Nanoporous Surfaces for Physically Induced osteogenic stem cell differentiation*, Vortrag, DPG Spring Meeting 2016, Regensburg 2016

Strom-Spannungsmessungen von Nanopartikeln (Kap. 3)





Danksagung

Es mag lediglich mein Name auf dieser Doktorarbeit stehen, aber ermöglicht und mitgewirkt haben direkt, wie auch indirekt, viele Menschen daran. Während der Zeit meiner Promotion habe ich unheimlich viel Unterstützung sowohl fachlicher als auch zwischenmenschlicher Natur erhalten, wofür ich mich an dieser Stelle bedanken möchte.

Zuvorderst gilt mein Dank meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Hütten, welcher mir nach der Masterarbeit bei ihm erst die Möglichkeit der Promotion gab und mich während dieser Zeit vorbildlich betreut hat und des Weiteren beibrachte, dass Optimismus in der Forschung auch eine Sache des Mutes dazu ist.

Ich bedanke mich ebenso bei Prof. Dr. Thomas Huser, welcher sich als Zweitgutachter meiner Arbeit zur Verfügung gestellt hat.

Meinen Kooperationspartnern möchte ich für die hervorragende und produktive Zusammenarbeit danken. Zu nennen sind dabei Prof. Dr. Barbara Kaltschmidt und Prof. Dr. Christian Kaltschmidt, Dr. Matthias Schürmann, Dr. Johannes Greiner und Dr. Peter Heimann aus der Biologie, welche mich mit unserem interdisziplinären Projekt über den Tellerrand der Physik haben hinausblicken lassen. Im Zuge der Projekte zu den Nanopartikeln und TEM-Analysen möchte ich Dr. Axel Dreyer, sowie Daniela Ramermann, Dr. Inga Ennen und Nadine Fokin danken.

Größten Dank möchte ich auch Dr. Karsten Rott aussprechen, welcher einerseits mit seiner enormen allgemeinen Hilfsbereitschaft und andererseits als

Betreuer der FIB mit seinem Know-How jemand war, auf den zu jeglicher Zeit Verlass war. Ferner möchte ich mich für die Hilfe in verwaltungstechnischen Angelegenheiten bei Aggi Windmann, Elke Siedlaczek und Inge Wiefel bedanken.

Niclas Teichert möchte ich nicht nur für seine Mitwirkung an dem Heusler-Nanopartikel-Projekt danken, sondern ebenso für das Korrekturlesen meiner Arbeit und vor allem für die ruhige und produktive Atmosphäre als mein mittlerweile langjähriger Büronachbar, der sich stets die Zeit für kleine Fragen „von der Seite“ nahm.

Spezieller Dank gilt meinen Kollegen Marianne Haase und Thomas Rempel, mit denen ich gemeinsam unzählige Stunden im Labor verbrachte und die es schafften auch in gelb beleuchtete Laboratorien Farbe zu bringen. Über beschriebene Projekte hinaus hat man sich aufeinander verlassen können und gewissenhaft ausgeholfen.

Der gesamten Arbeitsgruppe D2 möchte ich für die angenehme und entspannte Arbeitsatmosphäre während des letzten halben Jahrzehnts in der Zeit meiner Master- und Doktorarbeit danken.

Meiner Familie möchte ich dafür danken mir den Weg des Studiums und der Promotion erst ermöglicht zu haben. Wortlos in ihrer Vorbildfunktion haben sie die dafür nötige Neugierde und Strebsamkeit in mir geformt.

Nicht minder Dank gilt meinem Freund und meinen engsten Freunden, die mir mit offenem Ohr oder externer Reflektion in schwierigen Zeiten geholfen haben meinen Weg zu finden.