

Max-Planck-Institut für Biochemie
Abteilung Membran- und Neurophysik

**Hoch-K-Materialien in der
Elektrolyt/Isolator/Silizium-Konfiguration:
Charakterisierung und Anwendung in der Bioelektronik**

Frank Wallrapp

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Physik der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Manfred Kleber
Prüfer der Dissertation: 1. Hon.-Prof. Dr. Peter Fromherz
2. Univ.-Prof. Dr. Andreas Bausch

Die Dissertation wurde am 13.11.2006 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Physik am 19.12.2006 angenommen.

Zusammenfassung

Um Aktionspotentiale in Nervenzellen auszulösen (=„Stimulation“), welche auf Elektroden adhärirt sind, muss ein gewisser Strom über die Elektrode fließen. Elektrochemische Reaktionen an der Elektrode können Schäden an Zelle und Elektrode verursachen. Dies wird vermieden durch Siliziumelektroden, deren Oberfläche mit einem Dielektrikum isoliert ist. Dadurch fließt ausschließlich kapazitiver Strom und elektrochemische Reaktionen werden vermieden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, Stimulationschips mit möglichst hohen Kapazitäten, die neue Anwendungsmöglichkeiten erlauben, herzustellen, zu charakterisieren und schließlich zur Stimulation von Zellen einzusetzen. Um eine Kapazitätserhöhung zu erzielen, wurde das bislang verwendete Dielektrikum SiO_2 durch die Materialien TiO_2 und HfO_2 , welche eine höhere Dielektrizitätskonstante besitzen, ersetzt. Beide Materialien wurden mittels ALD („Atomic Layer Deposition“) auf dem Substrat deponiert.

Die Chips wurden in einer Elektrolyt/Isolator/Halbleiter-Konfiguration (EIS-Konfiguration) elektrisch charakterisiert. Dabei stellte sich heraus, dass dank des geringen Leckstroms, die EIS-Konfiguration eine genauere Charakterisierung der Hoch-K-Materialien HfO_2 und TiO_2 erlaubt, als dies mit der herkömmlichen Methode eines Frontkontakts aus Metall möglich ist (MIS-Konfiguration).

Die spannungsabhängigen Kapazitäten der HfO_2 -Schichten konnten mit dem gängigen Modell eines Metall/Isolator/Silizium-Systems interpretiert werden. Im Gegensatz dazu zeigten die TiO_2 -Schichten einige interessante Eigenschaften, die nur mit Hilfe numerischer Modellrechnungen unter der Annahme der Existenz freier Ladungsträger im TiO_2 interpretiert werden konnten. Das niedrige Leitungsband im TiO_2 führte in manchen Bereichen der externen Spannung zu einer Anreicherung von Elektronen im TiO_2 , was sich in einer erhöhten Kapazität äußerte. Die Auswirkungen von hohen Spannungen, Frequenz, Schichtdicke und Pufferschicht auf die Kapazitäten wurden untersucht und konnten mit dem Modell in Einklang gebracht werden.

Die neuartigen TiO_2 -Stimulationschips wiesen eine circa die fünffache höhere Kapazität als die bisher verwendeten SiO_2 -Chips auf. Mit ihnen wurden in HEK293 Zellen, die den rekombinanten K^+ -Ionenkanal Kv 1.3 exprimieren, zwei fundamentale Stimulationsmechanismen unterschieden: zum einen das Öffnen von Ionenkanäle und zum anderen die Elektroporation der Zellmembran. Je nach Art der Stimulationsspannung konnten gezielt Ionenkanäle geöffnet oder Poren in der Membran erzeugt werden. Da über den Kondensator während der Stimulation ausschließlich kapazitiver Strom floss, wurden elektrochemische Vorgänge, die die Zelle schädigen, vermieden.

Die neuartigen Chips mit Hoch-K-Beschichtung erlaubten auch in anderen Arbeiten eine Reihe von biologischen Anwendungen.

Abstract

In order to elicit action potentials in nerve cells adhered on electrodes, a certain current is required across the electrode. Electrochemical reactions may cause damage to cells and electrodes. This is evaded by using silicon electrodes which are insulated by a dielectric. In doing so, only capacitive current is flowing, and electrochemical are avoided.

The aim of this work was to fabricate novel stimulation chips exhibiting an enhanced capacitance which render new biological applications possible. These chips were to be characterized and used for the stimulation of cells. The formerly used dielectric SiO_2 was replaced by HfO_2 and TiO_2 , with both of them featuring a higher dielectric constant. They were deposited on the silicon substrate by ALD (atomic layer deposition).

The chips were characterized in the electrolyte/insulator/semiconductor (EIS) configuration. Owing to the low leakage current of the EIS configuration, the characterization of the high-k materials was possible in more detail as compared to using a metallic top contact (MIS configuration).

The voltage-dependent capacitances of the HfO_2 films could be interpreted by means of a common metal/ SiO_2 /silicon system. In contrast, the TiO_2 films exhibited interesting properties which could only be rationalized with the help of numerical calculations assuming free electrons in the TiO_2 . The low-lying conduction band of TiO_2 caused accumulation of electrons within the TiO_2 for certain voltages, which led to an enhanced capacitance. The effects of high voltages, frequency, film thickness and interlayer composition were examined and brought into compliance with the model.

The novel TiO_2 stimulation devices featured a five-fold capacitance increase as compared to former SiO_2 chips. Using them, two fundamental stimulation mechanisms were induced in HEK293 cells expressing the recombinant potassium channel Kv1.3: Opening of ion channels and electroporation of the cell membrane. Depending on the stimulus shape, one of these mechanisms or both of them simultaneously could be induced. Because only capacitive current was flowing during stimulation, electrochemical reactions damaging the cell were avoided.

The new devices were used successfully also in various other projects, in which they rendered new biological applications possible.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Hoch-K-Stimulationschips	1
1.3	Stimulation von Zellen	3
1.4	Überblick über die Arbeit	4
2	Grundlagen der Elektrolyt/Hoch-K/Halbleiter-Kondensatoren	5
2.1	Theoretische Beschreibung	5
2.1.1	Ladungsträgerstatistik in Halbleitern	5
2.1.2	Das Metall/SiO ₂ /Silizium-System	10
2.1.3	Das Metall/Hoch-K/Silizium-System	17
2.1.4	Das Elektrolyt/Hoch-K/Silizium-System	19
2.2	Materialien und Methoden I: Chipcharakterisierung	23
2.2.1	Der Stimulationschip	23
2.2.2	Elektrische Messtechnik	26
2.2.3	Weitere Analysemethoden	29
3	Charakterisierung der Hoch-K-Kondensatoren mit Nitridpuffer	33
3.1	Referenzsysteme	33
3.1.1	HfO ₂ und TiO ₂ mit Metall-Frontkontakt	33
3.1.2	SiO ₂ in der Elektrolyt/Oxid/Halbleiter-Konfiguration	34
3.2	Frische Chips mit Hoch-K-Beschichtung	38
3.2.1	Messung	38
3.2.2	Dielektrizitätskonstanten	40
3.2.3	Simulation des Elektrolyt/TiO ₂ /Silizium-Systems	43
3.2.4	Simulation anderer Materialien	50
3.3	Konditionierung der Chips mit Hoch-K-Beschichtung	51
3.3.1	Messung	52

3.3.2	Simulation des TiO ₂ -Systems mit festen Ladungen an der Grenzfläche .	54
3.3.3	Erklärung der TiO ₂ -CV-Kurve mit festen Ladungen	57
3.3.4	Variation der Frequenz	59
3.4	Leckströme der Hoch-K-Kondensatoren	61
3.4.1	Verschiedene Oxiddicken	61
3.4.2	Konditionierung	63
3.5	Zusammenfassung	64
4	Variation der Pufferschicht zwischen TiO₂ und Silizium	65
4.1	Leckströme	65
4.2	Experimentelle Bestimmung der Bandstruktur	66
4.3	Kapazität von frischen und konditionierten Chips bei 100 Hz	67
4.3.1	Messungen	67
4.3.2	Simulation der Kapazität bei verschiedenen Bandunterschieden	70
4.4	Frequenzabhängigkeit	73
4.4.1	Messung	73
4.4.2	Verarmung des p ⁺ -Si im TiO ₂ /Al ₂ O ₃ /Si-System	75
4.4.3	Beweglichkeit der Elektronen im TiO ₂	75
4.4.4	Grenzflächenzustände als mögliche Erklärung der CV-Kurven mit Al ₂ O ₃ - und TiSi _X O _Y -Puffer	76
4.5	Zusammenfassung	77
5	Stimulation von Zellen: Grundlagen	79
5.1	Stimulationsmechanismen	80
5.1.1	Der Kv1.3-Kanal in HEK293-Zellen	80
5.1.2	Elektroporation	83
5.2	Theorie der kapazitiven extrazellulären Stimulation	84
5.2.1	Modellsystem	84
5.2.2	Prinzip der Stimulation	84
5.2.3	Kern-Mantel-Leiter-Modell und Ein-Kompartiment-Modell	85
5.2.4	Spannungsrampen am Chip	86
5.2.5	Erwartete Spaltspannung	88
5.2.6	Erweitertes Modell	90
5.3	Materialien und Methoden II: Stimulationsexperimente	97
5.3.1	Messaufbau	97
5.3.2	Stimulationschip	97
5.3.3	Zellkultur auf Chips	99
5.3.4	Patch-Clamp-Technik	100
5.3.5	Flächenbestimmung	101

6	Stimulation von Zellen: Experimente	103
6.1	Öffnen von Kv 1.3 Kanälen	103
6.1.1	Konzept	103
6.1.2	Experiment	104
6.1.3	Diskussion	105
6.2	Übergang zu Elektroporation	109
6.2.1	Konzept	109
6.2.2	Experiment	110
6.2.3	Diskussion	111
6.3	Permanente Elektroporation	114
6.3.1	Experiment	114
6.3.2	Diskussion	115
6.4	Details zur Elektroporation	116
6.4.1	Analyse des Stromverlaufs nach Elektroporation	116
6.4.2	Abhängigkeit der kritischen Spannung von der Rampenrichtung	118
6.4.3	Abhängigkeit der kritischen Spannung von der Adhäsionsfläche	121
6.5	Zusammenfassung	122
7	Anwendung der Chips in anderen Projekten	123
7.1	Öffnen von K ⁺ -Kanälen in HEK293-Zellen	123
7.2	Öffnen von Na ⁺ -Kanälen in HEK293-Zellen	125
7.3	Öffnen von Ionenkanälen in Schneckenneuronen	126
7.4	Stimulation von Hirnschnitten	127
A	Schottky-Mott-Plot	129
B	Test auf Elektroporation	131
C	Chipprozessierung	135
D	Geräte und Chemikalien	137
	Literaturverzeichnis	140

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Motivation

Das Verständnis von definierten Systemen aus Nervenzellen, die von Halbleiterchips kontaktiert werden, ist die Grundlage für die Entwicklung von Neuroprothesen und Neurocomputern [Fromherz 2005]. Der Signaltransfer an der Schnittstelle zwischen Halbleiter und Nervenzelle kann in beide Richtungen erfolgen. In der vorliegenden Arbeit ist der Signaltransfer vom Halbleiter in die Nervenzelle thematisiert. Bei der „extrazellulären Stimulation“ wird vom Halbleiter aus elektrische Aktivität in der Zelle hervorgerufen - ein sogenanntes Aktionspotential wird ausgelöst. Die molekulare Basis für das Entstehen eines Aktionspotentials ist das Öffnen von spannungsgesteuerten Ionenkanälen [Hille 2001]. Für Langzeitkopplungen muss eine Schädigung der Zellen und Chips durch elektrochemische Vorgänge zwischen dem Chip und dem Elektrolyten, der die Zellen umgibt, vermieden werden. Dazu wird die Halbleiteroberfläche mit einem Dielektrikum isoliert. Mit Silizium basierten Chips, deren Isolationsschicht aus ca. 10 nm SiO_2 bestand, gelang die Stimulation von Nervenzellen, ohne Faraday'schen Strom, ausschließlich durch den Verschiebungsstrom über das Dielektrikum [Fromherz & Stett 1995; Zeck & Fromherz 2001; Kaul *et al.* 2004]. Diese Art der Stimulation wird „kapazitiv“ genannt. Allerdings war die Kapazität der Kondensatoren in diesen Experimenten zu gering, um spannungsgesteuerte Ionenkanäle zu öffnen [Ulbrich 2004]. Um extrazellulär spannungsgesteuerte Ionenkanäle zu öffnen, muss daher die Kapazität der Stimulationschips erhöht werden. Dazu wird in dieser Arbeit das SiO_2 , welches eine niedrige Dielektrizitätskonstante besitzt [Wilk *et al.* 2001], durch Materialien mit hoher Dielektrizitätskonstante (Hoch-K-Materialien) ersetzt.

1.2 Hoch-K-Stimulationschips

Die Erhöhung der Kapazität von Kondensatoren durch den Einsatz von Hoch-K-Materialien ist auch in der Halbleiterindustrie von Interesse. Hier wird im Zuge der fortschreitenden Reduzierung der Strukturgrößen ein neues Isolatormaterial an Stelle des seit

vielen Jahren verwendeten SiO_2 gesucht. Das Ziel ist eine Erhöhung der Kapazität bei gleichzeitiger Minimierung des Leckstroms [Wilk *et al.* 2001; Houssa 2004; Robertson 2006]. Eine Übersicht einiger Isolatormaterialien gibt Abb. 1.1. Dort sind die Bandlücken in Abhängigkeit der relativen Dielektrizitätskonstanten aufgeführt. Die Abbildung verdeutlicht folgenden Trend: Je größer die Dielektrizitätskonstante ist, desto geringer die Bandlücke. Kleine Bandlücken wiederum bedeuten einen hohen Leckstrom durch das Oxid. Eine Erhöhung der Kapazität wird also im Allgemeinen durch eine Zunahme des Leckstroms „erkaufte“.

In der Halbleiterindustrie besteht der Frontkontakt zum Dielektrikum aus Metall (Metall/Isolator/Silizium-System, MIS-System). Ladungsträger im Dielektrikum können entlang eines Potentialgradienten in das Metall driften und einen Leckstrom erzeugen. Im Gegensatz dazu, besteht der Frontkontakt in dieser Arbeit aus einem Elektrolyten, welcher wiederum durch eine Referenzelektrode an den externen Stromkreis angeschlossen ist (Elektrolyt/Isolator/Silizium-System, EIS-System). Diese Konfiguration entspricht der Situation in biologischen Anwendungen der Chips, da Nervenzellen nur in Elektrolyt-Umgebung überlebensfähig sind. Die Messungen werden zeigen, dass der Leckstrom durch eine EIS-Struktur deutlich niedriger ist als durch eine äquivalente MIS-Struktur. Daher können auch Materialien, die auf Grund ihrer niedrigen Bandlücke in der Halbleiterindustrie nicht zur Einsatz kommen (z.B TiO_2), für eine Anwendung in der EIS-Konfiguration interessant sein.

In dieser Arbeit werden die Materialien TiO_2 und HfO_2 in der EIS-Konfiguration untersucht und mit dem SiO_2 -Referenzsystem verglichen. Dabei zeigt sich, dass das HfO_2 in der EIS-Konfiguration weitgehend mit den Modellen, die vom MIS-System her bekannt sind, beschreiben werden kann. Im Gegensatz dazu führt die geringe Bandlücke im TiO_2 in Verbindung mit dem Elektrolyten zu interessanten neuen elektrischen Eigenschaften. Diese Eigenschaften werden mit Hilfe einer numerischen Simulation physikalisch interpretiert. Aufgrund der höheren Dielektrizitätskonstante weisen TiO_2 -Kondensatoren die höchste Kapazität bei vergleichbarem Leckstrom auf. Aus diesem Grund werden für die

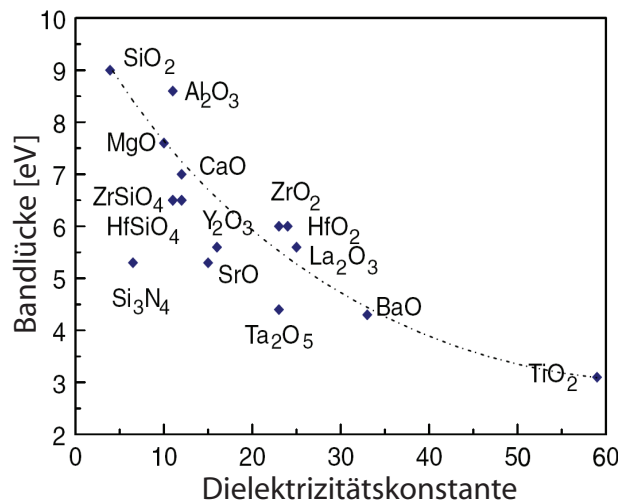


Abbildung 1.1: Bandlücken und Dielektrizitätskonstanten einiger Dielektrika nach Robertson [2006].

Stimulationsexperimente mit Zellen ausschließlich TiO_2 -Kondensatoren verwendet.

1.3 Stimulation von Zellen

Um extrazellulär, mittels eines Stimulationschips, ein Aktionspotential auszulösen, müssen Ionenkanäle geöffnet werden. Dies kann direkt oder indirekt erfolgen, wie Abb. 1.2 zeigt.

Im Ruhezustand (A) befindet sich das Zellinnere auf einem Potential von ca. -60 mV gegenüber dem Extrazellulärmedium. Ferner sind die spannungsabhängigen Ionenkanäle in der Zellmembran geschlossen. Einerseits kann eine extrazelluläre Spannung am Stimulator direkt die spannungsabhängigen Ionenkanäle der unteren Membran öffnen (B). Dies geschieht abhängig vom Kanal-Typ ab einer Depolarisation der Membran von ca. 40 mV. Die Öffnungszeitkonstante ist in der Größenordnung von Millisekunden [Hille 2001]. Andererseits kann die Lipidmembran kurzzeitig permeabilisiert werden, indem transiente Poren in der Lipidmembran erzeugt werden (C). Dies wird „Elektroporation“ genannt und findet statt, wenn die Transmembranspannung für einige Mikrosekunden ca. ± 0.5 V bis ± 1.0 V beträgt [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996]. Durch die Permeabilisierung wird die Zelle durch einen Ionenstrom depolarisiert und in Folge dessen öffnen sich die spannungsabhängigen Ionenkanäle in der gesamten Membran. Diese Methode kann zu permanenten Schäden der Zellmembran führen, falls die Poren nicht mehr vollständig schließen [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996].

In dieser Arbeit sollen an einem Modellsystem die beiden Stimulationsmechanismen durch Variation des Stimulationsprotokolls gezielt hervorgerufen und analysiert werden. Dadurch soll die Grundlage für ein besseres Verständnis der extrazellulären Stimulation gelegt werden.

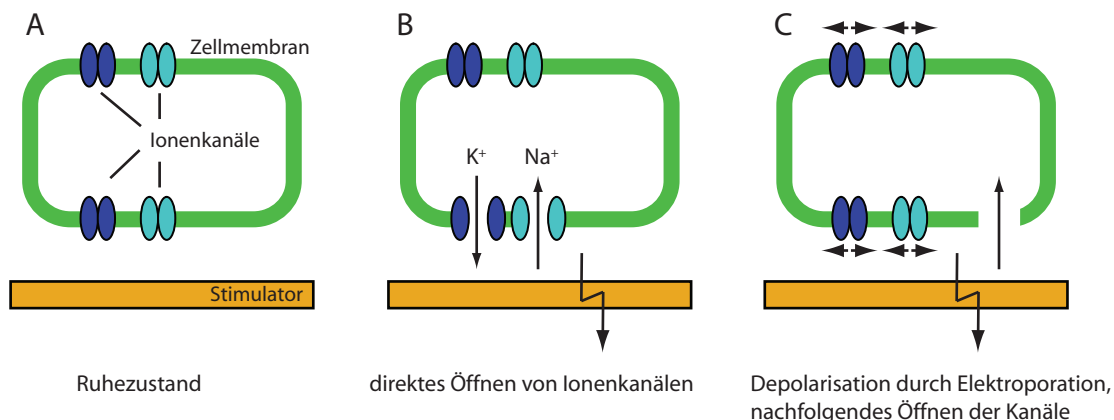


Abbildung 1.2: Mögliche Stimulationsmechanismen einer Zelle aus dem Ruhezustand (A) durch eine extern angelegte Spannung: (B) direktes Öffnen von Ionenkanälen in der unteren Membran. (C) Depolarisation der Zelle durch Elektroporation mit anschließendem Öffnen von Ionenkanälen.

1.4 Überblick über die Arbeit

Die Arbeit gliedert sich in folgende Teilbereiche:

Kapitel 2 widmet sich den Grundlagen der Hoch-K-Stimulationsschips. Zunächst wird deren Herstellungsverfahren kurz erläutert. Die folgende theoretische Beschreibung bildet die Grundlage zum Verständnis der Messungen. Schließlich werden die Details der elektrischen Messungen vermittelt.

Anschließend stellen Kapitel 3 und 4 die Leckstrom- und Kapazitätsmessungen an den Kondensatoren dar. Es wird sich zeigen, dass die verwendete EIS-Konfiguration Messungen über einen weiten Spannungsbereich erlaubt. Der Einfluss verschiedener Parameter auf die Kapazität der Chips wird untersucht und die komplexen Eigenschaften der Kapazität werden mit Hilfe von Modellrechnungen physikalisch interpretiert.

In Kapitel 5 wird die Theorie der kapazitiven extrazellulären Stimulation dargestellt und die Komponenten des Modellsystems der Stimulationsexperimente erläutert.

Kapitel 6 beschreibt die Stimulation von Zellen mittels den beiden Mechanismen. Je nach Form der Stimulationsspannung am Chip ist es möglich, gezielt spannungsabhängige Ionenkanäle zu öffnen oder Elektroporation zu verursachen.

Parallel zur dieser Arbeit fanden die hergestellten Hoch-K-Chips auch in anderen Arbeiten Verwendung. Aufgrund der erhöhten Kapazität der Chips gelang die extrazellulären Öffnung von K^+ - und Na^+ -Kanälen [Ulbrich & Fromherz 2005; Schoen & Fromherz 2005], sowie die Stimulation von Schneckenneuronen [Schoen & Fromherz 2006] und kultivierten Hirnschnitten [Hutzler & Fromherz 2004]. Auf diese Arbeiten wird in aller Kürze in Kapitel 7 eingegangen.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits vor der Fertigstellung veröffentlicht [Wallrapp & Fromherz 2006].

Kapitel 2

Grundlagen der Elektrolyt/Hoch-K/Halbleiter-Kondensatoren

Im ersten Teil des Kapitels wird, ausgehend von der Ladungsträgerstatistik in Halbleitern, zunächst das klassische Metall/SiO₂/Si-System (MOS-System) theoretisch beschrieben. Im Anschluss werden die Auswirkungen erläutert, die sich ergeben, wenn das SiO₂ durch ein Hoch-K-Material (MIS-System) und das Metall durch einen Elektrolyten ersetzt wird (EIS-System).¹

Im zweiten Teil des Kapitels werden die Herstellung der Kondensatoren und die experimentellen Details der Messungen erläutert.

2.1 Theoretische Beschreibung

2.1.1 Ladungsträgerstatistik in Halbleitern

Bei der theoretischen Beschreibung in diesem Abschnitt wird größtenteils nach Pierret [1996] vorgegangen.

Ohne Spannungsabfall

In einem Halbleiter treten zwei Arten von frei beweglichen Ladungsträgern auf. Zum einen Elektronen, die nicht mehr an einen Atomkern gebunden sind, und zum anderen sogenannte Löcher. Dies sind Elektronenfehlstellen in der Kristallstruktur. Die Energien der Ladungsträger werden durch das Bändermodell beschrieben. Hierin bilden die für

¹In dieser Arbeit wird unter einem „MOS“-System eine Struktur aus Metall/SiO₂/Silizium verstanden. Wird generell von einem beliebigen Isolatormaterial (z.B Hoch-K-Oxiden) zwischen Metall und Silizium gesprochen, so wird dies durch „MIS“ abgekürzt. Äquivalent bedeutet „EOS“ eine Struktur aus Elektrolyt/SiO₂/Silizium und die Abkürzung „EIS“ beschreibt Systeme eines beliebigen Isolatormaterials zwischen Elektrolyt und Silizium.

KAPITEL 2. GRUNDLAGEN DER ELEKTROLYT/HOCH-K/HALBLEITER-KONDENSATOREN

Elektronen möglichen Energiezustände das Leitungsband und die für Löcher möglichen Energiezustände das Valenzband. Das Leitungsband liegt dabei, abhängig vom Halbleitermaterial, einige Elektronenvolt über dem Valenzband. Die geringste Energie im Leitungsband wird Leitungsbandkante E_C und die höchste Energie im Valenzband Valenzbandkante E_V genannt. Dazwischen befindet sich die Bandlücke $E_G = E_C - E_V$, in der keine elektronischen Zustände vorhanden sind. Die elektrischen Eigenschaften eines Halbleiters werden im Wesentlichen bestimmt durch die Dichten der Elektronen n und Löcher p in den jeweiligen Bändern. Diese wiederum sind gegeben durch das Produkt aus der Dichte der Energiezustände in den jeweiligen Bändern und der Besetzung der Zustände. Für die effektive Zustandsdichte in Leitungsband N_C und Valenzband N_V gilt:

$$\begin{aligned} N_C &= 2(2\pi m_n k_B T / h^2)^{3/2} \\ N_V &= 2(2\pi m_p k_B T / h^2)^{3/2} \end{aligned} \quad (2.1)$$

Es bezeichnet m_n die effektive Elektronenmasse und m_p die effektive Löchermasse des Halbleiters. Ferner ist k_B die Boltzmann Konstante, T die Temperatur und h das Plancksche Wirkungsquantum. Für $T = 300$ K ergibt sich (m_0 freie Elektronenmasse) eine effektive Zustandsdichte von $N_{C,V} = 2.51 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3} \times (m_{n,p}/m_0)^{3/2}$.

Die Besetzung der Zustände wird bestimmt durch die Fermienergie E_F , welche dem elektrochemischen Potential der Elektronen entspricht. Befindet sie sich genau in der Mitte der Bandlücke, so ist die Dichte der Löcher im Leitungsband n in erster Näherung identisch zur Dichte der Löcher im Valenzband p . Je geringer der Abstand zwischen Fermienergie und Leitungsband ist, desto höher ist die Besetzung der Zustände im Leitungsband und desto geringer ist die Besetzung der Zustände im Valenzband. Die Aussage gilt umgekehrt, wenn sich E_F dem Valenzband nähert. Die exakte Besetzung der Zustände im Leitungsband ist bestimmt durch das Fermi Integral der Ordnung $1/2$ ($F_{1/2}$). Das Argument der Funktion $F_{1/2}$ ist $(E_F - E_C)/k_B T$ für die Besetzung der Zustände im Leitungsband und $(E_V - E_F)/k_B T$ für die Besetzung der Zustände im Valenzband. Der exakte Ausdruck von $F_{1/2}$ ist ein Integral, welches nicht in geschlossener Form dargestellt werden kann. Eine Auswertung für das Argument $(E_F - E_C)/k_B T$ zeigt Abb. 2.1 [Sze 1981]. Für $(E_V - E_F)/k_B T$ ergäben sich identische Werte. Für die Dichte der Elektronen n und der Löcher p gilt nach den vorangehenden Überlegungen:

$$\begin{aligned} n &= N_C \frac{2}{\sqrt{\pi}} F_{1/2} \left(\frac{E_F - E_C}{k_B T} \right) \\ p &= N_V \frac{2}{\sqrt{\pi}} F_{1/2} \left(\frac{E_V - E_F}{k_B T} \right) \end{aligned} \quad (2.2)$$

Ist die Fermienergie in der Bandlücke und weit von den Bandkanten entfernt, also $E_C - E_F > 3k_B T$ und zudem $E_F - E_V > 3k_B T$, kann der Ausdruck für $F_{1/2}$ vereinfacht werden, und es gilt die *Boltzmannnäherung* für n und p (linearer Bereich in Abb. 2.1):

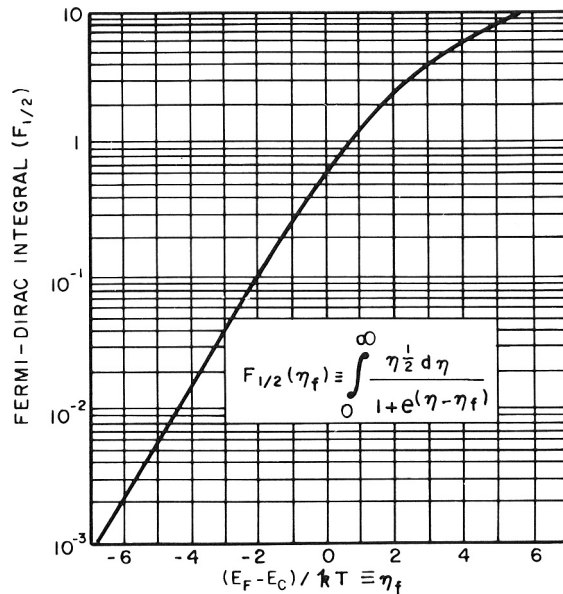


Abbildung 2.1: Auswertung des Fermiintegrals der Ordnung 1/2 (aus Sze [1981])

$$\begin{aligned} n &= N_C e^{(E_F - E_C)/k_B T} \\ p &= N_V e^{(E_V - E_F)/k_B T} \end{aligned} \quad (2.3)$$

In einem dotierten Halbleiter bestimmt die Dotierkonzentration die Anzahl der freien Ladungsträger. Die jeweilige Majoritätsladungsträgerkonzentration ist gegeben durch die Dotierkonzentration: Für einen p-dotierten Halbleiter mit Akzeptordichte N_A gilt unter der Annahme das die Akzeptoren vollständig ionisiert sind $p = N_A$. Damit wird nach Gl. 2.2 bzw. Gl. 2.3 (jeweils untere Zeile) der Abstand der Fermienergie von der Valenzbandkante $E_V - E_F$ festgelegt. Bei bekannter Bandlücke E_G kann daraus der Abstand der Fermienergie vom Leitungsband $E_F - E_C$ errechnet werden: $E_F - E_C = -(E_V - E_F) - E_G$. Dies wiederum bestimmt nach Gl. 2.2 bzw. Gl. 2.3 (jeweils obere Zeile) die Anzahl der Minoritäten (Elektronen in diesem Fall). Für einen n-dotierten Halbleiter gelten analoge Überlegungen.

Mit Spannungsabfall

Bandenergien wurden bisher als unabhängig von der Ortskoordinate x angenommen. Dies ist jedoch nur der Fall, wenn im Innern des Halbleiters das elektrische Potential φ konstant ist. Fällt jedoch über dem Halbleiter eine Spannung ab, so ändert sich das elektrische Potential nahe der Oberfläche ($x = 0$) in Bezug auf das elektrische Potential weit im Innern des Halbleiters.

Mit Hilfe der Poisson-Gleichung kann der Potentialverlauf $\varphi(x)$ innerhalb eines Halbleiters errechnet werden. Sie lautet für eindimensionale Systeme (ε_0 dielektrische Feldkonstante, ε_r relative Dielektrizitätskonstante des Halbleiters):

$$\frac{d^2\varphi(x)}{dx^2} = \frac{-\rho(x)}{\varepsilon_0\varepsilon_r} \quad (2.4)$$

Dabei bezeichnet $\rho(x)$ die ortsabhängige Ladungsdichte im Halbleiter. Sie setzt sich zusammen aus den Dichten der freien Elektronen n und der Löcher p sowie den Dichten der ionisierten Akzeptoren N_A und Donatoren N_D (e_0 Elementarladung):

$$\rho(x)/e_0 = p(x) - n(x) - N_A + N_D \quad (2.5)$$

Als Randbedingung wird festgelegt, dass das elektrische Potential tief im Halbleiter Null sein soll $\varphi^\infty = 0$ und an der Oberfläche das Potential φ_S gelte. Eine Lösung der Gleichung für $\varphi(x)$ mit den vollständigen Ausdrücken für n und p (Gl. 2.2) ist nur numerisch möglich. Lediglich in der Boltzmannnäherung (Gl. 2.3) kann die Gleichung analytisch gelöst werden.

Ist $\varphi(x)$ bestimmt, so lassen sich die Bandenergien in Abhängigkeit des Ortes $E_C(x)$, $E_V(x)$ ermitteln:

$$\begin{aligned} E_C(x) &= E_C^\infty - e_0\varphi(x) \\ E_V(x) &= E_V^\infty - e_0\varphi(x) \end{aligned} \quad (2.6)$$

Dabei bezeichnen E_C^∞ und E_V^∞ die Energien der Bandkanten tief im Halbleiter, wo $\varphi = 0$ gilt. Deren Position relativ zu E_F ist festgelegt durch die Dotierkonzentration, wie oben besprochen. Nahe der Oberfläche, wo $\varphi(x) \neq 0$ ist, sind die Bandenergien nach Gl. 2.6 also abhängig von der Position. Dieses Phänomen wird Bandverbiegung genannt. Die gesamte Bandverbiegung ist gegeben durch das Potential $-\varphi_S$ an der Oberfläche. Sind $E_C(x)$ und $E_V(x)$ bekannt, lassen sich daraus wiederum nach Gl. 2.2 die Ladungsträgerverteilungen $n(x)$ und $p(x)$ errechnen.

Im Folgenden wird das Phänomen der Bandverbiegung qualitativ diskutiert und anschließend ein MOS-System in der Boltzmannnäherung analytisch betrachtet. Beispiele für numerisch errechnete Bandverbiegungen mit exakter Auswertung des Fermiintegrals werden in Kapitel 3 und 4 folgen.

Raumladungszonen

Eine Bandverbiegung ist stets verbunden mit der Bildung einer Raumladungszone, in der die Ladungsneutralität des Halbleiters nicht mehr gilt. Abhängig von der Bandverbiegung φ_S und Art der Dotierung können verschiedene Typen von Raumladungszonen entstehen. In Abb. 2.2 sind die drei möglichen Varianten anhand ihrer Banddiagramme (A) und Ladungsverteilungen (B) skizziert [Nicollian & Brews 1982]. In dem Beispiel wird ein p-Typ-Halbleiter betrachtet, so dass sich weit entfernt von der Oberfläche das Fermi-niveau nahe am Valenzband befindet.

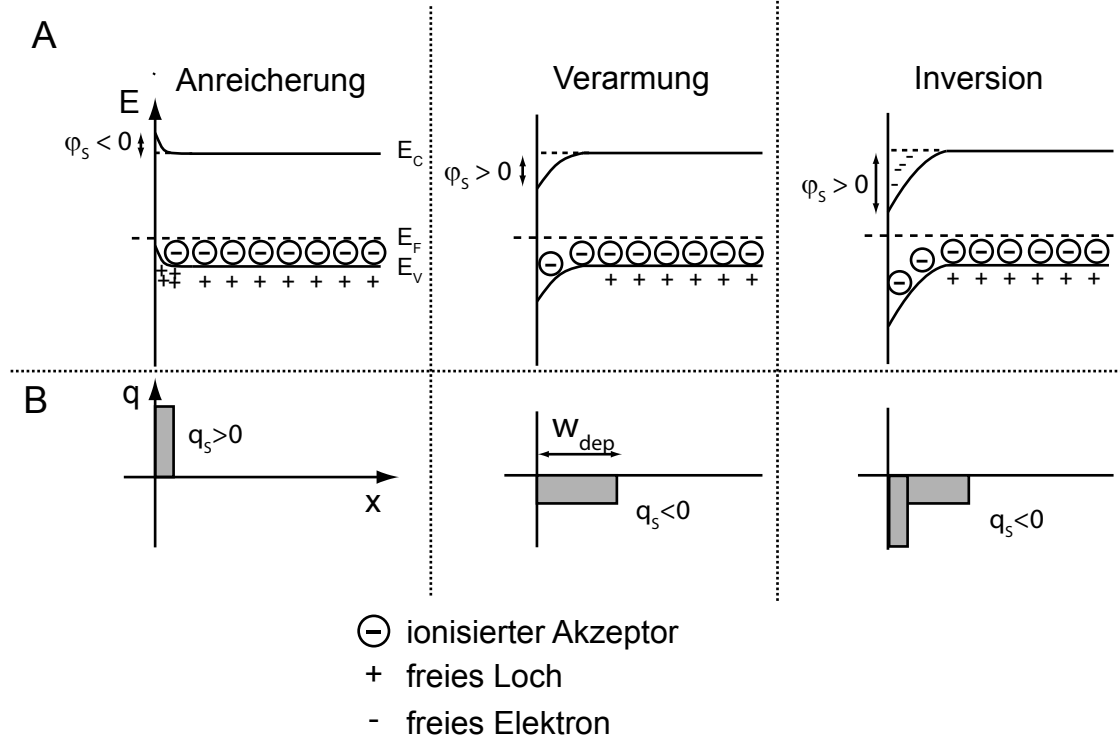


Abbildung 2.2: Die drei Arten von Raumladungszone, welche in Halbleitern existieren können, am Beispiel eines p-dotierten Halbleiters. (A) Banddiagramme, (B) Schema der Ladungsverteilung.

Anreicherung (links). Es ist ein negativer Potentialabfall im Halbleiter angenommen $\varphi_s < 0$. Das negative Potential führt nach Gl. 2.6 zur Erhöhung der Bandenergien und das Valenzband nähert sich dem Fermienergie. Nach Gl. 2.2 führt dies zu einer Anreicherung von Löchern an der Halbleiteroberfläche. Sie bilden eine Raumladungszone, deren Ladungsdichte q_s (Einheit C/m^2) positiv ist. Die Ausdehnung von Anreicherungszone ist ca. 1-3 nm [Lo 2005].

Verarmung (Mitte). Ist der Potentialabfall positiv $\varphi_s > 0$, verringern sich nach Gl. 2.6 die Bandenergien an der Oberfläche und das Valenzband entfernt sich von der Fermienergie. Folglich erniedrigt sich nach Gl. 2.2 die Löcherkonzentration. Die Ladung in der Raumladungszone q_s besteht aus der negativen Ladung der ortsfesten Akzeptoren, die jetzt nicht mehr von den Löchern kompensiert wird. Die Ausdehnung w_{dep} der Verarmungszone ist abhängig von der Akzeptorkonzentration N_A des Materials und von der gesamten Bandverbiegung φ_s :

$$w_{dep} = \sqrt{\frac{2\varepsilon_0\varepsilon_r\varphi_s}{e_0N_A}} \quad (2.7)$$

Für Silizium mit $\varepsilon_r = 11.9$, einer Dotierkonzentration von $N_A = 10^{18} \text{ cm}^{-3}$ und einer

Bandverbiegung von $\varphi_S = 0.5$ V ergibt sich $w_{dep} \sim 26$ nm, was viel größer als die Ausdehnung einer Anreicherungsschicht ist.

Inversion (rechts). Wird φ_S noch weiter erhöht, nimmt die Bandverbiegung weiter zu. Es entsteht die Situation, dass das Fermienergielevel an der Oberfläche näher am Leitungsband als am Valenzband ist. Dies bedeutet nach Gl. 2.2, dass in dieser Region mehr Minoritätselektronen als Majoritäts-Löcher vorhanden sind. Die Halbleiterladung q_S setzt sich nun aus Minoritätselektronen und ionisierten Akzeptoren zusammen. Zusätzlich zur schon vorhandenen Verarmungsschicht existiert direkt an der Oberfläche eine Inversionsschicht, deren Ausdehnung mit ca. 1-3 nm viel geringer als die der Verarmungsschicht ist [Lo 2005].

2.1.2 Das Metall/SiO₂/Silizium-System

In dieser Arbeit werden Elektrolyt/Hoch-K/Silizium-Systeme untersucht. Als Ausgangspunkt zum Verständnis dieser komplizierten Struktur soll nun zunächst das bekannte Metall/SiO₂/Silizium-System (MOS-System) nach Hori [1997] beschrieben werden.

Bandanpassung

Die Bandstruktur eines idealen MOS-Systems ist in Abb. 2.3 zu sehen. Es wird das Vakuumniveau E_{vac} eingeführt. Dies ist die potentielle Energie eines Elektrons knapp außerhalb des Materials. Die Arbeit, die nötig ist, um ein Elektron aus dem Metall (Fermienergie im Metall E_{Fm}) herauszulösen, wird „Austrittsarbeit“ $\phi_M = E_{vac} - E_{Fm}$ genannt. Die Energiedifferenz zwischen dem Leitungsband des Siliziums und dem Vakuumniveau wird „Elektronenaffinität“ χ_S des Siliziums genannt ($\chi_S = E_{vac} - E_C$). Ebenso besitzt das Oxid eine Elektronenaffinität, welche aus Gründen der Übersicht nicht in Abb. 2.3 eingezeichnet wurde. Die Austrittsarbeit im Silizium ist die Differenz zwischen Vakuumniveau und Fermienergie $\phi_S = E_{vac} - E_F$. Aufgrund der Abhängigkeit von E_F ist sie stark beeinflusst von der Dotierung des Siliziums.

Diese Struktur wird als „ideal“ bezeichnet, da weder beim Kontakt des Metalls mit dem Oxid noch beim Kontakt des Siliziums mit dem Oxid ein Austausch von Ladungsträgern an den beiden Grenzflächen stattfinden soll („Schottky-Limit“). Dies ist gleichbedeutend mit einem konstanten Vakuumniveau an den Grenzflächen [Robertson 2000]. Die Lage der Bänder des SiO₂ relativ zu den Bändern des Siliziums ist gegeben durch die beiden Elektronenaffinitäten und die Bandlücken der Materialien. Die Lage des Fermienergielevels im Metall relativ zu den Bändern im Silizium ist gegeben durch die Austrittsarbeit des Metalls ϕ_M und der Elektronenaffinität des Siliziums χ_S . Im Allgemeinen sind daher die Fermienergien von Metall und Halbleiter nicht identisch.

Eine externe Spannung V_{MS} legt den Unterschied zwischen den Fermienergien von Metall und Silizium fest: $-e_0 V_{MS} = E_{Fm} - E_F$. Für eine bestimmte Spannung, die „Flachbandspannung“ $V_{MS} = V_{FB}$, stellt sich die Situation aus Abb. 2.3 ein, in der die Bänder

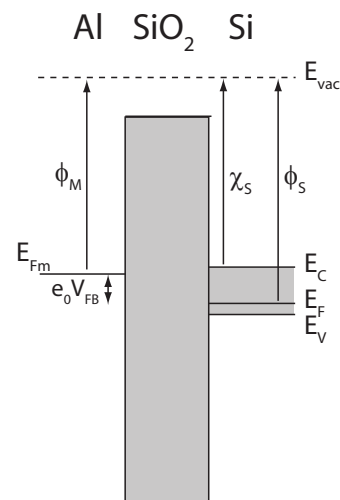


Abbildung 2.3: Bandstruktur eines idealen Aluminium/SiO₂/Silizium-Systems nach Hori [1997]

im Silizium flach sind und keine Raumladungszone existiert. Im idealen Fall ist die Flachbandspannung gegeben durch die Differenz der Austrittsarbeiten $-e_0 V_{FB} = \phi_M - \phi_S$.

Kapazität der idealen MOS-Struktur

Ziel dieses Abschnitts ist die Ermittlung der Kapazität des MOS-Systems c_{MOS} in Abhängigkeit der außen angelegten Spannung V_{MS} . Die gesamte Spannung über der Oxid/Si-Struktur V_{MS} wird in die Spannungsabfälle über dem Oxid V_{OX} und dem Silizium φ_S unterteilt. Wird ferner die Flachbandspannung berücksichtigt, so ergibt sich:

$$V_{MS} - V_{FB} = V_{OX} + \varphi_S \quad (2.8)$$

Das Oxid wird als perfekter Isolator mit der konstanten Kapazität c_{OX} betrachtet. Somit gilt mit q_S der gesamten Ladung im Silizium:

$$V_{OX} = q_S / c_{OX} \quad (2.9)$$

Die Form des Potentialabfalls im Silizium hängt von der erzeugten Raumladungszone ab. Abb. 2.4 zeigt die Situation an einem p-Typ-Halbleiter für drei verschiedene externe Spannungen V_{MS} . Es sind die Bänder in Halbleiter und Oxid, sowie der Verlauf des elektrischen Potentials $-\varphi$ zu sehen. Aus Gründen der Übersicht wurde $-\varphi(x)$ oberhalb der Bänder gezeichnet. Je nach Vorzeichen der Spannung entsteht im Halbleiter eine Anreicherungszone (A), eine Verarmungszone (B) oder eine Inversionszone (C).

Die gesamte Kapazität c_{MOS} eines MOS-Systems ist eine Serienschaltung aus der konstanten Kapazität des Oxids c_{OX} und der spannungsabhängigen Kapazität der Raumladungszone im Si c_{Si} :

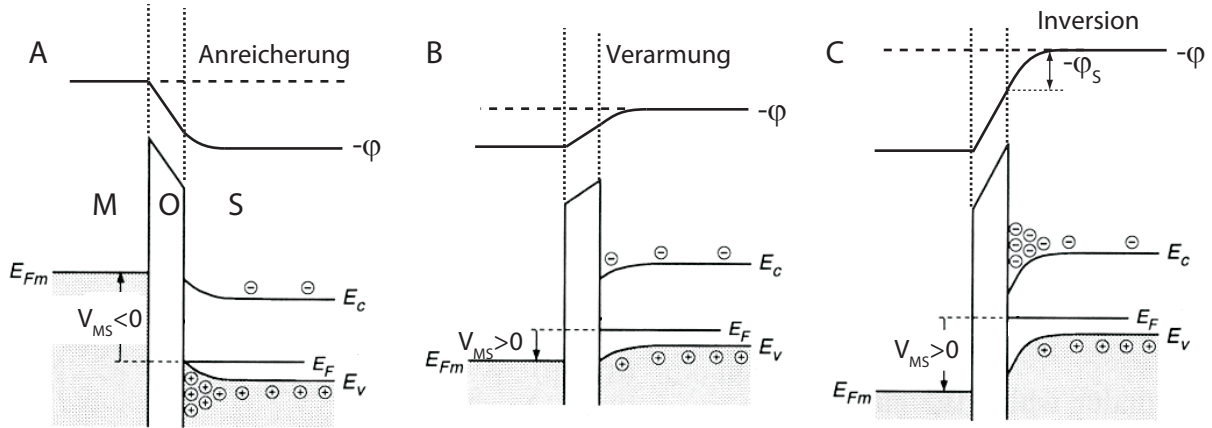


Abbildung 2.4: Banddiagramm eines idealen MOS-Systems für den Fall der Anreicherung (A), der Verarmung (B) und der Inversion (C) (nach Hori [1997]).

$$\frac{1}{c_{MOS}} = \frac{1}{c_{OX}} + \frac{1}{c_{Si}} \quad (2.10)$$

Die Formel besagt, dass die gesamte Kapazität nicht größer sein kann als die kleinste Teilkapazität. Um die gesamte Kapazität zu bestimmen, wird zunächst die spannungsabhängige Kapazität des Siliziums c_{Si} benötigt:

Die Poisson-Gleichung beschreibt das Potential $\varphi(x)$ in p-dotiertem Silizium (p-Si) in Abhängigkeit des Ortes x :

$$\frac{d^2\varphi(x)}{dx^2} = -\frac{\rho(x)}{\varepsilon_0\varepsilon_{Si}} = -\frac{e_0}{\varepsilon_0\varepsilon_S} [p(x) - n(x) - N_A] \quad (2.11)$$

Dabei gilt für das Potential an der Siliziumoberfläche $\varphi(x=0) = \varphi_s$. Tief im Silizium gilt $\varphi(x \rightarrow \infty) = 0$. Für eine analytische Lösung des Systems, wird die Konzentration der Ladungsträger in Abhängigkeit von φ durch eine Boltzmannverteilung genähert (Gl. 2.3). Für einen p-Typ-Halbleiter gilt dann:

$$\begin{aligned} p(x) &= N_A \exp(-e_0\varphi(x)/k_B T) \\ n(x) &= n_i^2/p(x) \end{aligned} \quad (2.12)$$

Dabei bezeichnet n_i die Dichte der Elektronen und Löcher im Falle eines undotierten Halbleiters (intrinsische Ladungsträgerdichte):

$$n_i = \sqrt{N_C N_V} \exp(-E_G/2k_B T) \quad (2.13)$$

Eine Integration von Gl. 2.11 mit Gl. 2.12 liefert das elektrische Feld \mathcal{E} in Abhängigkeit

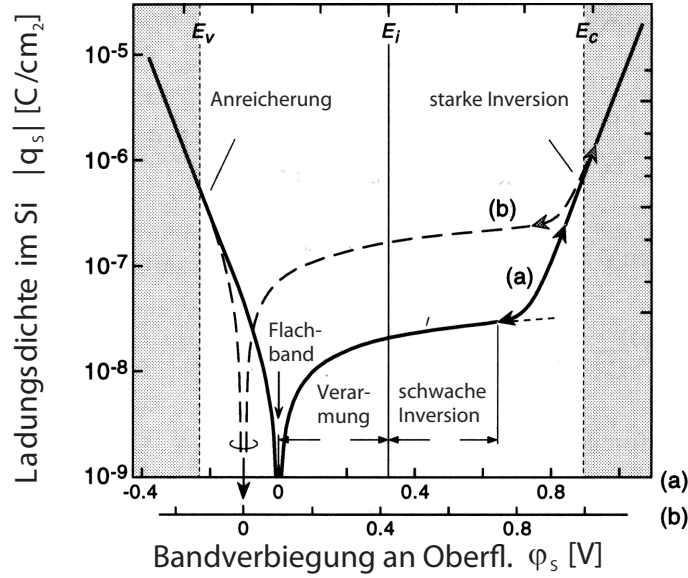


Abbildung 2.5: Ladungsträgerdichte $|q_S|$ als Funktion der Bandverbiegung an der Oberfläche φ_S für p-dotiertes Silizium mit a) $N_A = 4 \cdot 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ und b) $N_A = 2 \cdot 10^{17} \text{ cm}^{-3}$. Die Dicke der SiO_2 -Schicht ist bei a) 100 nm und bei b) 10 nm (nach Hori [1997]).

der Bandverbiegung φ .

$$\mathcal{E} = -\frac{d\varphi}{dx} = \pm\sqrt{2}\frac{k_B T}{e_0 L_D} F(\varphi, N_A) \quad (2.14)$$

Es gilt das positive Vorzeichen für $\varphi > 0$ und das negative für $\varphi < 0$. Die Debye-Länge L_D und $F(\varphi, N_A)$ werden folgendermaßen definiert:

$$L_D = \sqrt{\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{Si} k_B T}{e_0^2 N_A}} \quad (2.15)$$

$$F(\varphi, N_A) = \sqrt{\exp(-e_0 \varphi / k_B T) + e_0 \varphi / k_B T - 1 + (n_i / N_A)^2 [\exp(e_0 \varphi / k_B T) - e_0 \varphi / k_B T - 1]}$$

Beide Größen sind zusätzlich zu φ auch von N_A abhängig. Das elektrische Feld an der Oberfläche \mathcal{E}_S ergibt sich durch Ersetzen von φ in Gl. 2.14 durch das Oberflächenpotential φ_S . Mit Hilfe des Gauß'schen Satzes ergibt sich daraus die Ladung im Halbleiter q_S , die nötig ist, um ein Feld der Stärke \mathcal{E}_S auf der Oberfläche zu erzeugen:

$$q_S = -\varepsilon_0 \varepsilon_{Si} \mathcal{E}_S = \mp\sqrt{2}\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{Si} k_B T}{e_0 L_D} F(\varphi_S, N_A) \quad (2.16)$$

Der typische Verlauf von q_S als Funktion von φ_S ist in Abb. 2.5 für zwei verschiedene Akzeptorkonzentrationen dargestellt.

Die Kurve lässt sich in vier Bereiche einteilen (n_S bzw. p_S sei die Konzentration von Elektronen bzw. Löchern an der Silizium-Oberfläche):

1. $\varphi_S < 0$: Dies ist der *Anreicherungsfall* ($p_S > N_A > n_S$). q_S ist positiv. $F(\varphi, N_A)$ wird durch den ersten Term dominiert. Es ist also $q_S \propto \sqrt{N_A} \exp(e_0 |\varphi_S| / 2k_B T)$.

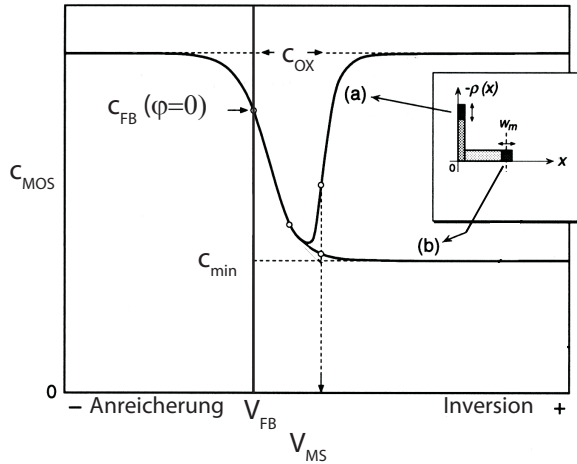


Abbildung 2.6: Ideale MOS-CV-Kurven für den Fall der Niederfrequenz (a) und der Hochfrequenz(HF) (b) (nach [Hori 1997]).

2. $\varphi_S = 0$: Dies ist die *Flachbandbedingung* ($p_S = N_A > n_S$) im idealen MOS-System. Daher ist $q_S = 0$.
3. $\varphi_S > 0$: Dies ist der Fall der *Verarmung* ($N_A > p_S > n_S$) und der *schwachen Inversion* ($N_A > n_S > p_S$). F wird dominiert vom zweiten Term. Folglich gilt $q_S \propto -\sqrt{(N_A \varphi_S)}$.
4. $\varphi_S \gg 0$. Dies ist der Fall der *starken Inversion* ($n_S > N_A > p_S$). F wird dominiert durch den vierten Term. Es gilt also $q_S \propto -\sqrt{N_A} \exp(e_0 \varphi_S / 2k_B T)$.

Mit diesen Überlegungen lässt sich nun die spezifische, differentielle *Kapazität der Raumladungszone im Halbleiter* c_{Si} als Funktion der *Bandverbiegung an der Oberfläche* φ_S angeben.

$$c_{Si} \equiv \frac{\partial q_S}{\partial \varphi_S} = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{Si}}{\sqrt{2} L_D} \frac{|1 - \exp(-e_0 \varphi_S / k_B T) + (n_i / N_A)^2 (\exp(e_0 \varphi_S / k_B T) - 1)|}{F(\varphi_S, N_A)} \quad (2.17)$$

Ziel war jedoch eine Auftragung der *Kapazität des MOS-Systems* c_{MOS} in Abhängigkeit der *außen angelegten Spannung* V_{MS} . Um dies zu erreichen, werden für eine Reihe von Bandverbiegungen φ_S Werte für c_{Si} nach Gl. 2.17 und Werte für q_S nach Gl. 2.16 errechnet. Daraus ergibt sich bei bekanntem V_{FB} und c_{OX} nach Gl. 2.8 die gesamte außen anliegende Spannung V_{MS} und nach Gl. 2.10 die gesamte Kapazität des Systems c_{MOS} . Eine Auftragung von c_{MOS} gegen V_{MS} , ergibt eine typische MOS-CV-Kurve, wie in Abb. 2.6a gezeigt ist. Außer der Flachbandspannung V_{FB} und der Oxidkapazität c_{OX} wird die spannungsabhängige Kapazität des MOS-Systems lediglich noch durch die Akzeptorkonzentration N_A bestimmt.

In einer Messung wird die differentielle Kapazität des Systems c_{MOS} bestimmt, indem der externen Gleichspannung V_{MS} eine Wechselspannung mit der Frequenz ω überlagert wird. Je nach Frequenz ω der Wechselspannung ergeben sich unterschiedliche CV Kurven, welche in Abb. 2.6 mit (a) und (b) gekennzeichnet sind.

Für hohe negative Spannungen $V_{MS} < 0$ sind beide Kurven identisch. Hier ist c_{Si} gegeben durch die Kapazität der Anreicherungszone. Da die Ladung in der Anreicherungszone exponentiell mit dem Spannungsabfall zunimmt (siehe Abb. 2.5) ist die zugehörige Kapazität c_{Si} viel größer als c_{OX} . Daher befindet sich nach Gl. 2.10 die Gesamtkapazität c_{MOS} in diesem Bereich nahe dem Sättigungswert c_{OX} .

Wird V_{MS} positiver, nimmt die Anreicherung im Silizium ab. Für einen gewissen Wert (Flachbandspannung V_{FB}) ist das elektrische Potential φ im Silizium konstant und es existiert keine Raumladungszone. Wird diese Spannung überschritten, bildet sich eine Verarmungszone aus, die als Dielektrikum mit der Kapazität $c_{Si} = \varepsilon_0 \varepsilon_{Si} / w_{dep}$ in Erscheinung tritt. Da c_{Si} nun nicht mehr viel größer als c_{OX} ist, fällt die Gesamtkapazität nach Gl. 2.10 ab. Mit zunehmender Spannung wird w_{dep} größer, so dass $c_{Si} = \varepsilon_0 \varepsilon_{Si} / w_{dep}$ und auch c_{MOS} kleiner werden.

Wird die Spannung noch weiter erhöht, entsteht im Halbleiter eine Inversionsschicht. Die Ausdehnung der Verarmungsschicht erreicht ihr Maximum w_{dep}^{max} , da jede weitere Spannungserhöhung eine Zunahme der Inversionsladungsträger hervorruft. In diesem „Inversionsbereich“ ist die gemessene Kapazität stark abhängig von der Frequenz der Wechselfspannung ω , bei der die Kapazität gemessen wird. Dies ist im kleinen Bild von Abb. 2.6 verdeutlicht. Für *niedrige Frequenzen* folgen die Inversionsladungsträger der Wechselfspannung (a). Die gemessene Kapazität ist wie im Anreicherungsgebiet nahe am Maximalwert c_{OX} , da die Kapazität einer Inversionsschicht viel größer als c_{OX} ist. Analog zur Anreicherungszone ist die Ursache hierfür die exponentielle Abhängigkeit zwischen Inversionsladung und Spannungsabfall (siehe Abb. 2.5). Bei *hohen Frequenzen* (b) ist die Generations-/Rekombinationsrate von Minoritäten nicht schnell genug als dass Inversionsladungsträger der angelegten Wechselfspannung folgen können. Daher ändert sich die Ausdehnung der *Verarmungszone* durch die Wechselfspannung. Die gemessene Kapazität c_{MOS} ist nun konstant als Serienschaltung von c_{OX} und der Verarmungszonekapazität $\varepsilon_0 \varepsilon_{Si} / w_{dep}^{max}$. Der Hochfrequenzfall lässt sich errechnen, indem in Gl. 2.15 und 2.17 diejenigen Terme, die sich auf die Inversionsladungsträger beziehen, gestrichen werden:

$$c_{Si}^{HF} = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_{Si}}{\sqrt{2} L_D} \frac{|1 - \exp(-e_0 \varphi_S / k_B T)|}{F^{HF}(\varphi_S)} \quad (2.18)$$

$$F^{HF}(\varphi) = \sqrt{\exp(-e_0 \varphi / k_B T) + e_0 \varphi / k_B T - 1}$$

In einer Messung können auch CV-Kurven auftreten, die zwischen dem Hoch- und dem Niederfrequenzfall liegen, wenn die Frequenz so gewählt ist, dass nur ein Teil der Minoritätsladungsträger folgen kann.

Feste Ladungen und Grenzflächenzustände

In der bisherigen Beschreibung des MOS-Systems wurde angenommen, dass weder im Oxid noch an der Grenzfläche zwischen Oxid und Silizium, Ladungen vorhanden sind. Tatsächlich existiert in jeder realen Oxid/Halbleiter-Struktur eine gewisse Anzahl von

Defekten, die als Ladungen auftreten. Diese werden teilweise direkt durch die Prozessierung, aber auch durch die Behandlung der Proben z.B durch Strahlung oder hohe Spannungen, erzeugt. Während für das SiO₂-Si-System Grenzflächen mit einer Defektdichte unterhalb $5 \times 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ bis $1 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ hergestellt werden können [Hori 1997], ist dies für Hoch-K-Materialien noch nicht möglich [Wilk *et al.* 2001; Robertson 2006]. Die Erkenntnisse und Klassifizierungen der Effekte, die über viele Jahre am SiO₂ gewonnen wurden, können größtenteils auf andere Oxide übertragen werden. Grundsätzlich wird zwischen festen Ladungen und Grenzflächenzuständen unterschieden [Nicollian & Brews 1982]. Beide Phänomene bewirken ein Abweichen der Kapazität von der idealen CV-Kurve. Charakteristische Auswirkungen auf eine ideale Hochfrequenz-CV-Kurve sind schematisch in Abb. 2.7 für einen p-Typ-Halbleiter dargestellt.

Feste Ladungen (A) befinden sich direkt an der Grenzfläche oder im Innern des Oxids. Sie bewirken eine horizontale Verschiebung der CV-Kurve. Positive Ladungen verschieben die Kurve unabhängig von der Dotierung zu negativen Spannungen und negative Ladungen zu positiven Spannungen. Zur Erläuterung zeigt das kleine Bild die Bandstruktur für $V_{MS} = 0$ ohne und mit positiven Ladungen. Ohne feste Ladungen (oben) ist eine Flachbandspannung von 0 V angenommen. Befinden sich positive Ladungen an der Grenzfläche, so rufen diese eine Bandverbiegung im Halbleiter hervor. Für $V_{MS} = 0$ sind die Bänder also nicht mehr flach. Vielmehr muss eine Spannung ΔV angelegt werden, um die Flachbandbedingung zu erhalten, was einer Verschiebung der Kurve um ΔV entspricht. Für eine feste Ladung der Dichte q_{fix} (Einheit C/m²) gilt für die Ladungsträgerdichte $D_{fix} = |q_{fix}|/e_0$. Befinden sich die festen Ladungen direkt an der Grenzfläche zwischen Oxid und Si, ergibt sich:

$$\Delta V = \pm \frac{e_0 D_{fix}}{c_{OX}} \quad (2.19)$$

Es gilt das positive Vorzeichen für negative und das negative Vorzeichen für positive Ladungen. In der Praxis existieren für die meisten Dielektrika positive feste Ladungen [Nicollian & Brews 1982; Hori 1997]. Lediglich für Al₂O₃-Schichten auf Silizium wurde von negativer Ladung berichtet [Johnson *et al.* 2001; Wilk *et al.* 2001].

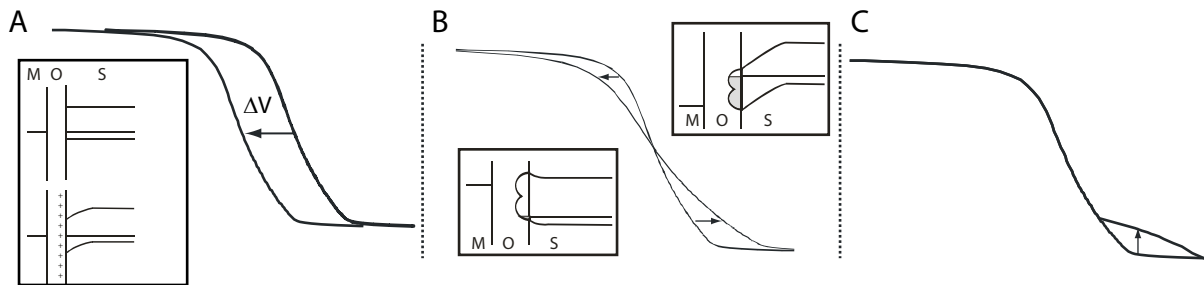


Abbildung 2.7: Auswirkungen von festen Ladungen (A) und Grenzflächenzuständen (B,C) auf die CV-Kurven von MOS-Systemen (nach Hori [1997]) .

Grenzflächenzustände sind an der Grenzfläche lokalisiert und können Ladungen mit dem Halbleiter austauschen. Die Energien der Zustände sind in der Bandlücke verteilt. Eine externe Spannungsänderung bewirkt eine Änderung der Energie der Zustände relativ zur Fermienergie des Halbleiters. Als Folge ändert sich die Besetzung der Zustände, da Ladungsträger aus den Zuständen in den Halbleiter transferiert werden oder umgekehrt. Grenzflächenzustände haben zwei Auswirkungen auf die CV-Kurve.

Der erste Effekt ist eine Streckung der Kurve (B). Dies kann folgendermaßen erklärt werden: Eine Änderung der externen Spannung bewirkt, zusätzlich zur Änderung der Raumladungszone im Si, einen Ladungstransfer zwischen den Zuständen und den Bändern des Halbleiters. Die Änderung der Raumladungszone im Halbleiter mit der angelegten Spannung ist daher geringer als im Falle des Fehlens der Zustände. Die Besetzung der Zustände für zwei Spannungen zeigen schematisch die beiden kleinen Bilder. Die Zustände sind durch ihre Zustandsdichte illustriert. Für negative Spannungen (links) sind in diesem Beispiel nahezu alle Zustände unbesetzt. Für positive Spannungen dagegen sind die Zustände mit Elektronen gefüllt (rechts).

Zusätzlich zur Streckung der CV-Kurve erhöhen die Grenzflächenzustände die gemessene Kapazität in manchen Spannungsbereichen (C). Die Ursache dafür ist, dass auf Grund der angelegten Wechselfspannung Grenzflächenzustände gefüllt bzw. geleert werden. Dieser Vorgang tritt als zusätzliche Kapazität c_{IS} in Erscheinung. Die Formel 2.10 muss daher um diese Komponente erweitert werden:

$$\frac{1}{c_{MOS}} = \frac{1}{c_{OX}} + \frac{1}{c_{Si} + c_{IS}} \quad (2.20)$$

Die zusätzliche Komponente ist abhängig von der Frequenz der Wechselfspannung, da der Ladungstransfer zwischen Grenzfläche und Halbleiter mit einer gewissen Zeitkonstanten erfolgt. Für hohe Frequenzen verschwindet der Beitrag von c_{IS} [Nicollian & Brews 1982; Hori 1997].

2.1.3 Das Metall/Hoch-K/Silizium-System

Um Metall/Isolator/Silizium-Strukturen (MIS-Strukturen) mit einer möglichst hohen Kapazität zu erzeugen, wird SiO_2 durch Dielektrika, welche eine höhere Dielektrizitätskonstante aufweisen ($\epsilon_r > 3.9$), ersetzt.

Bandanpassung

Beim idealen MOS-System wurde angenommen, dass kein Ladungstransfer zwischen Oxid und Silizium stattfindet. Das Vakuumniveau ist konstant und die Anpassung der Leitungsbänder von Oxid und Silizium zueinander ist gegeben durch die Elektronenaffinitäten. Diese Annahme gilt nicht für alternative Dielektrika [Robertson 2000]. Im Allgemeinen findet ein Ladungstransfer zwischen Grenzflächenzuständen beider Materialien

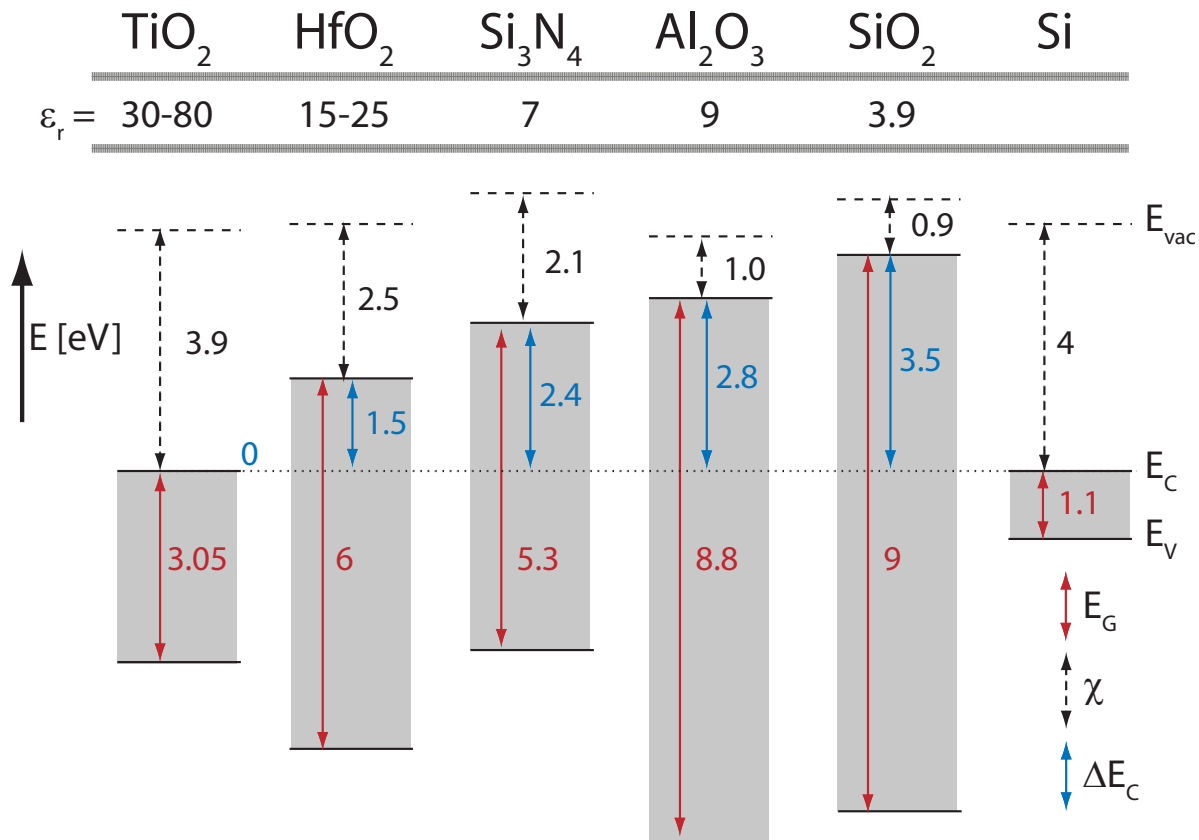


Abbildung 2.8: Bandenergien einiger Dielektrika im Kontakt mit Silizium. Gezeichnet sind experimentelle Werte für die Bandlücken (rot) und Elektronenaffinitäten (schwarz), sowie theoretische Werte für die Leitungsbandunterschiede zu Silizium (blau) nach Robertson [2000]. Die Zahlenwerte direkt unter den Namen der Dielektrika sind deren Dielektrizitätskonstanten nach Wilk *et al.* [2001].

statt und an der Grenzfläche entsteht eine Dipolschicht. Die Größe des Ladungstransfers hängt vom verwendeten Dielektrikum ab. Die Dipolschicht erzeugt einen Sprung im elektrischen Potential φ und verschiebt daher die Bänder zueinander. Damit verbunden ist ein Sprung im Vakuumniveau. Der Leitungsbandunterschied ΔE_C zwischen einem Hoch-K-Material und Silizium unterscheidet sich daher von jenem, welcher auf Grund der Elektronenaffinitäten erwartet wird. Die Lage der dazugehörigen Valenzbänder lässt sich bestimmen, wenn die Bandlücken der Materialien bekannt sind. Abb. 2.8 zeigt in einer Übersicht experimentell ermittelte Werte für Bandlücken (rot) und Elektronenaffinitäten (schwarz), sowie theoretische Werte für Leitungsbandunterschiede zu Silizium (blau) einer Auswahl relevanter Materialien (nach Robertson [2000]). Zusätzlich sind direkt unterhalb den Materialnamen die zugehörigen Dielektrizitätskonstanten nach Wilk *et al.* [2001] notiert.

Die elektrischen Eigenschaften des Dielektrikum/Silizium-Systems hängen maßgeblich von den Energiebarrieren für Elektronen und Löcher für einen Transfer vom Silizium

zum Dielektrikum ab. Also vom Leitungs- und Valenzbandunterschied ΔE_C und ΔE_V . Je höher diese Werte sind, desto größer die Energiebarriere für einen Ladungstransfer und desto geringer der Leckstrom durch das Dielektrikum [Wilk *et al.* 2001]. Es ist deutlich zu sehen, dass SiO_2 und Al_2O_3 die höchsten Werte für E_G , ΔE_V und ΔE_C aufweisen. Sie können als perfekte Isolatoren betrachtet werden. Bei den anderen Materialien sind die Bandlücken und Bandunterschiede deutlich kleiner. Eine Beschreibung als Isolator ist folglich fraglich. Deshalb werden diese Materialien als Halbleiter, wenn auch als Halbleiter mit einer relativ hohen Bandlücke, betrachtet. Dies gilt insbesondere für das TiO_2 , welches nur eine Bandlücke von ca. 3 eV und keinen Leitungsbandunterschied zu Silizium aufweist.

Zwischenschicht

Bei der Anwendung von Hoch-K-Oxiden auf Siliziumsubstraten wird die Siliziumoberfläche oft während oder nach der Hoch-K-Beschichtung ungewollt oxidiert. Die dadurch entstehende Zwischenschicht („interfacial layer“) hat meist eine unbekannte Zusammensetzung und eine niedrige Kapazität. Die Sättigungskapazität im Anreicherungsgebiet c_{SAT} , welche im MOS-System c_{OX} entspricht, ist nun gegeben als Serienschaltung aus Isolatorkapazität des Hoch-K-Oxids c_{OX} und der Zwischenschichtkapazität c_{IL} .

$$\frac{1}{c_{SAT}} = \frac{1}{c_{OX}} + \frac{1}{c_{IL}} \quad (2.21)$$

Die Gesamtkapazität des Systems wird daher reduziert. Um den Einfluss dieser Zwischenschichten zu kontrollieren, wird oftmals gezielt eine dünne Pufferschicht auf dem Si-Substrat aufgebracht, welche die Grenzfläche für die Beschichtung mit dem eigentlichen Hoch-K-Material vorbereitet. Bei geeigneter Wahl der Zwischenschicht lassen sich die Kapazität erhöhen, der Leckstrom erniedrigen und/oder Defekte an der Grenzfläche reduzieren [Wilk *et al.* 2001; Houssa 2004; Huff & Gilmer 2005].

2.1.4 Das Elektrolyt/Hoch-K/Silizium-System

In dieser Arbeit werden die Halbleiter-Heterostrukturen aus Dielektrikum und Silizium mit einem Elektrolyten als Frontkontakt untersucht (EIS-System). In diesem Abschnitt sollen die Auswirkungen, die sich durch die Verwendung eines Elektrolyten ergeben, theoretisch beschrieben werden.

Elektronische Zustände im Elektrolyten, Redoxenergien

Im Elektrolyt sind die Elektronen in Redoxpaaren gebunden [Bard & Faulkner 2001]. Darunter versteht man die Kombination einer reduzierten und einer oxidierten Form desselben Elements. Der Übergang eines Elektrons von der einen in die andere Form wird Redoxreaktion genannt. Die Energien der Elektronen in den Redoxpaaren werden üblicherweise als sogenannte „Redoxenergien“ relativ zum Redoxsystem H_2/H^+ angegeben.

Da jedoch für alle Redoxpaare im Elektrolyt ein identisches Vakuumniveau gilt, lassen sich die Redoxenergien auch absolut, also im Bezug zum Vakuumniveau angeben. Einige absolute Redoxenergien sind in Tab. 2.1 gegeben. Da in dieser Arbeit keine speziellen Redoxpaare in den Elektrolyten eingebracht wurden, sind vor allem die intrinsischen Redoxpaare des Wassers und das Redoxpaar der Referenzelektrode (Ag/AgCl) von Interesse.

Bandanpassung im EIS-System

Die komplette Bandstruktur des zu untersuchenden EIS-Systems ist in Abb. 2.9 zu sehen. Sie besteht aus der Referenzelektrode (rot), dem Elektrolyten (blau) und der Halbleiter-Heterostruktur Dielektrikum/Silizium (grün). Exemplarisch wurde TiO₂ als Dielektrikum gewählt. Die Bandstruktur wird von links nach rechts besprochen.

Den Frontkontakt der Anordnung bildet die Referenzelektrode (rot). Sie besteht aus einem Silberdraht, welcher von einem AgCl-Pellet umgeben ist. Im Gleichgewicht sind die elektrochemischen Potentiale beider Komponenten identisch [Bard & Faulkner 2001], was bedeutet, dass sich das Fermienergielevel im Silber und die Redoxenergie des Redoxpaares Ag/AgCl angleichen. Da sich die Austrittsarbeit des Silbers vom absoluten Redoxniveau von Ag/AgCl unterscheidet, ergibt sich ein Sprung im Vakuumniveau. Der Elektrolyt (blau) wird repräsentiert durch die Energien einiger Redoxpaare des Wassers (siehe Tab. 2.1). Die Redoxenergien in Bezug auf das Ag/AgCl-Paar sind tabelliert [Bard & Faulkner 2001]. Für alle Redoxpaare gilt ein identisches Vakuumniveau. Der senkrechte schwarze Balken an der Elektrolyt/TiO₂-Grenzfläche soll verdeutlichen, dass zwischen beiden Komponenten nur ein eingeschränkter Ladungstransfer stattfinden kann. Es findet daher kein Angleich von Fermienergielevel im Halbleiter und einem Redoxniveau im Elektrolyten statt. Vielmehr hängt die Bandanpassung beim Kontakt zwischen Elektrolyt und Halbleiter von vielen Faktoren ab. Einige von ihnen sind spezifische Adsorption von Ionen an die Halbleiteroberfläche (bei wässrigen Elektrolyten vor allem von H⁺ und OH⁻), pH-Wert und Oberflächenzustände des Halbleiters [Morrison 1980]. Im Falle des TiO₂ wurde für einen wässrigen Elektrolyten die Differenz zwischen dem TiO₂-Leitungsband und einer Ag/AgCl Referenzelektrode $S = E_C^{TiO_2} - E_{REF}$ experimentell bestimmt. Für einen pH-Wert von 5.8 ergab sich $S = 0.5$ eV [Dutoit *et al.* 1976]. Auf der rechten Seite befindet sich die Halbleiter-Heterostruktur aus TiO₂ und Silizium (rot). Für die Bandenergien wurden die Werte aus Abb. 2.8 übernommen.

Für die Flachbandspannung V_{ES}^{FB} , des in Abb. 2.9 dargestellten Systems ergibt sich:

$2H_2O + 2e^- \rightleftharpoons H_2 + 2OH^-$	3.67 eV
$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$	4.50 eV
$2H_2O \rightleftharpoons O_2 + 4H^+ + 4e^-$	5.73 eV
Ag/AgCl Referenzelektrode bei 160 mM NaCl	4.77 eV

Tabelle 2.1: Redoxreaktionen und absolute Redoxenergien relativ zum Vakuumniveau für einige Redoxpaare des Wassers sowie der Referenzelektrode. Zahlenwerte aus Bard & Faulkner [2001].

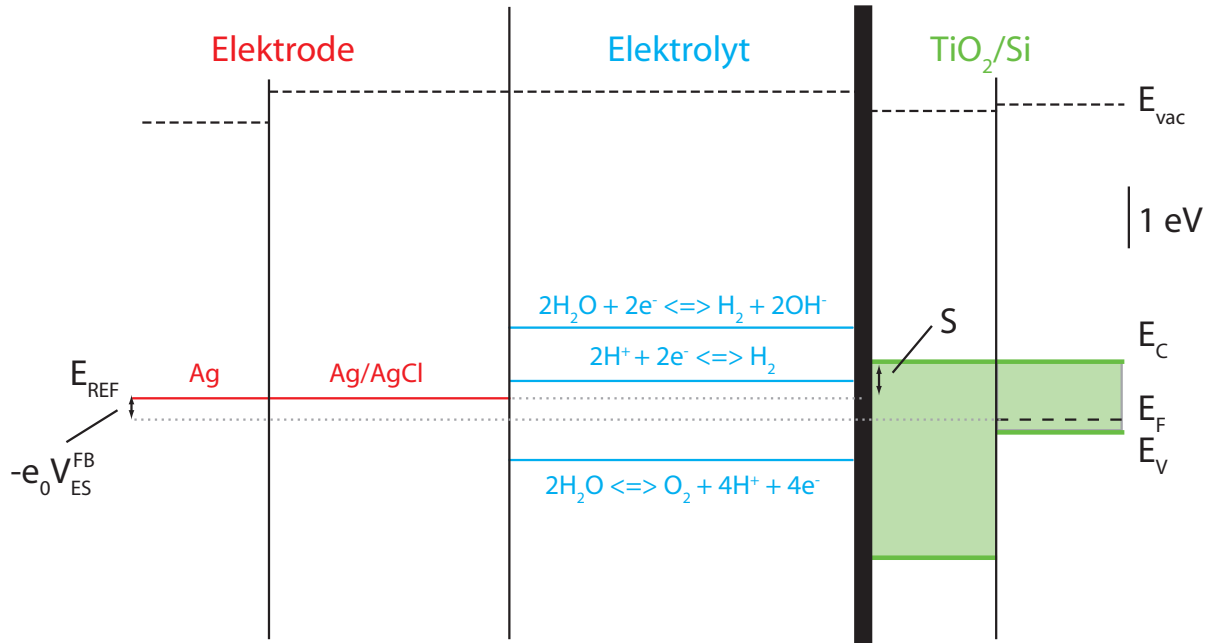


Abbildung 2.9: Bandstruktur des Elektrode/Elektrolyt/TiO₂/Silizium-Systems. Die Energien sind maßstabsgetreu mit Zahlenwerten von Bard & Faulkner [2001] für Elektrode/Elektrolyt, Dutoit *et al.* [1976] für S und Robertson [2000] für TiO₂/Si.

$$e_0V_{ES}^{FB} = S - \Delta E_C + \chi_S - \phi_S \quad (2.22)$$

Für hoch p-dotiertes Silizium ist das Fermi-niveau näherungsweise identisch mit dem Valenzband. Die Austrittsarbeit ϕ_S ist daher um den Wert der Bandlücke $E_G = 1.1$ eV größer als die Elektronenaffinität χ_S . Somit wird nach Gl. 2.22 für ein TiO₂/p⁺-Si-System mit Elektrolyt-Frontkontakt bei pH=5.8 eine Flachbandspannung von $V_{ES}^{FB} = -0.60$ V erwartet (mit $S = 0.5$ eV, $\Delta E_C = 0$, $\chi_S = 4$ eV, $\phi_S = 5.1$ eV).

Externe Spannungen

Die externe Spannung V_{ES} bestimmt den Unterschied zwischen den Fermi-niveaus des Silberdrahts der Referenzelektrode und des Siliziums: $-e_0V_{ES} = E_{REF} - E_F$. In Abb. 2.9 ist V_{ES} so gewählt, dass weder im Dielektrikum noch im Silizium eine Spannung abfällt. Deshalb erscheinen die Bänder dort flach und dieses V_{ES} wird „Flachbandspannung“ V_{ES}^{FB} genannt. Liegt eine von V_{ES}^{FB} verschiedene externe Spannung an, so bleiben in erster Näherung S und auch die Redoxenergien zueinander unverändert [Morrison 1980; Bard & Faulkner 2001]. Zudem wird durch eine spezielle Schaltung erreicht, dass über der Referenzelektrode keine Spannung abfällt (potentiostatische Schaltung, siehe Abschnitt 2.2.2). Die gesamte Spannungsänderung $V_{ES} - V_{ES}^{FB}$ fällt folglich ausschließlich über der

Dielektrikum/Silizium-Heterostruktur ab.

Ladungstransport an einer Halbleiter/Elektrolyt-Grenzfläche

Beim Anlegen einer äußeren Spannung kann Strom durch das EIS-System fließen. Maßgeblich dafür ist der Ladungstransfer über die Elektrolyt/Dielektrikum-Grenzfläche. Da Dielektrika mit kleiner Bandlücke (z.B. die Hoch-K-Oxide HfO_2 und TiO_2) als Halbleiter betrachtet werden, zeigt Abb. 2.10 die Möglichkeiten des Ladungstransfers an einer Elektrolyt/Halbleiter-Grenzfläche. Die Redoxpaare sind nun detaillierter gezeichnet. Jedes Redoxpaar wird unterteilt in eine oxidierte und eine reduzierte Komponente, deren Wahrscheinlichkeitsverteilung der Energiezustände jeweils Gauß-förmig ist [Gerischer 1990]. Die Zustände mit den höheren Energiewerten gehören dabei zur oxidierten Komponente, welche Elektronen aufnehmen (bzw. Löcher abgeben) kann, und die Zustände mit den niedrigeren Energiewerten gehören zur reduzierten Komponente, welche Elektronen abgeben (bzw. Löcher aufnehmen) kann. Die Energiedifferenz zwischen beiden Komponenten ist ca. 0.5 eV bis 1.0 eV [Bard & Faulkner 2001].

Ein Ladungstransfer vom Elektrolyten zum Halbleiter oder umgekehrt findet ausschließlich isoenergetisch statt [Morrison 1980; Gerischer 1990]. Dies ist in Abb. 2.10 für drei verschiedene Redoxpaare gezeigt. Die Energiezustände des Redoxpaares B befinden sich in der Bandlücke. Mit diesem ist kein Ladungsträgeraustausch möglich, auch falls im Halbleiter eine signifikante Anzahl von Ladungsträgern an der Oberfläche zur Verfügung stünden. Dagegen überlappen die Energiezustände von Redoxpaar A mit dem Leitungsband und die von Redoxpaar C mit dem Valenzband. Aus diesem Grund können Elektronentransfers zwischen Halbleiter und Elektrolyt über das Redoxsystem A stattfinden und Löchertransfers über Redoxsystem C. Die Pfeile in der Abbildung zeigen die möglichen Prozesse.

Die Transferrate von Ladungsträgern aus dem Halbleiter in den Elektrolyten (und somit der Strom über die Grenzfläche) ist stark abhängig von der Dichte der Ladungsträger

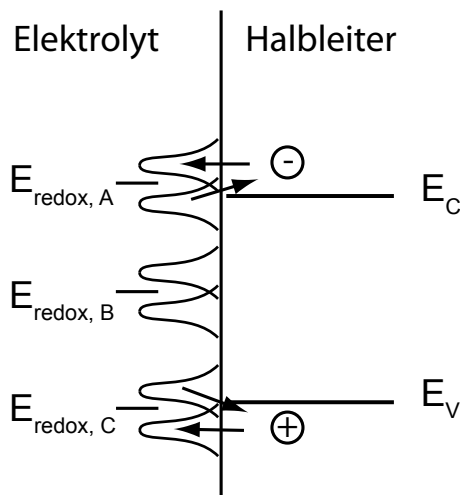


Abbildung 2.10: Schema des Ladungstransfer an Halbleiter/Elektrolyt-Grenzflächen. Die Energiezustände der Redoxpaare sind durch ihre Gauß-förmigen Wahrscheinlichkeitsverteilungen gekennzeichnet. Bei einem Elektrolyt/Halbleiter-Kontakt findet ein Ladungstransfer ausschließlich isoenergetisch zwischen den Bändern im Halbleiter und Redoxpaaren statt.

an der Grenzfläche. Diese wiederum variiert sehr stark bei einer angelegten Spannung, wie im Abschnitt über Raumladungszonen bereits erläutert. Durch das Erzeugen einer Anreicherungs- oder Inversionsschicht kann die Transferrate erhöht werden, während sie durch eine Verarmungsschicht reduziert wird.

Im Gegensatz dazu ist der Transfer von Ladungen aus dem Elektrolyten in den Halbleiter ausschließlich abhängig vom energetischen Überlapp zwischen Redoxpaar und Band. Da sich dieser bei angelegter Spannung nicht ändert, ist diese Richtung des Ladungstransports in erster Näherung unabhängig von der Spannung [Morrison 1980; Gerischer 1990].

2.2 Materialien und Methoden I: Chipcharakterisierung

Nachdem die theoretischen Grundlagen der EIS-Chips beschrieben wurden, werden nun die experimentellen Details erläutert.

2.2.1 Der Stimulationschip

Design

Das Design der Stimulationschips beruht auf vorhergehenden Arbeiten. Die Neuerung besteht darin, das Dielektrikum, welches vorher aus SiO_2 bestand, durch die Hoch-K-Materialien HfO_2 und TiO_2 zu ersetzen.

Den Aufbau eines einzelnen Stimulationschips zeigt Abb. 2.11. Ein Chip ist quadratisch mit einer Kantenlänge von 4 mm. In der Mitte befindet sich der runde Kondensator. Dort ist das Siliziumsubstrat nur durch ein dünnes Dielektrikum, welches aus einer Pufferschicht und dem eigentlichen Hoch-K-Oxid besteht, isoliert. Umgeben ist der Kondensator von einer ca. $1 \mu\text{m}$ dicken SiO_2 -Schicht, dem Feldoxid. Der Chip ist auf der Rückseite mit Aluminium bedampft. Um in den Anwendungen und den elektrischen Messungen flexibel zu sein, befinden sich auf einem Wafer Chips mit unterschiedlichen Kondensatordurchmessern. Ein Schema der Lithographiemaske, mit der die Kondensatoren auf dem Wafer erzeugt werden, zeigt Abb. 2.12. Die runden schwarzen Flächen entsprechen auf dem fertigen Wafer den Kondensatorelementen. Entlang den schwarzen Linien wird der fertig prozessierte Wafer gesägt, so dass sich einzelne quadratische Chips mit einer Kantenlänge von 4 mm ergeben. Ein Wafer beinhaltet je ca. 100 Chips mit Kondensatordurchmessern von 0.1 mm, 0.25 mm, 0.5 mm, 1 mm und 2 mm, so dass für jede Anwendung (elektrische Charakterisierung, Stimulationsexperimente) eine geeignete Kondensatorfläche zur Verfügung steht.

Prozessierung

Die Chips wurden im abteilungseigenen Reinraum hergestellt. Lediglich die Beschichtung mit den Hoch-K-Materialien fand extern statt. Im Folgenden soll nur eine kurze Zusam-

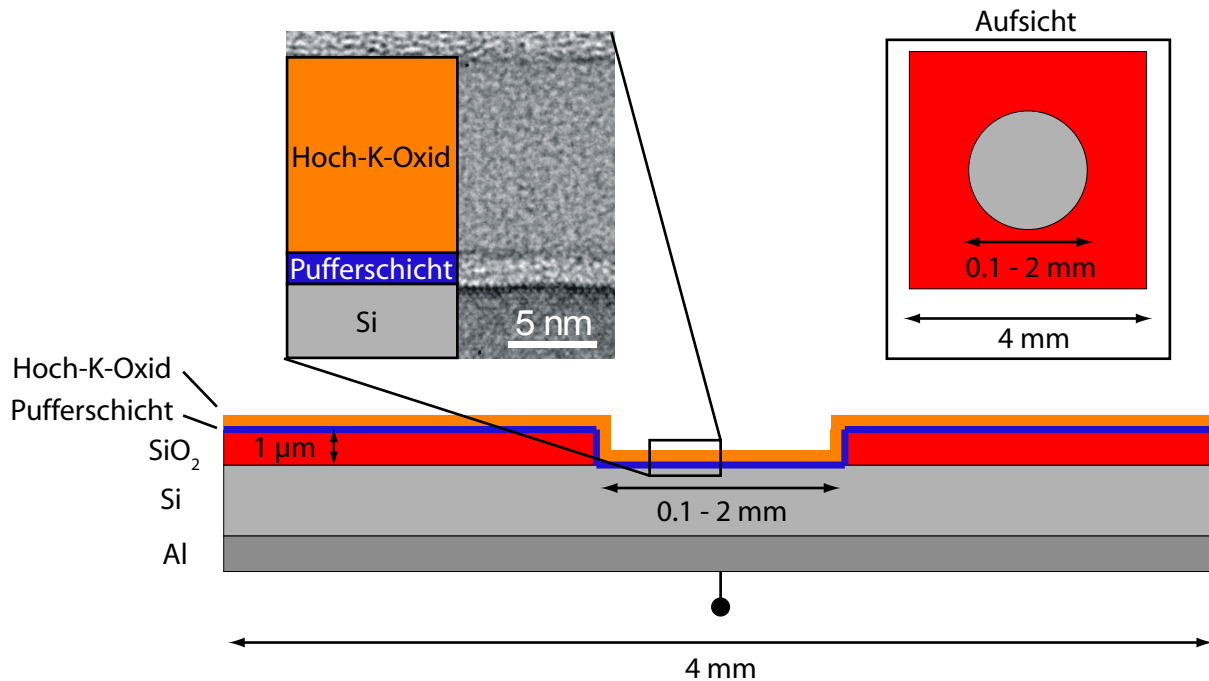


Abbildung 2.11: Schema eines Stimulationschips (nicht maßstabsgetreu) im Querschnitt (unten) und in der Aufsicht (oben rechts). Für TiO_2 auf Nitridpuffer ist eine elektronenmikroskopische Aufnahme des Schichtaufbaus im Spot gezeigt (oben rechts).

menfassung gegeben werden. Die Details finden sich im Anhang.

Substrat. Als Ausgangsmaterial wurden hoch-p-dotierte 4" Wafer mit einem spezifischen Widerstand von $0.006 - 0.01 \Omega\text{cm}$ verwendet (p^+ -Si). Dies entsprach einer Dotierkonzentration von ca. 10^{19} cm^{-3} [Sze 1981]. Nach einer Standard-RCA-Reinigung (Radio Corporation of America) wurde der Wafer homogen oxidiert. Das so entstandene Feldoxid hatte eine Dicke von ca. $1 \mu\text{m}$.

Strukturierung. Um das Oxid zu strukturieren, wurde ein Lithographieschritt durchgeführt. Auf den Wafer wurde Photolack aufgeschleudert, welcher durch die Maske (Abb. 2.12) belichtet wurde. Im nachfolgenden Entwicklungsschritt wurden die zukünftigen Kondensatorflächen vom Lack befreit. Durch eine nasschemische Ätzung in Flusssäure wurden nun an den wegentwickelten Stellen die Flächen, die später den Kondensator bilden, erzeugt.

Beschichtung. Nachdem der restliche Lack vom Wafer entfernt wurde, konnte die Beschichtung mit den Dielektrika vorgenommen werden. Die Hoch-K-Beschichtungen wurden entweder von ASM Microchemistry Ltd., Helsinki (im Folgenden „ASM“ genannt) oder vom Laboratorio MDM-INFM, Mailand (im Folgendem „MDM“ genannt) mittels

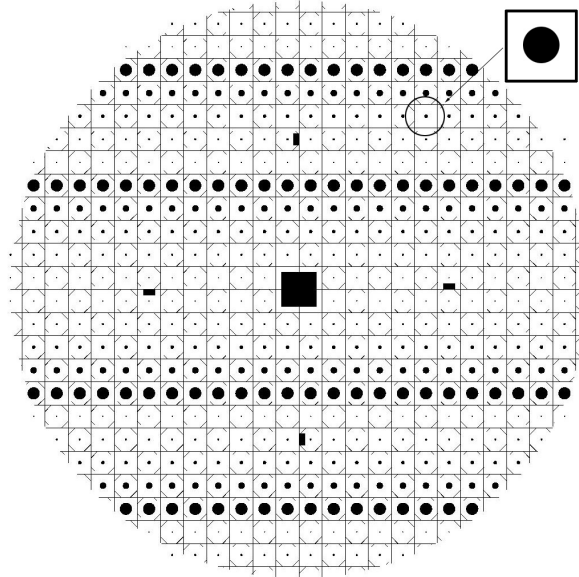


Abbildung 2.12: Schema der Photolithographiemaske. Der gesamte Wafer (runde Fläche) hat einen Durchmesser von 10 cm und ist in $4 \times 4 \text{ mm}^2$ große Chips unterteilt. In der Mitte jedes Chips befindet sich der runde Kondensator. Es stehen Durchmesser von 0.1 mm, 0.25 mm, 0.5 mm 1 mm und 2 mm zur Verfügung. Die dunklen Bereiche sind auf der Maske transparent, die hellen mit Chrom bedampft.

Atomic-Layer-Deposition (ALD) vorgenommen [Suntola 1989; Leskela & Ritala 2002; Ritala 2004]. Die Prekursoren für die Hafnium- und Sauerstoffatome waren Hafniumtetrachlorid (HfCl_4) und Wasser (H_2O). Als Prekursor für die Ti-Atome wurde bei ASM Titan-tetrachlorid (TiCl_4) benützt, während bei MDM Titan-Iso-Propoxid ($\text{Ti}[\text{OCH}(\text{CH}_3)_2]_4$) zur Verwendung kam. Die Prozesstemperatur betrug in allen Fällen 300°C .

Um eine unkontrollierte Zwischenschicht unter dem Hoch-K-Oxid zu vermeiden, wurden vor dem eigentlichen Hoch-K-Material geeignete Pufferschichten aus Al_2O_3 oder Si_3N_4 aufgebracht. Hierbei wurden Al_2O_3 -Beschichtungen ebenfalls mittels ALD außer Haus durchgeführt (Prekursoren Trimethylaluminium (TMA) und Wasser, Temperatur 300°C) und Si_3N_4 -Schichten im Abteilungsreinraum mittels „Rapid Thermal Processing“ (RTP) hergestellt. Anschließend fand die Beschichtung mit den Hoch-K-Oxiden HfO_2 oder TiO_2 statt. Einige Wafer wurden auch ohne Puffer, direkt nach dem Entfernen des natürlichen Oxids durch Flusssäure, mit TiO_2 beschichtet.

Als Referenz wurde ein Wafer mit SiO_2 als Dielektrikum hergestellt. Dafür wurde er thermisch oxidiert. Zur Reduktion von Defekten an der Grenzfläche wurde direkt nach der Oxidation mit Wasserstoff getempert. In diesem Fall war keine Pufferschicht nötig.

Fertigstellung. Nach der Beschichtung wurde Aluminium auf die Rückseite aufgedampft und der Wafer in die einzelnen Chips zersägt.

Frontseiten-Metallisierung. Auf einige wenige Chips wurde durch eine Lochmaske Aluminium auf die Vorderseite aufgedampft. Dabei wurde die Kondensatorfläche komplett und ein geringer Teil des Feldoxids mit Aluminium bedeckt.

2.2.2 Elektrische Messtechnik

Impedanz und Kapazitätsmessung

In dieser Arbeit soll die spannungsabhängige, differentielle Kapazität von EIS-Strukturen bestimmt werden. Diese ist jedoch nicht direkt messbar. Vielmehr lässt sich primär nur die komplexe Impedanz, bestehend aus Phase und Amplitude, messen. Dazu wird die externe (Gleich-) Spannung variiert und von einer Wechselspannung kleiner Amplitude überlagert. Gemessen wird dann der komplexe Strom. Zusammen mit der angelegten Spannung kann daraus die komplexe Impedanz ermittelt werden.

Um die Kapazität des EIS-Systems zu ermitteln, muss ein Ersatzschaltbild angenommen werden. Ein denkbares, einfaches Modell ist das Drei-Komponenten Modell, welches in Abb. 2.13 oben gezeigt ist. Hierin ist der Kapazität des EIS-Systems C je ein Widerstand parallel R_P und in Serie R_S geschaltet. Physikalisch repräsentiert R_P die Leckleitfähigkeit der EIS-Struktur und R_S sämtliche parasitären Serienwiderstände von Kabeln, Elektroden und Elektrolyt.

Da in der Messung aber nur zwei Größen, nämlich Betrag Z und Phase θ der Impedanz ermittelt werden, können daraus nicht alle drei Größen dieses Schaltbildes errechnet werden. Um also die Kapazität zu errechnen, muss das Ersatzschaltbild auf höchstens zwei Komponenten reduziert werden. Die Frage, ob eine Serien- oder Parallelschaltung das System adäquat repräsentiert, hängt von den Größen der jeweiligen Komponenten

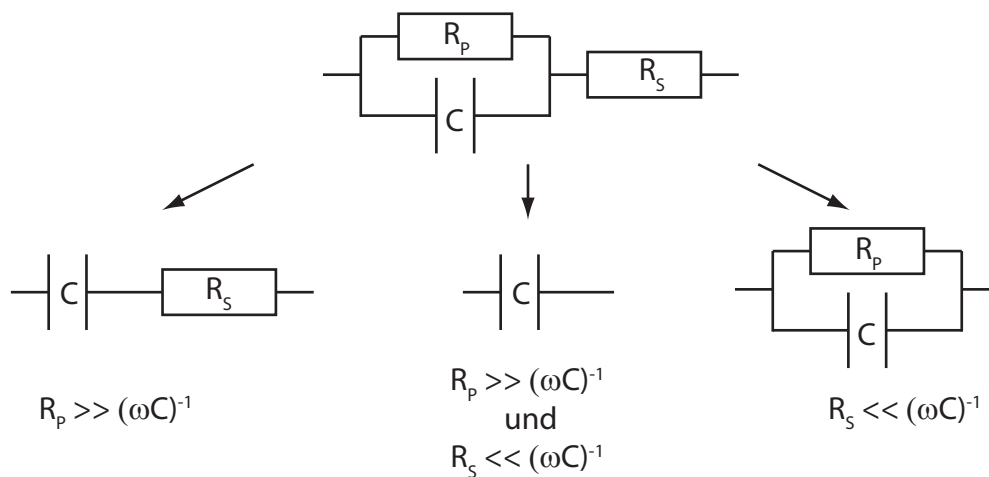


Abbildung 2.13: Mögliche Ersatzschaltbilder zur Auswertung der Kapazität. Für einige Verhältnisse der Kondensatorimpedanz $(\omega C)^{-1}$ zu den Widerständen R_S und R_P kann das Drei-Komponentenmodell (oben) auf einfachere Schaltungen (unten) reduziert werden.

und der Frequenz der Wechselspannung $\omega = 2\pi f$ ab. Ist die Impedanz der Kapazität $X = 1/\omega C$ gegenüber dem Parallelwiderstand R_P vernachlässigbar, so fließt praktisch kein Strom über R_P und eine Serienschaltung aus C und R_S (Abb. 2.13 unten-links) beschreibt das System angemessen. In diesem Fall wird C und R_S folgendermaßen aus Z und θ ermittelt [Stöcker 1998]:

$$R_S = \frac{Z}{\sqrt{1 + \tan(\theta)^2}}, \quad C = -\frac{1}{\tan(\theta)} \frac{\sqrt{1 + \tan(\theta)^2}}{\omega Z} \quad (2.23)$$

Ist dagegen R_S gegenüber X vernachlässigbar, so wird der Gesamtstrom kaum durch R_S beeinflusst und eine Parallelschaltung aus C und R_P sollte verwendet werden (Abb. 2.13 unten-rechts). Es gilt dann [Stöcker 1998]:

$$R_P = Z\sqrt{1 + \tan(\theta)^2}, \quad C = -\frac{\tan(\theta)}{\omega Z\sqrt{1 + \tan(\theta)^2}} \quad (2.24)$$

Sind beide Bedingungen erfüllt, so ist θ ungefähr $-\pi/2$ und beide Formeln ergeben $C = (\omega Z)^{-1}$ (Abb. 2.13 unten-mitte). Ist keine der Bedingungen erfüllt, so lässt sich die Situation nicht auf zwei Komponenten reduzieren und eine fehlerfreie Berechnung von C ist nicht möglich.

Bei allen EIS-Messungen im Folgendem wird die Kapazität mit einer Serienschaltung ausgewertet, da die angelegten Spannungen auf Bereiche beschränkt sind, in denen die Parallel-Leitfähigkeit vernachlässigt werden kann. Zusätzlich ist X bei hohen Frequenzen nicht mehr viel größer als R_S , was eine serielle Auswertung von Nöten macht.

Potentiostatische Schaltung

Für exakte elektrische Messungen an den EIS-Chips reicht es nicht aus, zwischen dem Rückkontakt des Chips und einer Elektrode im Elektrolyten eine Spannung anzulegen und den Strom durch diese Anordnung zu messen. Es gäbe dabei ein grundsätzliches Problem: Wann immer durch eine Elektrode ein ohmscher Strom fließt, fällt an ihr eine Spannung ab. Sie besitzt einen stromabhängigen Innenwiderstand. Es ist daher nicht möglich, das Potential einer Elektrode („Messelektrode“, Chip) bei Stromfluss mit einer anderen Elektrode („Bezugselektrode“, Ag/AgCl-Elektrode) zu bestimmen, da auch an der Bezugselektrode Spannung abfällt, sobald durch diese ein Strom fließt. Um trotzdem Spannungen unter Stromfluss zu messen, wird als Potentialbezugspunkt eine dritte, nicht stromdurchflossene Elektrode („Gegenelektrode“) benötigt. Hierzu wird meist eine Platinelektrode verwendet, an der hochohmig die Spannung gemessen wird [Bard & Faulkner 2001].

Um mit Hilfe der drei Elektroden Messungen durchzuführen, wird eine Regelschaltung, wie in Abb. 2.14 gezeigt, verwendet. Eine solche Schaltung wird als „Potentiostatische Schaltung“, entsprechende Geräte als „Potentiostaten“ bezeichnet. Während einer Messung vergleicht der Potentiostat ständig die vorgegebene Sollspannung V_{soll} mit der von

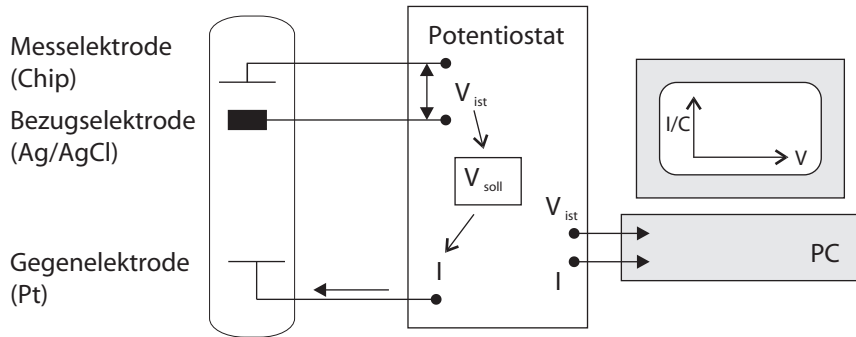


Abbildung 2.14: Prinzip einer potentiostatischen Schaltung. Der Potentiostat vergleicht kontinuierlich die vorgegebene Spannung V_{Soll} mit der Istspannung V_{Ist} . Zum Abgleich der beiden Werte wird ein Strom I über die Gegenelektrode injiziert (nach Hamann & Vielstich [1998]).

der Bezugselektrode gemessenen Istspannung V_{ist} . Besteht zwischen beiden Spannungen eine Differenz, so gleicht die Regelschaltung die Differenz aus, indem ein passender Strom I durch die Gegenelektrode geschickt wird. Dieser Vorgang dauert normalerweise weniger als 10^{-5} s, abhängig von der Impedanz des angeschlossenen Kreises. Das auf die Bezugselektrode bezogene Potential entspricht somit stets der Sollspannung V_{soll} [Hamann & Vielstich 1998].

Konfiguration für EIS-Messungen

Um die $4\text{ mm} \times 4\text{ mm}$ großen Chips elektrisch zu kontaktieren, wird ein speziell angefertigter Messadapter verwendet (siehe Abb. 2.15). Dieser erlaubt die metallische Kontaktierung des Chips von der Rückseite und die Kontaktierung der Vorderseite mit einem Elektrolyten. Um ein möglichst gutes Signal/Rausch-Verhältnis zu erzielen, werden Chips mit möglichst großem Kondensatordurchmesser von 2 mm verwendet.

Bei allen Messungen wird als Elektrolyt 160 mM NaCl (pH 5.9, spez. Widerstand $56\ \Omega\text{cm}$) verwendet. In den Elektrolyten wird eine Platin- und eine Ag/AgCl-Elektrode getaucht, um eine potentiostatische Schaltung zu ermöglichen. Die externe Spannung V_{ES} wird als Potentialdifferenz zwischen der Ag/AgCl-Referenzelektrode und dem Rückkontakt des Chips angelegt. Sie wird mit einer Rate von 300 mV/s vom positiven zum negativen Limit gefahren. Die Messungen werden im Dunkeln durchgeführt.

Bei den Kapazitätsmessungen wird der Gleichspannung, falls nicht anders angegeben, eine Wechselfrequenz der Amplitude 100 mV (rms) und der Frequenz 100 Hz überlagert. Vom Potentiostaten wird Betrag und Phase der Impedanz bestimmt. Die angegebenen Kapazitäten c_S sind seriell ausgewertet, um die Kapazität des Feldoxids (47.7 pF) korrigiert und auf die Kondensatorfläche $A_S = 3.14 \times 10^{-2}\text{ cm}^2$ normiert. Die angegebenen Gleichströme i_S sind ebenfalls auf A_S normiert.

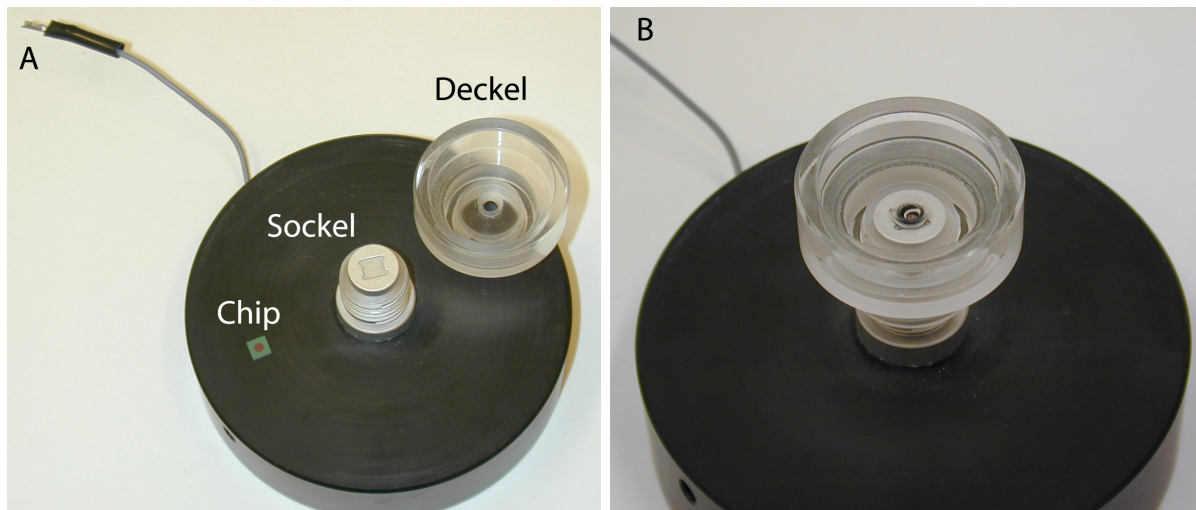


Abbildung 2.15: Adapter zur Charakterisierung der EIS-Chips. (A) Die Komponenten des Systems. (B) tatsächliche Messkonfiguration. Zur Messung wird der Chip in die Vertiefung des Sockels gelegt, der Deckel auf den Sockel geschraubt und der Elektrolyt in den Deckel gefüllt. Das Loch im Boden des Deckels erlaubt einen Kontakt zwischen Elektrolyt und Chipoberseite. Durch das Aufschrauben des Deckels wird ein Gummiring auf die Chipoberfläche gepresst und dadurch die Rückseite des Chips vom Elektrolyten isoliert. Um den elektrischen Kontakt zu vervollständigen, werden eine Platin- und eine Ag/AgCl-Elektrode in den Elektrolyten getaucht (nicht gezeigt). Der Anschluss links oben kontaktiert den Sockel. Der Durchmesser der schwarzen Grundplatte beträgt 8 cm.

Metallkontakt

Bei einigen Messungen besteht der Frontkontakt aus Aluminium. Hier werden die Kapazitätsmessungen an einer Probe-Station durchgeführt. Der Rückkontakt wird durch die metallische Auflagefläche hergestellt. Zur Herstellung des Frontkontakts wird eine Wolfram-Nadel auf der mit Aluminium bedeckten Kondensatorfläche positioniert. Die beiden Kontakte werden mit einem Impedanzmessgerät verbunden. Die Auswertung erfolgt mit einem parallelen Schaltkreis, da hohe Leckleitfähigkeiten der Oxide erwartet werden. Die Messungen finden im Dunkeln statt. Um den störenden Einfluss einer eventuell vorhandenen Leckleitfähigkeit zu minimieren, finden Spots mit einem, im Vergleich zu den EIS-Messungen, kleinen Kondensatordurchmesser von 0.25 mm Verwendung.

2.2.3 Weitere Analysemethoden

Transmission-Elektronen-Mikroskop (TEM)

Die Qualität der Hoch-K-Oxide und der Grenzfläche zum Silizium wurden morphologisch untersucht. Dazu wurden TEM-Aufnahmen von einigen Proben in Auftrag gegeben (Siemens AG, München; ST Microelectronics, Agrate Brianza, Italien). Abb. 2.16 zeigt zwei Proben, die bei ASM beschichtet wurden. Die Dicke der Zwischenschicht aus Si_3N_4 beträgt für beide Proben ca. 1.5 nm. Die Grenzflächen und Schichten erscheinen für beiden

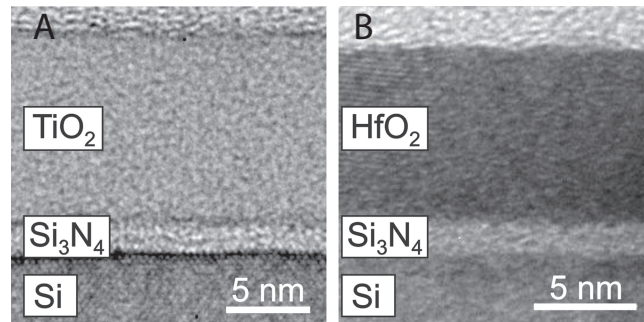


Abbildung 2.16: Transmissions-Elektronenmikroskopie-Aufnahmen von zwei Proben, die bei ASM beschichtet wurden. Die Dicke der Si_3N_4 Zwischenschicht beträgt in beiden Fällen 1.5 nm. Die Oxiddicken sind 10.5 nm (TiO_2) und 10.0 nm (HfO_2).

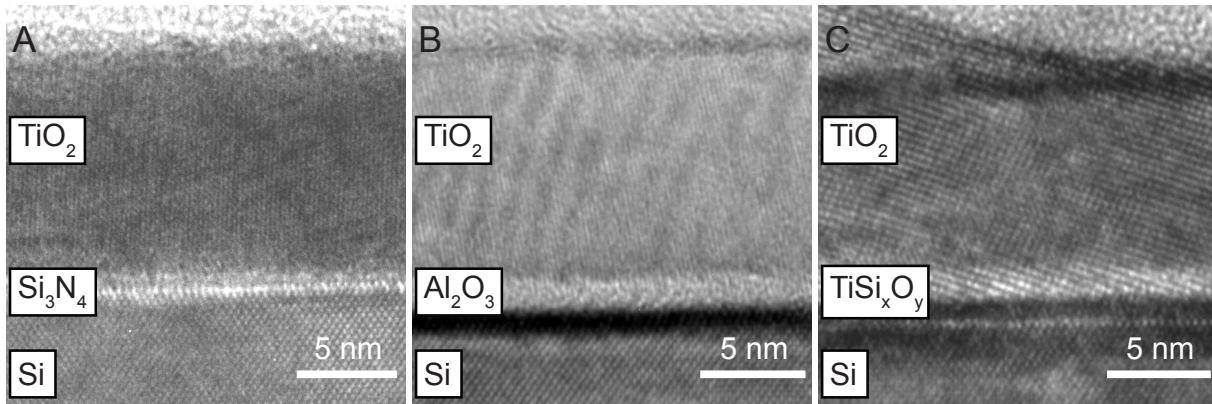


Abbildung 2.17: Transmissions-Elektronenmikroskopie-Aufnahmen von drei TiO_2 -Proben, bei denen die Pufferschicht variiert wurde. Die Filme wurden bei MDM hergestellt. Die Pufferschicht ist bei allen drei Proben ca 1 nm dick. Die TiO_2 -Dicken betragen von links nach rechts: 10.9 nm, 11.4 nm und 10.2 nm.

Materialien sehr homogen mit nur geringen Rauigkeiten. Aus den Bildern ergibt sich eine Oxiddicke von 10.5 nm für die TiO_2 - und 10.0 nm für die HfO_2 -Probe.

In Abb. 2.17 sind drei Proben zu sehen, die bei MDM beschichtet wurden. Hierbei handelt es sich um TiO_2 Filme mit verschiedenen Zwischenschichten. Die Pufferschicht besteht in der linken Aufnahme aus Si_3N_4 und in der mittleren Aufnahme aus Al_2O_3 . Bei der rechten Probe wurde keine Pufferschicht gezielt aufgebracht. Hier fand die TiO_2 -Beschichtung direkt nach Entfernung des natürlichen Oxids des Siliziums durch kurzes Tauchen in Flusssäure statt. Die scheinbar kristallinen Strukturen im TiO_2 sind Artefakte und kommen durch Reflektionen des Si-Gitters zustande. Die dunklen Bereiche am oberen Rand des Siliziums gehören noch zum Substrat. Die hellen Bereiche zwischen Oxid und Silizium sind die Pufferschichten.

Verglichen mit dem TEM-Bild der Proben von ASM (Abb. 2.16A), erscheint der Nitridpuffer hier etwas dünner. Die Dicke der Al_2O_3 -Schicht beträgt ebenfalls ca. 1 nm bis 1.5 nm (Abb. 2.17B). Auch bei der Probe, bei der keine gezielte Pufferschicht erzeugt wur-

de, ist ein heller Bereich ähnlicher Dicke zwischen TiO_2 und Silizium zu erkennen (Abb. 2.17C). Folglich unterscheidet sich die Zusammensetzung an der Si-Grenzfläche vom Rest der TiO_2 -Schicht. Welche Zusammensetzung hier genau vorliegt, kann nicht gesagt werden. Naheliegender wäre Titansilikat (TiSi_xO_y) mit einer unbekanntenen Stöchiometrie. Die aus den TEM Aufnahmen bestimmten TiO_2 -Dicken betragen 10.9 nm (A), 11.4 nm (B) und 10.2 nm (C).

Ellipsometrie

Die Dicken d_{OX} der Hoch-K-Oxide werden mit einem Ellipsometer bei einer Wellenlänge von 532 nm bestimmt. Zur Auswertung der ellipsometrischen Messgrößen Δ und Ψ muss ein Modell des Systems aufgestellt werden [Azzam & Bashara 1987]. Es besteht aus Si-Substrat, Zwischenschicht und Oxidschicht. Für die einzelnen Komponenten werden jeweils homogene Brechungsindizes n und Absorptionskoeffizienten k angenommen, die sich an der Grenzfläche sprunghaft ändern. Für Silizium werden folgende Werte benützt: $n_{Si} = 4.1653$, $k_{Si} = 0.049$. Für die Zwischenschicht wird aus den TEM-Bildern eine Dicke von $d_{IL} = 1.5$ nm abgeschätzt und als Brechungsindex wird für Si_3N_4 2.0342 und für Al_2O_3 1.6634 verwendet. Bei Proben, bei denen keine Pufferschicht gezielt aufgebracht wurde, wird als Brechungsindex der Zwischenschicht der Wert für SiO_2 (1.4605) verwendet. Der Absorptionskoeffizient ist für alle Pufferschichten und Oxide Null. Alle Zahlenwerte für Brechungsindizes und Absorptionskoeffizienten sind aus der Datenbank der Ellipsometersoftware entnommen. Mit Hilfe dieses Modells ermittelt die Ellipsometersoftware aus den beiden Messgrößen Δ und Ψ die Dicke d_{OX} und den Brechungsindex n_{OX} der Dielektrika. Bei den Referenzproben, die mit SiO_2 beschichtet sind, wird lediglich d_{OX} bestimmt und als Brechungsindex $n_{SiO_2} = 1.4605$ verwendet. In diesem Fall wird die Zwischenschicht aus dem Modell entfernt.

Für die HfO_2 -beschichtete ASM-Probe, für die ein TEM-Bild zur Verfügung steht, stimmen die mit Ellipsometrie und TEM bestimmten Dicken gut überein. Aus dem TEM-Bild ergeben sich 10.0 nm, während das Ellipsometer 9.5 nm ermittelt. Im Gegensatz dazu liegt die ellipsometrisch bestimmte Dicke der TiO_2 -Schicht mit 13.4 nm deutlich oberhalb der Dicke von 10.5 nm, die aus dem TEM-Bild hervorgeht. Auch bei den drei MDM-Proben ergeben sich Abweichungen zwischen den beiden Messmethoden. Die ellipsometrisch bestimmte TiO_2 -Dicke ist mit 12.9 nm (Si_3N_4), 12.1 nm (Al_2O_3) und 12.0 nm (SiO_2) ca. 1.2 nm bis 1.8 nm über den TEM-Werten. Es scheint daher, als würde das Ellipsometer die TiO_2 -Dicke systematisch überschätzen.

Die Ursachen für diese Abweichungen sind vermutlich in den Annahmen des Modells zu suchen. Möglicherweise treffen diese nicht exakt auf das TiO_2 /Zwischenschicht/Si-System zu. Zusätzlich können auch bei TEM-Aufnahmen scheinbare Größenverzerrungen auftreten. Eine Abweichung der mittels TEM und Ellipsometrie ermittelten Dicken ist auch in der Literatur für SiO_2/Si und $\text{Ta}_2\text{O}_3/\text{Si}$ beschrieben [Vanhellemont *et al.* 1993; Kohli *et al.* 2005].

Kapitel 3

Charakterisierung der Hoch-K-Kondensatoren mit Nitridpuffer

In diesem Kapitel werden die elektrische Charakterisierung der Chips und die physikalische Interpretation der Ergebnisse beschrieben. Dabei wird die Kapazität von frischen Chips und Chips, die hohen negativen Spannungen ausgesetzt waren, untersucht. Die gemessenen Kapazitäten werden mit numerischen Rechnungen verglichen und so Rückschlüsse auf physikalische Eigenschaften des Systems gezogen. Die Leckströme der Kondensatoren werden am Ende des Kapitels detailliert erläutert.

Alle Kapazitätsmessungen werden in einem Spannungsbereich durchgeführt, in dem der Leckstrom vernachlässigbar ist und mit einer seriellen Schaltung ausgewertet. Bei allen Chips in diesem Kapitel besteht die Pufferschicht aus Siliziumnitrid (Si_3N_4). Der Einfluss verschiedener Pufferschichten auf TiO_2 -basierte Chips wird im nächsten Kapitel untersucht. Alle in diesem Kapitel behandelten Hoch-K-Filme wurden, falls nicht anders ausgewiesen, von ASM hergestellt.

3.1 Referenzsysteme

Bevor die Messungen an Hoch-K-Materialien in der EIS-Konfiguration dargestellt werden, sollen zwei Referenzsysteme betrachtet werden – zunächst Hoch-K-Materialien in der MIS-Konfiguration und dann SiO_2 in der EIS-Konfiguration.

3.1.1 HfO_2 und TiO_2 mit Metall-Frontkontakt

Abb. 3.1 zeigt die spannungsabhängige Kapazität für eine 18.3 nm dicke HfO_2 -Schicht (A) und eine 15.6 nm dicke TiO_2 -Schicht (B) auf p^+ -Si für verschiedene Frequenzen der angelegten Wechselspannung. Die Spannung V_{MS} wird zwischen dem Aluminium-Frontkontakt und der Si-Rückseite angelegt. Die Daten werden parallel ausgewertet, da hohe Leckleitfähigkeiten erwartet werden.

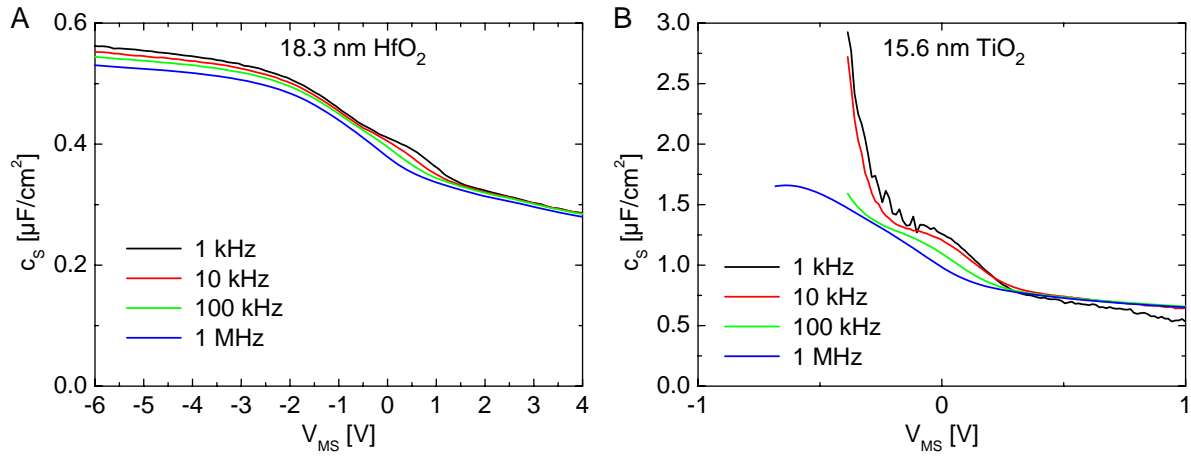


Abbildung 3.1: Spezifische Kapazität c_s der Oxide auf p^+ -Silizium in Abhängigkeit der Spannung V_{MS} zwischen Aluminium und Silizium für 18.3 nm HfO_2 (A) und 15.6 nm TiO_2 (B) bei verschiedenen Frequenzen (parallel ausgewertet).

Die HfO_2 -Probe (A) kann über einen großen Spannungsbereich von ca. 10 V gemessen werden. Die CV-Kurven weisen die von Kapitel 2 her bekannte Form einer theoretischen CV-Kurve im Hochfrequenz-Limit (HF-Limit) auf (Abb. 2.6b). Für negative Spannungen sättigt die Kapazität. Für größer werdende Spannungen fällt die Kapazität ab und sättigt auf einem niedrigeren Wert. Für niedrige Spannungen existiert zwischen 0 und 1 V ein frequenzabhängiger Hügel in der Kapazitätskurve, wie er typisch ist für Grenzflächenzustände (vgl. Abschnitt 2.1.2). Die serielle Auswertung ergibt aufgrund der geringen Leckleitfähigkeit identische Kurven (nicht gezeigt).

Bei der TiO_2 -Probe (B) sind die Leckströme sehr hoch. Daher ist nur ein sehr geringer Spannungsbereich von ca. 1.5 V sinnvoll auswertbar. Schon bei geringen negativen Spannungen führt der hohe Leckstrom zu Artefakten in den gemessenen Kapazitäten. Diese machen sich durch steile Anstiege der Kapazität für niedrige Frequenzen $< 100 \text{ kHz}$ bemerkbar (rot und schwarz). Eine serielle Auswertung liefert nur für 100 kHz und 1 MHz sinnvolle Werte (grün und blau), und auch hier nur in einem im Vergleich zur parallelen Auswertung nochmals reduzierten Spannungsbereich (nicht gezeigt). Das TiO_2 -System weist also, wie aufgrund der geringen Bandlücke erwartet, eine sehr hohe Leckleitfähigkeit auf und kann daher mit einem Metall-Frontkontakt nur in einem sehr kleinen Spannungsbereich und nur mit sehr hohen Frequenzen studiert werden.

3.1.2 SiO_2 in der Elektrolyt/Oxid/Halbleiter-Konfiguration

Bevor die Hoch-K-Oxide behandelt werden, soll zunächst als Referenzsystem SiO_2 als Dielektrikum mit Elektrolyt (160 mM NaCl, pH 5.9, spez. Widerstand $56 \Omega\text{cm}$) als Frontkontakt beschrieben werden. Wie bei den nachfolgenden Messungen an Hoch-K-Systemen wird die Kapazität von frischen Chips, die Reaktion der Kapazitäten auf hohe negative Spannungen und das Frequenzverhalten untersucht.

Frische Chips

Die gemessene, spannungsabhängige Kapazität c_S eines EIS-Systems mit einer 15.7 nm dicken SiO_2 -Schicht auf p^+ -Si, an die zum ersten Mal eine Spannung (vom positiven zum negativen Limit) angelegt wird, ist in Abb. 3.2 (Datenpunkte) gezeigt. Die Frequenz der Wechselspannung beträgt 100 Hz.

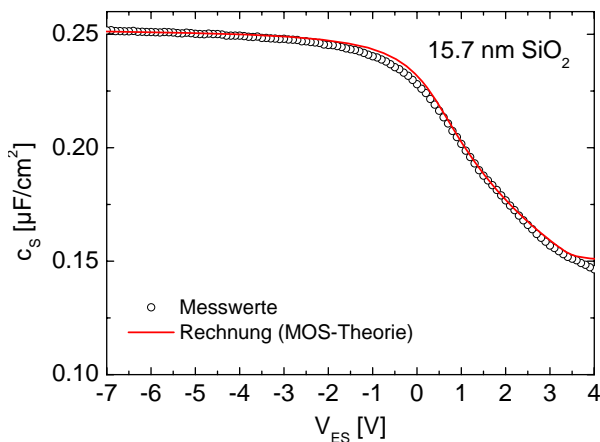
Es ergibt sich die charakteristische Form einer CV-Kurve, wie sie für MOS-Systeme erwartet wird (vgl. Abb. 2.6). Von negativen zu positiven Spannungen existiert nacheinander eine Anreicherungs-, Verarmungs- und Inversionszone in p-Si, wie in Abschnitt 2.1.2 besprochen. Da die Kurve im Inversionsbereich nicht mehr ansteigt, liegt bei der verwendeten Frequenz der Wechselspannung von 100 Hz bereits der HF-Fall für Silizium vor.

Für das SiO_2/Si -System existiert keine Zwischenschicht [Hori 1997]. Deshalb entspricht der Sättigungswert für negative Spannungen von $c_{SAT} = 0.25 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ der spezifischen Kapazität der SiO_2 -Schicht c_{OX} . Er befindet sich nahe dem theoretischen Wert für eine 15.7 nm dicke SiO_2 -Schicht von $c_{OX} = \epsilon_0 \epsilon_{\text{SiO}_2} / d_{\text{SiO}_2} = 0.22 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ (mit der Dielektrizitätskonstante $\epsilon_{\text{SiO}_2} = 3.9$ [Sze 1981]). Die Abweichung ist vermutlich auf einen Fehler in der Dickenmessung mit dem Ellipsometer zurückzuführen (siehe Abschnitt 2.2.3).

In der einfachen MOS-Theorie aus Kapitel 2 wird das Oxid als perfekter Isolator behandelt, Grenzflächenzustände vernachlässigt und für die Ladungsträgerdichte im Silizium die Boltzmann-Verteilung angenommen. In diesem MOS-Modell ist die CV-Kurve durch die drei Parameter Akzeptorkonzentration N_A , Flachbandspannung V_{FB} und Oxidkapazität c_{OX} eindeutig bestimmt (siehe Abschnitt 2.1.2). Um eine theoretische CV-Kurve zu errechnen, müssen daher diese drei Parameter aus den Daten gewonnen werden.

Während c_{OX} direkt aus den Daten abgelesen werden kann, wird N_A und V_{FB} mit Hilfe eines sogenannten „Schottky-Mott-Plots“ ermittelt. Dabei wird $1/c_{MOS}^2$ gegen V_{ES} aufgetragen, wodurch sich im Verarmungsbereich der Kurve eine Gerade ergibt. Aus der Steigung der Geraden kann N_A und aus dem Schnittpunkt mit dem Sättigungswert V_{FB} gewonnen werden. Für das untersuchte EIS-System muss c_{MOS} durch c_S und V_{MS} durch

Abbildung 3.2: Spezifische Kapazität c_S einer 15.7 nm dicken SiO_2 -Schicht auf p^+ -Silizium in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} zwischen Elektrolyt und Silizium. Offene Kreise (schwarz): gemessene Kapazität bei 100 Hz. Rote Linie: Errechnete Kapazität eines isolierenden Oxids auf p-Silizium nach dem MOS-Modell mit den Parametern $c_{SAT} = 0.25 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, $N_A = 1.47 \times 10^{18} \text{ cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.31 \text{ V}$.



V_{ES} ersetzt werden. Das genaue Vorgehen ist in Anhang A beschrieben. Für die gezeigten Daten ergeben sich die Werte $N_A = 1.47 \times 10^{18} \text{ cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.31 \text{ V}$. N_A befindet sich unterhalb der Waferspezifikation von ca. 10^{19} cm^{-3} . Ursache hierfür ist vermutlich die Reduktion der Akzeptor-Konzentration (Bor-Atome) an der Silizium-Oberfläche auf Grund der hohen Temperaturen während des Erzeugens des Feldoxids. Dieser Effekt ist unter „Bor-Segregation“ in der Literatur bekannt [Murarka 1975; Aleksandrov & Afonin 2003].

Die aus den Daten ermittelte Flachbandspannung beträgt $V_{FB} = -0.31 \text{ V}$. Dieser Wert liegt sehr nahe an jenem, welcher für einen idealen Kontakt erwartet wird, in dem die Vakuumenergien von Elektrode, Oxid und Silizium identisch sind (Abb. 2.3): Mit den Austrittsarbeiten von $\varphi_S = 5.1 \text{ eV}$ für p⁺-Si und 4.77 eV für Ag/AgCl (siehe Abschnitt 2.1.4) ergäbe sich die Flachbandspannung für den idealen Kontakt zu $V_{FB}^{ideal} = -0.34 \text{ V}$.

Mit Hilfe der Parameter kann in der Boltzmann-Näherung die Kapazität des EIS-Systems c_S in Abhängigkeit der außen angelegten Spannung V_{ES} errechnet werden. Das dazu nötige Vorgehen wurde in Abschnitt 2.1.2 erläutert. Zur Verwendung kommen die Gleichungen 2.8, 2.10 und 2.16, in denen c_{MOS} durch c_S und V_{MS} durch V_{ES} ersetzt wird. Ferner werden die Gleichungen des Hochfrequenzfalles verwendet (Gl. 2.18). Die so ermittelte CV-Kurve ist rot in Abb. 3.2 gezeigt.

Alle wesentlichen Eigenschaften der gemessenen Kurve werden durch die errechnete Kurve wiedergegeben. In diesem Beispiel kann das System also durch die MOS-Theorie beschrieben werden. Der Austausch der Frontelektrode von Metall zu Elektrolyt spielt keine entscheidende Rolle. Lediglich bei -1 V existiert eine sehr geringe Abweichung zwischen den Messdaten und der errechneten Kurve. Sie ist typisch für das Vorhandensein von Zuständen an der SiO_2/Si -Grenzfläche, wie in Abschnitt 2.1.2 erläutert wurde [Nicollian & Brews 1982].

Repetitives Anlegen von Spannungsrampen

Wenn an ein MIS-System hohe Spannungen angelegt werden, so können Ladungen vom Silizium oder vom Metall in das Dielektrikum injiziert werden. Die Ladungen können als feste, meist positive Ladungen oder Grenzflächenzustände auftreten [Lai 1983; Ogawa & Shiono 1992]. Findet eine derartige Ladungsinjektion statt, so ändert sich die CV-Kurve auf charakteristische Art und Weise, wie in Abschnitt 2.1.2 besprochen.

-Durch das folgende Experiment wird getestet, ob es im Referenzsystem durch hohe negative Spannungen zur Ladungsinjektion kommt: Die Spannung wird drei mal nacheinander von $+3 \text{ V}$ zu negativen Spannungen gefahren und die Kapazität dabei gemessen. Nach dem dritten Durchlauf zu einer bestimmten Endspannung wird diese um 1 V erniedrigt. Abb. 3.3 zeigt jeweils den dritten Sweep zu Endspannungen von -1 V bis -7 V . Die Kurven ändern sich nicht durch eine Reduzierung der Endspannung und folglich werden keine Ladungen injiziert.

Abbildung 3.3: Spezifische Kapazität c_S einer 15.7 nm dicken SiO_2 -Schicht auf p-Si nach dem Anlegen von Spannungsrampen bei 100 Hz. Die Rampen starten bei +3 V. Die Endspannungen sind in der Figur notiert. Die jeweils dritte Spannungsrampe zu einer bestimmten Endspannung ist gezeigt.

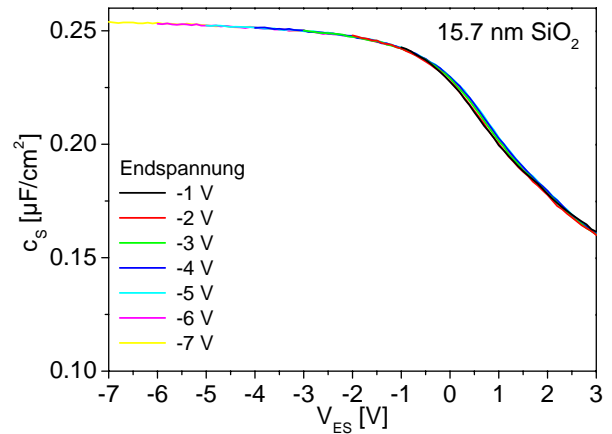
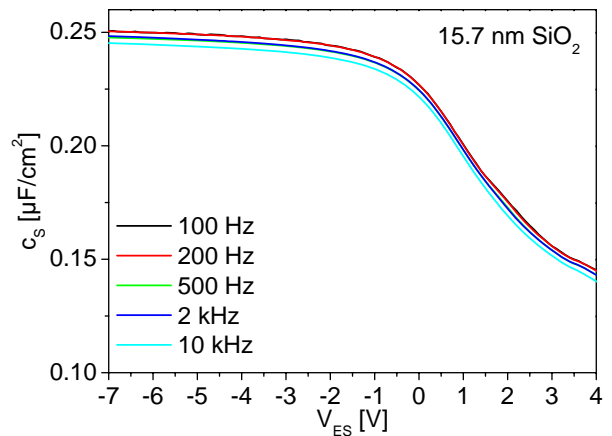


Abbildung 3.4: Spezifische Kapazität c_S einer 15.7 nm dicken SiO_2 -Schicht auf p-Si für verschiedene Wechselfrequenzen.



Frequenzabhängigkeit der Kapazität

Die Frequenzabhängigkeit der CV-Kurven des SiO_2 -Si-Systems zeigt Abb. 3.4. Bei allen gezeigten Frequenzen zwischen 100 Hz und 10 kHz ergeben sich nahezu identische Kurven. Die leichte Reduzierung der Kapazität über den gesamten Spannungsbereich hinweg bei hohen Frequenzen ist auf parasitäre Effekte zurückzuführen. Damit sind Elemente gemeint, die in der einfachen seriellen Auswertung nicht berücksichtigt werden. Hier seien z.B. die Kapazitäten und Widerstände von Elektroden, Elektrolyt, Rückseitenkontakt und Zuleitungen genannt.

Leckstrom

Der Leckstrom i_s über die 15.7 nm dicke SiO_2 -Schicht liegt in einem großen Spannungsbereich unterhalb der Rauschgrenze des Potentiostaten, wie in Abb. 3.5 gezeigt ist. Bei negativen Spannungen findet bis -8 V kein Stromanstieg statt. Bei positiven Spannungen nimmt der Strom erst für Spannungen > 6 V merklich zu.

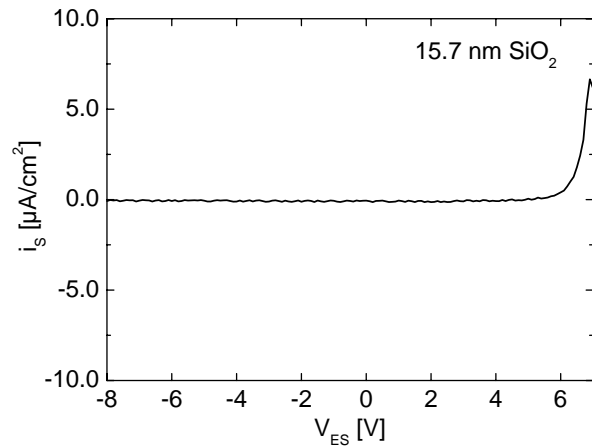


Abbildung 3.5: Flächenspezifischer Leckstrom i_S einer 15.7 nm dicken SiO₂-Schicht auf p-Si in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} zwischen Elektrolyt und Silizium.

Zusammenfassung

Die Kapazitätsmessungen am Elektrolyt/SiO₂/Si-System zeigen, dass sich, trotz der Verwendung des Elektrolyten als Frontkontakt, das System wie ein ideales MOS-System verhält. Durch geeignete Wahl der Parameter lässt sich aus der MOS-Theorie eine CV-Kurve errechnen, die die Messung sehr gut beschreibt. Die CV-Kurven ändern sich nicht durch Anlegen hoher Spannungen, es findet keine Ladungsinjektion statt. Die Kurven weisen, abgesehen von parasitären Effekten, keine Frequenzabhängigkeit auf. Die Leckströme des Systems befinden sich in einem großen Spannungsbereich unterhalb der Auflösung des Messgerätes.

3.2 Frische Chips mit Hoch-K-Beschichtung

Nachdem die Referenzsysteme beschrieben wurden, soll nun die Kapazität von Hoch-K-Kondensatoren in der EIS-Konfiguration untersucht werden. In diesem Abschnitt werden Kondensatoren betrachtet, an die zum ersten Mal eine Spannung angelegt wird. Nach einer Darstellung der gemessenen Kapazität beider Materialien und der Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten werden die Ergebnisse des TiO₂-Systems mit Hilfe numerischer Rechnungen interpretiert.

3.2.1 Messung

Die Datenpunkte in Abb. 3.6 zeigen typische CV-Kurven für HfO₂-(A) und TiO₂-Filme (B) auf p⁺-Silizium, gemessen bei 100 Hz. Die Spannung wird von positiven zu negativen Spannungen gefahren.

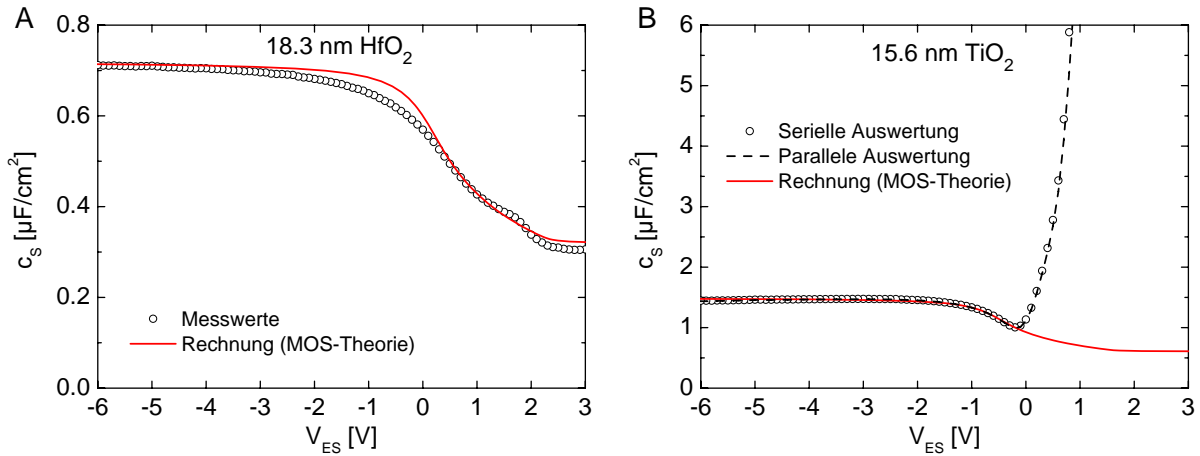


Abbildung 3.6: Spezifische Kapazität c_S in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} für 18.3 nm HfO_2 (A) und 15.6 nm TiO_2 (B). Schwarze Punkte: gemessene Kapazität bei 100 Hz, seriell ausgewertet. Schwarze Linie: gemessene Kapazität bei 100 Hz, parallel ausgewertet. Rote Linie: errechnete Kapazität eines isolierenden Oxids auf p-Silizium nach der MOS-Theorie. Die Parameter für HfO_2 sind $c_{SAT} = 0.72 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, $N_A = 4.08 \times 10^{18} \text{cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.22 \text{V}$ und für TiO_2 $c_{SAT} = 1.47 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, $N_A = 1.39 \times 10^{19} \text{cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.86 \text{V}$.

HfO_2

Die CV-Kurve der mit 18.3 nm HfO_2 beschichteten Probe weist die typischen Charakteristika, wie sie vom Referenzsystem mit Metallkontakt her bekannt sind, auf. Für hohe negative Spannungen sättigt die Kapazität. Der Sättigungswert von $c_{SAT} = 0.72 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ ist aufgrund der höheren Dielektrizitätskonstante des HfO_2 größer als beim SiO_2 mit $0.25 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Er ist nun, im Gegensatz zum SiO_2 -System, nicht mehr identisch zur Kapazität der HfO_2 -Schicht c_{OX} , sondern beinhaltet zusätzliche Beiträge, wie z.B die Kapazität der Zwischenschicht c_{IL} (siehe Abschnitt 3.2.2). Im Verarmungsbereich, um null Volt, fällt die Kapazität und geht bei positiven Spannungen in einen niedrigeren Sättigungswert über. Mit Hilfe des Schottky-Mott-Plots (siehe Anhang A) lassen sich die Parameter $N_A = 4.08 \times 10^{18} \text{cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.22 \text{V}$ gewinnen. Daraus berechnet sich mit der Methode aus Abschnitt 2.1.2, analog zum SiO_2 -Referenzsystem, eine theoretische Kurve, indem für die Oxidkapazität c_{OX} die Sättigungskapazität c_{SAT} eingesetzt wird. Die so errechnete CV-Kurve ist rot gezeichnet. Die Theorie beschreibt das System über weite Strecken sehr gut. Lediglich im Bereich zwischen -2V und 0V und zwischen 1V und 2V ergeben sich Abweichungen. Die Art der Abweichung ist typisch für das Vorhandensein von Grenzflächenzuständen (siehe Abschnitt 2.1.2) [Houssa *et al.* 2000; Nicollian & Brews 1982]. Das HfO_2 verhält sich daher auch in der EIS-Konfiguration wie ein perfekter Isolator und das System kann durch die MOS-Theorie hinreichend beschrieben werden.

TiO₂

Die Kapazität des Systems mit 15.6 nm TiO₂ sättigt ebenfalls bei hohen negativen Spannungen. Der Sättigungswert ist mit $c_{SAT} = 1.47 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ auf Grund der höheren Dielektrizitätskonstante noch einmal deutlich größer als beim HfO₂. Im Vergleich zu den bisher verwendeten Stimulationschips, die mit ca. 10 nm SiO₂ isoliert waren und eine Kapazität von ca. $0.3 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ aufwiesen, bedeutet dies eine Kapazitätserhöhung um ca. einen Faktor fünf. Der Kapazitätsabfall beim Beginn der Verarmung bei -1.5 V ist in Übereinstimmung mit der MOS-Theorie, was eine Bestimmung von $N_A = 1.39 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ und $V_{FB} = -0.86 \text{ eV}$ mit dem Schottky-Mott-Plot ermöglicht.

Die scheinbare Akzeptorkonzentration ist in etwa doppelt so groß wie die der HfO₂-Probe und um eine Größenordnung höher als bei der SiO₂-Probe. Ursache könnte schlicht eine unterschiedliche Dotierung der Wafer sein, da die SiO₂-Wafer aus einer anderen Charge waren. Eine andere Möglichkeit wäre jedoch, dass im TiO₂-System eine größere Anzahl an Grenzflächenzuständen vorhanden ist. Diese würden im Verarmungsbereich eine Streckung der CV-Kurve bewirken (siehe Abschnitt 2.1.2), was im Schottky-Mott-Plot zu einer Überschätzung von N_A führen würde.

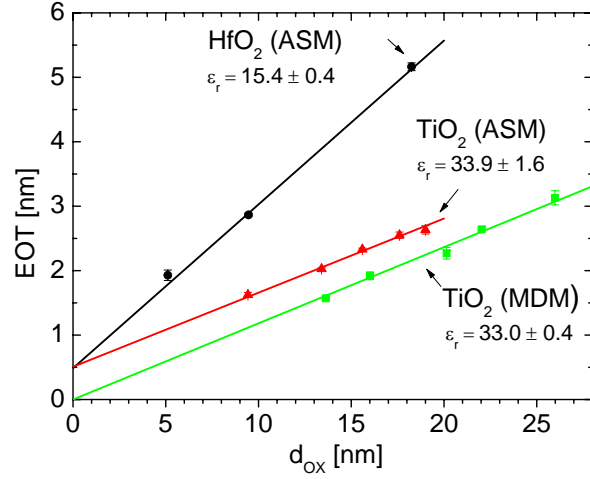
Die Flachbandspannung ist etwas niedriger als der aus dem Banddiagramm in Abb. 2.9 erwartete Wert von $V_{FB}^{theo} = -0.60 \text{ eV}$. Die Differenz von $\Delta V = -0.26 \text{ V}$ entspricht bei einer Sättigungskapazität von $c_{SAT} = 1.47 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ nach Gl. 2.19 einer Dichte positiver Ladungen von $D_{fix} = 2.4 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2}$ an der Grenzfläche. Wie für Hoch-K-Materialien erwartet, ist dieser Wert mehr als eine Größenordnung oberhalb des Werts typischer SiO₂/Si-Systeme [Wilk *et al.* 2001].

Die nach der MOS-Theorie errechnete Theoriekurve (rote Linie) beschreibt die Messung nur für $V_{ES} < -0.5 \text{ V}$. Für Spannungen größer als -0.5 V weicht die gemessene Kapazität deutlich vom MOS-Verhalten ab. Die Kapazität steigt steil an und übertrifft c_{SAT} bei weitem. In diesem Bereich steigt auch der Leckstrom deutlich an (siehe Kap. 3.4). Es muss daher sichergestellt werden, dass der Kapazitätsanstieg kein Artefakt der seriellen Auswertung ist. Deshalb wurde zusätzlich mit einer Parallelschaltung aus Kapazität und Widerstand ausgewertet (gestrichelte Linie in Abb. 3.6). Da beide Auswertungen die selben Kapazitätswerte liefern, handelt es sich um eine echte Kapazität und nicht um ein Artefakt der Auswertung (siehe Abschnitt 2.2.2).

3.2.2 Dielektrizitätskonstanten

Im Anreicherungsgebiet von p-Si (bei negativen Spannungen) verhalten sich beide Materialien wie perfekte Isolatoren und die Kapazität geht in Sättigung. Dort kann die Dielektrizitätskonstante der Materialien ermittelt werden. Die Sättigungskapazität c_{SAT} ergibt sich aus einer Serienschaltung von vier Komponenten. Dies sind die Kapazitäten von (i) Oxid $c_{OX} = \epsilon_{OX}\epsilon_0/d_{OX}$ (ii) Zwischenschicht c_{IL} , (iii) Anreicherungszone im Silizium c_{ACC} und (iv) elektrische Doppelschicht im Elektrolyt c_{DL} .

Abbildung 3.7: Reziproke Sättigungskapazität c_{SAT} , dargestellt als Äquivalenzdicke $EOT = \varepsilon_0 \varepsilon_{SiO_2} / c_{SAT}$, in Abhängigkeit der ellipsometrisch gemessenen Oxiddicke d_{OX} . Die Datenpunkte sind Mittelwerte dreier Proben. Aus den Regressionsgeraden lassen sich die Dielektrizitätskonstanten der Materialien und die Äquivalenzdicken der Zwischenschichten bestimmen.



$$\frac{1}{c_{SAT}} = \left(\frac{1}{c_{IL}} + \frac{1}{c_{ACC}} + \frac{1}{c_{DL}} \right) + \frac{1}{\varepsilon_{OX}\varepsilon_0} d_{OX} \quad (3.1)$$

Zum Vergleich von Kapazitäten werden sogenannte Äquivalenzdicken („equivalent oxide thickness“) EOT verwendet. Die Äquivalenzdicke einer Kapazität c gibt an, wie dick eine SiO₂-Schicht sein müsste, um eine Kapazität von c zu erhalten $EOT = \varepsilon_0 \varepsilon_{SiO_2} / c$. Eine Multiplikation von Gl. 3.1 mit $\varepsilon_0 \varepsilon_{SiO_2}$ ergibt eine Gleichung für die Äquivalenzdicken:

$$EOT_{SAT} = (EOT_{IL} + EOT_{ACC} + EOT_{DL}) + \frac{\varepsilon_{SiO_2}}{\varepsilon_{OX}} d_{OX} \quad (3.2)$$

Um die Dielektrizitätskonstanten beider Materialien zu ermitteln, werden die Sättigungskapazitäten c_{SAT} für Chips verschiedener Oxiddicke gemessen (nicht gezeigt) und in Form der Äquivalenzdicke ($EOT_{SAT} = \varepsilon_0 \varepsilon_{SiO_2} / c_{SAT}$) gegen die Oxiddicken d_{OX} aufgetragen. Abb. 3.7 zeigt die Auswertung für die beiden Probenarten, die bei ASM hergestellt wurden (HfO₂ schwarz, TiO₂ rot). Zusätzlich werden zum Vergleich auch TiO₂-Proben mit Nitrid-Puffer, welche bei MDM hergestellt wurden, gleichermaßen ausgewertet (grün). Eine detaillierte Diskussion der MDM-Proben folgt in Kapitel 4.

Die Werte von EOT_{SAT} werden angegeben als Mittel und Standardabweichung dreier auf dem Wafer benachbarten Chips. Die Werte für d_{OX} sind ebenfalls Mittelwerte für drei Proben. Typische Schwankungen von d_{OX} zwischen zwei Proben desselben Wafers sind geringer als 0.2 nm. Wie erwartet, weisen dickere Schichten eines Materials auch höhere Äquivalenzdicken auf. Die Werte für HfO₂ liegen auf Grund der geringeren Dielektrizitätskonstante oberhalb derer für TiO₂. Die Datenpunkte werden mit Geraden gefittet. Nach Gl. 3.2 entspricht der Achsenabschnitt $EOT_{IL} + EOT_{ACC} + EOT_{DL}$ und aus der Steigung $\varepsilon_{SiO_2} / \varepsilon_{OX}$ kann ε_{OX} errechnet werden ($\varepsilon_{SiO_2} = 3.9$).

Für die Materialien, welche bei ASM hergestellt wurden (schwarz, rot), ergibt sich ein Achsenabschnitt von ≈ 0.5 nm. Die Datenpunkte der bei MDM beschichteten Proben können mit einem Achsenabschnitt von null gefittet werden. Dies bedeutet, dass

die elektrische Dicke der Zwischenschicht verschwindend gering war. Die Tatsache, dass die Zwischenschicht bei den MDM-Proben noch geringer ist, als bei den ASM Proben, stimmt mit den TEM-Aufnahmen aus Abb. 2.16 und Abb. 2.17 überein. Die Ursache für die Unterschiede zwischen ASM- und MDM-Proben liegt vermutlich in den verschiedenen verwendeten Prekursoren.

Die Achsenabschnitte aller drei Probentypen sind bemerkenswert niedrig, da für die einzelnen Komponenten folgende Werte abgeschätzt werden:

$$\begin{aligned}
 EOT_{IL} &= \frac{\varepsilon_{SiO_2}}{\varepsilon_{Si_3N_4}} d_{IL} = 0.78 \text{ nm} \\
 EOT_{ACC} &= \frac{\varepsilon_{SiO_2}}{\varepsilon_{Si}} d_{ACC} = 0.33 \text{ nm} \\
 EOT_{DL} &= \frac{\varepsilon_{SiO_2}}{\varepsilon_{H_2O}} d_{DL} = 0.05 \text{ nm}
 \end{aligned} \tag{3.3}$$

Hierbei werden die Dielektrizitätskonstanten $\varepsilon_{Si_3N_4} = 7.5$ [Robertson 2000] $\varepsilon_{Si} = 11.9$ [Sze 1981] und $\varepsilon_{H_2O} = 80$ [Bard & Faulkner 2001] verwendet. Die dazugehörigen Schichtdicken werden abgeschätzt zu: $d_{IL} = 1.5 \text{ nm}$ (Abb. 2.16), $d_{ACC} = 1 \text{ nm}$ [Lo 2005], $d_{DL} = 1 \text{ nm}$ [Bard & Faulkner 2001]. Die Summe dieser Äquivalenzdicken liegt mit 1.16 nm oberhalb den experimentell ermittelten Achsensabschnitten. Zwei Ursachen kommen für die Abweichungen in Frage: (i) Möglicherweise wird EOT_{IL} in der Rechnung überschätzt. Zum einen könnte die Dicke von 1.5 nm , die aus den TEM-Bildern ermittelt wird (Abb. 2.16), nicht repräsentativ sein für alle Proben. Zum anderen ist die Dielektrizitätskonstante der Zwischenschicht unbekannt. Falls in der Zwischenschicht auch Hf- bzw. Ti-Atome vorhanden wären, wäre die Dielektrizitätskonstante erhöht Lucovsky & Rayner [2000]. In diesem Fall wäre der in den Rechnungen verwendete Wert für dicke Si_3N_4 -Schichten von 7.5 zu klein. (ii) Wie in Abschnitt 2.2.3 erläutert, werden TiO_2 -Schichtdicken vom Ellipsometer möglicherweise überschätzt. Auch dies kann zu einem zu niedrigen Achsenabschnitt führen.

Aus den Steigungen ergeben sich nach GL. 3.2 folgende Dielektrizitätskonstanten für die untersuchten Proben:

$$\varepsilon_{HfO_2} = 15.4 \pm 0.4 \quad \varepsilon_{TiO_2}(ASM) = 33.9 \pm 1.6 \quad \varepsilon_{TiO_2}(MDM) = 33.0 \pm 0.4 \tag{3.4}$$

Die Dielektrizitätskonstante des HfO_2 ist etwas niedriger als die Dielektrizitätskonstante für große Kristalle von 25 [Wilk *et al.* 2001]. Sie stimmt aber gut überein mit Literaturangaben über dünne Filme. Für mit CVD (Chemical Vapor Deposition) hergestellte Schichten wurde ein Wert von 17 [Ma *et al.* 2001; Campbell *et al.* 1999] und für ALD-Filme $13-14$ bzw. $14-22$ berichtet [Scarel *et al.* 2004; Kukli *et al.* 2005].

Die Dielektrizitätskonstante von TiO_2 hängt von der Kristallstruktur und damit von den Herstellungsbedingungen ab [Campbell *et al.* 1999]. Die Rutil-Struktur bildet sich bei hohen Temperaturen ab ca. 600° C und weist eine Dielektrizitätskonstante von ca. 80

auf. Bei niedrigeren Temperaturen $<500^\circ\text{C}$ und dünnen Schichten bildet sich die Anatase Struktur mit einer geringeren Dielektrizitätskonstanten [Wilk *et al.* 2001]. Aufgrund der Beschichtungstemperatur von 300°C und der geringen Schichtdicke, wird für die alle TiO_2 -Filme die Anatase-Form erwartet. X-Ray Diffraction (XRD) Messungen an einigen von MDM hergestellten Proben, betätigen die Anatase-Struktur [Scarel 2006]. Die Dielektrizitätskonstanten der Proben von ASM und MDM sind innerhalb der Fehlergrenzen identisch. Sie zeigen eine gute Übereinstimmung mit Literaturwerten für dünne CVD Filme (20-30 [Yan *et al.* 1996], 49 [Ma *et al.* 2001]) und ALD Filme (40 [Kim *et al.* 2004]). Auf Grund der geringeren Äquivalenzdicke der Zwischenschicht und der fast identischen Dielektrizitätskonstante weisen die bei MDM beschichteten Proben bei gleicher TiO_2 -Dicke eine höhere Kapazität auf als jene, die bei ASM beschichtet wurden.¹

Die Dielektrizitätskonstanten wurden mit Hilfe ellipsometrischer Dickenmessung bestimmt. Ein in der Dickenmessung enthaltener, systematischer Fehler hätte sich daher auch auf die Werte der Dielektrizitätskonstanten ausgewirkt.

3.2.3 Simulation des Elektrolyt/ TiO_2 /Silizium-Systems

Die MOS-Theorie kann die Messungen des TiO_2 -Systems nicht im gesamten Spannungsbereich vollständig beschreiben. Die Ursache hierfür ist die Annahme der Ladungsträgerfreiheit im Oxid, wie im Folgenden erläutert wird. Wie im Abschnitt 2.1.3 bereits dargestellt, besitzt das TiO_2 eine sehr geringe Bandlücke und auch geringe Bandunterschiede zum Silizium. Die Annahme der Ladungsträgerfreiheit ist daher nicht mehr gerechtfertigt. Vielmehr muss der TiO_2/Si -Kontakt als Halbleiter-Heterostruktur betrachtet werden. Dabei ist das Silizium stark p-dotiert und das TiO_2 schwach n-dotiert, da Sauerstofffehlstellen als Donatoren wirken [Harris & Wilson 1978]. In der verwendeten Konfiguration befindet sich ein dünner TiO_2 -Film in Kontakt mit sehr hoch p-dotiertem Silizium. Bei negativen Spannungen ist die TiO_2 -Schicht daher völlig verarmt an Ladungsträgern und verhält sich wie ein Isolator. Um die gemessenen CV-Kurven im vollen Spannungsbereich interpretieren zu können, werden Modellrechnungen durchgeführt. Das Ziel der Rechnungen ist es, die spannungsabhängige Kapazität der TiO_2/Si -Probe zu reproduzieren. Dazu ist es nötig zunächst die Bandstruktur und Ladungsträgerverteilungen in der TiO_2/Si -Heterostruktur zu errechnen.

Prinzip der numerischen Lösung

Im Gegensatz zur einfachen MOS-Theorie werden nun Elektronen und Löcher auch in den Bändern vom Oxid betrachtet und für die Ladungsträgerkonzentrationen n , p gilt in Oxid und Silizium die Fermi-Dirac Verteilung (Gl. 2.2 mit Gl. 2.1). Das dafür benötigte Fermiintegral $F_{1/2}$ wurde im Programm „Mathematica“ (Wolfram Research) einmalig für die in Frage kommenden Argumente in hinreichender Genauigkeit gelöst und die Werte in einer Tabelle abgelegt.

¹Gleichzeitig besitzen die MDM-Proben auch einen höheren Leckstrom, siehe Abschnitt 3.4 und 4.1.

Zunächst wird die Ausgangslage (ohne Spannungsabfall) der Bänder in TiO_2/Si ermittelt (gekennzeichnet durch „0“). Als Bezugspunkt wird dabei die Fermienergie $E_F = 0$ verwendet. Eine eventuelle Dotierung des Oxids ist sicherlich geringer als die des Siliziums und wird vernachlässigt. Durch die Dotierung des Siliziums mit einer Akzeptordichte von N_A wird die Position des Valenzbandes im Silizium E_V^{Si} festgelegt. Unter der Annahme der vollständigen Ionisierung der Akzeptoren gilt für die Konzentration der Löcher im Silizium $p^{Si} = N_A$. Nach einer Umformung von Gl. 2.2 ergibt sich:

$$E_V^{Si,0} = kT F_{1/2}^{-1} \left(\frac{N_A}{N_V^{Si}} \frac{\sqrt{\pi}}{2} \right) \quad (3.5)$$

Dabei bezeichnet $F_{1/2}^{-1}$ die Umkehrfunktion des Fermiintegrals $F_{1/2}$ und N_V^{Si} die effektive Zustandsdichte im Silizium (vgl. Gl. 2.1). Alle anderen Ausgangslagen der Bänder können aus den Bandlücken (E_G^{Si} , E_G^{OX}) und dem Leitungsbandunterschied zwischen TiO_2 und Silizium $\Delta E_C = E_C^{TiO_2} - E_C^{Si}$ ermittelt werden.

$$\begin{aligned} E_C^{Si,0} &= E_V^{Si,0} + E_G^{Si} \\ E_C^{Ox,0} &= E_C^{Si,0} + \Delta E_C \\ E_V^{Ox,0} &= E_C^{Ox,0} - E_G^{OX} \end{aligned} \quad (3.6)$$

Für die Ermittlung der Lage der Bänder mit Spannungsabfall $\varphi(x)$ innerhalb der TiO_2/Si -Struktur, ist die Poisson-Gleichung (Gl. 2.4 mit Gl. 2.5) die Ausgangsbasis. Es wird die Gleichgewichtssituation ohne Stromfluss betrachtet und somit ist die Fermienergie identisch in Oxid und Si. Die Pufferschicht wird vernachlässigt.

In den Rechnungen wird der gesamte Potentialabfall φ_G innerhalb der $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -Struktur vorgegeben. Dabei befindet sich das TiO_2 zwischen 0 und 10 nm, das Silizium bei $x > 10$ nm und der Elektrolyt bei $x < 0$. Es ist $\varphi(x) = \varphi_G$ an der TiO_2 -Oberfläche ($x = 0$) und $\varphi(x) = 0$ tief im Silizium.

Die einzelnen Komponenten der simulierten Struktur besitzen folgende Eigenschaften:

Silizium

- Bandlücke $E_G^{Si} = 1.1$ eV [Sze 1981]
- Akzeptordichte $N_A = 5 \times 10^{18} \text{ cm}^{-3}$ (ungefähres Mittel der Messwerte)
- effektive Massen von Elektronen $m_n^{Si} = 0.328m_0$ und Löchern $m_p^{Si} = 0.549m_0$ [Sze 1981]
- Dielektrizitätskonstante $\varepsilon_{Si} = 11.9$ [Sze 1981]

TiO_2/Si -Grenzfläche

- Die Leitungsbänder haben die gleiche Energie $\Delta E_C = 0$ [Robertson 2000].
- Die dielektrische Verschiebung ist stetig.

TiO_2

- Bandlücke $E_G^{TiO_2} = 3.05$ eV [Robertson 2000]

- effektive Massen $m_n^{TiO_2} = m_p^{TiO_2} = m_0$ (Annahme)
- Dielektrizitätskonstante $\varepsilon_{TiO_2} = 40$ (typischer Wert [Wilk *et al.* 2001])
- keine Dotierung (Annahme)
- Dicke $d_{OX} = 10$ nm (typischer Wert)

Elektrolyt/TiO₂-Grenzfläche

- Es findet kein Transfer von Ladungsträgern über die Grenzfläche statt (siehe Abschnitt 2.1.4).
- Das Oberflächenpotential ändert sich nicht (siehe Abschnitt 2.1.4).

Elektrolyt/Elektrode

- An den Elektroden und im Elektrolyt fällt keine Spannung ab (siehe Abschnitt 2.1.4).
- Die Redoxenergie der Ag/AgCl Referenzelektrode wird so gewählt, dass der Potentialabfall innerhalb der TiO₂/Si-Struktur φ_G Null ist, wenn keine externe Spannung \tilde{V}_{ES} anliegt.²

Mit den Annahmen über die Elektrolyt/TiO₂-Grenzfläche und über Elektrode/Elektrolyt ergibt sich, dass (i) jede externe Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ ausschließlich in der TiO₂/Si-Heterojunction stattfindet und (ii) der gesamte Potentialabfall innerhalb der TiO₂/Si-Struktur identisch ist mit der externen Spannung $\varphi_G = \tilde{V}_{ES}$. Ein SOR-Algorithmus [Press 1986], implementiert in der Programmiersprache C, löst die Poisson-Gleichung (Gl. 2.4 mit Gl. 2.5) iterativ nach $\varphi(x)$ mit einer Auflösung von 1 Å im Intervall $0 \leq x \leq 50$ nm.

Die neue Lage der Bänder ist bei bekanntem $\varphi(x)$ gegeben durch:

$$\begin{aligned}
 E_V^{Si}(x) &= E_V^{Si,0} - e_0\varphi(x) \\
 E_C^{Si}(x) &= E_C^{Si,0} - e_0\varphi(x) \\
 E_V^{OX}(x) &= E_V^{OX,0} - e_0\varphi(x) \\
 E_C^{OX}(x) &= E_C^{OX,0} - e_0\varphi(x)
 \end{aligned} \tag{3.7}$$

Die dazugehörigen Konzentrationsprofile von freien Elektronen $n(x)$ und Löchern $p(x)$ errechnen sich durch Einsetzen von Gl. 3.7 in Gl. 2.2.

Ergebnisse der Bandstruktursimulationen

Abb. 3.8 zeigt Bandstruktur (oben) und Ladungsträgerverteilung (unten) bei 300 K für drei Spannungen \tilde{V}_{ES} zwischen Referenzelektrode und Silizium. Das TiO₂ befindet sich zwischen 0 und 10 nm, mit Silizium zur rechten Seite und dem Elektrolyten zur linken. In den Banddiagrammen (oben) stellen im Bereich des TiO₂ und Silizium die oberen

²Das Zeichen „ $\tilde{}$ “ symbolisiert, dass es sich bei \tilde{V}_{ES} um einen Parameter der Simulation handelt, im Gegensatz zur Spannung V_{ES} , welche in den Experimenten an die EIS-Struktur angelegt wurde.

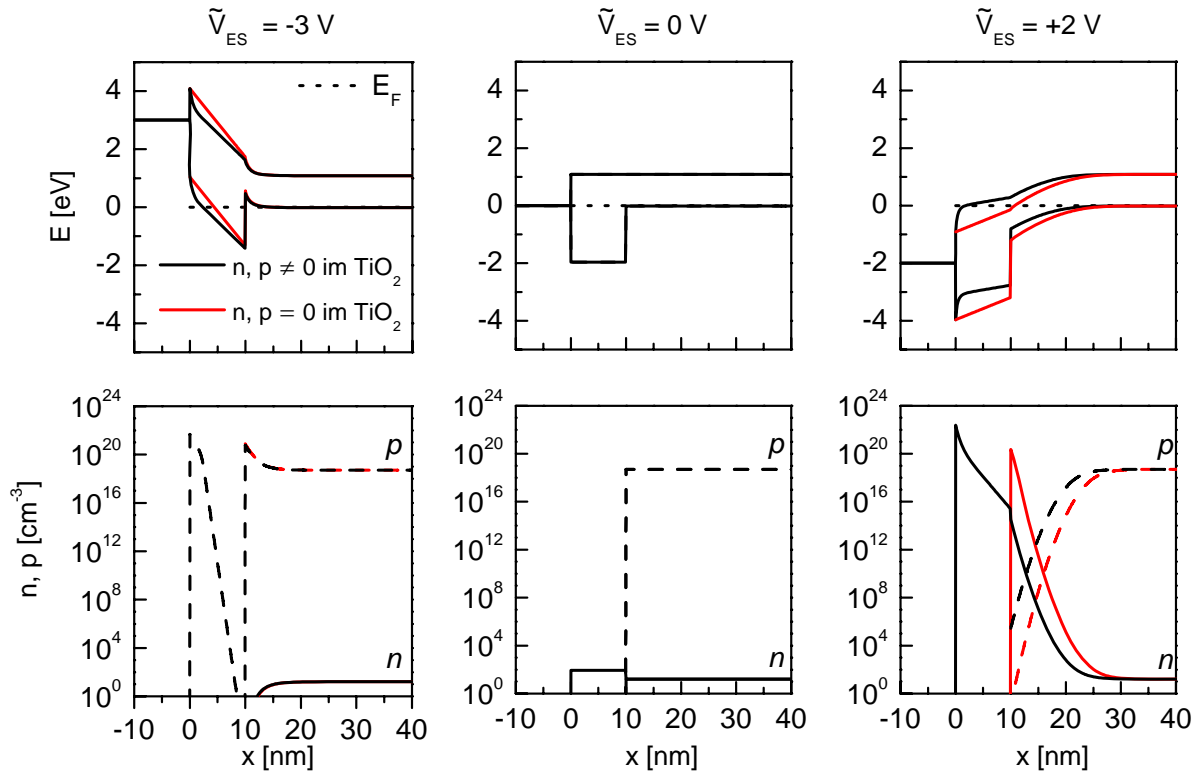


Abbildung 3.8: Simulierte Banddiagramme (oben) und Ladungsträgerverteilungen (unten) des Elektrolyt/ TiO_2 /Si-Systems für drei Spannungen \tilde{V}_{ES} zwischen der Referenzelektrode und Silizium. Die TiO_2 -Schicht ist zwischen 0 und 10 nm mit Elektrolyten zur linken und dem Silizium zur rechten Seite. Die obere Reihe zeigt Leitungs- und Valenzband relativ zur Fermienergie (gepunktete Linie); die untere Reihe die Konzentrationen von Elektronen n (durchgezogen) und Löchern p (gestrichelt). Schwarze Linien: freie Elektronen und Löcher im TiO_2 vorhanden. Rote Linien: Isolatorfall für TiO_2 , keine freien Ladungsträger vorhanden.

Linien das Leitungsband und die unteren Linien das Valenzband dar. Im Bereich des Elektrolyten ist das Redoxniveau der Referenzelektrode gezeichnet. Diese Energie wurde so gewählt, dass der Spannungsabfall im TiO_2 /Si-System φ_G identisch ist zur Spannung \tilde{V}_{ES} , die zwischen der Referenzelektrode und dem Silizium angelegt wird. Die Energien werden relativ zur Fermienergie E_F (gepunktete Linie bei $E = 0$) angegeben. In den Ladungsträgerprofilen (unten) ist die Dichte der Elektronen n durchgezogen und die der Löcher p gestrichelt gezeichnet. Die schwarzen Linien repräsentieren den Fall, bei dem Elektronen und Löcher im TiO_2 vorhanden sind. Zum Vergleich ist in rot die Situation eines perfekten Isolators gezeigt, bei dem keine freien Ladungsträger im TiO_2 vorhanden sind ($n = p = 0$ im TiO_2). Dazu wird in den Simulationen N_C und N_V auf der Oxidseite Null gesetzt. Zunächst wird der Fall mit Elektronen und Löchern im Silizium (schwarz) beschrieben.

Für $\tilde{V}_{ES} = 0$ (mitte) ist die Konzentration von Elektronen und Löchern konstant in

beiden Materialien. Sowohl im TiO_2 als auch im Silizium liegt daher der Flachbandfall vor. Die Ladungsträgerkonzentrationen sind gegeben durch den Abstand der jeweiligen Bänder vom Fermienergielevel. Die Lage des Fermienergielevels wird durch die Akzeptorkonzentration N_A im Silizium festgelegt. Die Konzentration der Löcher p im Silizium ist identisch zur Dotierkonzentration N_A (Annahme der vollständigen Ionisierung der Akzeptoren). Die Leitungsbänder von Silizium und TiO_2 sind identisch und liegen ca. 1 eV oberhalb der Fermienergie. Dies führt zu einer Konzentration der Elektronen n von ca. 10^2 cm^{-3} . Der leichte Unterschied zwischen TiO_2 und Silizium kommt durch die unterschiedlichen effektiven Massen zustande. Die Konzentration der Löcher im TiO_2 ist mit ca. 10^{-14} cm^{-3} zu gering, als dass sie zu sehen wäre, da das Valenzband ca. 2 eV unterhalb der Fermienergie liegt.

Für positive Spannungen (rechts) $\tilde{V}_{ES} = +2 \text{ V}$ werden die Bänder nach unten verbogen. Dadurch kreuzt das TiO_2 -Leitungsband das Fermienergielevel. Es entsteht eine Anreicherung von Elektronen an der Elektrolyt/ TiO_2 -Grenzfläche, die Elektronenkonzentration steigt auf ca. 10^{22} cm^{-3} an. Ein Großteil der angelegten Spannung fällt innerhalb dieser Schicht ab. Im Silizium existiert eine Inversionsschicht, da an der Oberfläche die Dichte der Elektronen die Dichte der Löcher übertrifft.

Für große negative Spannungen (links) $\tilde{V}_{ES} = -3 \text{ V}$ werden die Bänder so weit nach oben gebogen, dass das Valenzband des TiO_2 das Fermienergielevel kreuzt. Folglich entsteht eine Anreicherungsschicht von Löchern an der TiO_2 -Oberfläche. Auch im Silizium kreuzt an der Oberfläche das Valenzband das Fermienergielevel, was auch hier zu einer Löcheranreicherung führt.

Im Falle eines perfekten Isolators (rot) sind keine freien Ladungsträger im TiO_2 vorhanden. Nun ist der Potentialabfall, analog zum MOS-System, stets linear über dem Oxid. Unterschiede zum Fall mit Ladungsträgern im TiO_2 treten nur auf, wenn sich eines der Bänder des TiO_2 dem Fermienergielevel nähert. Bei positiven Spannungen führt die Abwesenheit von Elektronen im TiO_2 zu einer stärkeren Inversion im Silizium, da nun ein größerer Teil der Spannung im Silizium abfällt.

Simulation der spannungsabhängigen Kapazität

Vorgehensweise der Berechnung. Ziel der Simulationen ist es, die spannungsabhängige, differentielle Kapazität $c(\tilde{V}_{ES})$ des Systems zu bestimmen. Dazu wird für eine Reihe von Spannungen \tilde{V}_{ES}^i die gesamte freie Ladung q_i (Einheit C/m^2) im System errechnet. Sie wird durch Multiplikation der Dichte der Ladungsträger (n , p) mit der Elementarladung ($-e_0$ für Elektronen und e_0 für Löcher) und anschließende Integration über die gesamte X -Achse ermittelt:

$$q_i = \int e_0[p(x) - n(x)]dx \quad (3.8)$$

Zur Bestimmung der CV-Kurve wird für eine Reihe von Spannungen \tilde{V}_{ES}^i zwischen -7 V und 3 V die gesamte freie Ladung im System $q_i = q(\tilde{V}_{ES}^i)$ und die gesamte freie Ladung

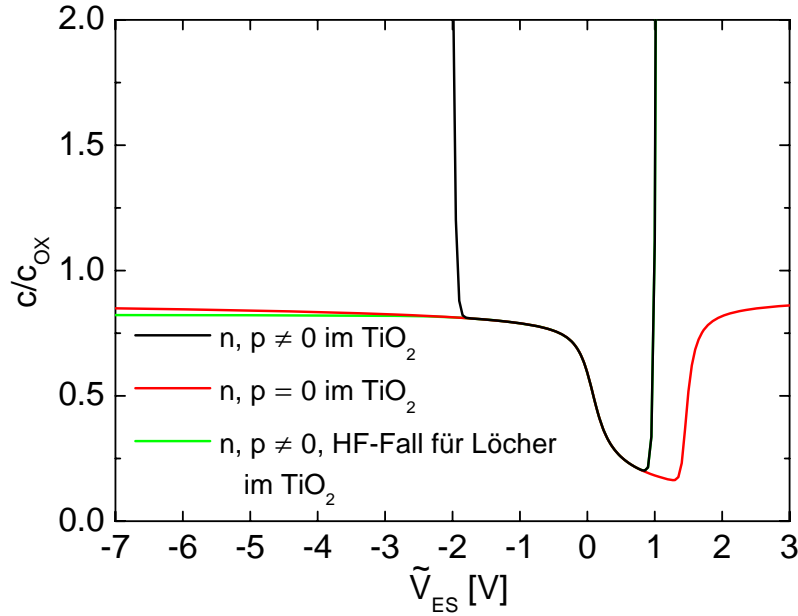


Abbildung 3.9: Errechnete Kapazität des Elektrolyt/TiO₂/Silizium-Systems als Funktion der Spannung \tilde{V}_{ES} zwischen Ag/AgCl und Silizium für den Niederfrequenzfall im Silizium. Schwarz: Niederfrequenzfall für freie Ladungsträger im TiO₂. Rot: keine freien Ladungsträger im TiO₂. Grün: Niederfrequenzfall für Elektronen und Hochfrequenzlimit für Löcher im TiO₂. Die Kapazität ist normiert auf die Oxidkapazität c_{OX} von 10 nm TiO₂ mit $\epsilon_r = 40$.

nach einer kleinen Spannungsänderung $q'_i = q(\tilde{V}_{ES}^i + \Delta\tilde{V}_{ES})$ errechnet ($\Delta\tilde{V}_{ES} = 10 \text{ mV}$). Die Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ entspricht dem Wechselspannungsanteil in den Messungen. Die Ladungsänderung Δq_i aufgrund der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ ist dann $\Delta q_i = q'_i - q_i$. Die differentielle Kapazität zur Spannung \tilde{V}_{ES}^i ist schließlich gegeben durch $c(\tilde{V}_{ES}^i) = \Delta q_i / \Delta\tilde{V}_{ES}$. Wird diese Prozedur für hinreichend viele Spannungen V_i durchgeführt, so lassen sich CV-Kurven, wie in Abb.3.9 zu sehen, errechnen. Die Kapazitäten werden auf die dielektrische Kapazität des Oxids c_{OX} normiert:

$$c_{OX} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_{OX}}{d_{OX}} \tag{3.9}$$

Für eine $d_{OX} = 10 \text{ nm}$ dicke TiO₂-Schicht mit $\epsilon_{OX} = 40$ gilt $c_{OX} = 3.54 \mu\text{F}/\text{cm}^2$.

Die eben beschriebene Vorgehensweise entspricht dem Niederfrequenzfall in TiO₂ und Si, da zur Bestimmung von q'_i alle freie Ladungen im TiO₂ und Silizium zur Spannung $\tilde{V}_{ES}^i + \Delta\tilde{V}_{ES}$ neu errechnet werden. In manchen Simulationen wird jedoch auch der Hochfrequenzfall (HF-Fall) für eine bestimmte Sorte an freien Ladungsträgern verwendet. Physikalisch bedeutet dies, dass die Ladungsträger nicht beweglich genug sind, um der angelegten Wechselspannung zu folgen. In den Simulationen wird dem Rechnung getragen, indem bei der Bestimmung von $n(x)$ und $p(x)$ zur Spannung $\tilde{V}_{ES}^i + \Delta\tilde{V}_{ES}$ die Ladungsträger, für die der HF-Fall gelten soll, konstant gehalten werden. Die restlichen Ladungsträger

werden, wie oben beschrieben, neu errechnet.

Löcher und Elektronen im TiO_2 . Zur Berechnung der schwarzen Kurve in Abb.3.9 werden alle Ladungsträger berücksichtigt, sowohl im Oxid als auch im Si. Ferner reagieren alle Ladungsträger auf die Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$. Sowohl das TiO_2 als auch das Silizium befinden sich daher im Niederfrequenzbereich. Bei der Flachbandspannung $\tilde{V}_{ES} = 0$ ergibt sich der vom MOS-System her bekannte Übergang von Anreicherung zu Verarmung im p-Silizium. Bei -2 V und $+1$ V steigt die Kapazität jeweils steil an und erreicht Werte von über $20c_{OX}$. Die Ursache hierfür ist die Bildung einer Anreicherungsschicht aus Löchern bzw. Elektronen direkt an der TiO_2 -Oberfläche. Nach Abb. 3.8 entsteht an der TiO_2 -Oberfläche bei -2 V eine Löcher- und bei $+1$ V eine Elektronenanreicherung, da das Valenz- bzw. Leitungsband die Fermienergie kreuzen. Die Schwellspannungen für Anreicherung von $+1$ V bzw. -2 V entsprechen den jeweiligen Abständen von Leitungs- bzw. Valenzband vom Fermienergie im Ausgangszustand ($\tilde{V}_{ES} = 0$). Anreicherungszonen direkt an der TiO_2 -Oberfläche haben eine sehr hohe Kapazität, da einerseits $\Delta\tilde{V}_{ES}$ komplett in der Anreicherungszone abfällt und andererseits die Ladungsänderung Δq aufgrund der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ sehr groß ist. Dies ist letztlich auf die hohen Werte des Fermiintegrals $F_{1/2}$ für große Argumente, welche Anreicherungszonen entsprechen, zurückzuführen (vgl. Abb. 2.1). Die Entstehung einer Anreicherungszone verursacht einen steilen Anstieg in der CV-Kurve. Hierbei ist anzumerken, dass Anreicherungszonen, wie hier errechnet, nur in EIS-Systemen – und nicht in MIS-Systemen – auftreten können, da ein Ladungstransfer in den Elektrolyten nur eingeschränkt möglich ist (siehe Abschnitt 2.1.4).

Keine Löcher und Elektronen im TiO_2 . Zum Vergleich zeigt die rote Kurve das Verhalten eines perfekten Isolators. Bei der Berechnung werden die Löcher- und Elektronendichten im TiO_2 Null gesetzt ($n = p = 0$ im TiO_2). Folglich ergibt sich die typische Form einer MOS-Kapazität mit Sättigung im Anreicherungs- und Inversionsbereich. Jedoch fällt auf, dass die Kapazität nicht wie in der einfachen MOS-Theorie genau bei c_{OX} sättigt, sondern etwas darunter. Der Grund liegt in der unterschiedlichen Wahl der Verteilungsfunktionen für freie Ladungsträger in den Bändern. In der einfachen MOS-Theorie wird die Ladungsträgerverteilung in Anreicherungs- und Inversionsschichten durch die Boltzmann-Verteilung genähert. Dies führt bei einer sehr hohen Bandverbiegung in Richtung der Fermienergie zu einer extrem hohen Ladungsträgerdichte und daher zu einer unendlich dünnen Anreicherungs- bzw. Inversionsschicht mit unendlich hoher Kapazität. Im Gegensatz dazu wird in der numerischen Rechnung die realistischere Fermi-Dirac-Verteilung angesetzt. Dadurch steigt die Ladungsträgerkonzentration bei hohen Bandverbiegungen nicht so stark an (siehe Abb. 2.1). Die Ausdehnung von Anreicherungs- bzw. Inversionsschichten ist ca. 1-3 nm und die Kapazität nicht unendlich. Die Gesamtkapazität wird deshalb reduziert.

Hochfrequenzfall für Löcher im TiO_2 . Die grüne Kurve zeigt den Fall, bei dem nur die Elektronen und nicht die Löcher im TiO_2 auf eine Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ reagieren.

Im Silizium hingegen können alle Ladungsträger auf $\Delta\tilde{V}_{ES}$ reagieren. Dies repräsentiert den Hochfrequenzfall für Löcher im TiO_2 in den Messungen.

Bei negativ werdenden (Gleich-) Spannungen entsteht identisch zum Niederfrequenzfall eine Löcheranreicherung an der TiO_2 -Oberfläche, sobald das Valenzband des TiO_2 in die Nähe der Fermienergie gelangt (bei ca. -2 V). Gleichzeitig ist die Anreicherungszone im Silizium noch nicht vollständig ausgebildet. Wird die Spannung noch negativer, führt dies zu einer Verstärkung der Löcheranreicherung im TiO_2 und hat keine Auswirkungen auf die Raumladungszone im Silizium.

Da die Dichte der Löcher im TiO_2 bei einer Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ im HF-Fall konstant bleibt, ändert sich bei Spannungen, in der eine Löcheranreicherung im TiO_2 herrscht (< -2 V), stattdessen zwangsläufig die Ladung der Raumladungszone im Silizium mit $\Delta\tilde{V}_{ES}$ und bestimmt die Kapazität. Daher bleibt die Kapazität für Spannungen kleiner als -2 V konstant und wird durch die Kapazität der Anreicherungszone im Silizium bestimmt. Da diese noch nicht vollständig ausgebildet ist, ergibt sich eine Kapazität, die etwas unterhalb der Sättigungskapazität liegt. Siehe dazu auch Abschnitt 3.3.2.

Vergleich zwischen Messung und Rechnung. Ein Vergleich der errechneten CV-Kurven mit der TiO_2 -Messung in Abb. 3.6 ergibt Folgendes: Der steile Anstieg der Kapazität bei positiven Spannungen kann durch die Bildung einer Elektronenanreicherung an der TiO_2 -Oberfläche interpretiert werden. Bei negativen Spannungen ist in der Messung kein Anstieg zu sehen. Nach Abb. 3.9 kommen zwei mögliche Erklärungen dafür in Frage: Entweder (a) sind im TiO_2 keine Löcher vorhanden (rote Linie) oder (b) die Löcher können der angelegten Wechselfrequenz von 100 Hz nicht folgen (grüne Linie). Wie sich in Abschnitt 3.3.2 zeigen wird, scheint Variante (a) zuzutreffen.

3.2.4 Simulation anderer Materialien

Die Anreicherung von Ladungsträgern im Oxid ist in der Theorie nicht auf TiO_2 beschränkt. Errechnete CV-Kurven, die zusätzlich zum TiO_2 (durchgezogene Linie), HfO_2 (gestrichelt) und SiO_2 (gepunktet) repräsentieren, sind in Abb. 3.10A gezeigt. Die Parameter sind identisch zu Abb. 3.9. Lediglich die Dielektrizitätskonstanten ($\epsilon_{\text{HfO}_2} = 15$, $\epsilon_{\text{HfO}_2} = 3.9$), die Leitungsbandunterschiede zu Silizium ($\Delta E_C^{\text{HfO}_2} = 1.5$ eV, $\Delta E_C^{\text{SiO}_2} = 3.5$ eV) und die Bandlücken ($E_G^{\text{HfO}_2} = 6$ eV, $E_G^{\text{SiO}_2} = 9$ eV) der Oxide werden angepasst. Die Bandstrukturen im Flachbandfall sind in Abb. 3.10B nochmals dargestellt. Alle Kapazitäten werden auf die Oxidkapazität einer 10 nm dicken Schicht des jeweiligen Materials normiert. Aus Gl. 3.9 ergibt sich $c_{OX}^{\text{HfO}_2} = 1.33$ $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ und $c_{OX}^{\text{SiO}_2} = 0.35$ $\mu\text{F}/\text{cm}^2$.

Analog zu Abb. 3.9 zeigen die schwarzen Kurven den Fall mit Elektronen und Löchern in den Oxiden und die roten Kurven den Fall des perfekten Isolators. Diesmal gilt für Silizium der Hochfrequenzfall, die Anzahl der Elektronen im Silizium ändert sich also nicht mit $\Delta\tilde{V}_{ES}$. Aus diesem Grund steigen die roten Kurven im Inversionsbereich des Siliziums bei positiven Spannungen nicht mehr an. Auch bei SiO_2 (gepunktet) und HfO_2 (gestrichelt) existiert bei hohen negativen bzw. positiven Spannungen ein steiler Anstieg

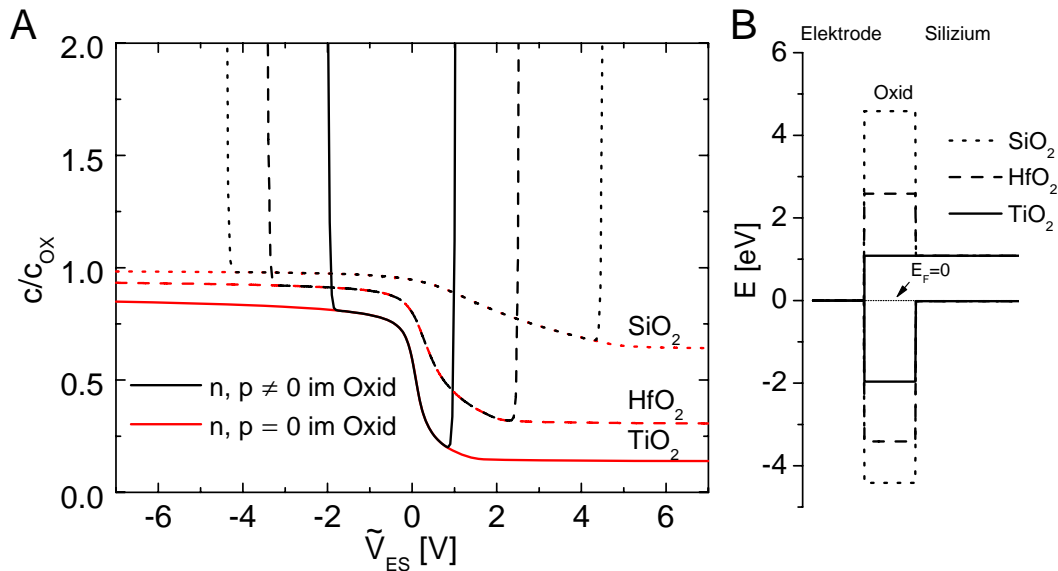


Abbildung 3.10: (A) Errechnete Kapazitäten von Elektrolyt/Oxid/Silizium-Systemen für verschiedene Oxide im Hochfrequenzfall des Siliziums. Schwarz: Niederfrequenzfall für freie Elektronen und Löcher im Oxid. Rot: keine freien Elektronen und Löcher im Oxid. Die Kapazitäten sind normiert auf die jeweiligen Oxidkapazitäten. (B) Banddiagramme der drei Elektrolyt/Oxid/Silizium-Systeme im Flachbandfall $\tilde{V}_{ES} = 0$.

der Kapazität, falls freie Ladungsträger in den Oxiden berücksichtigt werden (schwarz). Ursache dafür ist, analog zum TiO_2 eine Anreicherung von Löchern im Oxid bei hohen negativen Spannungen und eine Anreicherung von Elektronen bei hohen positiven Spannungen.

Die Spannung, bei der die Anreicherung von Löchern einsetzt, ist gegeben aus der Differenz zwischen Fermienergie und den jeweiligen Valenzbandenergien im Flachbandfall $\tilde{V}_{ES} = 0$, wie sie aus 3.10B hervorgeht. Ebenso ist der Beginn der Elektronenanreicherung bei positiven Spannungen gegeben durch die Differenz aus der Fermienergie und den Leitungsbandenergien im Flachbandfall. Die Tatsache, dass weder bei den Messungen im SiO_2 noch im HfO_2 ein steiler Kapazitätsanstieg zu sehen war, unterstreicht, dass diese beiden Materialien als perfekter Isolator ohne freie bewegliche Ladungsträgern betrachtet werden können.

3.3 Konditionierung der Chips mit Hoch-K-Beschichtung

Es stellte sich heraus, dass sich die CV-Kurven der HfO_2 - und TiO_2 -Chips permanent ändern, wenn die Messungen wiederholt werden. Dieser Effekt wird „Konditionierung“ genannt und soll im Folgenden systematisch beschrieben werden. Wiederum werden zunächst die Messungen präsentiert, welche dann anhand von Simulationen interpretiert werden.

3.3.1 Messung

Es werden Serien von Spannungsrampen angelegt, bei denen die Startspannung stets +1 V (TiO_2) bzw. +3 V (HfO_2) beträgt. Nach jeweils drei Rampen zu einer bestimmten Endspannung wird diese um ein Volt erniedrigt. Das Vorgehen ist identisch zum Referenzsystem (Abschnitt 3.1.2). Es zeigt sich, dass sich die Kapazitätskurven von der ersten zur zweiten und dritten Spannungsrampe deutlich ändern und nahezu konstant bleiben für weitere Rampen (nicht gezeigt). Die permanente Änderung der CV-Kurven ist in Abb. 3.11 für HfO_2 (A) und TiO_2 (B) gezeigt. Die jeweils dritte Spannungsrampe zu einer Endspannung ist zu sehen. Die schwarzen Linien sind Kapazitätskurven von Chips, die höchstens einer negativen Spannung von -1 V ausgesetzt waren. Sie stimmen überein mit den Kurven für unbenutzte Chips (Abb. 3.6). Sobald die Chips größeren negativen Spannungen ausgesetzt werden, ändert sich die CV-Kurve deutlich bei beiden Materialien.

HfO_2

Durch die Konditionierung ändert sich die Sättigungskapazität im Anreicherungsbereich nicht, wie Abb. 3.11A zeigt. Ferner treten drei Effekte auf, die typisch für die Entstehung von Grenzflächenzuständen sind (siehe Abschnitt 2.1.2): (i) die Flachbandspannung verschiebt sich zu negativen Spannungen, (ii) die CV-Kurve wird gestreckt, und (iii) im Verarmungs- und Inversionsbereich erhöht sich die Kapazität. Diese Effekte sind permanent und werden weder durch eine Lagerung in Elektrolyt noch in Luft rückgängig gemacht.

In Abb. 3.11A wurden die Rampen bei +3 V gestartet. Die Probe erfuhr also immer relativ hohe positive Spannungen. Die getrennten Auswirkungen von positiven und nega-

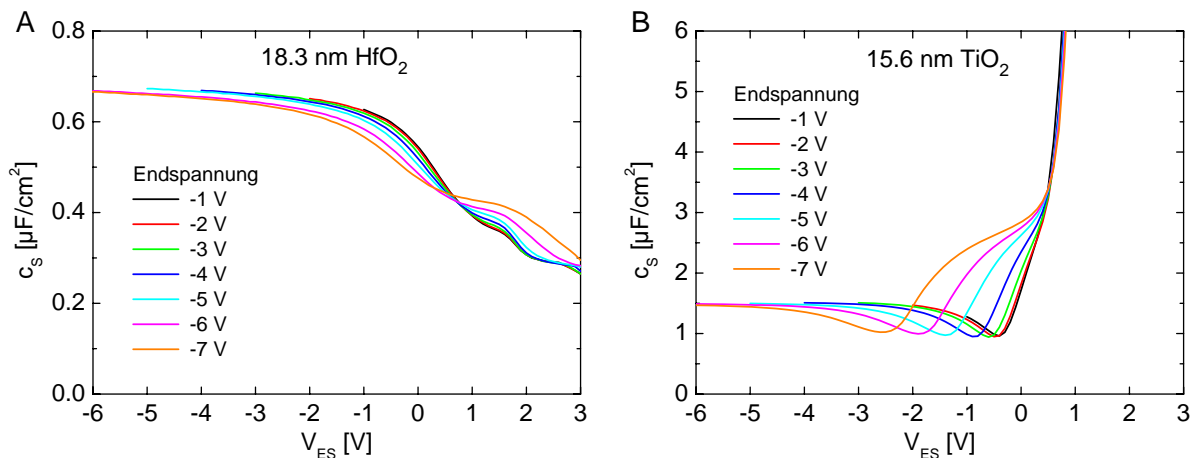
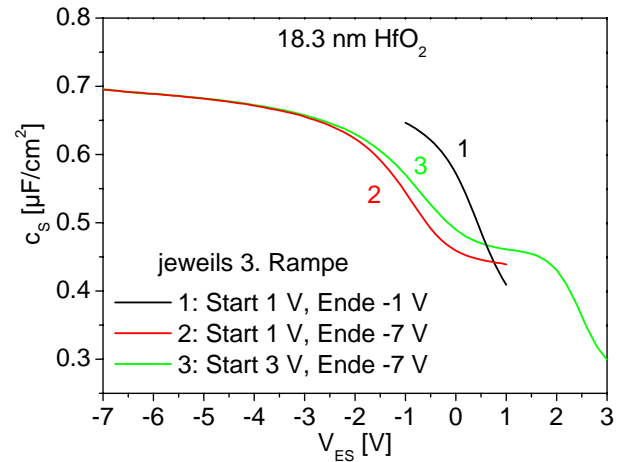


Abbildung 3.11: Gemessene, spezifische Kapazität c_s in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} nach dem Anlegen von Spannungsrampen für 18.3 nm HfO_2 (A) und 15.6 nm TiO_2 (B). Die Rampen starten bei +3 V (HfO_2) bzw. +1 V (TiO_2). Die Endspannungen sind in der Figur notiert. Die jeweils dritte Spannungsrampe zu einer bestimmten Endspannung ist gezeigt.

Abbildung 3.12: Spezifische Kapazität c_s von 18.3 nm HfO₂ nach dem Anlegen von Spannungsrampen. Die Start- und Endspannungen sind in der Figur notiert. Die jeweils dritte Spannungsrampe ist gezeigt.



tiven Spannungen zeigt Abb. 3.12. Kurve 1 (schwarz) zeigt die dritte Rampe von +1 V zu -1 V. Alle drei Messungen in diesem Spannungsbereich ergeben dieselben Kurven, da bei den moderaten Spannungen keine Ladungsinjektion stattfindet. Kurve 2 (rot) zeigt die dritte Rampe von +1 V zu -7 V. Die Probe erfährt hohe negativen Spannungen. Als Reaktion folgt eine reine horizontale Verschiebung der Kurve, wie sie für die Injektion von positiven Ladungen in das HfO₂ erwartet wird [Lai 1981; Ogawa & Shiono 1992]. Auf Grund des Vorzeichens der angelegten Spannung können die Löcher nur von der Si-Seite her und nicht vom Elektrolyten injiziert worden sein. Anschließend wird die Probe auch hohen positiven Spannungen ausgesetzt. Kurve 3 (grün) zeigt die dritte Rampe von +3 V nach -7 V. Nun wird die vorhergehende reine Verschiebung umgewandelt in eine Streckung der Kurve. Auch dieses Verhalten ist in der Literatur beschrieben: ein Teil der vormals festen positiven Ladungen wird durch die Injektion von Elektronen in das Oxid in Grenzflächenzustände umgewandelt [Lai 1981; Ogawa & Shiono 1992]. Auch die Elektronen werden von der Si-Seite her injiziert. Die Konditionierung, wie in Abb. 3.11A gezeigt, ist also ein Prozess, der aus zwei Teilschritten, nämlich Injektion von Ladungen und teilweiser Umwandlung in Grenzflächenzustände, besteht. Von Ladungsinjektion in dünne HfO₂-Schichten wurde schon mehrmals berichtet [Zhu *et al.* 2002; Kumar *et al.* 2003; Zafar *et al.* 2003].

TiO₂

Die Reaktion des TiO₂ auf große negative Spannungen weist Analogien zum HfO₂ auf, wie Abb. 3.11B zeigt. Zum einen (i) bleibt die Sättigungskapazität konstant und zum anderen (ii) verschiebt sich die Flachbandspannung ins Negative. Die Verschiebung um ca. -2 V entspricht nach Gl. 2.19 bei einer Sättigungskapazität von ca. $1.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ einer Injektion der Dichte $D_{fix} = 1.88 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ positiver Ladungen. Ferner sind noch zwei weitere, für TiO₂ charakteristische Eigenschaften zu beobachten, deren Ursache zu klären ist: (iii) der steile Anstieg bei +1 V wird nicht beeinflusst, und (iv) zwischen Minimum und steilen Anstieg entsteht eine Schulter mit Kapazitätswerten oberhalb des Sättigungswerts.

Aufgrund der Ähnlichkeiten (i) und (ii) zwischen HfO_2 und TiO_2 liegt es nahe auch hier als Ursache eine Injektion von positiven Ladungen vom Silizium anzunehmen. Es wird daher numerisch simuliert, welche Auswirkungen positive Ladungen an der TiO_2/Si -Grenzfläche haben und ob dadurch auch die Effekte (iii) und (iv) erklärt werden können.

3.3.2 Simulation des TiO_2 -Systems mit festen Ladungen an der Grenzfläche

Analog zu Abschnitt 3.2.3 wird zunächst als Basis die simulierte Bandstruktur besprochen, bevor die spannungsabhängige Kapazität behandelt wird.

Banddiagramme mit festen Ladungen

Abb. 3.13 zeigt Banddiagramme und Ladungsträgerverteilungen mit positiven Ladungen an der TiO_2/Si -Grenzfläche. Die Parameter der Rechnung sind identisch zu Abb. 3.8. Zusätzlich werden positive Ladungsträger an der Grenzfläche eingeführt, die die während der Konditionierung injizierten Löcher repräsentieren. Es wird angenommen, dass sich die Ladungen im TiO_2 nahe der Grenzfläche befinden. Sie werden daher willkürlich 4 \AA innerhalb des TiO_2 positioniert. Als Dichte der Ladungen wird exemplarisch $D_{fix} = 5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ verwendet. Rechnungen mit freien Elektronen und Löchern im TiO_2 sind schwarz, Rechnungen mit ausschließlich freien Elektronen im TiO_2 ($N_V = 0$ im TiO_2) sind orange gezeichnet.

Bei einer externen Spannung von $\tilde{V}_{ES} = 0$ (dritte Spalte) ist kein Unterschied zwischen den Fällen sichtbar, da das TiO_2 -Valenzband stets einige Elektronenvolt von der Fermienergie entfernt ist. Im Gegensatz zu den Rechnungen ohne feste Ladungen (Abb. 3.8) führt nun eine externe Spannung von Null nicht mehr zu flachen Bändern. Vielmehr bewirkt die eingeführte Ladung eine starke Abwärtsbiegung der Bänder an der TiO_2/Si -Grenzfläche. Daher berührt das Leitungsband hier das Fermienergielevel. Folglich entsteht eine Anreicherungszone von Elektronen im TiO_2 an der Si-Grenzfläche. Auch im Silizium befinden sich an der Grenzfläche mehr Elektronen als Löcher (Inversionsfall). Der Ladungsschwerpunkt der Elektronen ist knapp innerhalb des TiO_2 , da auch die positiven Ladungen 4 \AA innerhalb des TiO_2 positioniert wurden.

Eine Erhöhung der Spannung auf $\tilde{V}_{ES} = +2 \text{ V}$ (rechte Spalte) lässt eine zweite Elektronenanreicherungsschicht an der TiO_2 -Oberfläche entstehen, da das Leitungsband nun auch an der Elektrolyt/ TiO_2 -Grenzfläche das Fermienergielevel schneidet. Die Raumladungszone im Silizium bleibt unverändert. Auch hier existiert kein Unterschied zwischen beiden Fällen, da das Valenzband im TiO_2 stets einige Elektronenvolt von der Fermienergie entfernt ist.

Für eine Spannung von ca. $\tilde{V}_{ES} = -2.5 \text{ V}$ (zweite Spalte) ergeben sich im Fall ohne Löcher im TiO_2 (orange) flache Bänder im Silizium. Bei der Rechnung mit Löchern (schwarz) existiert im TiO_2 eine geringe Anreicherung von Löchern an der TiO_2 -Oberfläche. Der Potentialabfall ist nahezu linear über das Oxid und kann kaum vom Fall ohne Löcher unterschieden werden.

3.3. KONDITIONIERUNG DER CHIPS MIT HOCH-K-BESCHICHTUNG

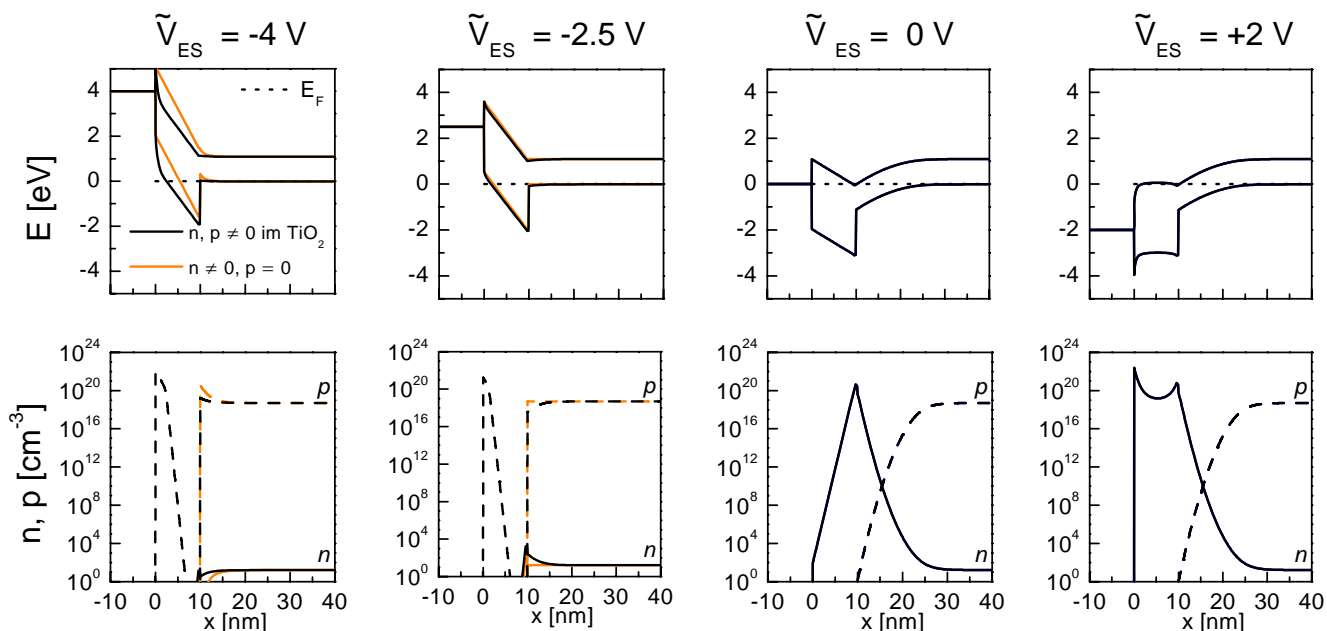


Abbildung 3.13: Simulierte Banddiagramme (oben) und Ladungsträgerverteilungen (unten) des Elektrolyt/TiO₂/Si-Systems für vier verschiedene Spannungen \tilde{V}_{ES} zwischen Ag/AgCl und Silizium. An der TiO₂/Si-Grenzfläche befindet sich eine Dichte positiver Ladungsträger von $D_{fix} = 5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$. Die obere Reihe zeigt Leitungs- und Valenzband relativ zur Fermienergie, die untere Reihe die Konzentrationen von Elektronen n (durchgezogen) und Löchern p (gestrichelt). Schwarz: freie Elektronen und Löcher im TiO₂ vorhanden. Orange: nur Elektronen, keine Löcher im TiO₂ vorhanden.

Für hohe negative Spannungen, wie z.B. $\tilde{V}_{ES} = -4 \text{ V}$ (linke Spalte), nimmt die Löcheranreicherung an der TiO₂-Oberfläche stark zu und ein großer Teil der angelegten Spannung fällt innerhalb weniger Nanometer im TiO₂ ab (schwarz). Bei der Rechnung ohne Löcher im Oxid (orange), ergibt sich ein linearer Spannungsabfall im TiO₂ und eine stärkere Löcheranreicherung im Si, da nun ein größerer Teil der Spannung im Si abfällt.

CV-Kurven mit festen Ladungen

Die Auswirkungen von festen Ladungen auf die simulierte CV-Kurven sind in Abb. 3.14 illustriert. Sie werden analog zu Abb. 3.9 errechnet. In der Messung aus Abb. 3.11 existiert kein steiler Kapazitätsanstieg bei negativen Spannungen. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen, werden die CV-Kurven ohne Löcher im TiO₂ simuliert. Die beobachteten Eigenschaften sind identisch mit den Feststellungen aus der Messung (Abb. 3.11): Mit Zunahme der Dichte positiver Ladungsträger D_{fix} an der Grenzfläche bleiben (i) der Sättigungswert bei negativen Spannungen und (ii) der steile Anstieg bei +1 V unberührt. Die Flachbandspannung (iii) verschiebt sich ins Negative und (iv) zwischen Minimum und steilem Anstieg entsteht eine Schulter mit erhöhter Kapazität. Alle bei den Messungen auftretenden Phänomene können also durch die Annahme der Injektion

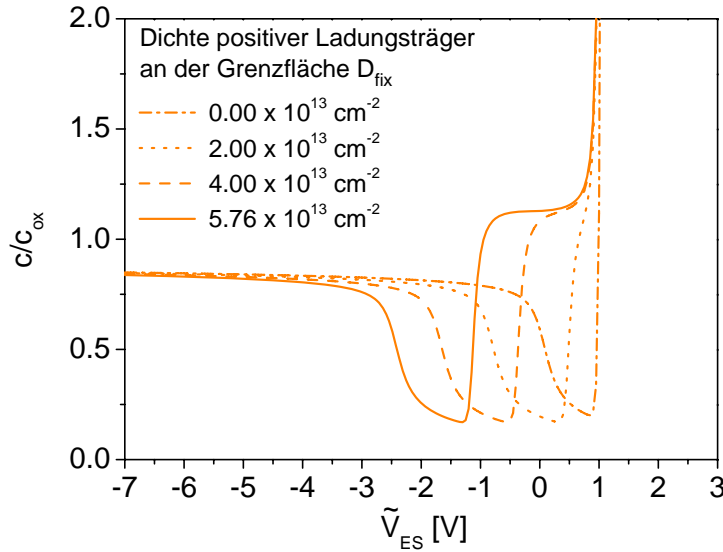


Abbildung 3.14: Errechnete Kapazitäten des Elektrolyt/TiO₂/Silizium-Systems für verschiedene Dichten positiver Ladungsträger D_{fix} an der TiO₂/Si-Grenzfläche. Niederfrequenzfall im Silizium. Nur freie Elektronen, keine Löcher im TiO₂. Die Kapazität ist normiert auf die Oxidkapazität c_{OX} von 10 nm TiO₂ mit $\epsilon_r = 40$.

positiver Ladungen in das TiO₂ simuliert werden.

Ursache für fehlenden Anstieg bei hohen Spannungen

Für die CV-Kurven aus Abb. 3.14 wurden die Rechnungen ohne Löcher im TiO₂ durchgeführt. Aus diesem Grund ergab sich in keiner CV-Kurve ein steiler Kapazitätsanstieg bei negativen Spannungen. Ausgangspunkt für diese Annahme war die Tatsache, dass auch bei den Messungen ein derartiger Anstieg ausblieb. Allerdings könnte ein Ausbleiben des Kapazitätsanstiegs in den Messungen auch darauf zurückzuführen sein, dass die Löcher zwar vorhanden, aber nicht beweglich genug sind, um der Wechselfrequenz von 100 Hz zu folgen. Durch die folgenden Rechnungen soll nun belegt werden, dass dem nicht so ist, sondern dass tatsächlich keine Löcher vorhanden sind. Dazu zeigt Abb. 3.15 Simulationen für verschiedene Werte von D_{fix} , bei denen (i) keine Löcher im TiO₂ vorhanden sind (orange) und (ii) Löcher vorhanden sind, die aber nicht auf die Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ reagieren (grün).

Im Fall (i) bleibt der Sättigungswert konstant und es findet wie in Abb. 3.14 eine Verschiebung eines Teils der Kurve statt, wenn D_{fix} erhöht wurde. Im Gegensatz dazu sinkt im Fall (ii) der Sättigungswert und die Kurven werden gestreckt. Beide Fälle unterscheiden sich ab ca. -2 V, der Spannung, ab der eine Löcheranreicherung im TiO₂ einsetzt. Die Ursache für die erniedrigte Sättigungskapazität liegt darin, dass im Fall (ii) zwangsläufig die Raumladungszone im Silizium der Spannungsänderung folgt. Nimmt D_{fix} zu, so nimmt die Anreicherung von Löchern im Silizium für eine gegebene negative Spannung jedoch zunehmend ab. Dieser Effekt ist in Abb. 3.13, linke Spalte, erkennbar. Somit nimmt die

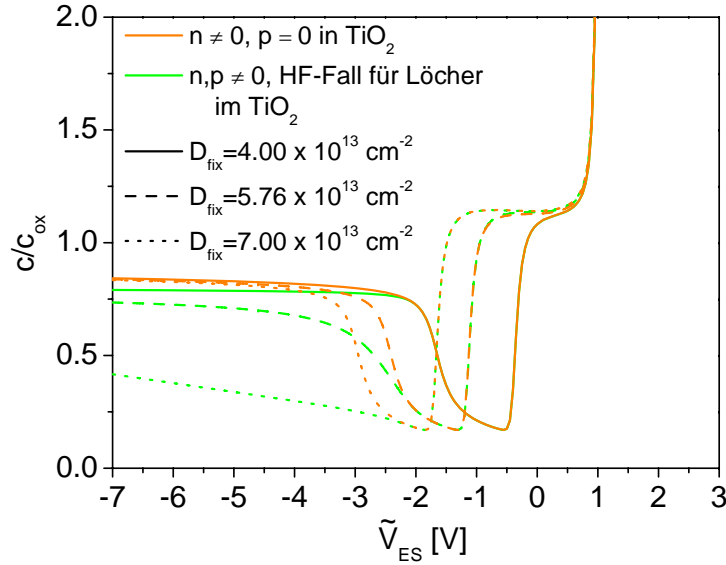


Abbildung 3.15: Errechnete Kapazität für verschiedene Werte von D_{fix} (durchgezogene Linien: $4 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$, gestrichelte Linien: $5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$, gepunktete Linien: $7 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$). Niederfrequenzfall im Silizium und für Elektronen im TiO_2 . Orange: Keine Löcher im TiO_2 . Grün: Hochfrequenzfall für Löcher im TiO_2 .

Kapazität der Raumladungszone im Silizium und damit die Gesamtkapazität ab.

Da bei den Messungen keine Abnahme der Sättigungskapazität beobachtet wurde, kann gefolgert werden, dass im Experiment Fall (i) vorliegt und tatsächlich keine Löcher im TiO_2 vorhanden sind.

3.3.3 Erklärung der TiO_2 -CV-Kurve mit festen Ladungen

Anhand von Abb. 3.16A soll nun eine typische CV-Kurve für TiO_2 auf p-Si mit festen positiven Ladungen erläutert werden. Es wird der Fall ohne Löcher im TiO_2 betrachtet. Für alle freien Ladungsträger gilt der Niederfrequenzfall. Die Parameter in der Rechnung sind identisch mit denen, die zu den orangenen Banddiagrammen aus Abb. 3.13 führten. Die Kurve kann in vier Bereiche unterteilt werden, die durch die vier Banddiagramme in Abb. 3.13 repräsentiert werden und in denen jeweils eine andere Raumladungszone auf eine Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ reagiert. In (A) ist die simulierte CV-Kurve mit den vier Bereichen gezeigt. In (B) sind schematisch die in den jeweiligen Bereichen existierenden Raumladungszonen gezeigt. Die mit dem Pfeil markierte Raumladungszone folgt der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ – was in den Messungen einem Folgen der Wechsellspannung entspricht – und bestimmt somit die Kapazität.

Für hohe negative Spannungen (Bereich I) ist die Kapazität etwas unterhalb der dielektrischen Kapazität des TiO_2 . Hier ist das TiO_2 frei von Ladungsträgern, während im Silizium eine Anreicherung von Löchern besteht. Dies zeigt die linke Spalte in Abb. 3.13, und das Schema zu Bereich I in Abb. 3.16B. Eine Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ bewirkt eine

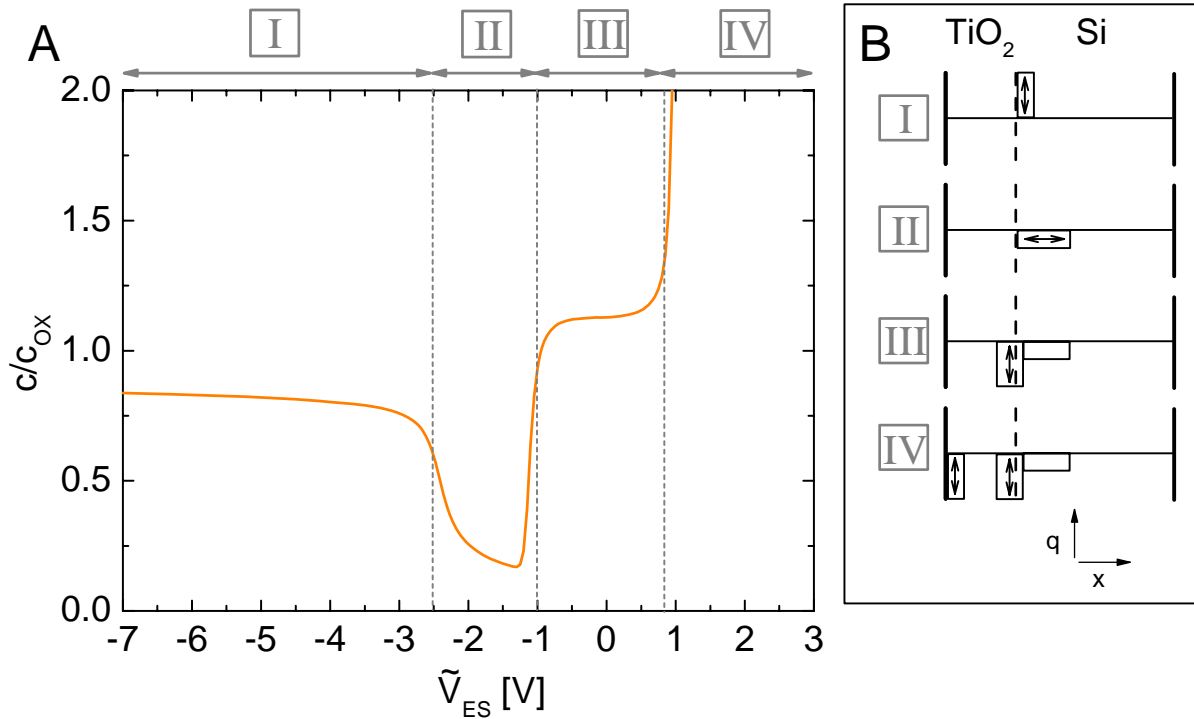


Abbildung 3.16: (A): Errechnete Kapazität des Elektrolyt/ TiO_2 /Silizium-Systems als Funktion der Spannung \tilde{V}_{ES} mit einer Dichte positiver Ladungen an der TiO_2 /Si-Grenzfläche von $5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$. Keine Löcher im TiO_2 , für alle anderen freien Ladungsträger gilt der Niederfrequenzfall. (B): Schema der Raumladungszonen, die in den jeweiligen Bereichen (in (A) oben markiert) im System existieren. Die mit dem Pfeil markierte Raumladungszone folgt der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ und bestimmt somit die Kapazität in dem jeweiligen Bereich.

Änderung der Ladung in der Anreicherungszone im Silizium, wie der Pfeil in Abb. 3.16B symbolisiert. Der Schwerpunkt dieser Ladung ist knapp innerhalb des Siliziums, weshalb die Kapazität etwas unterhalb der dielektrischen Oxidkapazität c_{OX} liegt.

Für moderate, negative Spannungen sinkt die Kapazität, da im Silizium die Anreicherung abnimmt und eine Verarmung entsteht, analog zum MOS-Modell. Die zweite Spalte in Abb. 3.13 zeigt, dass bei -2.5 V die Bänder im Silizium flach sind und somit weder im TiO_2 noch im Silizium eine Raumladungszone herrscht. Diese Spannung markiert die Grenze zwischen den Bereichen I und II. In Bereich II ist das TiO_2 immer noch frei von Ladungsträgern und im Silizium existiert eine Verarmungszone. Diese folgt \tilde{V}_{ES} und ihr Ladungsschwerpunkt ist tiefer innerhalb des Siliziums als jener einer Anreicherungszone, wie im Schema zu Bereich II in Abb. 3.16B gezeigt ist (siehe Abschnitt 2.1.1). Folglich ist die Kapazität in Bereich II niedriger als in Bereich I, analog zum MOS-Modell.

Für Spannungen zwischen -1 V und $+0.8 \text{ V}$ (Bereich III) ist die Kapazität etwas oberhalb der Sättigungskapazität. Hier existiert – zusätzlich zur Verarmungszone im Silizium – an der TiO_2 /Si-Grenzfläche eine hohe Dichte an Elektronen, wie die dritte Spalte in Abb. 3.13 und das Schema zu Bereich III in Abb. 3.13 zeigt. Da die Elektronendichte

im Silizium höher als die Löcherdichte ist, gilt für das Si der Inversionsfall. Ursache für die Elektronenanreicherung sind die festen positiven Ladungen. Da sich diese innerhalb des TiO_2 befinden, liegt sich auch der Ladungsschwerpunkt der Elektronen innerhalb des TiO_2 . Die Elektronen folgen der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ und somit ist die Kapazität etwas größer als c_{OX} .

Für Spannungen größer als +0.8 V steigt die Kapazität stark an (Bereich IV). Zusätzlich zu den vorhandenen Raumladungszonen (Elektronen an der TiO_2/Si -Grenzfläche, Verarmungszone im Si) existiert eine hohe Dichte von Elektronen an der Elektrolyt/ TiO_2 -Grenzfläche, wie die rechte Spalte in Abb. 3.13 und das Schema zu Bereich IV in Abb. 3.13 zeigt. Da nun diese Elektronen $\Delta\tilde{V}_{ES}$ folgen und ihr Schwerpunkt nahe der TiO_2 -Oberfläche ist, ist die Kapazität in diesem Bereich sehr hoch und außerhalb der Darstellung.

Wie die Erläuterungen zeigen, bestimmt der Ort jener Ladungskomponente, welche zur gegebenen Spannung \tilde{V}_{ES} der Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ folgt, die Kapazität. Ist die Ladung exakt an der Si-Oberfläche so ist die Kapazität exakt c_{SAT} . Ist der Ladungsschwerpunkt innerhalb des Siliziums, so ist die Kapazität kleiner als c_{SAT} und wird umso kleiner, je tiefer der Schwerpunkt innerhalb des Siliziums ist. Ist der Ladungsschwerpunkt außerhalb des Siliziums, so ist die Kapazität größer als c_{SAT} und wird umso größer, je näher der Schwerpunkt sich der Elektrolyt/ TiO_2 -Grenzfläche nähert. Folglich kann in einem Experiment ausgehend von der Kapazität zu einer bestimmten Spannung V_{ES} auf den Ort des Ladungsschwerpunkt der Ladungen geschlossen werden, welche der Wechselspannung folgen. Von diesem Konzept wird am Ende von Kapitel 4 Gebrauch gemacht werden.

3.3.4 Variation der Frequenz

Auch die Frequenzabhängigkeit der Kapazität lässt Rückschlüsse auf die physikalischen Eigenschaften des Systems zu. Abb. 3.17 zeigt CV-Kurven für HfO_2 (A) und TiO_2 (B), bei unterschiedlichen Frequenzen der angelegten Wechselspannung. Die Chips wurden vorher, wie schon beschrieben, konditioniert.

HfO_2

Beim HfO_2 treten zwei frequenzabhängige Effekte auf. Zum einen nimmt die gemessene Kapazität über den gesamten Spannungsbereich hinweg ab, wie schon beim Referenzsystem Elektrolyt/ SiO_2 /Silizium zu sehen war. Auch hier ist die Ursache der zunehmende Einfluss von parasitären Elementen. Zum anderen wird die zusätzliche, durch die Konditionierung erzeugte Kapazität bei $V_{ES} > 0$ mit zunehmender Frequenz kleiner. Diese zusätzliche Kapazität ist auf Grenzflächenzustände zurückzuführen, wie in Abschnitt 3.3.1 erläutert wurde. Bei zunehmender Frequenz können diese nicht mehr schnell genug Ladungen mit dem Silizium austauschen und die dazugehörige Kapazität verringert sich. Somit entspricht die Hochfrequenz-Kurve bei 10 kHz einer idealen MOS-CV-Kurve, die durch

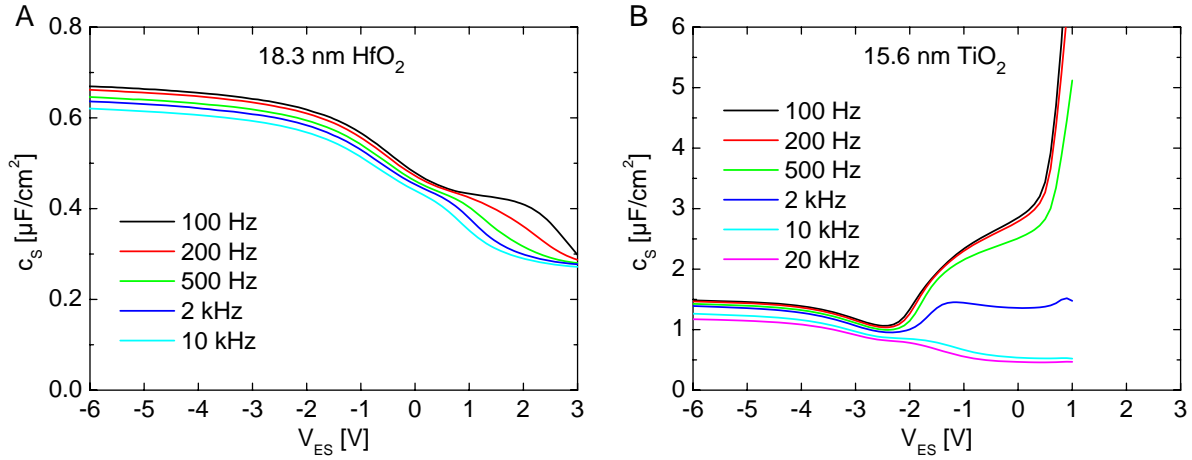


Abbildung 3.17: Gemessene, spezifische Kapazität c_s der Oxide bei verschiedenen Frequenzen für 18.3 nm HfO_2 (A) und 15.6 nm TiO_2 (B).

Grenzflächenzustände und feste Ladungen verschoben und gestreckt ist (siehe Abschnitt 2.1.2) [Nicollian & Brews 1982].

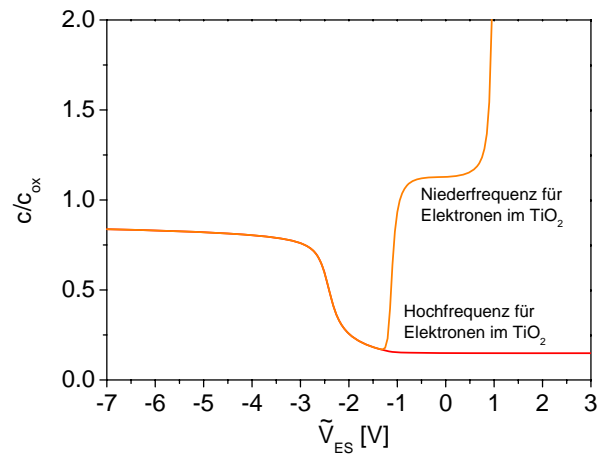
TiO₂

Auch beim TiO₂ ergibt sich, wie schon beim SiO₂ und HfO₂, eine Reduzierung der Kapazität über den gesamten Spannungsbereich. Zusätzlich werden bei hohen Frequenzen auch der steile Anstieg und die Kapazitätsschulter unterdrückt. Für Frequenzen größer als 10 kHz ergibt sich eine MOS-artige Kurvenform. Die Simulationen ergaben, dass freie Elektronen im TiO₂ für den steilen Anstieg und auch für die Schulter verantwortlich sind. Daher wird die Abnahme der Kapazität im Bereich der Schulter und des steilen Anstiegs bei hohen Frequenzen durch eine limitierte Beweglichkeit der Elektronen im TiO₂ interpretiert. Während für Frequenzen kleiner als ca. 500 Hz alle Elektronen der Wechselspannung folgen, nimmt deren Anteil für größere Frequenzen ab, bis bei ca. 10 kHz der Hochfrequenzfall erreicht wird und sie nicht mehr der Wechselspannung folgen können.

Simulation des Hochfrequenzfalles im TiO₂

Abb. 3.18 zeigt die Änderung der TiO₂-CV-Kurve bei hohen Frequenzen anhand der Simulation. Für die Elektronen um Silizium gilt der Hochfrequenzfall. Nur wenn die Elektronen im TiO₂ auf die Spannungsänderung $\Delta\tilde{V}_{ES}$ reagieren, ergibt sich die bekannte Kurve (orange). Ist dies nicht der Fall, bleibt der Anstieg der Kapazität aus (rote Kurve). Weder die Schulter noch der steile Anstieg erscheinen. Die resultierende Kurve ist wieder vom MOS-Typ.

Abbildung 3.18: Errechnete Kapazität des Elektrolyt/TiO₂/Silizium-Systems für eine Löcherdichte von $5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ an der TiO₂-Si-Grenzfläche. Hochfrequenzfall im Silizium. Keine Löcher im TiO₂. Orange: Niederfrequenzfall für Elektronen im TiO₂. Rot: Hochfrequenzfall für Elektronen im TiO₂.



3.4 Leckströme der Hoch-K-Kondensatoren

In den vorherigen Abschnitten wurde schon erwähnt, dass die Leckströme in den gezeigten Spannungsbereichen sehr gering sind. Dies erlaubte eine Auswertung der komplexen Impedanz als Serienschaltung aus Widerstand und Kapazität. Nun soll ausführlicher auf die Leckströme der verschiedenen Chips eingegangen werden.

Ein Leckstrom über das System ist mit einer elektrochemischen Reaktion an der Elektrolyt/Oxid-Schnittstelle verbunden. In Frage kommt eine Reduktion von Redoxpaaren mit Elektronen oder eine Oxidation mit Löchern aus dem Festkörper. Die Ladungsträger können hierbei direkt an der Oberfläche des Oxids vorhanden sein oder aus dem Silizium in den Elektrolyten tunneln. Voraussetzung für einen Ladungstransfer ist in jedem Fall, dass ein Redoxpaar mit passender Energie zur Verfügung steht (siehe 2.1.4) [Gerischer 1990].

Der tolerierbare Leckstrom durch die Chips ergibt sich aus den Anforderungen in den anvisierten biologischen Anwendungen. Die Adhäsionsfläche von Zellen auf Substraten ist ca. $500 \mu\text{m}^2$ (siehe Kapitel 6). Durch diese Fläche soll höchstens 25 pA fließen. Dies ist ungefähr der Strom durch einige Ionenkanäle in der Membran [Hille 2001], welcher als garantiert unschädlich für Zellen einzustufen ist. Daraus ergibt sich eine maximale, tolerierbare Leckstromdichte von $5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

3.4.1 Verschiedene Oxiddicken

Für verschiedene Oxiddicken werden verschiedene Stärken des Leckstroms erwartet. Abb. 3.19 zeigt den Leckstrom in Abhängigkeit der angelegten Spannung an konditionierten Chips verschiedener Oxiddicke für HfO₂ (A) und TiO₂ (B).

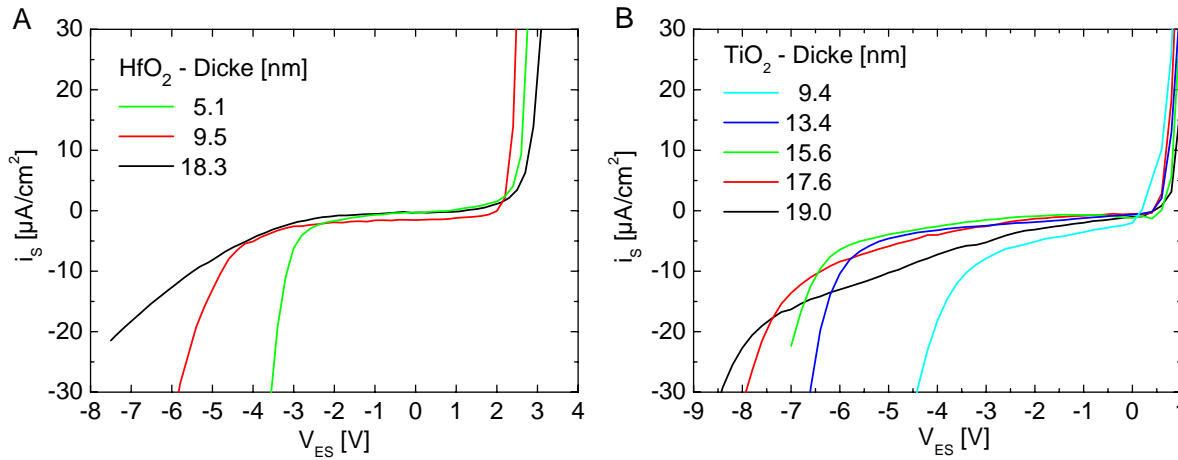


Abbildung 3.19: Flächen-spezifischer Leckstrom i_s der Oxide auf p^+ -Silizium in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} zwischen Elektrolyt und Silizium bei verschiedenen Oxiddicken für (A) HfO_2 und (B) TiO_2 .

HfO_2

Für HfO_2 ist der Strom für alle Oxiddicken für Spannungen von -3 V bis $+2$ V geringer als $5 \mu A/cm^2$. Ab ca. $+2.5$ V nimmt der kathodische Strom unabhängig von der Dicke stark zu. In diesem Spannungsbereich schneidet nach Abb. 3.10 – unabhängig von der Oxiddicke – das Leitungsband des HfO_2 an der HfO_2 /Elektrolyt-Grenzfläche die Fermienergie. Es wird daher eine Anreicherung von Elektronen unter der HfO_2 -Oberfläche erwartet, wobei die Elektronen in Redoxpaare des Elektrolyten transferiert werden können. Als Akzeptoren kommen hierbei H^+ -Ionen oder H_2O -Moleküle in Frage. Das Ausbleiben eines durch die Elektronenanreicherung verursachten Kapazitätsanstiegs (z.B. Abb. 3.6) deutet auf Elektronen geringer Beweglichkeit hin, die der Wechsellspannung nicht folgen können.

Der anodische Strom bei negativen Spannungen < -3 V ist stark abhängig von der Oxiddicke. Eine Anreicherung von Löchern an der Oberfläche hingegen wäre dickenunabhängig und sollte bei ca. -3.5 V stattfinden (siehe Abb. 3.10). Auch in den Kapazitätsmessungen wurde keine Löcheranreicherung festgestellt. Diese Übereinstimmung legt nahe, dass an der HfO_2 -Oberfläche keine Löcher vorhanden sind. Vielmehr deutet die starke Dickenabhängigkeit des anodischen Stroms auf einen Tunnelprozess von Löchern aus dem Silizium in Redoxpaare hin.

TiO_2

Auch beim TiO_2 ist der kathodische Leckstrom unabhängig von der Dicke. Er setzt bei ca. $+0.5$ V ein und korrespondiert daher mit dem steilen Kapazitätsanstieg der TiO_2 -Kondensatoren in diesem Spannungsbereich, welcher durch Elektronen an der TiO_2 -Oberfläche zustande kommt. Als dominierender Transportmechanismus liegt also ein Transfer von Elektronen aus dem TiO_2 in Redoxpaare nahe. Hierbei kommen als Akzeptoren wiederum H^+ -Ionen oder H_2O -Moleküle in Frage (siehe Abb. 2.9).

Bei hohen negativen Spannungen findet bei allen Proben ein steiler Anstieg des Leckstromes, sichtbar durch einen Knick in der Strom-Spannungs-Kurve, statt. Auch dieser ist, analog zum HfO_2 , stark abhängig von der Dicke. Zudem wurde auch hier kein korrespondierender Kapazitätsanstieg festgestellt. Daher scheinen, ebenso wie im HfO_2 , keine Löcher an der Oberfläche vorhanden zu sein und der Strom durch Tunneln von Löchern aus dem Silizium getragen zu werden. Der Strom zwischen den beiden steilen Stromanstiegen (=„Hintergrundstrom“) ist ebenfalls dickenabhängig. Dabei ist der Strom für die dünnste Schicht zwischen -3 V und 0 V erwartungsgemäß am höchsten. Der Hintergrundstrom nimmt dann bis zu einer Schichtdicke von 15.6 nm ab und dann wieder zu. Dieser Effekt ist für Hoch-K-Dielektrika bekannt und ist auf die zunehmende Kristallisierung des Oxids zurückzuführen. Entlang der Korngrenzen bilden sich leitfähige Pfade, welche zu einer Erhöhung des Leckstroms führen [Wilk *et al.* 2001].

3.4.2 Konditionierung

Bei den Kapazitätsmessungen war zu sehen, dass die CV-Kurven durch Anlegen hoher Spannungen verändert werden. Die Ursache war die Injektion von positiven Ladungen vom Silizium in das Oxid. Auch die Leckströme ändern sich durch das Anlegen hoher negativer Spannungen, wie Abb. 3.20 zeigt.

Für beide Materialien ist jeweils die erste, zweite und dritte Spannungsrampe gezeigt. Rampenrichtung ist wieder von positiven zu negativen Spannungen. Im HfO_2 (A) verschieben sich durch die Konditionierung die steilen Stromanstiege bei positiven und negativen Spannungen. Ursächlich hierfür ist die Erzeugung von Grenzflächenzuständen. Durch deren Präsenz wird effektiv eine höhere Spannung benötigt, um eine bestimmte Bandverbiegung, die einen bestimmten Strom zur Folge hat, zu erzeugen (siehe Abschnitt 3.3.1 und 2.1.2).

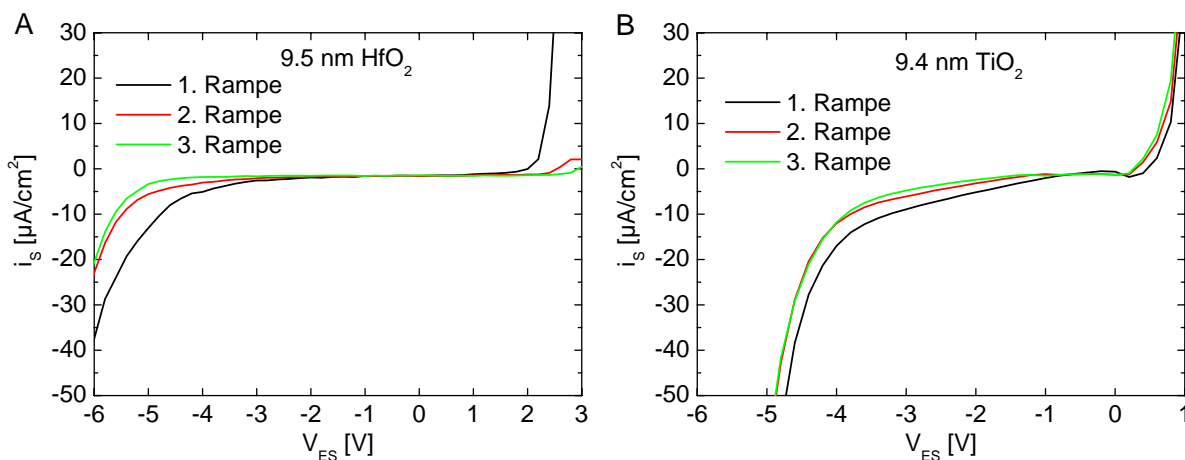


Abbildung 3.20: Flächen-spezifischer Leckstrom i_s der Oxide in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} für eine Serie identischer Spannungsrampen. Die Rampe starten bei $+3\text{ V}$ für HfO_2 (A) oder $+1\text{ V}$ für TiO_2 (B).

Beim TiO_2 (B) verschiebt sich nur der anodische Stromanstieg geringfügig durch die Injektion von positiven Ladungen. Es fällt zusätzlich auf, dass der Hintergrundstrom zwischen -4 V und 0 V beim ersten Durchlauf erhöht ist. Hier ist direkt die Ladungsträgerinjektion, die hauptsächlich beim ersten Durchlauf stattfindet, zu erkennen.

3.5 Zusammenfassung

Unter Verwendung eines Elektrolyten als Frontkontakt wurde das HfO_2/Si - und TiO_2/Si -System elektrisch charakterisiert. Aufgrund der geringen Leckströme war der messbare Spannungsbereich größer als bei vergleichbaren Systemen mit Metall-Frontkontakt. Zudem konnten kleinere Frequenzen ab 100 Hz zur Kapazitätsbestimmung verwendet werden.

Im Anreicherungsgebiet von p-Si verhielten sich beide Materialien wie perfekte Isolatoren und Dielektrizitätskonstanten von 15.4 (HfO_2) und 33.9 bzw. 33.0 (TiO_2) konnten ermittelt werden.

Im Verarmungs- und Inversionsbereich von p-Si konnte nur das HfO_2 -System durch die einfache MOS-Theorie beschrieben werden. Die TiO_2 -Proben dagegen zeigten einige interessante Eigenschaften, die nur durch numerische Modellrechnungen interpretiert werden konnten. So führte das niedrige Leitungsband im TiO_2 in manchen Spannungsbereichen zu einer Anreicherung von Elektronen im TiO_2 , was sich dort durch eine erhöhte Kapazität bemerkbar machte.

Das Anlegen von hohen negativen Spannungen führte in beiden Systemen zu permanenten Änderungen der CV-Charakteristik. Auf Basis des Modells konnten die Effekte durch Injektion positiver Ladungen vom Silizium in die Oxide interpretiert werden. Auch die Frequenzabhängigkeit der CV-Kurven wurde mit dem Modell in Einklang gebracht.

Hinsichtlich der Anwendung mit Zellen ist eine möglichst hohe Kapazität der Chips bei gleichzeitig minimalem Leckstrom erwünscht. Einen guten Kompromiss bieten hierbei die mit 15.6 nm TiO_2 -beschichteten Chips. Bei einer Sättigungskapazität von ca. $1.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ weisen sie zwischen ca. -6 V und 0 V einen vernachlässigbaren Strom auf. Bisher wurden Chips mit einer ca. 10 nm dicken SiO_2 -Schicht verwendet, deren spezifische Kapazität ca. $0.3 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ betrug [Zeck & Fromherz 2001; Kaul *et al.* 2004]. Somit wurde die Kapazität im Vergleich zu den bisher verwendeten, SiO_2 -basierten Chips um einen Faktor von ca. 5 erhöht.

Kapitel 4

Variation der Pufferschicht zwischen TiO_2 und Silizium

TiO_2 -Chips haben sich im Rahmen dieser Arbeit (siehe Kapitel 6) und auch in anderen Arbeiten [Ulbrich & Fromherz 2005; Schoen & Fromherz 2006] bereits in biologischen Anwendungen bewährt. Bei diesen Anwendungen wurden Chips mit einer TiO_2 -Beschichtung von ASM und einer Si_3N_4 -Pufferschicht verwendet. Dabei zeigte sich, dass die starke Spannungsabhängigkeit der Kapazität und der damit verbundene stark variierende kapazitive Strom die Auswertung der Daten erschwerte. Wünschenswert wäre daher eine CV-Charakteristik mit möglichst geringen Kapazitätsschwankungen. Ferner wäre eine Vergrößerung des Spannungsintervalls, in dem der Leckstrom unkritisch ist, von Vorteil.

Zur Optimierung der Eigenschaften TiO_2 -basierter Stimulationschips wird die Pufferschicht zwischen TiO_2 und Silizium variiert. In den bisherigen Messungen wurde stets eine Pufferschicht aus Si_3N_4 verwendet, welche im Abteilungsreinraum in einem Rapid Thermal Processing (RTP)-Ofen erzeugt wurde. Im Folgenden wird zusätzlich Al_2O_3 als Puffer untersucht. Das Al_2O_3 wurde direkt vor dem TiO_2 im selben Reaktor ebenfalls mit ALD deponiert. Außerdem werden Chips untersucht, bei denen TiO_2 ohne Puffer direkt auf eine wasserstoffterminierte Silizium Oberfläche aufgebracht wurde. Auch dadurch bildete sich, wie im TEM-Bild (Abb. 2.17C) zu sehen war, eine ca. 1 nm bis 1.5 nm dicke Zwischenschicht. Die exakte Zusammensetzung der Schicht ist nicht bekannt, weshalb sie „ TiSi_xO_y -Puffer“ genannt wird. Die TiO_2 - und Al_2O_3 -Beschichtungen der in diesem Kapitel beschriebenen Chips wurden im Laboratorio MDM-INFM, Agrata Brianza, Italien, von Dr. Giovanna Scarel durchgeführt.

4.1 Leckströme

Abb. 4.1 zeigt Leckstromkurven von konditionierten Chips mit ungefähr gleicher TiO_2 -Dicke für die drei verschiedenen Zwischenschichten. Der steile Anstieg des kathodischen

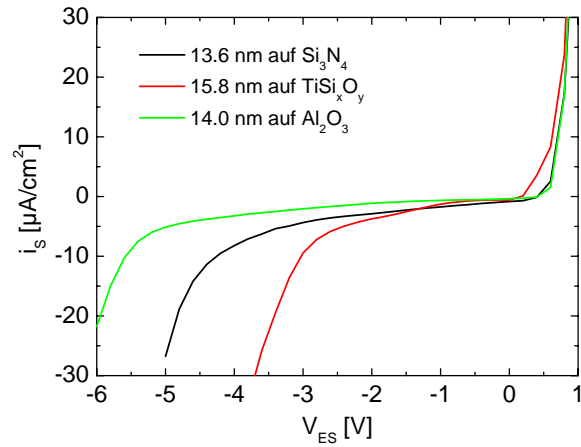


Abbildung 4.1: Flächen-spezifischer Leckstrom i_s von TiO₂ auf p⁺-Si in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} zwischen Elektrolyt und Silizium für verschiedene Pufferschichten.

Stroms ist bei allen Proben nahezu identisch. Die Spannung, bei der Anstieg einsetzt, ist mit +0.5 V sehr ähnlich zu den Proben, die bei ASM hergestellt wurden (vgl. Abb. 3.19B). Deshalb liegt auch hier vermutlich ein Transfer von an der TiO₂-Oberfläche angereicherten Elektronen in den Elektrolyten als Transportmechanismus vor.

Der anodische Strom variiert deutlich für verschiedene Pufferschichten. Der steile Anstieg setzt beim Al₂O₃ (grün) bei einer ca. 1 V negativeren Spannung ein als beim Si₃N₄ (schwarz). Im Abschnitt 3.4 wurde Tunneln von Löchern in den Elektrolyten als Transportmechanismus für den anodischen Strom vorgeschlagen. Diese Vorstellung lässt sich auch hier anwenden, da die Bandlücke von Al₂O₃ mit 8.8 eV größer als die des Si₃N₄ mit 5.3 eV ist [Robertson 2000]. Daher bildet das Al₂O₃ eine um ca. 3 eV erhöhte Tunnelbarriere für Löcher aus dem Silizium im Vergleich zum Si₃N₄ (siehe Abb. 2.8). Für den TiSi_xO_y-Puffer setzt der Anstieg bei den geringsten Spannungen ein, vermutlich da hier die kleinste Tunnelbarriere vorliegt (rot).

Der anodische Strom der Si₃N₄-Probe von MDM (schwarze Linie in Abb. 4.1) setzt bei geringeren negativen Spannungen ein als der Strom der Probe vergleichbarer Dicke von ASM (grüne Linie Abb. 3.19B). Grund hierfür könnte entweder die etwas dünnere Pufferschicht der MDM-Proben sein (siehe Abbn. 2.16A und 2.17A) oder die unterschiedlichen Prozessbedingungen, insbesondere die unterschiedlichen Ti-Prekursoren (TiCl₄ bei ASM, Ti[OCH(CH₃)₂]₄ bei MDM).

4.2 Experimentelle Bestimmung der Bandstruktur

Um zu überprüfen, ob die Zwischenschicht Einfluss auf die Bandanpassung zwischen TiO₂ und Silizium hat, wurde die Bandstruktur im Labor MDM experimentell bestimmt. Dazu wurden mit Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS) die Valenzbandunterschiede $\Delta E_V = E_V^{TiO_2} - E_V^{Si}$ bestimmt. Zusätzlich wurden mit optischer Absorption (OA) und interner Photoemission (IPE) die Bandlücke des TiO₂ $E_G^{TiO_2}$ für die drei Systeme ermittelt. Mit diesen beiden Angaben und der bekannten Bandlücke des Si $E_G^{Si} = 1.1$ eV ließen sich die Leitungsbandunterschiede $\Delta E_C = E_C^{TiO_2} - E_C^{Si}$ folgendermaßen errechnen: $\Delta E_C =$

4.3. KAPAZITÄT VON FRISCHEN UND KONDITIONIERTEN CHIPS BEI 100 HZ

Puffer	E_G [eV]	ΔE_C [eV]	ΔE_V [eV]
Si ₃ N ₄	3.3±0.1	-0.2 ± 0.1	2.44 ± 0.05
TiSi _X O _Y	3.3±0.1	-0.4 ± 0.1	2.56±0.05
Al ₂ O ₃	3.3±0.1	-0.5 ± 0.1	2.73±0.05

Tabelle 4.1: Bandlücken E_G , Leitungs- ΔE_C und Valenzbandunterschiede ΔE_V gegenüber Silizium für TiO₂ auf drei verschiedenen Puffern, bestimmt durch XPS, OA und IPE [Perego 2006]

$E_G^{TiO_2} - E_G^{SiO_2} - \Delta E_V$. Die für alle drei Systeme ermittelten Werte sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst [Perego 2006].

Erwartungsgemäß wird für alle drei Systeme eine identische Bandlücke des TiO₂ gefunden. Diese ist mit 3.3 eV in guter Übereinstimmung mit Literaturwerten zu TiO₂-Filmen in der Anatase-Struktur [Tang *et al.* 1995; Aarik *et al.* 1997; Martin *et al.* 1997].

Das Leitungsband des TiO₂ auf Si₃N₄-Puffer liegt 0.2 eV unterhalb des Leitungsbandes des Siliziums und somit am höchsten. Für Al₂O₃-Puffer liegt es 0.5 eV unterhalb und somit am tiefsten. Dazwischen befindet sich das TiSi_XO_Y-System mit $\Delta E_C = -0.4$.

Im idealen Fall (ohne Ladungstransfers an der Grenzfläche) wäre der Leitungsbandunterschied ΔE_C gegeben durch die Differenz der Elektronenaffinitäten von TiO₂ und Silizium $\chi_{TiO_2} - \chi_S$. Für die Werte von $\chi_{TiO_2} = 3.9$ und $\chi_S = 4.0$ Robertson [2000] würde sich ein Leitungsbandunterschied von $\Delta E_C = +0.1$ eV ergeben. Die gemessenen Werte weichen vom idealen Wert ab. Ursächlich hierfür sind Ladungstransfers zwischen beiden Materialien, insbesondere in Grenzflächenzuständen [Robertson 2000]. Da die Abweichung im TiO₂/Si₃N₄/Si-System am geringsten ist, liegt es nahe, hier die geringste Dichte an Grenzflächenzuständen anzunehmen. Ebenso deutet die starke Abweichung im TiO₂/TiSi_XO_Y/Si- und TiO₂/Al₂O₃/Si-System auf eine sehr hohe Dichte von Grenzflächenzuständen hin. Mit dem Ladungstransfer ist die Entstehung eines Dipols an der Grenzfläche verbunden. Je größer die Abweichung vom idealen Fall, desto größer das Ausmaß des Ladungstransfers und des damit verbundenen Dipols [Robertson 2000].

4.3 Kapazität von frischen und konditionierten Chips bei 100 Hz

Die unterschiedlichen Pufferschichten führen zu unterschiedlichen Charakteristika der CV-Kurven. In diesem Abschnitt soll die Niederfrequenz-Kapazität von frischen und konditionierten Chips beschrieben und simuliert werden.

4.3.1 Messungen

FrISCHE CHIPS

Die spannungsabhängige Niederfrequenz-Kapazität (gemessen bei 100 Hz) von frischen Chips für verschiedene Zwischenschichten zeigt Abb. 4.2A. Die TiO₂-Dicke liegt zwischen 13.6 nm und 15.8 nm.

Das TiO₂/Si₃N₄/Si-System (schwarz) zeigt jenes Verhalten, welches ausführlich in Kapitel 3 diskutiert wurde: Im Anreicherungsgebiet von p⁺-Si, bei negativen Spannungen, sättigt die Kapazität. Die Reduzierung der Kapazität für $V_{ES} > -2$ V ist auf die Bildung einer Verarmungszone in p⁺-Si zurückzuführen. Bei +0.5 V existiert ein steiler Anstieg der Kapazität aufgrund der Elektronenanreicherung an der TiO₂-Oberfläche.

Der Sättigungswert des TiO₂/TiSi_xO_y/Si-Systems (rot) liegt etwas niedriger als bei den beiden anderen Proben. Die Kapazität fällt zwischen -4 V und -1 V ab, allerdings ist der Abfall deutlich geringer als beim TiO₂/Si₃N₄/Si-System. Das Minimum ist nur schwach ausgeprägt. Es liegt bei einer ca. 1 V niedrigeren Spannung als das des TiO₂/Si₃N₄/Si-Systems. Dies deutet nach Gl. 2.19 bei einer Sättigungskapazität von ca. 2 μF/cm² auf eine um ca. $D_{fix} = 1.25 \times 10^{13}$ cm⁻² höhere Dichte positiver Ladungen hin, die bereits vor der Konditionierung vorhanden ist. Zwischen 0 V und 0.5 V existiert eine schwache Kapazitätsschulter. Für Spannungen größer als 0.5 V ergibt sich wiederum der steile Kapazitätsanstieg.

Das TiO₂/Al₂O₃/Si-System (grün) weist die höchste Sättigungskapazität auf. Im Gegensatz zu den beiden anderen Systemen ist die Kapazität für Spannungen zwischen -5 V und -1 V etwas oberhalb des Sättigungswerts. Zwischen -1 V und 0.5 V existiert, ähnlich dem TiO₂/TiSi_xO_y/Si-System, eine Kapazitätsschulter. Der steile Anstieg bei positiven Spannungen ist identisch zu den anderen Systemen.

Für große negative Spannungen sättigt die Kapazität bei allen drei untersuchten Systemen analog zum einfachen MOS-System. Die Sättigungswerte der Proben sind folglich gegeben durch die dielektrische Kapazität der TiO₂/Zwischenschicht-Struktur. Der Sättigungswert von 2.4 μF/cm² des TiO₂/Al₂O₃/Si-Systems befindet sich nahe am Wert des TiO₂/Si₃N₄/Si-System von 2.3 μF/cm². Dies wird erwartet, da sich die Dicken von TiO₂ und Pufferschicht der beiden Proben nur geringfügig unterscheiden und auch die Dielektrizitätskonstanten der Zwischenschichten ähnliche Werte besitzen (7 für Si₃N₄ und 9 für Al₂O₃ [Robertson 2000]). Der Sättigungswert des TiO₂/TiSi_xO_y/Si-Systems liegt mit 1.9 μF/cm² etwas unterhalb. Da die Schichtdicken ähnlich zu den beiden anderen Systemen sind, deutet dies auf eine Zwischenschicht mit einer, im Vergleich zu Si₃N₄ und Al₂O₃, etwas niedrigeren Dielektrizitätskonstante hin.

Konditionierte Chips

Abb. 4.2B zeigt die spannungsabhängige Kapazität aller drei Systeme bei 100 Hz, nachdem diese mit -5 V konditioniert wurden. Wie in Kapitel 3 werden die Transformationen der CV-Kurve durch Injektion von positiven Ladungen vom Silizium in das TiO₂ interpretiert. Die CV-Kurven von konditionierten Chips lassen sich analog zu Abb. 3.16 in vier Bereiche einteilen, die in Abb. 4.2B oben markiert sind. Im Bereich I ist die Kapazität fast konstant und nähert sich für kleiner werdende Spannungen dem Sättigungswert an. Im Bereich II fällt die Kapazität ab und es bildet sich ein Minimum (fehlt im TiO₂/Al₂O₃/Si-System). Im Bereich III („Schulter“) steigt die Kapazität mäßig an und übertrifft die Kapazitätswerte im Bereich I. Im Bereich IV steigt die Kapazität sehr steil an und übersteigt den Messbereich.

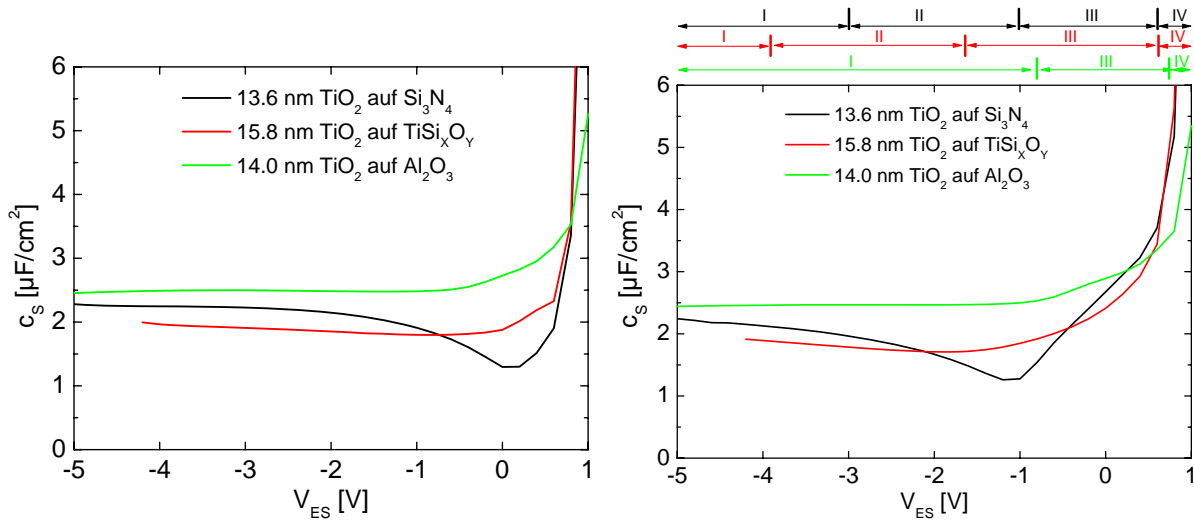


Abbildung 4.2: Gemessene, spezifische Kapazität c_s in Abhängigkeit der Spannung V_{ES} für verschiedene Pufferschichten zwischen TiO_2 und Silizium. (A) frische Chips. (B) konditionierte Chips. Die Kurven lassen sich in Bereiche einteilen, welche jeweils oben markiert sind.

Das Verhalten des $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -Systems (schwarz) ist von den ASM-Proben her bekannt (siehe Kapitel 3): Der steile Anstieg bei positiven Spannungen und der Sättigungswert bei negativen Spannungen bleiben durch die Konditionierung unverändert (Bereiche I und IV). Das Minimum verschiebt sich zu negativen Spannungen (Bereich II). Die Verschiebung um ca. -1 V entspricht nach Gl. 2.19 bei einer Sättigungskapazität von ca. $2 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ einer Injektion der Dichte $D_{fix} = 1.25 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ positiver Ladungen. Zwischen Minimum bei -1 V und Anstieg bei $+0.5$ V bildet sich eine Kapazitätsschulter (Bereich III).

Das $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System (rot) weist qualitativ ein ähnliches Verhalten wie das $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System auf. Das Minimum wird, wie im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System, um ca. 1 V zu negativen Spannungen verschoben. Die Anzahl der injizierten positiven Ladungen ist daher ungefähr gleich, was auf ähnliche Barrieren für die Löcherinjektion schließen lässt. Sowohl Minimum als auch Schulter sind nicht so stark ausgeprägt wie im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System.

Im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System (grün) zeigt sich der Sättigungswert und der steile Anstieg ebenfalls unbeeinflusst von der Konditionierung (Bereiche I und IV). Die Schulter zwischen -0.5 V und $+0.5$ V wird im Vergleich zu frischen Chips nur leicht verbreitert (Bereich III). Dies deutet darauf hin, dass durch die Konditionierung weniger Ladungen injiziert werden als im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System. Ursache hierfür ist vermutlich die höhere Tunnelbarriere für Löcher zwischen Silizium und Al_2O_3 im Vergleich zur Tunnelbarriere zwischen Silizium und Si_3N_4 (siehe Abb. 2.8). Die CV-Kurve weist über einen weiten Spannungsbereich nur geringe Schwankungen in der Kapazität auf, so wie es für biologische Anwendungen vorteilhaft ist.

4.3.2 Simulation der Kapazität bei verschiedenen Bandunterschieden

Die Charakteristik der spannungsabhängigen Kapazität (Abb. 4.2) änderte sich sowohl bei frischen als auch bei konditionierten Chips signifikant mit der Pufferschicht. Außerdem wurde eine Variation des Bandunterschieds mit der Pufferschicht ermittelt (siehe Abschnitt 4.2). Um daher zu beurteilen, ob eine Variation des Bandunterschieds in der Lage ist, die verschiedenen CV-Kurven zu erklären, werden wiederum numerische Simulationen durchgeführt. Die Parameter und das Vorgehen in den numerischen Berechnungen sind in Abschnitt 3.2.3 beschrieben. Im Unterschied zu den Rechnungen aus Kapitel 3 wird nun der Leitungsbandunterschied ΔE_C zwischen TiO₂ und Silizium variiert. Damit verbunden, wird ein Sprung im elektrischen Potential φ an der TiO₂/Si Grenzfläche um $-\Delta E_C/e_0$ vorgegeben, der die Dipolschicht an der Grenzfläche repräsentiert. Ausgehend von den experimentellen Werten, werden ausschließlich negative Werte für ΔE_C betrachtet. Wiederum wird angenommen, dass für eine externe Spannung \tilde{V}_{ES} von Null zwischen Ag/AgCl und Silizium der gesamte Potentialunterschied φ_G in der TiO₂/Si-Heterostruktur ebenfalls Null ist. Nur im Fall $\Delta E_C = 0$ entspricht dies dem Flachbandfall.

CV-Kurven ohne feste Ladungen

Die Ergebnisse der numerischen Berechnung der spannungsabhängigen Kapazität des TiO₂/Si-Systems für den Fall ohne feste Ladungen an der Grenzfläche ($D_{fix} = 0$) sind in Abb. 4.3A gezeigt. Für das Silizium und die Elektronen im TiO₂ gilt der Niederfrequenzfall. Im TiO₂ sind keine Löcher vorhanden. Die schwarze Kurve zeigt den Fall identischer Leitungsbandenergien für TiO₂ und Si, wie ausführlich in Kapitel 3 behandelt.

Wenn das Leitungsband im TiO₂ gegenüber dem des Siliziums nach unten verschoben wird ändern sich der Sättigungswert und der steile Anstieg nicht. Im Gegensatz dazu, zeigen sich die Kurven im Bereich dazwischen ($-1 \text{ V} < \tilde{V}_{ES} < +0.8 \text{ V}$) stark abhängig von ΔE_C . Für ΔE_C zwischen 0 und -0.5 V (schwarz und rot) sind die CV-Kurven qualitativ identisch zu den gemessenen Kurven des TiO₂/Si₃N₄/Si-Systems, wie an dem deutlichen Minimum zu sehen ist (vgl. Abb. 4.2). Der experimentelle Wert von $\Delta E_C = -0.2 \text{ eV}$ des TiO₂/Si₃N₄/Si-Systems stimmt gut überein. Negativere Werte von ΔE_C führen zu einer Schwächung des Minimums. Für den niedrigsten behandelten Wert von $\Delta E_C = -1.2 \text{ eV}$ ist das Minimum komplett verschwunden und es bildet sich zwischen 0.5 V und 1 V eine Schulter aus, deren Kapazität oberhalb der Sättigungskapazität liegt.

Ein Vergleich mit den Messungen an unkonditionierten Chips bei 100 Hz (Abb. 4.2A) zeigt, dass die Messung des TiO₂/Si₃N₄/Si-Systems erklärt werden kann, wenn angenommen wird, dass die Leitungsbandenergie von TiO₂ ungefähr gleich der des Si ist, oder nur leicht darunter liegt. Für einen mittleren Wert von $\Delta E_C = -1.0 \text{ eV}$ ergibt sich in den Simulationen nur ein schwaches Minimum, was mit der gemessenen CV-Kurve des TiO₂/TiSi_xO_y/Si-Systems übereinstimmt. Die gemessene CV-Kurve des TiO₂/Al₂O₃/Si-Systems zeigte kein Minimum. Ferner lag die gemessene Kapazität des TiO₂/Al₂O₃/Si-Systems zwischen -5 V und -0.5 V oberhalb des Sättigungswerts. Während das verschwindende Minimum in den Simulationen durch einen sehr hohen negativen Wert von

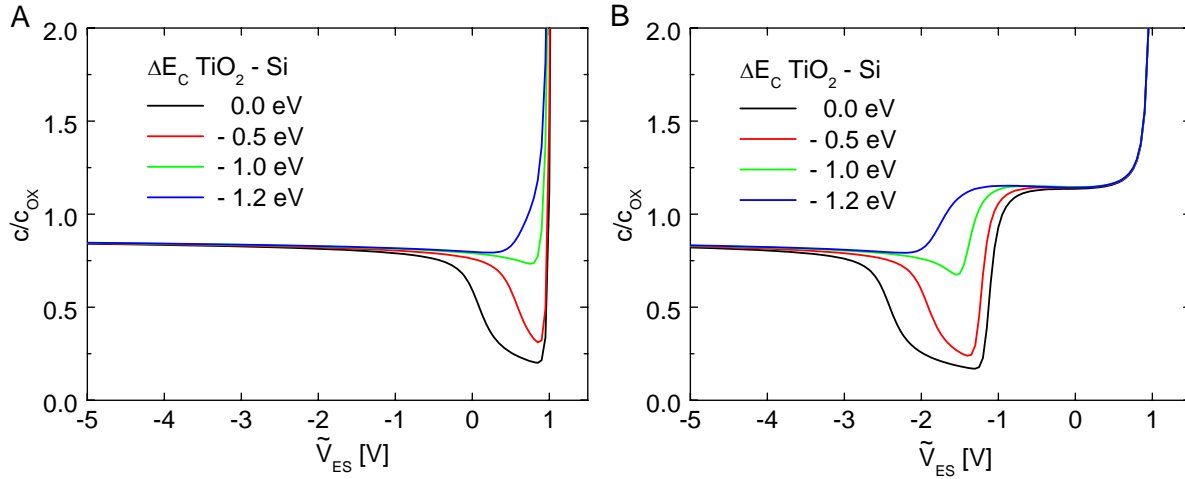


Abbildung 4.3: Errechnete Kapazität des Elektrolyt/ TiO_2 /Silizium-Systems als Funktion der Spannung zwischen Ag/AgCl und Si für verschiedene Leitungsbandunterschiede ΔE_C . Niederfrequenzfall im Silizium und TiO_2 . Keine Löcher im TiO_2 . (A) Keine festen positiven Ladungen an der Grenzfläche. (B) Feste positive Ladungen der Dichte $D_{fix} = 5.75 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ an der Grenzfläche. Die Kapazität ist normiert auf die Oxidkapazität c_{OX} von 10 nm TiO_2 mit $\epsilon_r = 40$.

$\Delta E_C = -1.2 \text{ eV}$ erreicht werden kann, ergibt sich in keiner Simulation eine Kapazität oberhalb des Sättigungswerts für negative Spannungen.

Durch Variation des Bandunterschieds können daher zwar CV-Kurven simuliert werden, welche qualitativ die meisten Eigenschaften der gemessene CV-Kurven wiedergeben. Allerdings sind die dafür benötigten Werte für ΔE_C im Falle des $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -Systems viel negativer als die experimentell ermittelten. Der Wert der am besten das $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System beschreibt, ist mit -1.2 eV sogar größer als die Bandlücke des Siliziums, was sehr unwahrscheinlich erscheint. Dagegen klingt der experimentelle Wert von -0.5 eV realistischer. Die Änderungen der CV-Kurven, die sich im Experiment durch Variation der Pufferschicht ergaben, sind daher nur teilweise durch die verschiedenen Bandunterschiede zu erklären.

Banddiagramme und Ladungsträgerverteilungen ohne feste Ladungen

Um die simulierten CV-Kurven zu interpretieren, sollen relevante Banddiagramme und Ladungsträgerverteilungen anhand Abb. 4.4 erläutert werden. Eine Spannung von $\tilde{V}_{ES} = +0.5 \text{ V}$ wird betrachtet, da dort deutliche Variationen der CV-Kurven mit ΔE_C auftraten.

Für $\Delta E_C = 0$ (erste Spalte) existiert im TiO_2 , insbesondere an der Grenzfläche zum Si, nur eine geringe Dichte an Elektronen und das p^+ -Si ist verarmt an Löchern. Daher liegt die Kapazität unterhalb der Sättigungskapazität (schwarze Kurve in Abb. 4.3A). Wird ΔE_C negativer (zweite bis vierte Spalte), so treten zwei Effekte an der $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -Grenzfläche auf: (i) Das Leitungsband im TiO_2 nähert sich der Fermienergie E_F , was die Dichte der freien Elektronen an der $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -Grenzfläche erhöht. (ii) Das Valenzband des p^+ -Si nähert sich E_F , was einer Erhöhung der Löcherdichte an der Si-Oberfläche

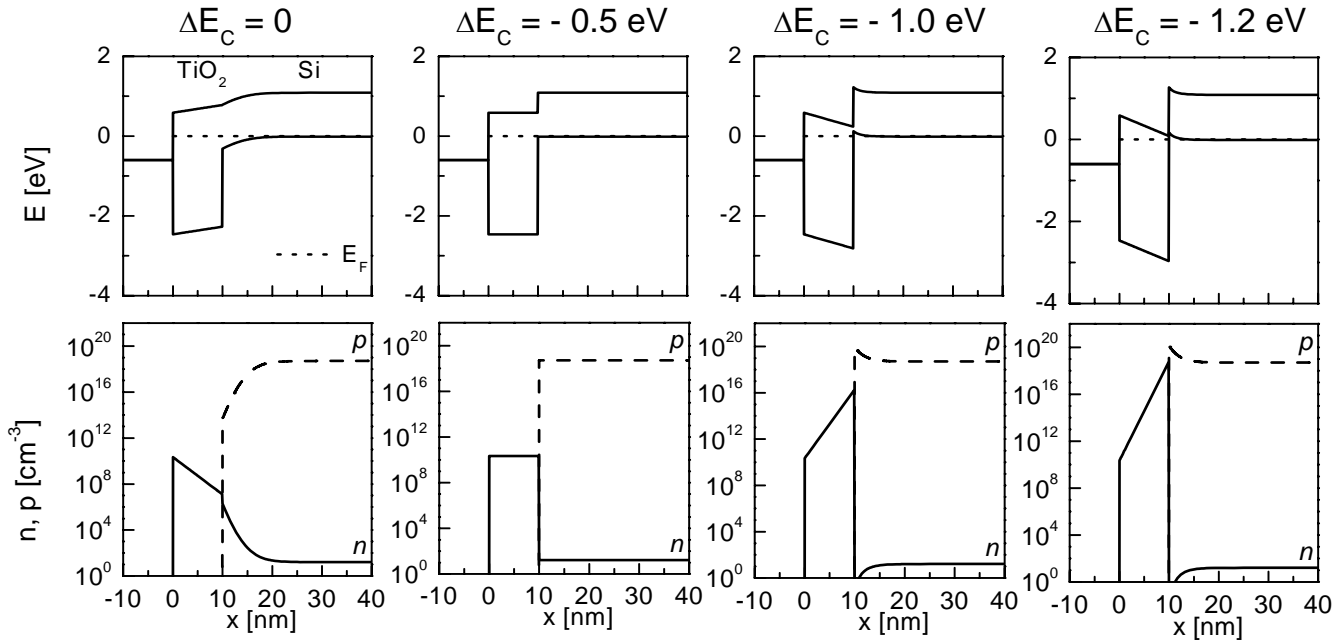


Abbildung 4.4: Simulierte Banddiagramme (oben) und Ladungsträgerverteilungen (unten) des Elektrolyt/ TiO_2 /Si-Systems für vier verschiedene Leitungsbandunterschiede ΔE_C . Die Spannung \tilde{V}_{ES} ist jeweils $+0.5 \text{ V}$. Die TiO_2 -Schicht ist zwischen 0 und 10 nm mit dem Elektrolyten auf der linken und dem Silizium auf der rechten Seite. Die obere Reihe zeigt Leitungs- und Valenzband relativ zur Fermienergie (gepunktete Linie); die untere Reihe die Konzentrationen von Elektronen n (durchgezogen) und Löchern p (gestrichelt).

entspricht, die dadurch von einem Verarmungszustand bei $\Delta E_C < -0.5 \text{ eV}$ in einen Anreicherungszustand für $\Delta E_C > -0.5 \text{ eV}$ übergeht. Bei der gezeigten Spannung von $\tilde{V}_{ES} = 0.5 \text{ V}$ ergibt sich für $\Delta E_C = -0.5 \text{ eV}$ der Flachbandfall in TiO_2/Si (zweite Spalte). Durch Effekt (ii) wird das Minimum in der CV-Kurve reduziert und durch Effekt (i) bildet sich die Schulter aus für sehr negative Werte von ΔE_C . Folgedessen ist das p^+ -Si für keine Spannung mehr stark verarmt an Löchern, wenn ΔE_C ca. -1 V ist (dritte Spalte). In der dazugehörigen CV-Kurve fällt die Kapazität zwischen 0 V und -3 V nur leicht ab (grüne Kurve in Abb. 4.3A). Befindet sich das Leitungsband des TiO_2 sogar unterhalb des Valenzbandes des Siliziums ($\Delta E_C < -1.2 \text{ eV}$, vierte Spalte), so gilt für die p^+ -Si-Oberfläche für alle Spannungen stets der Anreicherungszustand und in der CV-Kurve existiert kein Minimum mehr (blaue Kurve in Abb. 4.3A).

Der Sättigungswert und der steile Anstieg sind unabhängig von ΔE_C . Erster, da das TiO_2 für hohe negative Spannungen immer verarmt ist und das TiO_2 als perfekter Isolator wirkt. Zweiter, da Änderungen an der $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -Grenzfläche keine Auswirkung auf die Elektronendichte an der TiO_2 -Oberfläche haben.

CV-Kurven mit festen positiven Ladungen

Die gemessenen CV-Kurven aller drei Systeme änderten sich permanent durch die bei der Konditionierung stattfindende Injektion positiver Ladungen vom Silizium ins TiO_2 . Daher werden nun CV-Kurven mit positiven Ladungen an der $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -Grenzfläche für verschieden Werte von ΔE_C simuliert, welche in Abb. 4.3B gezeigt sind. Die Parameter sind identisch zu Abb. 4.3A, lediglich eine Dichte positiver Ladungen von $D_{fix} = 5.76 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2}$ wurde im TiO_2 , 0.4 nm entfernt vom Silizium, eingeführt.

Die zusätzliche, positive Ladung hat keine Auswirkung auf die Sättigungskapazität, da für große negative Spannungen die TiO_2 -Schicht stets verarmt ist. Die Ladungen haben ebenso keinen Einfluss auf den steilen Anstieg, da sie keine Auswirkung auf die Elektrodendichte an der TiO_2 -Oberfläche besitzen. Existieren positive Ladungen, so verschiebt sich das Minimum der unteren drei Kurven und der Anstieg der Schulter der oberen Kurve zu negativen Spannungen. Für alle vier Kurven entsteht eine Schulter mit Werten oberhalb des Sättigungswerts aufgrund von Elektronen im TiO_2 an der TiO_2 -Silizium Grenzfläche, wie in Kapitel 3 erläutert. Ein Vergleich der Simulationen mit den gemessenen Kurven aus Abb. 4.2B zeigt, dass auch für den Fall der konditionierten Chips durch Variation von ΔE_C CV-Kurven simuliert werden konnten, die einige charakteristische Eigenschaften der gemessenen Kurven aller Pufferschichten repräsentieren. Allerdings sind ebenso wie im Fall der frischen Chips die Leitungsbandunterschiede, die nötig sind um das $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System zu reproduzieren, unrealistisch niedrig. Außerdem werden die im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System gemessenen Kapazitätswerte, welche zwischen -5 V und -0.5 V oberhalb des Sättigungswerts liegen, in den Simulationen nicht wiedergegeben. Auch bei konditionierten Chips können die gemessenen CV-Kurven der drei Systeme folglich nur teilweise durch verschiedene Bandunterschiede interpretiert werden.

4.4 Frequenzabhängigkeit

Ein Vergleich der Niederfrequenz-CV-Kurven mit den Simulationen zeigte, dass die Eigenschaften der verschiedenen Systeme nicht vollständig durch die verschiedenen Bandunterschiede erklärt werden können. Um mehr Informationen über die Systeme zu erhalten, wurde die Frequenzabhängigkeit der Kapazität untersucht.

4.4.1 Messung

Die spannungsabhängige Kapazität von konditionierten Chips ist für alle drei Systeme stark abhängig von der Frequenz der angelegten Wechselspannung. Die entsprechenden CV-Kurven zeigt Abb. 4.5. Zusätzlich sind die einzelnen Bereiche der CV-Kurven jeweils oberhalb der Diagramme einzeichnet. Bei hohen Frequenzen wird die Kapazität aller Systeme über den gesamten Spannungsbereich hinweg reduziert. Dieser Effekt wird, analog zu Kapitel 3, parasitären Komponenten zugeordnet.

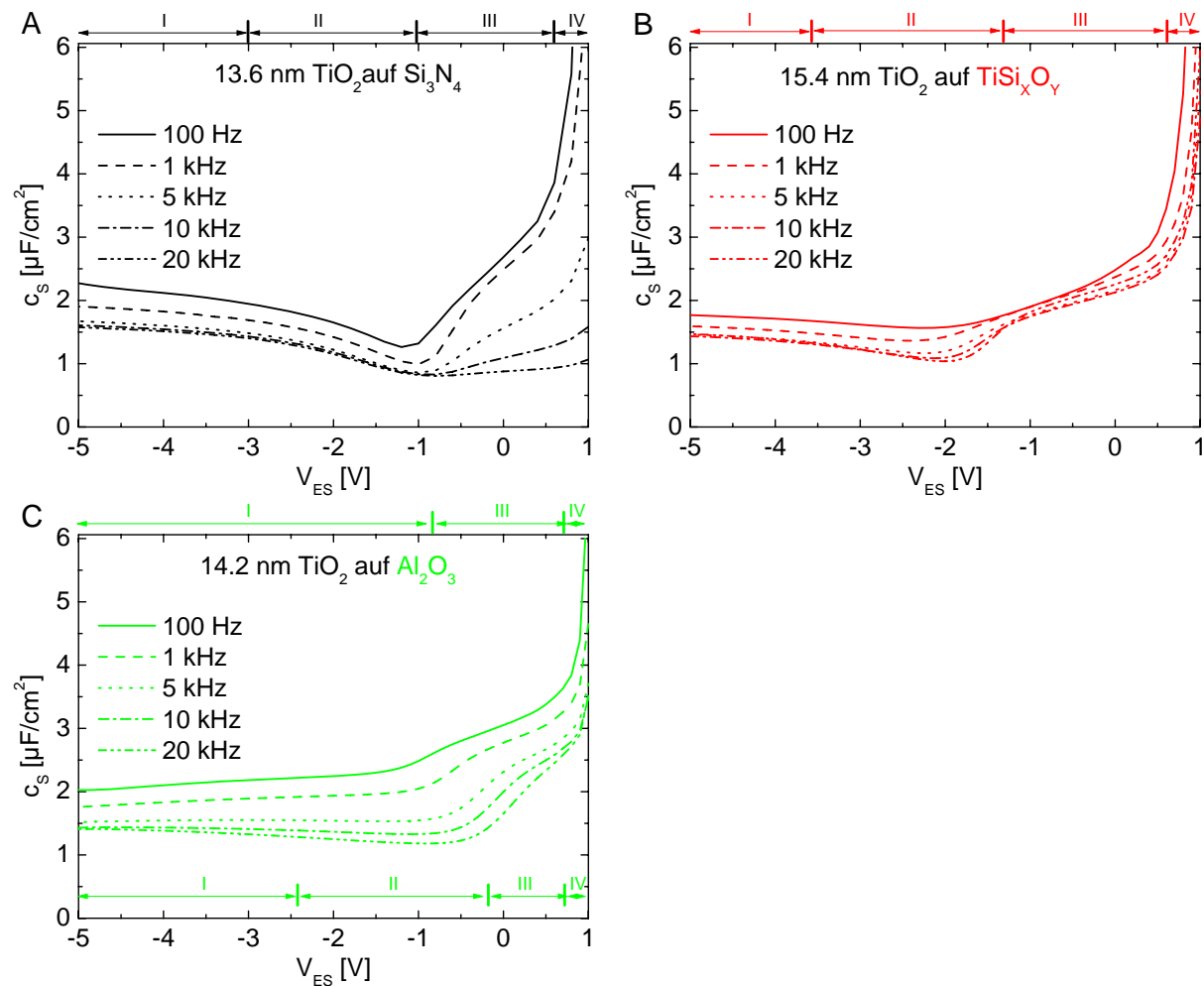


Abbildung 4.5: Gemessene, spezifische Kapazität c_s von TiO₂-Schichten auf p⁺-Si bei verschiedenen Frequenzen für unterschiedliche Pufferschichten. (A): Si₃N₄, (B): TiSi_XO_Y, (C): Al₂O₃. Die Kurven können in Bereiche eingeteilt werden, die jeweils oberhalb den Diagrammen eingezeichnet sind. Im TiO₂/Al₂O₃/Si-System (C) ergibt sich für niedrige Frequenzen (Schema oberhalb des Diagramm) eine andere Bereichs-Einteilung als für hohe Frequenzen (Schema innerhalb des Diagramm, unterhalb der Kurven).

Wiederum zeigt das TiO₂/Si₃N₄/Si-System (A) das von Kapitel 3 bekannte Verhalten. Die Bereiche I und II bleiben unverändert, während für hohe Frequenzen die Schulter und der steile Anstieg (Bereich III und IV) verschwinden. Die Kurve für 20 kHz entspricht dem Hochfrequenzfall in MOS-Systemen.

Eine Erhöhung der Frequenz im TiO₂/TiSi_XO_Y/Si-System (B) bewirkt eine Reduzierung der Kapazität im Bereich II des Minimums, so dass die einzelnen Bereiche der Kurve klarer hervortreten. Bei hohen Frequenzen können das Minimum und die Schulter (Bereich III) klarer unterschieden werden. Im Gegensatz zum TiO₂/Si₃N₄/Si-System bleiben die Schulter und der steile Anstieg (Bereich III und IV) auch bei hohen Frequenzen bestehen

und der Verlauf der 20 kHz-Kurve entspricht qualitativ dem Verlauf der 100 Hz-Kurve im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System.

Im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System (C) ändert sich, im Gegensatz zu den beiden anderen Systemen, bei Erhöhung der Frequenz, das Verhalten der Kapazität im Bereich I zwischen -5 V und -1 V . Während sich bei niedrigen Frequenzen die Kapazität von oben dem Sättigungswert nähert, entsteht bei hohen Frequenzen ein Minimum bei ca. -0.5 V , so dass sich die Kapazität nun von unten dem Sättigungswert nähert. Für hohe Frequenzen weist die CV-Kurve also alle vier Bereiche auf, wie das Bereichsschema im Diagramm, unterhalb den Kurven zeigt. Gleichzeitig verschmälert sich die Schulter (Bereich III) bei hohen Frequenzen. Analog zum $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System verschwindet sie aber, ebenso wie der steile Anstieg (Bereich IV), selbst bei der höchsten Frequenz von 20 kHz nicht.

Die Messungen werden nun in drei Schritten interpretiert.

4.4.2 Verarmung des p^+ -Si im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System

Bei hohen Frequenzen ist im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System ein Minimum in der CV-Kurve auszumachen, was auf das Vorhandensein einer Verarmungszone im Silizium schließen lässt. Für einen hohen negativen Wert für ΔE_C von -1.2 eV , welcher in den Simulationen zur besten Repräsentation der gemessenen CV-Kurve führte, existiert im Silizium nach der Simulation (Abb. 4.3B) jedoch zu keiner Spannung eine Verarmungszone. Aus diesem Grund muss der tatsächliche Wert für ΔE_C größer sein, beispielsweise -0.5 V , wie experimentell bestimmt. Da das Minimum bei niedrigen Frequenzen nicht sichtbar ist, muss hier eine zusätzliche, frequenzabhängige Ladungskomponente die Kapazität erhöhen, welche in der Simulation nicht berücksichtigt wird. Die Natur dieser Komponente wird in Abschnitt 4.4.4 erläutert werden.

4.4.3 Beweglichkeit der Elektronen im TiO_2

Die drei Systeme zeigen in den Bereichen III und IV unterschiedliche Reaktion auf die Frequenz. Wie aus Kapitel 3 bekannt, bestimmen in diesen beiden Bereichen Elektronen im TiO_2 die Kapazität (siehe Abb. 3.16). Im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System wird die Kapazität bei hohen Frequenzen stark erniedrigt. Analog zu Kapitel 3 wird dies durch eine limitierte Beweglichkeit der Elektronen im TiO_2 interpretiert. Im Gegensatz dazu bleibt die Schulter und der steile Anstieg im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System selbst bei der höchsten Frequenz von 20 kHz erhalten. Im Rahmen des Modells bedeutete dies, dass die Elektronen im TiO_2 eine höhere Beweglichkeit besitzen als im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System.

Die Messungen legen den Schluss nahe, dass die verschiedenen Pufferschichten Elektronentransfers in die TiO_2 -Schicht unterschiedlich behindern bzw. fördern. Möglicherweise erzeugen die verschiedenen Pufferschichten eine unterschiedliche Anzahl von Generations- bzw. Rekombinationszentren an der TiO_2 /Pufferschicht-Grenzfläche. Je höher die Anzahl derartiger Zentren, desto höher die Elektronenmobilität.¹ Defekte an der Grenzfläche (z.B.

¹vgl. Theorie zur Inversionsladungsträgerbeweglichkeit in Nicollian & Brews [1982]

festen Ladungen, Grenzflächenzustände) wirken als Generations-/Rekombinationszentrum [Nicollian & Brews 1982], was den Schluss nahe legt, dass im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System die Anzahl der Defekte an der Grenzfläche höher ist als im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System. Dies ist in Übereinstimmung mit der Vermutung aus Abschnitt 4.2, dass eine starke Abweichung des Bandunterschieds vom Idealfall (kein Ladungsaustausch an der Grenzfläche zwischen TiO_2 und Si), wie sie im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System vorliegt, mit einer hohen Dichte von Grenzflächenzuständen einher geht.

4.4.4 Grenzflächenzustände als mögliche Erklärung der CV-Kurven mit Al_2O_3 - und TiSi_xO_y -Puffer

Das $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System konnte unter Benützung eines moderaten Leitungsbandunterschieds zufriedenstellend simuliert werden. Im Gegensatz dazu zeigte ein Vergleich von simulierten und gemessenen CV-Kurven für das $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System, dass der negative Leitungsbandunterschied die gemessenen CV-Kurven nur teilweise erklären konnte. Für eine vollständige Erklärung werden in diesem Abschnitt zusätzliche Ladungskomponenten vorgeschlagen, die zur Kapazität beitragen und in der Simulation nicht enthalten waren. Die Natur dieser Ladungskomponenten soll abgeleitet werden.

Es wird das Modell aus Abschnitt 3.3.3 verwendet, mit dessen Hilfe aus dem Wert der Kapazität bei einer bestimmten Spannung auf den Ort der kapazitätsbestimmenden Ladungsträger geschlossen werden kann. Je größer die Kapazität, desto näher befindet sich der Ladungsschwerpunkt an der Elektrolyt/ TiO_2 -Grenzfläche. Als Referenz dient die Sättigungskapazität, bei der die angereicherten Löcher an der Siliziumoberfläche die Kapazität bestimmen.

$\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$. Im $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System ist die Kapazität im Bereich II deutlich reduziert für hohe Frequenzen. Hier wird deshalb eine zusätzliche, frequenzabhängige Ladungskomponente vorgeschlagen, die bei kleinen Frequenzen die Kapazität erhöht und bei hohen Frequenzen nicht beiträgt. Da die Kapazität in Bereich II stets etwas unterhalb der Sättigungskapazität ist, muss sich der Schwerpunkt dieser Ladungskomponente innerhalb des Siliziums, nahe der Grenzfläche zum $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -Puffer befinden. Die Charakteristika dieser Ladungskomponente deuten somit stark auf Grenzflächenzustände an der Si-Oberfläche als Ursache für die erhöhte Kapazität hin (siehe Abschnitt 2.1.2 und [Nicollian & Brews 1982]).

$\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$. Die Kapazität des $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System hebt sich im Bereich I deutlich von den anderen beiden Systemen ab. Sie nähert sich dem Sättigungswert von oben für kleine Frequenzen und von unten für große Frequenzen. Die zusätzliche Ladungskomponente, die hier zur Kapazität beiträgt, ist frequenzabhängig, da ihr Beitrag bei hohen Frequenzen verschwindet. Der Schwerpunkt dieser Ladungskomponente muss sich

im TiO_2 , nahe der Grenzfläche zum Al_2O_3 oder innerhalb des Al_2O_3 befinden, da die dazugehörige Kapazität etwas oberhalb der Sättigungskapazität liegt.

Auch im Bereich der Schulter (III im oberen Schema) ist die Kapazität des $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -Systems reduziert für hohe Frequenzen. Es bildet sich ein Bereich niedriger Kapazität mit einem Minimum heraus (Bereich II im unteren Schema) und die Schulter wird kleiner (Bereich III im unteren Schema). Im $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System wurden ausschließlich Elektronen im TiO_2 für das Verhalten in diesem Bereich verantwortlich gemacht. Dagegen ist es im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System unwahrscheinlich, dass ausschließlich Elektronen das Kapazitätsverhalten bestimmen. Da in diesem System der steile Anstieg (Bereich IV) nicht frequenzabhängig ist, lässt dies auf eine hohe Elektronenmobilität im TiO_2 schließen (siehe Abschnitt 4.4.3). Die Elektronen sollten der Wechsellspannung auch bei hohen Frequenzen folgen können. Deshalb wird auch im Bereich III eine zusätzliche, frequenzabhängige Ladungskomponente angenommen, die bei niedrigen Frequenzen die Kapazität erhöht. Auch hier ist die Kapazität bei kleinen Frequenzen oberhalb der Sättigungskapazität, weshalb sich der Ladungsschwerpunkt ebenfalls im TiO_2 , nahe der Grenzfläche zum Al_2O_3 oder innerhalb des Al_2O_3 befinden muss.

Aufgrund der ähnlichen Phänomene in den Bereichen I und III liegt es nahe anzunehmen, dass nur eine zusätzliche Ladungskomponente existiert, die in beiden Bereichen die Niederfrequenz-Kapazität erhöht. Um die Effekte zu erklären, wird eine spezielle Art von Grenzflächenzuständen vorgeschlagen. Diese zeichnen sich dadurch aus, dass sie innerhalb des Al_2O_3 oder an der Grenzfläche zwischen TiO_2 und Al_2O_3 lokalisiert sind. Nur so erzeugt der damit assoziierte Ladungsschwerpunkt Kapazitäten oberhalb des Sättigungswerts. Um die Frequenzabhängigkeit der Kapazität zu erklären, wird, analog zu „normalen“ Grenzflächenzuständen die an der Grenzfläche zwischen Al_2O_3 und Si lokalisiert sind, angenommen, dass die Füllung und Leerung der Zustände nur mit einer bestimmten Zeitkonstante möglich ist.

4.5 Zusammenfassung

Die Änderung der Pufferschicht bewirkte eine Verschiebung des Bandunterschieds zwischen TiO_2 und Silizium. Während für Si_3N_4 -Puffer die Leitungsbänder ungefähr gleiche Energien aufwiesen, verschob sich das Leitungsband des TiO_2 gegenüber dem des Siliziums nach unten für TiSi_xO_y - und Al_2O_3 -Puffer. Damit verbunden waren Variationen in der spannungsabhängigen Kapazität der verschiedenen Systeme. So wich das $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System deutlich vom in Kapitel 3 beschriebenen $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System ab. Bei niedrigen Frequenzen lag die Kapazität stets oberhalb des Sättigungswerts und es existierte kein Minimum. Erst bei hohen Frequenzen fiel die Kapazität in weiten Spannungsbereichen unterhalb den Sättigungswert und ein Minimum trat zum Vorschein. Die zusätzliche Kapazität wurde durch Grenzflächenzustände erklärt, die innerhalb der Al_2O_3 -Schicht oder an der $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ -Grenzfläche lokalisiert sind.

Im Gegensatz zum $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -System blieb die Kapazitätsschulter und der steile Anstieg im $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ - und $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System auch bei hohen Frequenzen

erhalten. Dies wurde durch eine erhöhte Mobilität der Elektronen im TiO_2 aufgrund einer erhöhten Anzahl von Defekten an der Grenzfläche zur Pufferschicht interpretiert.

Was die biologische Anwendung der Chip betrifft, so sind TiO_2 -Kondensatoren mit TiSi_xO_y -Zwischenschicht schlechter geeignet als jene mit Si_3N_4 -Puffer. Für ungefähr gleiche TiO_2 -Dicken besitzt das $\text{TiO}_2/\text{TiSi}_x\text{O}_y/\text{Si}$ -System eine niedrigere Kapazität und ebenso einen kleineren Bereich der nutzbaren Spannung. Das $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -System hingegen weist einige für die biologische Anwendung vorteilhafte Eigenschaften auf. So ist bei ähnlichen Schichtdicken sowohl die Kapazität als auch der nutzbare Spannungsbereich größer als bei den beiden anderen Systemen. Ein weiterer großer Vorteil dieser Chips ist der glattere Kapazitätsverlauf in den CV-Kurven. In den Anwendungen werden normalerweise Spannungsrampen an den Chip angelegt. Auf Grund des glatten Kapazitätsverlaufs fließt bei Verwendung des $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -Systems während einer Rampe ein relativ konstanter kapazitiver Strom über den Kondensator, was eine Analyse der Messungen erleichtert. Die komplexe Kurvenform des $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -Systems führt in der Anwendung dagegen zu einem kompliziertem Stromverlauf über den Kondensator.

Zum Zeitpunkt der biologischen Messungen (Kapitel 5/6) war der Einfluss der Pufferschicht auf die Eigenschaften der Kondensatoren noch nicht erkannt. Daher wurden dort $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{Si}$ -Kondensatoren einer Oxiddicke von 15.6 nm verwendet, die bei ASM hergestellt wurden. In zukünftigen Anwendungen der Kondensatoren wird jedoch der Einsatz des $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ -Systems empfohlen.

Kapitel 5

Stimulation von Zellen: Grundlagen

Das gezielte Auslösen eines Aktionspotentials in Nervenzellen wird „Stimulation“ genannt. Die erste Phase eines Aktionspotentials besteht im Öffnen von spannungsgesteuerten Na^+ -Kanälen. Sie öffnen, wenn die Transmembranspannung, vom Ruhepotential (ca. -70 mV gegenüber dem Extrazellulärraum) ausgehend, um ca. 30 mV erhöht wird („Depolarisation“)[Hille 2001].

Eine Depolarisation kann intrazellulär mittels einer Mikropipette („patch-clamp“) erzeugt werden, was zu einer Stimulation der Zelle führt. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass die Zellmembran durch die Pipette verletzt wird und deshalb keine Langzeitmessungen möglich sind [Sakmann & Neher 1995]

Ein Aktionspotential kann auch extrazellulär erzeugt werden. So wurden auf Metallelektroden kultivierte Neurone durch Strompulse, die an die Elektroden angelegt wurden, stimuliert [Jimbo & Kawana 1992; Maher *et al.* 1999; Wagenaar *et al.* 2004]. Ein Problem bei Experimenten mit Metallelektroden ist die Gefahr von elektrochemischen Reaktionen, die die Zellen schädigen können.

Dies wird durch die „kapazitive Stimulation“ vermieden. Hierbei werden die Zellen auf einem, durch ein Dielektrikum vom Zellmedium isolierten Silizium-Chip kultiviert. In dieser Konfiguration fließt während eines Spannungspulses am Chip ausschließlich kapazitiver Strom über den Chip und elektrochemische Reaktionen werden vermieden. Dabei entsteht eine Spannung über der unteren Zellmembran, was zu einer Permeabilitätserhöhung der Membran führt. Bei Neuronen löst dies ein Aktionspotential aus. Eine Stimulation mit SiO_2 -beschichteten Kondensatoren gelang mit Blutegel- [Fromherz 2005], Schnecken-, [Zeck & Fromherz 2001; Kaul *et al.* 2004] und Rattenneuronen [Wallrapp & Vassanelli 2003]. Der exakte Mechanismus der Stimulation ist diesen Experimenten ungeklärt. In Frage kommen (i) das direkte Öffnen von spannungsgesteuerten Na^+ -Kanälen und (ii) Elektroporation der Zellmembran. Bei der Elektroporation wird die Permeabilität der Zellmembran durch Erzeugen von Poren erhöht, was zu einer Depolarisation der Zelle führt. Als Sekundärprozess werden die Na^+ -Kanäle geöffnet und ein Aktionspotential setzt ein. In den Experimenten mit SiO_2 -Kondensatoren war die Kapazität zu gering, um Ionenkanäle direkt zu öffnen [Ulbrich 2004].

Um ein direktes Öffnen von Ionenkanälen zu ermöglichen, wird in dieser Arbeit die Kapazität der Chips durch Einsatz von TiO_2 -Kondensatoren erhöht. Mit diesen Chips soll, anhand eines Modellsystems, die beiden Primärprozesse (i) Öffnen von spannungs-gesteuerten Ionenkanälen und (ii) Elektroporation gezielt erzeugt und unterschieden werden. Zudem soll geklärt werden, unter welchen Bedingungen welcher Mechanismus vorliegt. Um ein möglichst einfaches, beherrschbares Modellsystem zu erhalten, wird der spannungs-sensitive K^+ -Kanal Kv1.3 in HEK293 Zellen exprimiert. Dieser Kanal bietet den Vorteil, dass er sehr gut in der verwendeten Zelllinie exprimiert werden kann und dass er nur sehr langsam inaktiviert.

Die Experimente zum Öffnen des Kv1.3 Kanals bauen auf der Arbeit von Ulbrich [2004] auf. Dort gelang durch den Einsatz von TiO_2 -Kondensatoren zum ersten Mal das extrazelluläre Öffnen des Kv1.3-Kanals.

5.1 Stimulationsmechanismen

Zunächst werden einige Informationen zu den beiden primären Stimulationsmechanismen gegeben.

5.1.1 Der Kv1.3-Kanal in HEK293-Zellen

Die Experimente werden an HEK293-Zellen durchgeführt, in die der spannungsabhängige Kaliumkanal Kv1.3 [Hille 2001; Stuhmer *et al.* 1989, damals RCK3 genannt] stabil transfiziert wurde. Die Zellen besitzen nur sehr wenige endogene Ionenkanäle, weshalb sie gerne für Untersuchungen von rekombinanten Ionenkanälen verwendet werden.

Intrazelluläre Stimulation

Eine typische Messung, um den Kanal zu charakterisieren, ist in Abb. 5.1A gezeigt. Im Ruhezustand wird ein Intrazellulärpotential von $V_M^0 = -60$ mV gegenüber dem Extrazellulärraum, welcher auf Masse liegt, angelegt. Alle Kanäle sind geschlossen. Das Intrazellulärpotential V_M der Zelle wird mit einer Pipette sprunghaft für 100 ms vom Ruhewert V_M^0 auf V_M^{dep} erhöht. Aufgrund dieser „Depolarisation“ der Zelle öffnen sich die Kaliumkanäle. Der dadurch erzeugte Strom durch die Zellmembran wird ebenfalls mit der Pipette gemessen („voltage-clamp“, siehe Abschnitt 5.3.4). Die Stromrichtung ist so definiert, dass ein Kaliumausstrom einem positiven Strom entspricht. Die Daten wurden um kapazitive Transienten, welche durch Aufladung der Membran entstehen und Leckströme korrigiert, so dass ausschließlich der Kaliumstrom durch die Kanäle I_K gezeigt ist. Dazu wird vor jedem intrazellulärem Spannungspuls ein sogenanntes p/4 Protokoll ausgeführt [Sakmann & Neher 1995, Kap. 4].

Eine Depolarisation der Zelle hat einen K^+ -Ausstrom zur Folge, welcher mit einer bestimmten Zeitkonstanten auf seinen stationären Wert ansteigt. Die stärkere Depolarisation

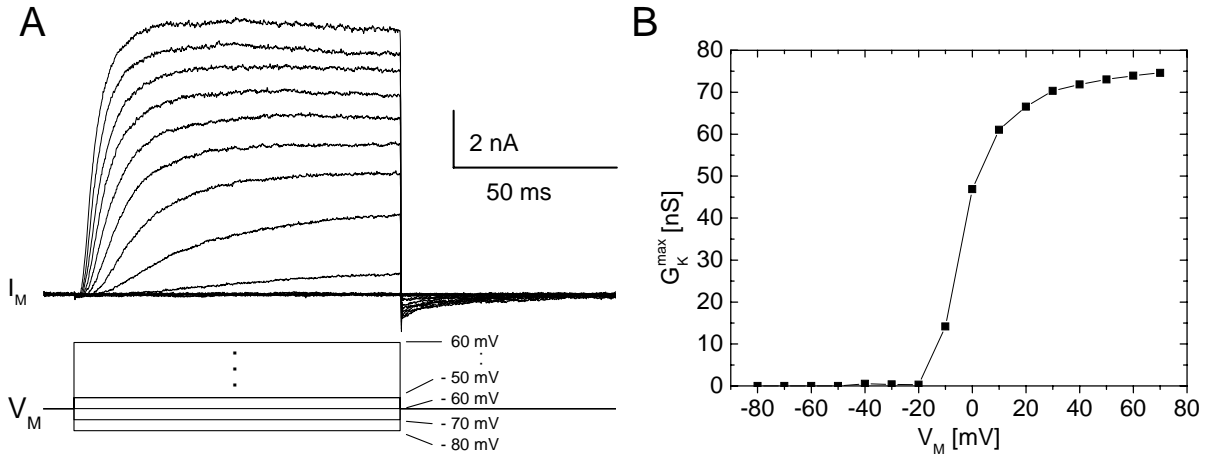


Abbildung 5.1: Öffnen von Kv1.3 Kaliumkanälen durch intrazelluläre Depolarisation. (A) Verlauf des Kaliumstroms I_K (oben) hervorgerufen durch stufenförmige Erhöhung der Intrazellulärspannung V_M (unten). (B) maximale, während der Depolarisation erreichte K^+ -Leitfähigkeit.

hat zwei Auswirkungen. Zum einen erhöht sich die *die Anzahl* der geöffneten Kanäle; der stationäre Strom I_K^∞ wird gesteigert. Zum anderen öffnen die Kanäle *schneller*; es verringert sich die Öffnungszeitkonstante τ_n . Je größer also die Depolarisationsspannung V_M^{dep} , desto kürzer muss diese angelegt werden, um eine bestimmte Anzahl von Kanälen zu öffnen. Da die Depolarisationsdauer von 100 ms viel größer ist als Öffnungszeitkonstante der Kanäle, wird der stationäre Strom für jeden Wert von V_M^{dep} erreicht.

Der Kaliumstrom I_K ist gegeben als Produkt der Leitfähigkeit der Kanäle G_K mit der Triebkraft. Die Triebkraft ist die Spannung, die über der Zellmembran abfällt V_M abzüglich des Umkehrpotentials für K^+ -Ionen V_0^K :

$$I_K = G_K(V_M - V_0^K) \quad (5.1)$$

Das Umkehrpotential von K^+ ergibt sich nach der Nernst-Gleichung aus den K^+ -Konzentrationen im Zellinneren c_K^i und Zelläußeren c_K^a [Hille 2001]:

$$V_0^K = \frac{k_B T}{e_0} \ln \left(\frac{c_K^a}{c_K^i} \right) \quad (5.2)$$

Für die in allen Experimenten verwendeten K^+ -Konzentrationen von $c_K^i = 140$ mM und $c_K^a = 5.4$ mM ist V_0^K nach Gl. 5.2 ungefähr -84 mV. In den Messungen ergab sich im Gegensatz dazu meist ein Umkehrpotential von ca. -60 mV. Ein in den Experimenten im Vergleich zur theoretischen Erwartung erhöhter Wert von V_0^K ist auch in vorhergehenden Arbeiten zu sehen [Ulbrich 2004; Brittinger 2004]. Bei bekanntem V_0^K kann nach Gl. 5.1 aus dem Strom I_K die Leitfähigkeit G_K errechnet werden. Die maximale Leitfähigkeit G_K^{max} , die während der intrazellulären Spannungspulse erreicht wird, ist in Abb. 5.1B gezeigt. Hierbei wird $V_0^K = -60$ mV verwendet. Für Intrazellulärpotentiale kleiner als ca.

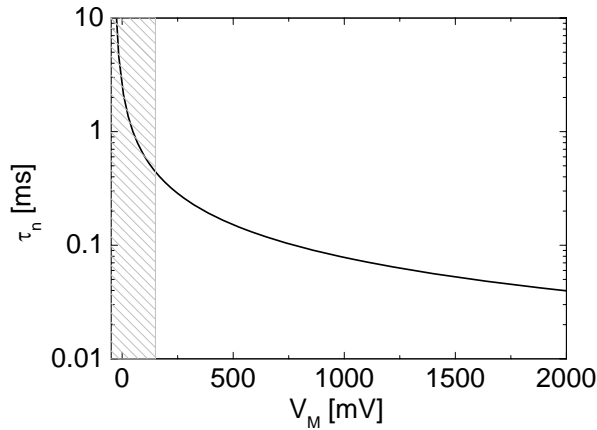


Abbildung 5.2: Öffnungszeitkonstante der Kv1.3 Kanäle in Abhängigkeit der Intrazellulärspannung, ausgewertet nach Ulbrich [2004]. Die Parameter für die Berechnung der Kurve wurden im schraffierten Bereich ermittelt.

-20 mV existiert keine Kaliumleitfähigkeit. Bei ca. -2 mV sind die Hälfte aller Kanäle geöffnet. Für hohe Werte größer als ca. 40 mV sind alle Kanäle geöffnet. Eine noch stärkere Depolarisation erhöht die Leitfähigkeit nicht mehr signifikant.

Extrazelluläre Stimulation

Bei der kapazitiven extrazellulären Stimulation werden Kanäle durch eine Änderung der Spannung am Kondensator geöffnet. Aus Abb. 5.1 geht hervor, dass eine Kanalöffnung erwartet wird, wenn es gelingt, die Membran, die mit dem Kondensator in Kontakt steht, um mehr als ca. 50 mV zu depolarisieren. Um den stationären K^+ -Strom zu erreichen, muss die Depolarisation länger als die Öffnungszeitkonstante τ_n aufrecht erhalten werden.

Die Dynamik der Kanalöffnung und -schließung wird beschrieben durch Ratengleichungen, in denen die Ratenkonstanten für Öffnen und Schließen spannungsabhängig sind [Hodgkin & Huxley 1952]. Auch diese Konstanten können aus einer Messung, wie in Abb. 5.1A gezeigt, bestimmt werden. Für die Stimulation ist die Spannungsabhängigkeit der Öffnungszeitkonstante $\tau_n(V_M)$ von besonderem Interesse. Ein analytischer Ausdruck für τ_n als Funktion der Intrazellulärspannung V_M wurde für den Kv1.3 Kanal bereits ermittelt [Ulbrich 2004]. Er basiert auf Voltage Clamp-Experimenten, bei denen die Intrazellulärspannung höchstens $+120$ mV war. In den folgenden Experimenten wird die untere Zellmembran extrazellulär bis zu einigen Volt depolarisiert. Deshalb zeigt Abb. 5.2 eine Auswertung der Öffnungszeitkonstanten $\tau_n(V_M)$ nach Ulbrich [2004] bis zu 2 V. Die schraffierte Fläche markiert den Spannungsbereich, aus dem die Beziehung für $\tau_n(V_M)$ in Ulbrich [2004] gewonnen wurde. Unter der Annahme, dass die Extrapolation zu Spannungen $V_M > 120$ mV zulässig ist, verdeutlicht Abb. 5.2, dass für Depolarisationen, die größer als einige hundert Millivolt sind, Öffnungszeitkonstanten von unter $200 \mu s$ erwartet werden.

5.1.2 Elektroporation

Das Erzeugen einer stark erhöhten Permeabilität eine elektrische Spannung über die Zellmembran wird „Elektroporation“ genannt. Die Ursache für die hohe Permeabilität sind wassergefüllte Poren in der Membran. Dieser Effekt wird ausgenutzt, um gezielt Proteine, RNA oder DNA in Zellen einzuschleusen. Die exakten molekularen Mechanismen, die zur Entstehung von Poren in Zellmembranen führen, sind nicht endgültig geklärt. Es existiert jedoch eine Vielzahl von experimentellen Erkenntnissen über das Phänomen an Lipidschichten, Zellsuspensionen, oder Einzelzellen [Chang *et al.* 1992; Zimmermann & Neil 1996]. Ferner existiert eine theoretische Beschreibung [Weaver & Chizmadzhev 1996; Joshi & Schoenbach 2000] und seit einigen Jahren sind auch Molekulardynamik-Simulationen verfügbar [Tielemann 2004; Tarek 2005].

Die Kinetik der Elektroporation kann nach Teissie *et al.* [2005] in fünf Schritte unterteilt werden.

1. *Induktionsphase.* Überschreitet die Spannung über der Zellmembran einen bestimmten Wert, so erhöht sich die Permeabilität der Membran. Die dafür benötigte kritische Spannung ist abhängig vom Zelltyp. Meist werden Werte von 0.5 V bis 1.0 V angegeben, wobei die kritische Spannung mit zunehmender Pulsdauer abnimmt [Chang *et al.* 1992; Joshi & Schoenbach 2000]. Die Richtung des Spannungsabfalls über der Zellmembran spielt dabei keine Rolle. Das Ruhepotential der Zelle trägt zur gesamten Transmembranspannung bei und verursacht daher eine Asymmetrie der Wirkung einer externen Spannung hinsichtlich der Richtung.
2. *Vergrößerungsphase.* Die Erzeugung der leitfähigen Poren geschieht sehr schnell, innerhalb einiger Nanosekunden bis Mikrosekunden. Liegt die überkritische Spannung länger an, so erhöht sich die Leitfähigkeit noch weiter. Dies wird interpretiert durch eine Zunahme der Anzahl der Poren oder durch eine Vergrößerung der Poren [Chang *et al.* 1992; Joshi & Schoenbach 2000].
3. *Stabilisationsphase.* Nach Ende des überkritischen Spannungspulses nimmt die Leitfähigkeit innerhalb einiger Millisekunden stark ab.
4. *Verschlussphase.* Nach der schnellen Abnahme der Leitfähigkeit bleibt eine restliche Leitfähigkeit bestehen. Dieser Zustand ist relativ stabil und kann für einige Sekunden bis zu Minuten erhalten bleiben.
5. *„Gedächtniseffekt“.* In der Verschlussphase kann die Leitfähigkeit wieder vollständig relaxieren (transiente Elektroporation). Die Membran kann aber auch permanent leitfähig bleiben [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996].

Die durch Elektroporation hervorgerufene Permeabilitätserhöhung für Ionen führt zu einer Depolarisation der Zelle. Als Sekundärprozess können spannungsgesteuerte Ionenkanäle öffnen.

5.2 Theorie der kapazitiven extrazellulären Stimulation

In diesem Abschnitt wird ein elektrisches Modell aufgestellt, welches eine mathematische Formulierung der kapazitiven Stimulation erlaubt. Zunächst soll eine vereinfachte Beschreibung geliefert werden, um das Prinzip der Stimulation zu erläutern. Dabei werden einige Komponenten vernachlässigt, deren Auswirkungen im Anschluss erläutert werden.

5.2.1 Modellsystem

Eine schematische Darstellung des Modellsystems der Zelle auf dem Kondensator zeigt Abb. 5.3A. Unten befindet sich der Kondensator. Er wird charakterisiert durch seine spezifische Kapazität c_S . An ihn wird die Stimulationsspannung V_S angelegt. Oberhalb des Kondensators befindet sich die Zelle. Sie ist von einem Elektrolyten umgeben, dessen Potential V_E auf Masse liegt.¹ Die Zellmembran wird unterteilt in zwei Kompartimente. Jener Teil, welcher der Kondensatoroberfläche zugewandt ist, wird „adhärierte Membran“ genannt. Sie wird beschrieben durch ihre Fläche A_J , ihre spezifische Kapazität c_M und ihre Leitfähigkeiten. Zunächst werden ausschließlich die flächenspezifischen Leitfähigkeiten der Kaliumkanäle g_K und der Poren g_P betrachtet. Die zu den Leitfähigkeiten in Serie geschalteten Batterien symbolisieren die dazugehörigen Umkehrpotentiale. Die restliche Membran (=„freie Membran“) wird als perfekte Barriere angenommen, die weder eine Kapazität noch eine Leitfähigkeit besitzt. Das Potential im Zellinneren V_M wird von einer Patch-Pipette eingestellt („voltage-clamp“) und der dafür nötige Strom I_{Pip} gemessen. Zwischen der Zelle und dem Kondensator befindet sich ein mit Elektrolyt gefüllter Spalt der flächenspezifischen Leitfähigkeit g_J , welcher auf dem Potential V_J liegt.

5.2.2 Prinzip der Stimulation

Den schematischen Ablauf eines Stimulationsexperiments zeigt Abb. 5.3B. Im Ruhezustand sind die Kanäle geschlossen und keine Poren vorhanden ($g_K = g_P = 0$). Ferner ist die Spannung im Spalt Null ($V_J = 0$) und am Chip konstant ($dV_S/dt = 0$). Bei der Stimulation wird eine Spannungsrampe der Amplitude ΔV_S und der Dauer Δt_S an den Chip angelegt. Daraufhin stellt sich im Spalt eine konstante Spannung ein, die Kanäle öffnet und/oder Poren erzeugt. Tritt einer der beiden Effekte (oder auch beide) ein, führt dies – da V_M konstant gehalten wird – zu einem Strom I_{Pip} über die adhärierte Membran, welcher über die Pipette abfließt und gemessen wird. Der gesamte Transmembranstrom ist also die Summe aus den Strömen durch Kanäle I_K und Poren I_P . Er ist mit $G_K = g_K A_J$ und $G_P = g_P A_J$ gegeben durch:

$$I_{Pip} = I_K + I_P = G_K(V_M - V_J - V_0^K) + G_P(V_M - V_J - V_0^P) \quad (5.3)$$

¹Diese Definition der Größen lehnt sich an die Konvention in der Elektrophysiologie an, bei der das Bad stets auf Masse liegt. Dies hat zur Folge, dass die Stimulationsspannung V_S das Negative der in den vorherigen Kapiteln verwendeten Spannung V_{ES} ist ($V_S = -V_{ES}$)

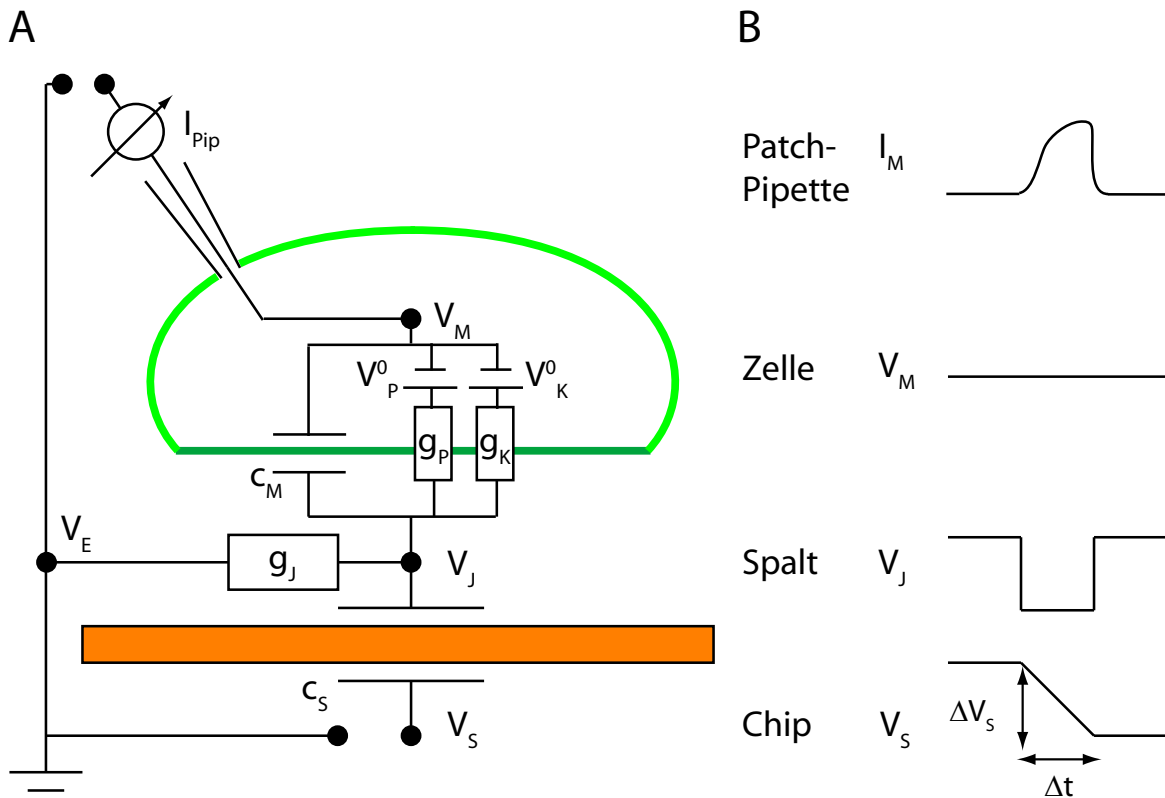


Abbildung 5.3: Elektrisches Ersatzschaltbild des Modellsystems (A) und schematischer Verlauf einiger Variablen während eines Stimulationsexperiments (B).

Durch eine Analyse des Stroms I_{Pip} kann also auf die erzeugten Leitfähigkeiten G_K und G_P geschlossen werden. Ziel ist es, durch geeignete Spannungsrampen am Chip beide Leitfähigkeiten gezielt zu erzeugen.

5.2.3 Kern-Mantel-Leiter-Modell und Ein-Kompartiment-Modell

Im Kern-Mantel-Leiter-Modell wird die Zellmembran und die Chipoberfläche in infinitesimal kleine Flächen zerlegt. Jedem Abschnitt wird eine Chipkapazität, eine Membrankapazität und ein Spaltwiderstand zugeordnet. Dieser Kern-Mantel-Leiter wird mathematisch durch die zweidimensionale Kabelgleichung beschrieben. Für ein konstantes Intrazellulärpotential V_M („voltage-clamp“) und vernachlässigbare Membranleitfähigkeiten $g_K = g_P = 0$ gilt für die Strombilanz im Spalt [Weis & Fromherz 1997; Schoen & Fromherz 2006]:

$$(c_M + c_S) \frac{\partial V_J}{\partial t} - \frac{1}{r_J} \nabla^2 V_J = c_S \frac{dV_S}{dt} \quad (5.4)$$

Dabei bezeichnet r_J den homogenen Flächenwiderstand im Spalt. Dieser ergibt sich aus der Division des Volumen-Widerstands des Badelektrolyten ρ (Einheit Ωm) durch den Spaltdurchmesser d_J , da die Volumen-Widerstände der Elektrolyten in Spalt und Bad identisch ρ sind [Gleixner & Fromherz 2006]:

$$r_J = \rho/d_J \quad (5.5)$$

Im Ein-Kompartiment-Modell wird die Spannung im Spalt V_J und die Spaltleitfähigkeit als ortsunabhängig angesehen. In diesem Fall gilt für die Strombilanz im Spalt mit der flächenspezifischen Leitfähigkeit g_J [Weis & Fromherz 1997; Schoen & Fromherz 2006]:

$$(c_M + c_S) \frac{dV_J}{dt} + g_J V_J = c_s \frac{dV_S}{dt} \quad (5.6)$$

Um beide Beschreibungen in Verbindung zu bringen, muss ein Zusammenhang zwischen $-r_J \nabla^2 V_J$ und $g_J V_J$ gefunden werden. Es gilt $g_J = \eta_J / (r_J A_J)$ mit der Kontaktfläche A_J und dem dimensionslosen Parameter η_J . Für stationäre Spannungsrampen am Chip und runde Kontaktflächen stimmt die Spannung V_J aus dem Ein-Kompartiment-Modell mit der *maximalen* Spannung V_J (im Zentrum des Adhäsionsfläche) des Kern-Mantel-Leiter-Modells überein, wenn gilt $\eta = 4\pi$. Zusammen mit Gl. 5.5 ergibt sich schließlich für die flächenspezifische Spaltleitfähigkeit im Ein-Kompartiment-Modell [Schoen & Fromherz 2006]:

$$g_J = \frac{4\pi d_J}{\rho A_J} \quad (5.7)$$

5.2.4 Spannungsrampen am Chip

Entscheidend dafür, welcher Stimulationsmechanismus auftritt, ist die während der Rampe erzeugte Spannung über der adhärierten Membran $V_M - V_J$, welche wiederum entscheidend von der Spaltspannung V_J abhängt. Für Spannungsrampen der Amplitude ΔV_S und der Dauer Δt_S am Chip ($dV_S/dt = \Delta V_S/\Delta t_S$), die bei $t = 0$ beginnen, ergibt sich für den Spannungsverlauf im Spalt während der Rampe im Rahmen des Ein-Kompartiment-Modells aus Gl. 5.6:

$$V_J(t) = V_J^\infty \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_J}\right) \right] \quad \text{für } 0 < t \leq \Delta t_S \quad (5.8)$$

mit

$$V_J^\infty = \frac{c_S \Delta V_S}{g_J \Delta t_S} \quad \text{und} \quad \tau_J = \frac{c_S + c_M}{g_J} \quad (5.9)$$

5.2. THEORIE DER KAPAZITIVEN EXTRAZELLULÄREN STIMULATION

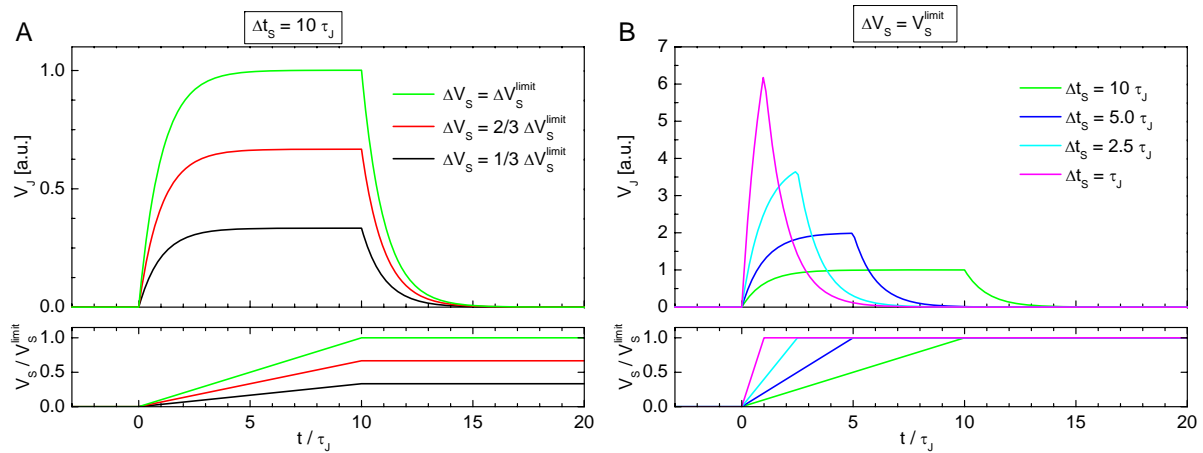


Abbildung 5.4: Berechnete Verläufe der Spaltspannungen $V_J(t)$ (oben) für verschiedene Spannungsrampen am Chip (unten). (A) Variation der Rampenhöhe. (B) Variation der Rampendauer.

Nach Beginn der Rampe nähert sich die Spaltspannung also mit der Zeitkonstanten τ_J dem stationären Wert V_J^∞ an. Steigende Rampen ($\Delta V_S > 0$) erzeugen eine Hyperpolarisation der Membran und fallende ($\Delta V_S < 0$) eine Depolarisation. Nur für lange Rampendauern ($\Delta t \gg \tau_J$) wird V_J^∞ während der Rampe annähernd erreicht. Ist dies nicht gegeben, so ist die maximale Spannung, die während der Rampe erreicht wird V_J^{max} kleiner als V_J^∞ . Da V_J^{max} am Ende der Rampe, zum Zeitpunkt $t = \Delta t_S$, erreicht wird, gilt:

$$V_J^{max} = V_J^\infty \left[1 - \exp\left(-\frac{\Delta t_S}{\tau_J}\right) \right] \quad (5.10)$$

Nach Ende der Rampe bei $t = \Delta t_S$ fällt die Spaltspannung mit der Zeitkonstanten τ_J wieder auf Null ab:

$$V_J(t) = V_J^{max} \exp\left(-\frac{t - \Delta t_S}{\tau_J}\right) \quad \text{für } t > \Delta t_S \quad (5.11)$$

Die Gleichungen 5.8 bis 5.11 erlauben eine Berechnung des Spannungsverlaufs im Spalt, wie in Abb. 5.4 oben gezeigt ist. Unten sind die dazugehörigen Spannungen am Kondensator dargestellt.

In (A) wird $\Delta t_S = 10\tau_J$ konstant gehalten und ΔV_S in drei Schritten auf einen maximalen Wert ΔV_S^{limit} erhöht. Im Experiment ist ΔV_S^{limit} gegeben durch den Bereich, in dem der Leckstrom der Kondensatoren vernachlässigbar ist. Da $\Delta t_S \gg \tau_J$ ist, stellen sich mit der Zeitkonstanten τ_J die stationären Werte V_J^∞ ein, die direkt proportional zu ΔV_S sind. Nach Ende der Rampe geht V_J mit der Zeitkonstante τ_J wieder auf Null zurück.

In (B) ist die Rampenamplitude stets ΔV_S^{limit} und Δt_S wird erniedrigt. Die Skala der Y-Achse und die grüne Kurve sind aus (A) übernommen. Je kürzer die Rampendauer,

desto höher die während der Rampe erzeugte Spannung V_J^{max} . Nur für die beiden größten gezeigten Werte von Δt_S (grün, dunkelblau) geht V_J in Sättigung und es gilt $V_J^{max} \simeq V_J^\infty$. Für kleinere Werte von Δt_S (hellblau, violett) ist die Rampe noch während der Anstiegsphase von V_J zu Ende und V_J beginnt wieder zu fallen bevor V_J^∞ erreicht ist.

Der Verlauf und die Höhe der erzeugten Spaltspannung bestimmen nach Gl. 5.3 in zweierlei Hinsicht den Strom über die Membran. Zum einen beeinflusst V_J die Leitfähigkeiten von Kanälen und Poren (g_K, g_P) und zum anderen ist V_J während der Rampe eine maßgebliche Komponente der Triebkraft des Transmembranstroms. Neben der Steilheit der Stimulationsspannung $\Delta V_S / \Delta t_S$ bestimmen zwei weitere Parameter die Spaltspannung, nämlich die Kapazität des Kondensators c_S und die Leitfähigkeit im Spalt g_J . Da ΔV_S im Experiment limitiert ist, muss c_S möglichst groß und g_J möglichst klein sein, um eine möglichst hohe Spaltspannung möglichst lange aufrecht erhalten zu können, wie Gl. 5.9 zeigt. Im Experiment wird eine hohe Chipkapazität durch den Einsatz von Hoch-K-Materialien erreicht. Die Leitfähigkeit wird verringert, indem eine unphysiologische Messlösung verwendet wird, in der Na^+ durch Glukose ersetzt ist. Dies erhöht den spezifischen Widerstand ρ um den Faktor Zehn. Nach Gl. 5.7 erniedrigt sich somit g_J um denselben Faktor.

5.2.5 Erwartete Spaltspannung

Abb. 5.5 zeigt in einem Phasendiagramm Spaltspannungen, die nach Gl. 5.10 mit Gl. 5.9 im Experiment erwartet werden. Die für die Berechnung verwendeten Zahlenwerte sind in Tab. 5.1 zusammengefasst. Gezeigt sind ausschließlich steigende Rampen ($\Delta V_S > 0$). Für fallende Rampen ($\Delta V_S < 0$), wie sie für eine Depolarisation der Membran benötigt werden, würden sich identische, jedoch negative Werte ergeben. Auf der X-Achse sind die Rampendauern Δt_S und auf der Y-Achse die Rampenamplituden ΔV_S aufgetragen. Die maximale Rampenamplitude ist, vorgegeben durch die Leckströme der verwendeten Chips, auf $V_S^{limit} = 6 \text{ V}$ begrenzt. Die für ein Wertepaar $(\Delta V_S, \Delta t_S)$ errechnete maximale Spaltspannung V_J^{max} ist farbcodiert.

Im unteren Teil der Abbildung sind Rampendauern bis zu 5 ms gezeigt. Es wird angenommen, dass die kritische Transmembranspannung V_C , die benötigt wird, um Elektroporation auszulösen 0.5 V beträgt. Werte, für die $V_J^{max} < V_C$ ist, sind eingefärbt. In den grauen Fläche ist V_J^{max} kleiner als 50 mV. Hier wird weder ein Öffnen von Kanälen, noch Elektroporation erwartet. Die farbige Fläche repräsentiert den Bereich, in dem ausschließlich K^+ -Kanäle geöffnet werden sollten, falls depolarisierende Pulse angelegt werden. Für hyperpolarisierende Pulse wird keine Leitfähigkeitserhöhung der Membran erwartet. Die Zeitkonstante des Spalts ist für die gewählten Parameter $\tau_J = 82 \mu\text{s}$. Für Pulsdauern, die größer als ca. $3\tau_J = 246 \mu\text{s}$ sind, muss nach Gl. 5.9 ΔV_S proportional zu Δt_S erhöht werden, um V_J^{max} konstant zu halten. Dies wird in der Abbildung dadurch verdeutlicht, dass die Linien eines konstanten Werts für V_J^{max} für $\Delta t_S \geq 246 \mu\text{s}$ gerade sind. In der weißen Region links oben (kurze Rampendauern, große Amplituden) ist V_J^{max} größer als $V_C = 0.5 \text{ V}$.

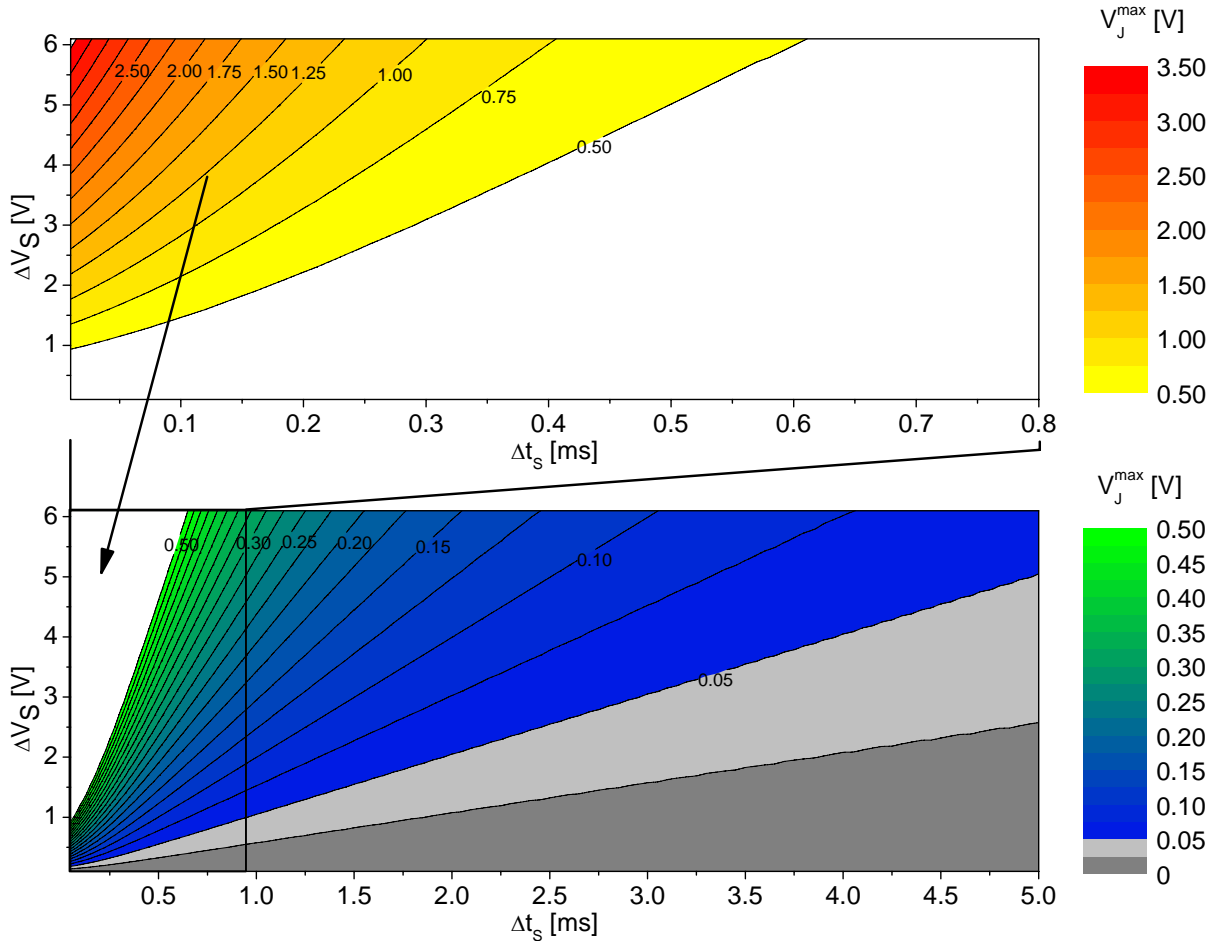


Abbildung 5.5: Maximale, während einer Rampe erreichte Spaltspannung V_J^{max} (farbcodiert), in Abhängigkeit von Rampendauer Δt_S (X-Achse) und Rampenamplitude ΔV_S (Y-Achse). Zur Berechnung wurde Gl. 5.10 mit Gl. 5.9 herangezogen (Zahlenwerte aus Tab. 5.1). (A): $V_J^{max} < 0.5$ V eingefärbt, Rampendauern bis 5 ms. (B): $V_J^{max} > 0.5$ V eingefärbt, Rampendauern bis 0.8 ms.

Das Intervall der Rampendauern von 0 bis 0.8 ms ist im oberen Teil der Abbildung vergrößert dargestellt. Der Bereich von $V_J^{max} > V_C = 0.5$ V, der im unteren Teil weiß gekennzeichnet war, ist jetzt farblich gekennzeichnet. Er repräsentiert Spannungsrampen, für die Elektroporation sowohl bei depolarisierenden als auch bei hyperpolarisierenden Pulsen erwartet wird. Die Pulsdauern in diesem Bereich sollten ausreichen, um Elektroporation auszulösen, da diese innerhalb von μs eintritt [Chang *et al.* 1992; Joshi & Schoenbach 2000]. Die Reaktion der Kanäle auf die in diesem Bereich unphysiologisch hohe und kurze Transmembranspannung wird zu sehen sein. Die maximalen Spaltspannungen sind für $\Delta V_S = 6$ V zwischen 0.5 V bei $\Delta t_S \simeq 0.6$ ms und 3.6 V bei $\Delta t_S \simeq 10$ μs . Die Linien eines konstanten Werts für V_J^{max} sind nicht mehr gerade, wenn die Pulsdauern so kurz werden, dass sie sich der Zeitkonstanten des Spalts $\tau_J = 82$ μs nähern.

Je nach Wahl der Parameter der Chiprampe sollte es also möglich sein, die Mecha-

Parameter	Wert	Einheit	Quelle
c_S	1.5	$\mu\text{F}/\text{cm}^2$	Sättigungswert der verwendeten Kondensatoren, gemessen
c_M	1.0	$\mu\text{F}/\text{cm}^2$	[Hille 2001]
A_J	300	μm^2	gemessen, typischer Wert
ρ	700	Ωcm	gemessen
d_J	50	nm	[Gleixner & Fromherz 2006]
g_J	30	ms/cm^2	errechnet aus Gl. 5.7
τ_J	82	μs	errechnet aus Gl. 5.9
A_S	0.049	mm^2	Fläche der verwendeten Kondensatoren
g_E	145	ms/cm^2	errechnet aus Gl. 5.13
τ_E	10	μs	errechnet aus Gl. 5.16
A_{FM}	$2 A_J$	μm^2	[Ulbrich 2004]

Tabelle 5.1: Parameter für die Simulation der maximalen Spaltspannung, angelehnt an die Messungen. Die letzten vier Größen werden erst in Abschnitt 5.2.6 eingeführt. Sie sind nur der Vollständigkeit halber bereits aufgeführt.

nismen gezielt auszulösen. Für depolarisierende (fallende) Rampen, deren Dauer größer als ca. 1 ms ist, wird ausschließlich eine Öffnung der Kaliumkanäle erwartet. Für kürzer werdende Rampen, wird der Schwellwert zur Elektroporation überschritten. Beide Effekte sollten daher auftreten. Ausschließlich Elektroporation wird für hyperpolarisierende (steigende) Rampen mit kurzer Dauer erwartet. Bei sehr hohen Spaltspannungen von einigen Volt werden permanente Zellschäden erwartet [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996].

Für einen physiologischen Elektrolyten mit einem um 90% niedrigerem Widerstand ergäbe sich qualitativ ein identisches Bild. Jedoch würde die X-Achse mit dem Faktor 0.1 multipliziert. Die Spaltspannungen könnten dann (bei identischem V_S^{limit}) nicht mehr so lange aufrecht erhalten werden, was insbesondere eine Öffnung von Kanälen erschweren würde.

5.2.6 Erweitertes Modell

Bisher wurde die mathematische Beschreibung an einem vereinfachten System durchgeführt. Nun wird das Modellsystem aus Abb. 5.3 um einige Komponenten erweitert, welche rot in Abb. 5.6 gezeichnet sind. Dies sind die Leckleitfähigkeiten g_L der freien und adhären Membran, die Kapazität der freien Membran, die Abdichtleitfähigkeit der Pipette G_S sowie die restliche Kondensatorfläche A_S und die damit verbundene Badleitfähigkeit g_E . Ferner wird die Auswirkung einer spannungsabhängigen Chipkapazität $c_S = c_S(V)$ betrachtet.

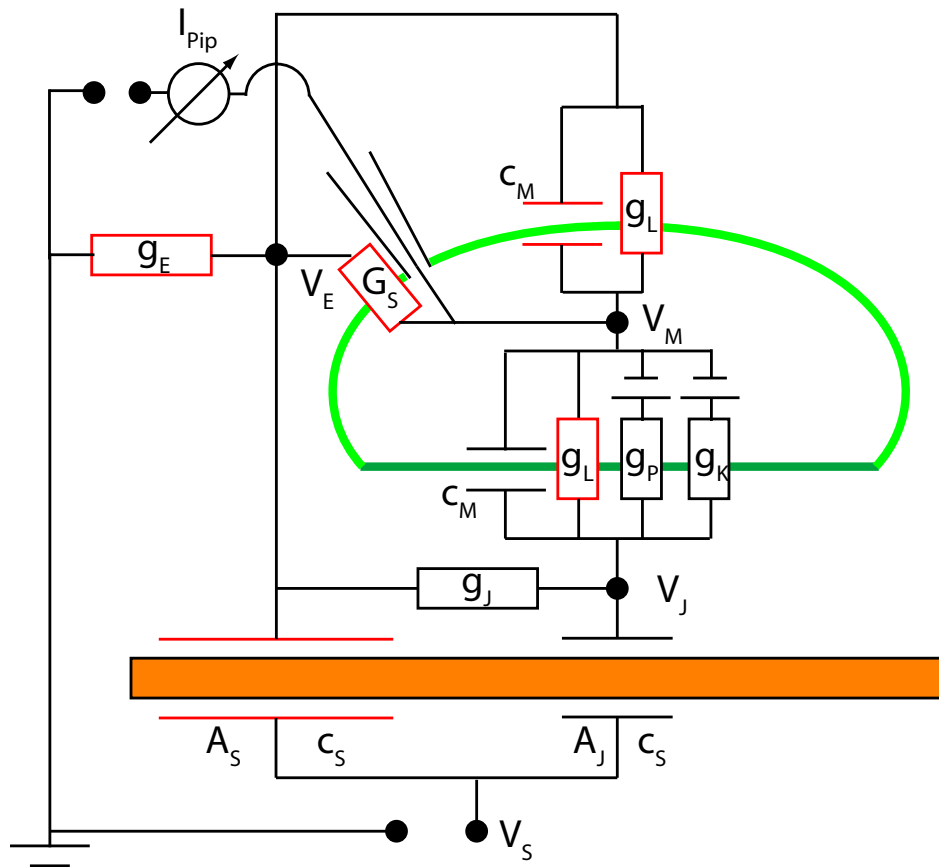


Abbildung 5.6: Elektrisches Ersatzschaltbild des Modellsystems, welches im Vergleich zu Abb. 5.3 um einige Komponenten (rot) erweitert wurde.

Potentialabfall im Bad

Leitfähigkeit des Bades. Im Experiment ist die Kondensatorfläche viel größer als die Kontaktfläche $A_S \gg A_J$. Es fließt daher kapazitiver Strom über den Kondensator nicht nur in den Spalt, sondern auch in das Bad. Von dort fließt er in die Badelektrode (=Masse) ab, wie in Abb. 5.6 gezeigt ist. Der gesamte Widerstand R_E des Systems aus Kondensator, Bad und Badelektrode wird bestimmt durch die Übergangswiderstände zwischen den Elektroden und dem Bad. Da die Oberfläche der Badelektrode viel größer als die Kondensatorfläche ist, bestimmt der Übergangswiderstand zwischen Kondensator und Elektrolyt den gesamten Badwiderstand. Für den kreisförmigen Kondensator mit Radius r_S und dem Elektrolyten des spezifischen Widerstands ρ ergibt sich für R_E [Newman 1966]:

$$R_E = \frac{\rho}{4r_S} \quad (5.12)$$

Die dazugehörige Leitfähigkeit ist normiert auf die Kondensatorfläche $A_S = r_S^2\pi$:

$$g_E = \frac{1}{R_E A_S} = \frac{4}{\rho r_S \pi} \quad (5.13)$$

Bei einer Spannungsrampe am Chip fließt Strom über diese Leitfähigkeit und erzeugt einen Spannungsabfall im Bad V_E zwischen dem Kondensator und der Badelektrode (siehe Abb. 5.6).

Örtliche Verteilung der Badspannung. Während einer Rampe herrsche direkt an der Kondensatoroberfläche das maximale Potential V_E , unabhängig vom Ort auf der Kondensatoroberfläche. Der Abfall des Potentials senkrecht zur Kondensatoroberfläche erfolgt mit einer Längskonstanten von der Größenordnung des Kondensatorradius [Newman 1966]. Unter der Annahme, dass der Kondensatorradius viel größer als die Höhe der Zelle von ca. $10 \mu\text{m}$ ist, herrscht in der gesamten Umgebung der Zelle das maximale Potential V_E , unabhängig vom Ort der Zelle auf dem Kondensator.

Zeitlicher Spannungsverlauf im Bad. Für die Strombilanz im Bad gilt Gl. 5.14:

$$c_S \frac{dV_E}{dt} + g_E V_E = c_S \frac{dV_S}{dt} \quad (5.14)$$

Die Ströme, die über Spalt g_J , Leckleitfähigkeiten g_L und Abdichtung G_S fließen, wurden dabei vernachlässigt, da diese letztlich über die Kontaktfläche A_J fließen, welche viel kleiner als A_S ist (siehe Abb. 5.6). Analog zu Gl. 5.8 ergibt sich aus Gl. 5.14 für den Verlauf der Badspannung während einer Spannungsrampe $\Delta V_S / \Delta t_S$ am Chip, die bei $t = 0$ beginnt:

$$V_E(t) = V_E^\infty \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_E}\right) \right] \quad (5.15)$$

mit

$$V_E^\infty = \frac{c_S \Delta V_S}{g_E \Delta t_S} \quad \text{und} \quad \tau_E = \frac{c_S}{g_E} \quad (5.16)$$

Die Badspannung hat denselben qualitativen Verlauf wie die Spaltspannung. Nach Beginn der Rampe nähert sie sich mit der Zeitkonstanten τ_E dem stationären Wert V_E^∞ . Nach Ende der Rampe geht die Spannung mit τ_E wieder auf Null zurück.

Für den verwendeten Kondensatorradius von $r_S = 0.125 \text{ mm}$ ergibt sich nach Gl. 5.13 $g_E = 145 \text{ mS/cm}^2$ und nach Gl. 5.16 $\tau_E = 10 \mu\text{s}$ (mit $c_S = 1.5 \mu\text{F/cm}^2$). Somit ist τ_E fast eine Größenordnung kleiner als τ_J , und die Badspannung während der Rampe kann als konstant betrachtet werden: $V_E(t) = V_E^\infty$ für $0 < t \leq \Delta t_S$.

Auswirkungen auf die Spaltspannung. In den Berechnungen zur Spaltspannung V_J (Gln. 5.6 bis 5.11) wurde die Badspannung bisher vernachlässigt. Wird eine konstante Badspannung V_E in der Strombilanz des Spalts berücksichtigt, so ergibt sich in Gl. 5.6 statt des Terms $g_J V_J$ der Ausdruck $g_J(V_J - V_E)$. Als Folge dessen ändern sich auch die Lösungen für $V_J(t)$. Der stationäre Wert der Spaltspannung wird um die Badspannung erhöht und die korrigierte stationäre Spaltspannung $(V_J^\infty)'$ ist somit:

$$(V_J^\infty)' = V_J^\infty + V_E^\infty = c_S \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) \frac{\Delta V_S}{\Delta t_S} \quad (5.17)$$

Nach einer Umformung ergibt sich mit Gl. 5.9 und Gl. 5.16:

$$(V_J^\infty)' = V_J^\infty \left(1 + \frac{g_J}{g_E} \right) \quad (5.18)$$

Der Quotient $\xi = g_J/g_E$ ist ausschließlich bestimmt durch Geometriefaktoren (mit der Kondensatorfläche $A_S = r_S^2 \pi$):

$$\xi = \frac{g_J}{g_E} = \frac{\pi^{3/2} d_J \sqrt{A_S}}{A_J} \quad (5.19)$$

Mit den Zahlenwerten aus Tab. 5.1 ergibt sich $\xi = 0.2$ bzw. mit Gl. 5.19 $(V_J^\infty)' = 1.2V_J^\infty$. Wird der Spannungsabfall im Bad berücksichtigt, so erhöht sich also die Spaltspannung um 20% im Vergleich zum einfachen Modell. Einsetzen des korrigierten Ausdrucks von V_J^∞ in Gl. 5.10 mit 5.9 ergibt den vollständigen (mit Berücksichtigung von V_E) Ausdruck für die während der Rampe erreichte maximale Spaltspannung V_J^{max} :

$$V_J^{max} = c_S \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) \frac{\Delta V_S}{\Delta t_S} \left[1 - \exp \left(-\frac{\Delta t_S}{\tau_J} \right) \right] \quad (5.20)$$

Eine Auswertung von Gl. 5.20 mit den Zahlenwerten aus Tab. 5.1 zeigt Abb. 5.7. Die Darstellung ist identisch zu Abb. 5.5, wobei die Berücksichtigung von V_E zu einer Multiplikation der Werte für V_J^{max} mit dem Faktor 1.2 führt.

Es gilt zu beachten, dass die angegebenen Werte für V_J^{max} nur eine Abschätzung sein können, da im verwendeten Modell folgende Vereinfachungen getroffen werden: Alle Parameter, die den Spalt beschreiben (g_J , V_J), werden als skalarer Wert angegeben. Tatsächlich jedoch sind g_J und V_J positionsabhängig innerhalb der Adhäsionsregion. Die Chipkapazität c_S ist nicht konstant $1.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, sondern erreicht bei den verwendeten Chips Werte bis ca. $2.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ (siehe Abb. 3.11). Die Adhäsionsfläche A_J ist abhängig von der Zelle, was sich nach Gl. 5.7 in g_J bemerkbar macht.

Vergleich von Bad- und Spaltspannung. Die stationären Werte der Bad- bzw. Spaltspannung sind proportional zur Steilheit der Chiprampe. Das Verhältnis der beiden stationären Spannungen ist jedoch konstant, wie eine Division von Gl. 5.16 durch Gl.

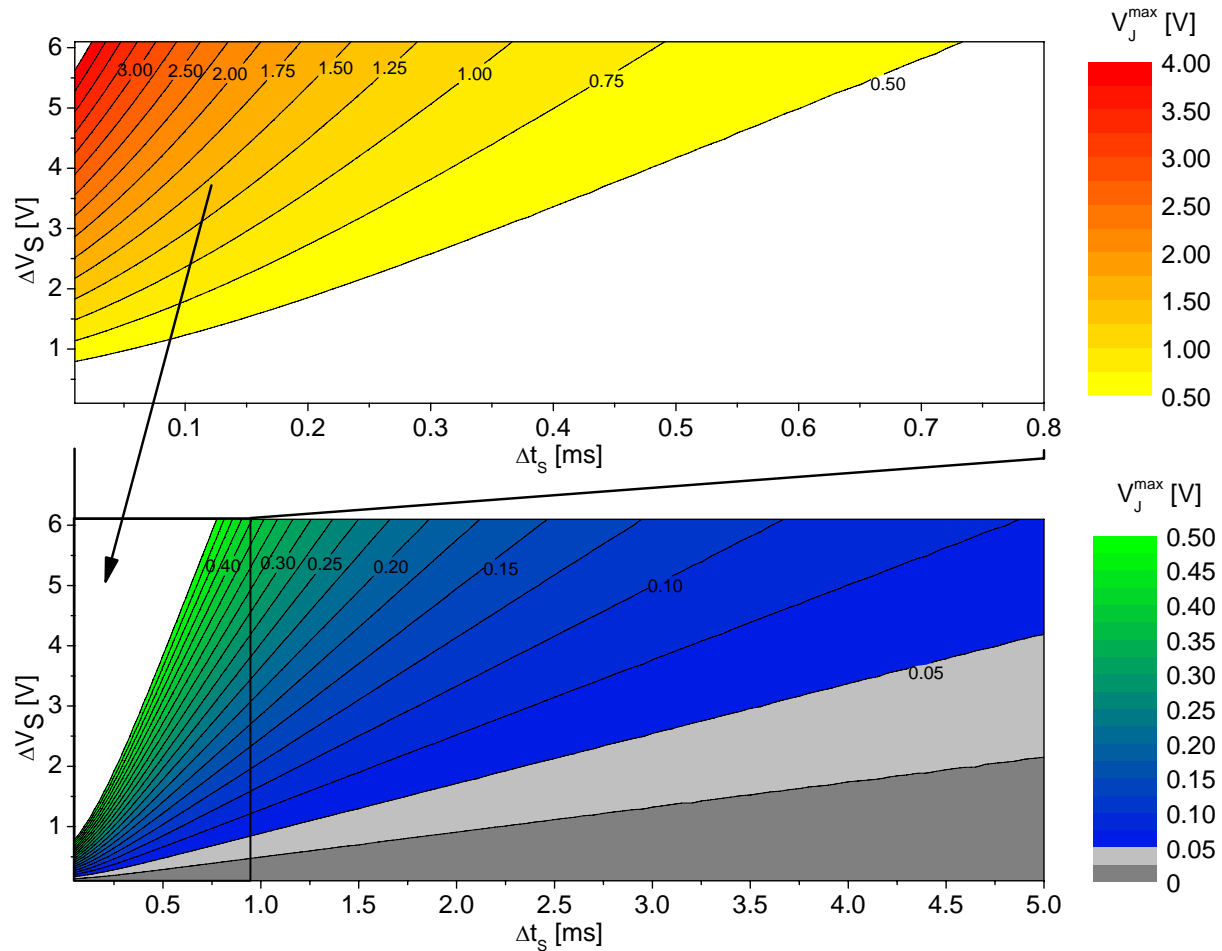


Abbildung 5.7: Maximale, während einer Rampe erreichte Spaltspannung V_J^{\max} (farbcodiert), unter Berücksichtigung des Spannungsabfalls im Bad, in Abhängigkeit von Rampendauer Δt_s (X-Achse) und Rampenamplitude ΔV_S (Y-Achse). (A): $V_J^{\max} < 0.5$ V eingefärbt, Rampendauern bis 5 ms. (B): $V_J^{\max} > 0.5$ V eingefärbt, Rampendauern bis 0.8 ms.

5.18 zeigt:

$$\frac{V_E^\infty}{(V_J^\infty)'} = \frac{1}{1 + \xi^{-1}} \quad (5.21)$$

Mit $\xi = 0.2$ ergibt sich ein Verhältnis $V_E^\infty / (V_J^\infty)' = 0.16$. Unabhängig von der angelegten Rampe fallen also immer 16% der stationären Spaltspannung in der Zellumgebung ab. Durch einen Spannungspuls am Chip wird daher nicht nur die Transmembranspannung der Adhäsionsmembran, sondern auch zu einem geringen Anteil die der freien Membran verändert. Folglich können Kanälöffnung und Elektroporation auch an der freien Membran auftreten. Dennoch werden die Auswirkungen von V_E auf die Leitfähigkeit der freien Membran im Folgenden vernachlässigt. Bei Messungen zum Öffnen der Kanäle ist dies zulässig, da auf Grund der exponentiellen Spannungsabhängigkeit der Öffnungsratenkon-

stanten der Anteil der offenen Kanäle in der Adhäsionsmembran sehr viel höher ist als in der freien Membran. Auch bei der Elektroporation nimmt die Permeabilität mit der angelegten Spannung zu [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996], so dass auch hier der Großteil der Leitfähigkeit in der Adhäsionsmembran erzeugt wird. Der gesamte Strom durch die erzeugten Leitfähigkeiten kann daher durch den Strom durch die Adhäsionsmembran genähert werden.

Zu beachten ist, dass obige Überlegung nur gilt, falls die stationäre Spaltspannung $(V_J^\infty)'$ während des Pulses erreicht wird, falls also die Rampendauer größer als ca. $3\tau_J \simeq 250 \mu\text{s}$ ist. Für kürzere Rampen ist das Verhältnis aus Gl. 5.21 größer als 0.16.

Leckleitfähigkeiten der Membran und der Abdichtung

Sowohl die Adhäsionsmembran, als auch die freie Membran besitzen eine passive (flächenspezifische) Leitfähigkeit, welche „Leckleitfähigkeit“ g_L genannt wird. Dies wird im Schaltbild aus Abb. 5.6 durch die zusätzlichen Leitfähigkeiten beider Membranabschnitte ausgedrückt. Die Fläche der freien Membran sei A_{FM} . An der Kontaktstelle zwischen der Pipette und der Zellmembran existiert ebenfalls eine Leitfähigkeit G_S . Diese ist umso geringer, je besser die Abdichtung („Seal“) im Experiment geglückt ist (siehe Abschnitt 5.3.4). Auf Grund dieser zusätzlichen passiven Leitfähigkeiten fließt immer ein gewisser Leckstrom I_L über die Pipette, um V_M einzustellen:

$$I_L = G_S(V_M - V_E) + g_L A_{FM}(V_M - V_E) + g_L A_J(V_M - V_J) \quad (5.22)$$

Transiente Ströme

Zu Beginn und am Ende der Rampe verursacht die sprunghafte Änderung der Spaltspannung kapazitive Stromtransienten I_{trans}^{JM} über die adhärenzte Membran. Zu Beginn der Rampe ist der Strom positiv für fallende Rampen und negativ für steigende Rampen. Am Ende der Rampe gelten inverse Vorzeichen. Der Strom fällt mit der Zeitkonstante des Bades τ_J ab. Ebenso erzeugt die sprunghafte Änderung der Badspannung qualitativ identische kapazitive Transienten I_{trans}^{FM} über die freie Membran. Das Vorzeichen ist identisch zu I_{trans}^{JM} . Der Abfall erfolgt mit der Zeitkonstanten des Bades τ_E . Insgesamt fließt der transiente Strom $I_{trans} = I_{trans}^{JM} + I_{trans}^{FM}$ jeweils zu Beginn und Ende einer Rampe in die Zelle ein und über die Pipette ab.

Kapazitive Ströme

Bisher wurde die Kapazität des verwendeten Kondensators c_S als konstant angenommen. Tatsächlich jedoch sind die Kapazitäten der Hoch-K-Chips, insbesondere jener mit TiO_2 , stark Abhängig von der Spannung und der Frequenz, wie in Kapitel 3 gezeigt (z.B. Abb. 3.17).

Der kapazitive Strom über den Kondensator ist gegeben durch $j_S = c_S dV_S/dt$. Die Spannungsabhängigkeit $c_S = c_S(V_S)$ ist für lineare Rampen $V_S(t) = (\Delta V_S/\Delta t_S)t$

äquivalent zu einer Zeitabhängigkeit der Kapazität $c_S = c_S(t)$. Sie bewirkt einen nicht-konstanten Strom während der Spannungsrampe.

$$j_S(t) = c_S(t) \frac{\Delta V_S}{\Delta t_S} \quad (5.23)$$

Folglich sind auch die Bad- und Spaltspannung während einer Spannungsrampe nicht konstant – es existieren keine stationären Werte V_J^∞ und V_E^∞ . Es ergibt sich nach Gl. 5.20 und 5.16 für Pulsdauern $\Delta t_S \gtrsim 3\tau_J$ folgender Zusammenhang zwischen der Bad- bzw. Spaltspannung und dem Strom über den Chip während einer Rampe:

$$V_E(t) = \frac{j_S(t)}{g_E} \quad (5.24)$$

$$V_J(t) = j_S(t) \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) \quad (5.25)$$

Die nicht-konstanten Bad- und Spaltspannungen während einer Rampe bewirken einen kapazitiven Strom über die beiden Membrankompartimente, welcher gegeben ist durch:

$$I_{kap} = -c_M A_J \frac{dV_J(t)}{dt} - c_M A_{FM} \frac{dV_E(t)}{dt} \quad (5.26)$$

Der gesamte Strom durch die Pipette ist somit die Summe aus Strömen durch Kanäle I_K und Poren I_P der unteren Membran, sowie Leckströme I_L , transiente Ströme I_{trans} und kapazitive Ströme I_{kap} :

$$I_{Pip} = I_K + I_P + I_L + I_{trans} + I_{kap} \quad (5.27)$$

Hohe Membranleitfähigkeiten

In den Rechnungen wurde bislang angenommen, dass die Leitfähigkeiten in der Membran viel kleiner sind als die Leitfähigkeit des Spalts ($g_P \ll g_J$, $g_K \ll g_J$, $g_L \ll g_J$), und dass somit der gesamte Strom, der über den Chip in den Spalt fließt, über die Spaltleitfähigkeit g_J abfließt. Werden jedoch viele Kanäle geöffnet, so ist diese Bedingung nicht mehr gegeben und ein Spannungsgesteuerten setzt ein.

Der Strom über den Chip im Adhäsionsbereich j_S fließe komplett über g_J ab ($g_P = 0$, $g_K = 0$, $g_L = 0$). Dann gilt mit V_J^0 , der Spaltspannung im Falle vernachlässigbarer Membranleitfähigkeiten

$$j_S = g_J V_J^0 \quad (5.28)$$

Teilt sich der Strom j_S auf in Komponenten, die durch die Membranleitfähigkeiten (g_K , g_P , g_L) fließen und in eine Komponente, die durch die Spaltleitfähigkeit g_J fließt, dann gilt:

$$j_S = g_J V_J - g_K (V_M - V_0^K - V_J) - g_P (V_M - V_P^0 - V_J) - g_L (V_M - V_J) \quad (5.29)$$

Es wird sich zeigen, dass die Leitfähigkeiten g_P und g_L stets viel kleiner sind als g_J und daher der dritte und vierte Term in Gl. 5.29 vernachlässigt werden können. Gleichsetzen der Gln. 5.28 und 5.29 und Vernachlässigung von $V_M - V_0^K$ gegenüber $-V_J$ ergibt:

$$V_J = V_J^0 \frac{g_J}{g_J + g_K} \quad (5.30)$$

Bei hohen K^+ -Leitfähigkeiten, in der Größenordnung der Spaltleitfähigkeit, ist daher die Spaltspannung geringer als nach Gl. 5.20 erwartet.

5.3 Materialien und Methoden II: Stimulationsexperimente

5.3.1 Messaufbau

Eine schematische Darstellung des Messaufbaus zeigt Abb. 5.8. Zentrales Bauteil ist der Patch-Clamp-Verstärker (HEKA EPC 10). Dieser kontrolliert mit Hilfe der Pipette die Intrazellulärspannung V_M und misst den dafür notwendigen Strom I_{Pip} . In den Verstärker ist eine Messkarte integriert, die drei analoge Ausgänge und fünf analoge Eingänge bereitstellt. Die Stimulationsspannung V_S wird über einen dieser Ausgänge an den Chip angelegt. Der Strom fließt dabei über einen 50Ω Widerstand. Der Spannungsabfall über dem Widerstand wird verstärkt (Analog Devices AD6235) und mit einem Analog-Eingang der Messkarte verbunden. Dadurch kann der Strom j_S , der während einer Rampe über den Chip in das Bad fließt, gemessen werden. Der Verstärker ist mit einer Glasfaserleitung an den Messrechner angeschlossen. Alle Ein- und Ausgänge werden mit 50 kHz abgetastet und mit einer Software zur Datenaufnahme und -analyse (HEKA Patchmaster) verwaltet. Zusätzlich ist der Messplatz mit einem Mikromanipulator zur Positionierung der Pipette, einem Mikroskop sowie einer Videokamera auf dem Mikroskop ausgerüstet. Das Bad wird durch eine Ag/AgCl -Elektrode, die sich auf Erdpotential befindet, kontaktiert. Links oben ist eine Aufsicht während der Messung zur sehen. Deutlich sichtbar ist die runde Kondensatorfläche und einige Zellen. Eine davon ist durch die Pipette kontaktiert.

5.3.2 Stimulationschip

Auswahl des Stimulationschips

In den Stimulationsexperimenten werden TiO_2 -beschichtete Chips den HfO_2 -beschichteten vorgezogen, da diese bei ungefähr gleichem Leckstrom eine höhere Kapazität aufweisen. Es

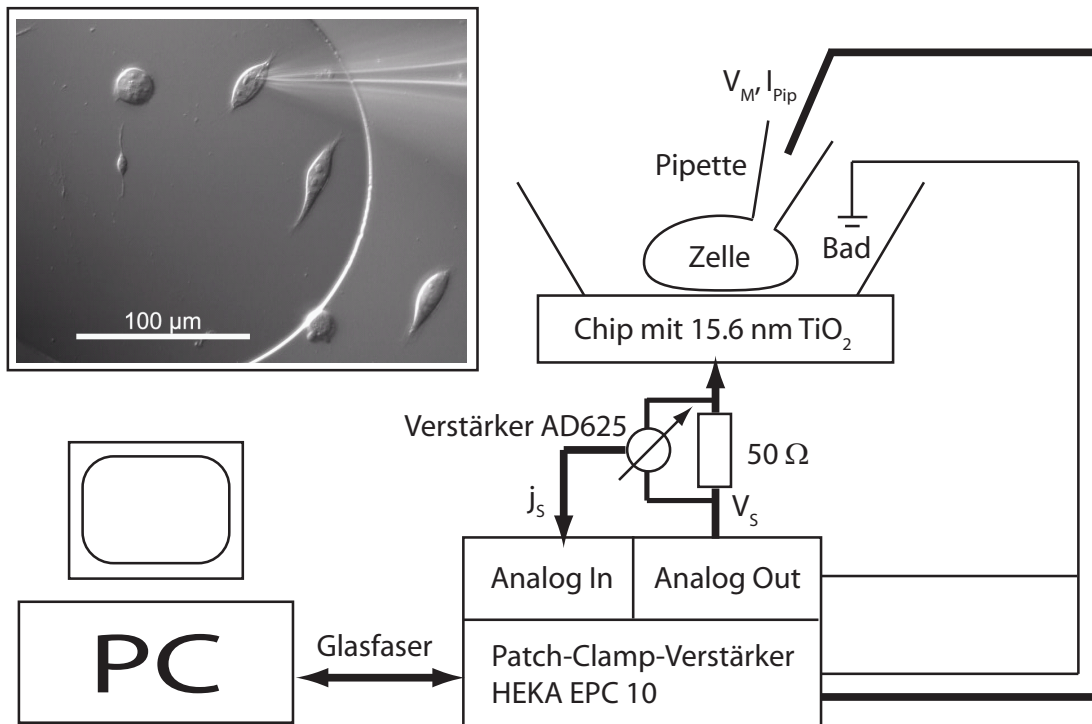


Abbildung 5.8: Schematische Darstellung des Messaufbaus und Aufsicht auf den Chip in einer Messsituation (links oben)

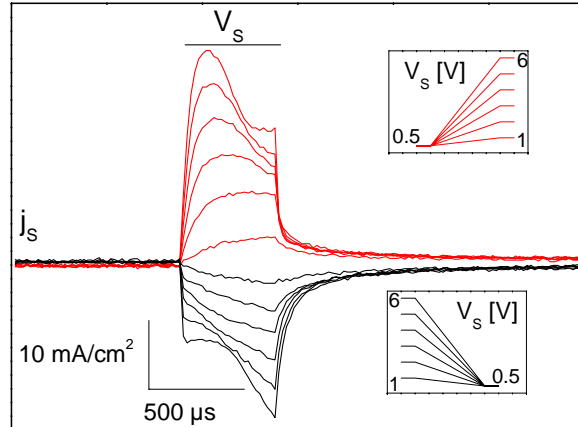
werden Chips mit einer Si_3N_4 -Pufferschicht verwendet, da deren Kapazitätseigenschaften vollständig durch das in Kapitel 3 beschriebene Modell erklärt werden können. Hierbei bilden die Kondensatoren mit einer TiO_2 -Dicke von 15.6 nm einen guten Kompromiss zwischen Kapazität und Leckstrom (siehe Abb. 3.7 und Abb. 3.19). Die Chips werden vor den Experimenten mit Spannungen von -6 V konditioniert. Es wird ein Kondensator-durchmesser von $250 \mu\text{m}$ verwendet.

Verlauf des Chipstroms während der Rampen

Die spannungsabhängige Kapazität des Chips verursacht nach Gl. 5.23 einen nicht-konstanten Strom während einer Spannungsrampe. Abb. 5.9 zeigt exemplarisch flächenspezifische Ströme j_S , die bei einer Rampendauer von $\Delta t_S = 500 \mu\text{s}$ fließen für verschiedene Rampenamplituden ΔV_S . Die dazugehörigen Chipspannungen sind klein in der Abbildung zu sehen.

Die roten Kurven zeigen Ströme für steigende Chipspannungen $\Delta V_S > 0$, bei denen die Startspannung immer 0.5 V beträgt und die Endspannung zwischen 1 V und 6 V variiert wird. Bei den schwarzen Kurven mit $\Delta V_S < 0$ wird die Startspannung zwischen 1 V und 6 V variiert und die Endspannung beträgt stets 0.5 V. Es gilt zu beachten, dass die Stimulationsspannung V_S dem Negativen der Spannung V_{ES} aus den vorherigen Kapiteln entspricht: $V_S = -V_{ES}$. Die Kurven können in drei Phasen unterteilt werden.

Abbildung 5.9: Spezifische Chipströme j_S , die während Pulsen der Dauer $500 \mu\text{s}$ fließen für fallende Rampen (schwarz) und steigende Rampen (rot). Die dazugehörigen Chipspannungen sind in den kleinen Bildern gezeigt.



Zu Beginn der Rampe steigen die Ströme mit der Zeitkonstanten des Bades von ca. $\tau_E = 10 \mu\text{s}$ an. Eine schnellere Stromänderung als mit τ_E ist prinzipiell nicht möglich.

Während der Rampe spiegelt der Stromverlauf die spannungsabhängige Niederfrequenz-Kapazität bei 100 Hz wieder (siehe Abb. 3.17B). So ändert sich der Strom bei Rampen, die sich über Spannungen mit nur schwach veränderlicher Kapazität erstrecken (z.B. V_S zwischen 0.5 V und 2 V), nur wenig. Dagegen ist eine starke Variation des Stroms sichtbar, wenn ein Spannungsbereich des Chips mit stark veränderlicher Kapazität überstrichen wird (z.B. V_S zwischen 0.5 V und 6 V). Der Strom hat bei jeder Rampe für eine Chipspannung V_S zwischen 0.5 V und 2 V seine höchsten Werte, da hier die Kapazität des Chips am größten ist.

Nach Ende der Rampe nimmt der Strom zunächst ca. mit der Zeitkonstanten τ_E ab und fällt dann mit einer langsamen Zeitkonstanten τ_L der Größenordnung $500 \mu\text{s}$ weiter. Die genaue Ursache dieser Zeitkonstante ist unbekannt. Jedoch ist ein Zusammenhang mit der Frequenzabhängigkeit der Kapazität naheliegend. Die $\text{TiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ -beschichteten Chips weisen zwischen $V_{ES} = -1 \text{ V}$ und $V_{ES} = 2 \text{ V}$ eine starke Frequenzabhängigkeit auf (siehe Abb. 3.17B). Der Übergang zwischen Hoch- und Niederfrequenzbereich findet dabei ca. bei 2 kHz statt, was einer Zeitkonstanten von ebenfalls $500 \mu\text{s}$ entspricht.

Der Spannungsverlauf im Bad $V_E(t)$ ist direkt gegeben durch den Stromverlauf $j_S(t)$ über den Chip, multipliziert mit $1/g_E$. Der Spannungsverlauf im Spalt $V_J(t)$ ist gegeben durch $j_S(t)$ multipliziert mit $1/g_E + 1/g_J$ und gefiltert mit der Zeitkonstanten des Spalts τ_J .

5.3.3 Zellkultur auf Chips

Die Messungen werden an Zellen der Zelllinie HEK293 durchgeführt. Diese Zellen wurden ursprünglich aus menschlichen, embryonalen Nierenzellen gewonnen. Die Transfektion mit einem Adenovirus [Graham *et al.* 1977; Harrison *et al.* 1977] bewirkt eine ständige Zellteilung, weshalb sich die Zellen sehr einfach im Labor einsetzen lassen. Eine stabil mit Kv1.3-Kanälen transfizierte Zelllinie stand bereits zur Verfügung. Die Zellen werden im Brutschrank bei 5% CO_2 und 37°C kultiviert und zwei mal wöchentlich in neue Kultur-

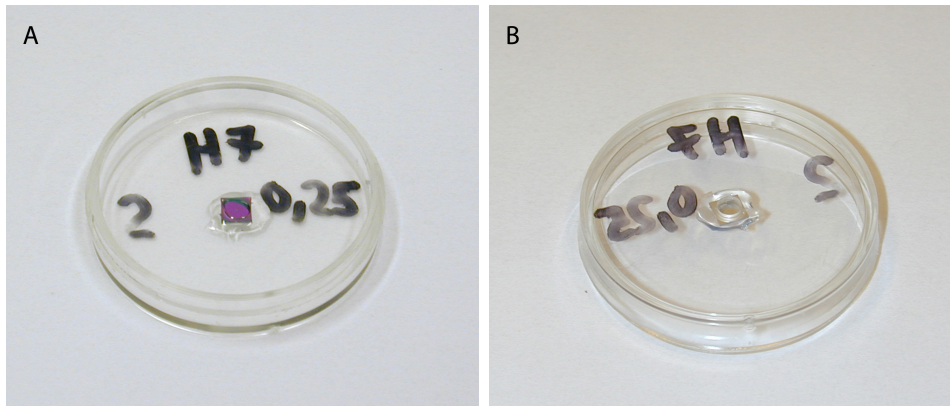


Abbildung 5.10: Zellkulturschale mit eingeklebten Chip. (A) Oberseite. In der Mitte erkennt man den quadratischen Chip mit einer Kantenlänge von 4 mm. Der kreisförmige Kondensator mit einem Durchmesser von 0.25 mm ist nicht mehr zu erkennen. (B) Unterseite. Die Bohrung in der Rückseite der Schale erlaubt eine Kontaktierung des Chips mit einer Goldfeder (nicht gezeigt). Der Durchmesser der Kulturschale ist 35 mm.

schalen im Verhältnis 1:4 bis 1:6 umgesetzt. Als Kulturmedium wird DMEM (Dulbecco's modified Eagles medium) mit 10% FKS (Fötale Kälberserum) verwendet.

Um die Chips für die Zellmessungen einsetzen zu können, wird je ein Chip in eine Kulturschale mit 35 mm Durchmesser mittig mit Silikon-Kleber (MK3) eingeklebt. Die Schalen wurden vorher mit einer Bohrung versehen, durch die der Chip von hinten kontaktiert werden kann. Die fertig präparierte Kulturschale mit eingeklebtem Chip zeigt Abb. 5.10.

Für die Messungen werden die Zellen statt auf normale Kulturschalen auf Schalen mit eingeklebten Chip umgesetzt. Um Zelladhäsion und -wachstum auf den Chips zu ermöglichen, ist vor jedem Kulturzyklus eine spezielle Behandlung nötig: Die Schalen mit den Chips werden zunächst mit einem basischen Reinigungsmittel (Tickopur, 5%) mit mechanischer Unterstützung gesäubert. Danach werden sie gründlich mit Reinstwasser (Millipore) gespült und mit Stickstoff getrocknet. Zur Sterilisation werden sie dann für 30-45 min mit UV-Licht bestrahlt. Die Adhäsion der Zellen wird durch eine Beschichtung der Chips mit Fibronectin ermöglicht (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2 h). Danach werden die Kammern zwei mal mit PBS (Phosphat-gepufferte Standardlösung) gespült. Nun werden die Zellen von den Kulturschalen in die Chips umgesetzt. Hierbei wird ein Kulturmedium ohne FKS verwendet. Nach 16-24 Stunden können die Zellen zur Messung herangezogen werden. Dazu wird das Zellkulturmedium gegen die Messlösung ausgetauscht (250 mM Glukose, 5.4 mM KCl, 1.8 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 , 5 mM Hepes, pH 7.2, spezifischer Widerstand $\rho = 700 \Omega\text{cm}$).

5.3.4 Patch-Clamp-Technik

Um die Intrazellulärspannung V_M einzustellen und um den Strom über die Zellmembran I_{Pip} zu messen, wird das Zellinnere mit einer Mikropipette kontaktiert. Diese Pipette ist

mit einem Elektrolyt gefüllt (140 mM KCl, 10 mM HEPES, pH 7.2), welcher mit einem chlorierten Silberdraht kontaktiert wird. Sie hat eine Öffnung von wenigen Mikrometern. Bei dem verwendeten Elektrolyten entspricht dies einem Pipettenwiderstand von $1\text{ M}\Omega$ bis $3\text{ M}\Omega$. Beim Kontakt der Öffnung mit der Zellmembran dichtet die Membran die Öffnung ab. Der Widerstand zwischen Pipette und Bad steigt auf einige $\text{G}\Omega$ („Gigaseal“) bzw. die dazugehörige Abdichtleitfähigkeit G_S fällt auf weniger als 1 nS . In den gezeigten Experimenten wird der „whole cell“ Modus verwendet [Hamill *et al.* 1981]. Dazu wird in der Pipette ein Unterdruck erzeugt, welcher das Membranstück an der Pipettenspitze zerstört. Dabei wird das Zytoplasma gegen den Elektrolyten in der Pipette ausgetauscht. Durch die nun existierende elektrische Verbindung zwischen Pipette und Zellinnerem kann ein an die Pipette angeschlossener Patch-Clamp-Verstärker das Potential V_M im Zellinneren einstellen („voltage clamp“). Der zum Einstellen der Spannung benötigte Strom I_{Pip} wird dabei gemessen. Eine ausführliche Beschreibung der Technik findet sich in Sakmann & Neher [1995]. In den gezeigten Experimenten ist die Abdichtleitfähigkeit G_S stets kleiner als 1 nS .

5.3.5 Flächenbestimmung

Für einige Zellen wird die Adhäsionsfläche A_J bestimmt. Dazu wird mit der Kamera auf dem Mikroskop eine Aufnahme digital gespeichert. In einer Bildbearbeitungssoftware (Adobe Photoshop) wird eine Linie um die Adhäsionsfläche gezeichnet und die Anzahl der Pixel bestimmt. Der dabei gemachte Fehler wird zu 10 % abgeschätzt. Der Eichfaktor Pixel/Fläche wurde vorher einmalig bestimmt, indem die Anzahl der Pixel ermittelt wurde, welche der bekannten Kondensatorfläche entspricht.

Kapitel 6

Stimulation von Zellen: Experimente

Im diesem Kapitel werden die Stimulationsexperimente beschrieben. Zunächst werden durch Rampen geringer Steilheit ausschließlich K^+ -Kanäle geöffnet. Dann wird durch Erhöhung der Steilheit der Schwellwert zur Elektroporation überschritten. Einige Aspekte der Elektroporation werden am Ende des Kapitels vertieft.

6.1 Öffnen von Kv 1.3 Kanälen

Zunächst wird ein Experiment beschrieben, bei dem ausschließlich die Kaliumkanäle in der unteren Membran geöffnet werden. Die erzeugten Spaltspannungen V_J sind unterhalb der kritischen Spannung für Elektroporation V_C .

6.1.1 Konzept

Die Kanäle in der unteren Zellmembran öffnen sich durch Depolarisation der Membran. Um dies zu erreichen, werden fallende Spannungsrampen an den Kondensator angelegt, welche negative Spannungen im Spalt erzeugen. Wenn keine Poren generiert, und Leckströme kompensiert werden, reduziert sich der Pipettenstrom I_{Pip} aus Gl. 5.27 nach Abklingen des transienten Stroms I_{trans} auf den Anteil der Kaliumkanäle und des kapazitiven Stroms:

$$I_{Pip} = I_K + I_{kap} \quad \text{mit} \quad I_K = G_K(V_M - V_J - V_0^K) \quad (6.1)$$

Während der Rampe am Chip ist die Spaltspannung negativ ($V_J < 0$). Die untere Membran wird depolarisiert, was eine Öffnung der Kanäle bewirken sollte ($G_K > 0$). Das Intrazellulärpotential wird durch die Pipette auf $V_M^{ramp} = -60$ mV gehalten, was nahe

dem Umkehrpotential für K^+ ist. Nach Gl. 6.1 wird daher ein positiver Strom $I_K > 0$ erwartet (Kaliumausstrom). Am Ende der Rampe sollte eine bestimmte Anzahl Kanäle geöffnet worden sein. Zusätzlich zum Kaliumstrom fließt während der Rampe ein kapazitiver Strom über die beiden Membrankompartimente.

Nach Ende der Rampe schließen geöffnete Kanäle mit einer Zeitkonstanten von einigen Millisekunden [Ulbrich 2004], da die Depolarisation der Membran aufgehoben ist ($V_J = 0$). Für ein Intrazellulärpotential, was nahe am K^+ -Umkehrpotential liegt ($V_M \simeq V_0^K$), sollte nach Gl. 6.1 während des Schließens kaum Strom fließen, da nur eine sehr geringe Triebkraft vorhanden ist, obwohl noch für einige Millisekunden $G_K > 0$ gilt. Um auch nach Ende der Rampe noch Ströme („tail currents“) zu erzeugen, wird das Intrazellulärpotential nach Ende der Rampe auf $V_M^{tail} = -120$ mV geändert. Nun wird nach Gl. 6.1 ein negativer Strom $I_K < 0$ (KaliumEinstrom) erwartet, solange noch eine K^+ -Leitfähigkeit vorhanden ist, also $G_K > 0$ ist.

6.1.2 Experiment

Abb. 6.1 zeigt eine Messung, bei der fallende Rampen der Dauer 5 ms angelegt werden. Die Rampensteilheit wird gesteigert, indem ΔV_S von 1.5 V auf 5.5 V erhöht wird (oben). Dies entspricht einer vertikalen Bewegung im Phasendiagramm von Abb. 5.7 mit zu erwartenden maximalen Spaltspannungen V_J^{max} zwischen -17 mV und -66 mV.

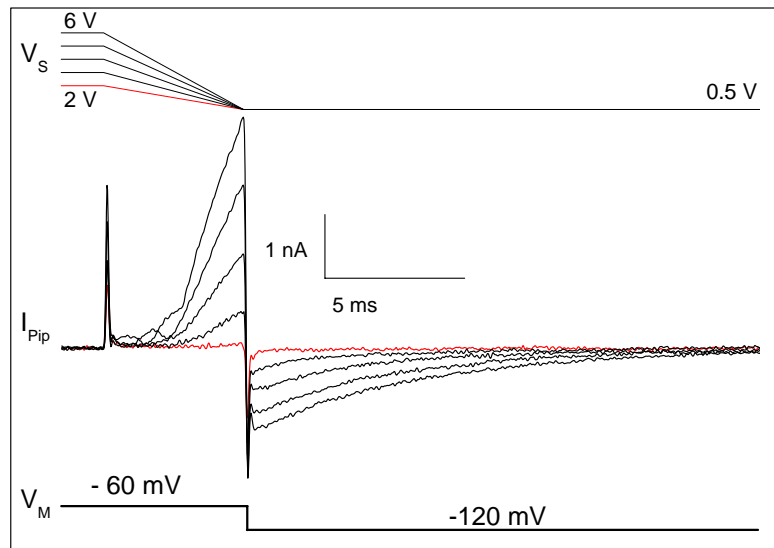


Abbildung 6.1: Öffnen von Kaliumkanälen durch extrazelluläre Stimulation. Oben: Spannungsrampen V_S , welche an den Chip angelegt wurden. Mitte: Pipettenströme I_{Pip} . Unten: Intrazellulärpotential V_M . Während der Rampe werden Kanäle geöffnet. Aufgrund der negativen Spannung im Spalt setzt ein K^+ -Ausstrom ein. Nach Ende der Rampe schließen die Kanäle innerhalb einiger Millisekunden.

Während der Chiprampe liegt eine Intrazellulärspannung von $V_M^{ramp} = -60$ mV an, nach Ende der Rampe beträgt $V_M^{tail} = -120$ mV (unten). Gemessen wird der Strom in der Pipette I_{Pip} (mitte). Nach Gl. 5.22 bewirkt der Sprung im Intrazellulärpotential eine Änderung des Leckstroms. Mit Hilfe eines p/4-Protokolls wird die Leckstromänderung korrigiert, so dass der gezeigte Pipettenstrom I_{Pip} keinen Leckstromanteil besitzt. Die Nulllinie wird durch diese Prozedur nicht betroffen, so dass der identische Strom vor dem Puls aller Kurven real ist. Die Pipettenströme sind mit 5 kHz gefiltert.

Für die Rampe mit der geringsten Amplitude (rot) zeigt der Strom lediglich transiente Ströme zu Beginn und Ende des Pulses. Er ist sonst nicht beeinflusst von der Chipspannung.

Eine Erhöhung der Rampensteilheit verursacht folgende Effekte: (i) Die Amplitude der kapazitiven Transienten steigt an. (ii) Der Strom während der Rampe steigt in positive Richtung. Dabei nimmt der Strom insbesondere zum Ende der Rampe hin stark zu. (iii) Der Strom nach Ende der Rampe nimmt in negativer Richtung zu. Nach Ende der Rampe relaxiert der Strom innerhalb einiger Millisekunden wieder auf das Ausgangsniveau zurück.

6.1.3 Diskussion

Interpretation der Stromkurven

Transiente Ströme. Der Pipettenstrom weist zu Beginn und Ende der Rampen kapazitive Transienten auf. Mit Zunahme der Rampensteilheit nimmt die Amplitude der Transienten zu, während die Zeitkonstante unverändert bleibt.

Kaliumströme. Während der Rampe wird die adhärenierte Membran depolarisiert, da eine negative Spaltspannung $V_J < 0$ erzeugt wird, was zu einem Öffnen von K^+ -Kanälen führt $G_K > 0$. Da $V_M - V_0^K \simeq 0$ gilt, führt nach Gl. 6.1 eine Erhöhung von G_K bei einer negativen Spaltspannung $V_J < 0$ zu einem positiven Strom. Für eine gegebene Rampe wird die maximale K^+ -Leitfähigkeit am Ende der Rampe erreicht, da die Anzahl der geöffneten Kanäle während einer Rampe zunimmt. Wird die Rampe steiler, so steigt der Kaliumausstrom während der Rampe nach Gl. 6.1 an, da zum einen mehr Kanäle geöffnet werden (G_K steigt) und zum anderen die Triebkraft $-V_J$ zunimmt. Die exakte Form des K^+ -Stroms während der Rampe ist gegeben durch die Dynamik der Kanalöffnung und den Verlauf der Spaltspannung, welche wiederum durch die spannungsabhängige Chipkapazität bestimmt wird. Eine detaillierte Beschreibung findet sich bei Ulbrich & Fromherz [2005].

Nach Ende der Rampe relaxiert V_J mit der Zeitkonstanten τ_J . Nach ca. 0.3 ms ist daher die Spaltspannung wieder Null. Der Strom nach Ende der Rampe wird mit zunehmender Steilheit negativer, was einer Zunahme des K^+ -Einstroms entspricht. Die Ursache hierfür ist die mit der Steilheit zunehmende Anzahl der während der Rampe geöffneten Kanäle. Der Einstrom geht mit einer Zeitkonstanten von einigen Millisekunden wieder auf

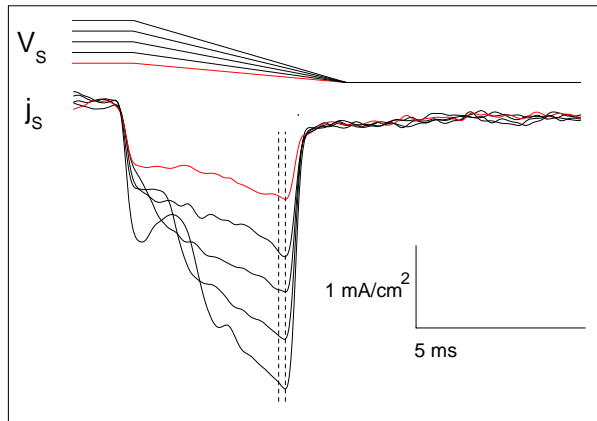


Abbildung 6.2: Chipströme $j_S(t)$ (unten), die während den fallenden Rampen aus Abb. 6.1 fließen (oben nochmal gezeigt). Aus den Steigungen im Intervall zwischen den gestrichelten Linien können die kapazitiven Ströme am Ende der Rampe I_{kap}^{ramp} abgeschätzt werden.

das Ausgangsniveau zurück und spiegelt direkt das Schließen der Kanäle wieder. Nach ca. 10 ms bis 20 ms sind alle Kanäle wieder geschlossen und der Strom ist auf das Ausgangsniveau zurückgekehrt.

Kapazitive Ströme. Während den Rampen fließen aufgrund der spannungsabhängigen Chipkapazität nicht-konstante Ströme $j_S(t)$ über den Chip, welche in Abb. 6.2 (unten) gezeigt sind (Daten mit 5 kHz gefiltert). Sie erzeugen, wie in Abschnitt 5.2.6 beschrieben, kapazitive Ströme über die beiden Membranabschnitte. Die Werte der kapazitiven Ströme können nach Gl. 5.24 bis 5.26 aus den Steigungen von $j_S(t)$ abgeschätzt werden. Für die später folgende Auswertung des maximalen Kaliumstroms sind die kapazitiven Ströme am Ende der Rampen I_{kap}^{ramp} von Interesse. Um sie zu ermitteln, werden die mittleren Steigungen von $j_S(t)$ im Intervall zwischen dem letzten Punkt der Rampe und 200 μs vor dem letzten Punkt (markiert durch die gestrichelten Linien) ermittelt. Für die gemessene Adhäsionsfläche von 242 μm^2 und den Parametern aus Tab. 5.1 ergeben sich Werte I_{kap}^{ramp} von 20 pA bis 59 pA.

Bei steigenden Rampen, die die Membran hyperpolarisieren, waren ausschließlich kapazitive und transiente Ströme zu sehen. Es wurden keine Kanäle geöffnet (nicht gezeigt).

Erzeugte K^+ -Leitfähigkeit

Ziel ist es die maximale, während einer Rampe erzeugte K^+ -Leitfähigkeit G_K^{max} , welche am Ende der Rampe herrscht, zu bestimmen. Dies ist nicht direkt nach Gl. 6.1 möglich, da der Wert von V_J am Ende der Rampe nicht bekannt ist. Aufgrund der langsamen Dynamik des Schließens der Kanäle ändert sich die Kaliumleitfähigkeit jedoch kaum zwischen dem letzten Punkt der Rampe und dem Zeitpunkt 0.4 ms nach Pulsende, bei dem die Leitfähigkeit G_K^{tail} herrscht. Daher gilt $G_K^{max} \approx G_K^{tail}$. Nach Ende der Rampe fällt V_J innerhalb einiger 100 μs wieder auf Null und es fließt kein kapazitiver Strom. I_{Pip} ist daher ausschließlich gegeben durch I_K . Somit kann G_K^{tail} aus dem Strom 0.4 ms nach Pulsende I_K^{tail} bestimmt werden, und es gilt mit $V_J = 0$ nach Gl. 6.1

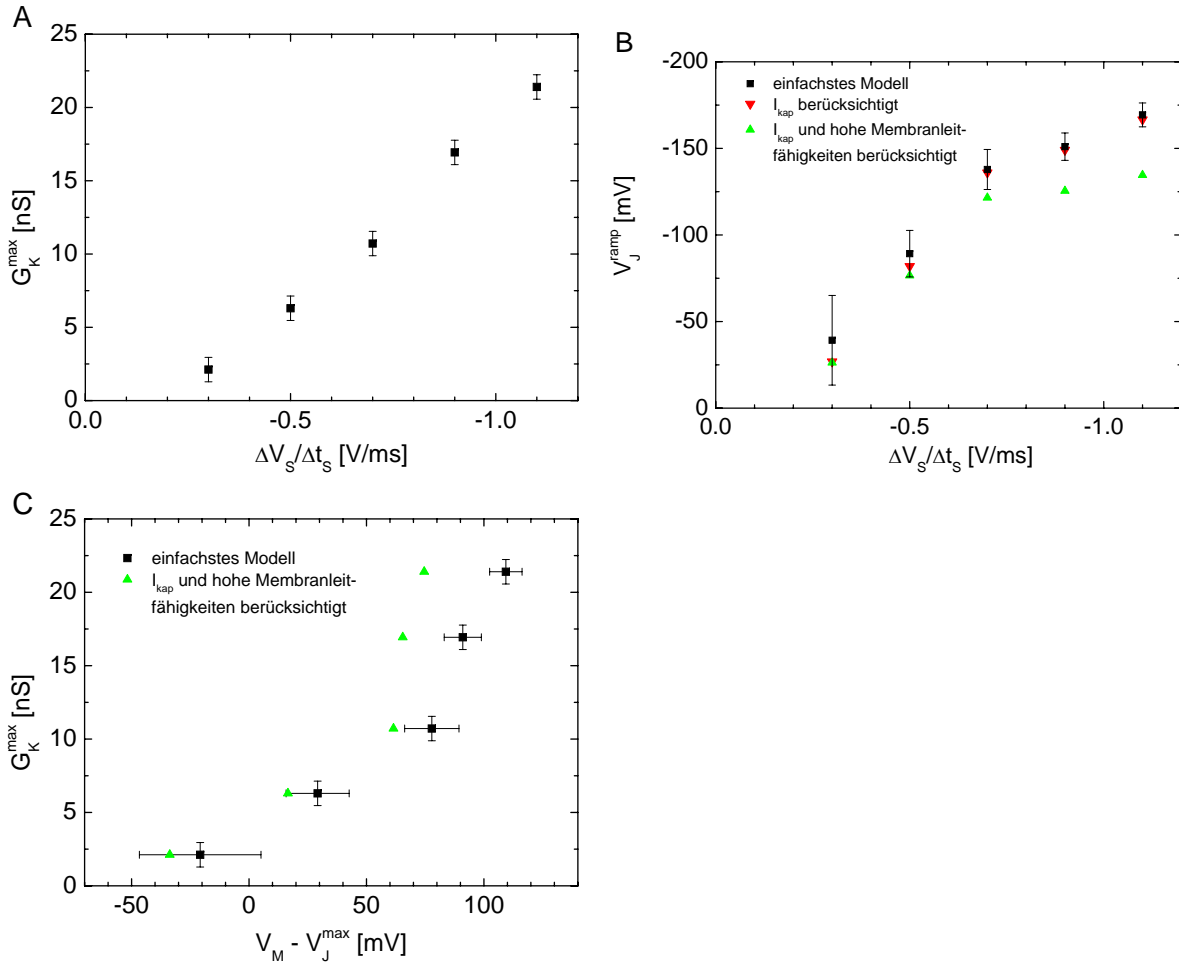


Abbildung 6.3: Auswertung der Messung aus Abb. 6.1. (A) Maximale, während der Rampe erzeugte K^+ -Leitfähigkeit G_K^{max} in Abhängigkeit der Rampensteilheit $\Delta V_S / \Delta t_S$. (B) Maximale, während der Rampe erzeugte Spaltspannung V_J^{max} in Abhängigkeit der Rampensteilheit $\Delta V_S / \Delta t_S$. (C). Maximale, während der Rampe erzeugte K^+ -Leitfähigkeit G_K^{max} in Abhängigkeit der maximalen Transmembranspannung $V_M - V_J^{max}$.

$$G_K^{max} \approx G_K^{tail} = \frac{I_K^{tail}}{V_M^{tail} - V_0^K} \quad (6.2)$$

Durch Ermittlung von I_K^{tail} für jede Spur aus Abb. 6.1 können mit $V_0^K = -60$ mV und $V_M^{tail} = -120$ mV nach Gl. 6.2 die dazugehörigen Werte für G_K^{max} bestimmt werden. Eine Auftragung als Funktion der Chiprampensteilheit $\Delta V_S / \Delta t$ ist in Abb. 6.3A gezeigt. Die Fehlerbalken ergeben sich aus dem Fehler bei der Bestimmung von I_K^{tail} auf Grund des Rauschens des Verstärkers (50 pA). Es werden K^+ -Leitfähigkeiten G_K von über 20 nS erzeugt.

Abschätzung der Spaltspannung

Im Folgenden soll die Spaltspannung am Ende der Rampe aus den Daten ermittelt werden. Zunächst wird dies unter Vernachlässigung der kapazitiven Ströme (siehe Abschnitt 5.2.6) und der Membranleitfähigkeit (siehe Abschnitt 5.2.6) durchgeführt. Die Auswirkungen dieser beiden Vereinfachung werden im Anschluss beschrieben.

Die Spaltspannung am letzten Punkt der Rampe V_J^{ramp} lässt sich nach Umformung von Gl. 6.1 abschätzen:

$$V_J^{ramp} = \frac{I_K^{ramp}}{G_K^{max}} \quad (6.3)$$

Unter Vernachlässigung des kapazitiven Stroms I_{kap}^{ramp} ist der Kaliumstrom am letzten Punkt der Rampe identisch mit dem Pipettenstrom am letzten Punkt der Rampe $I_K^{ramp} \approx I_{Pip}^{ramp}$. Unter dieser Vereinfachung zeigt Abb. 6.3B die aus Gl. 6.3 ermittelten Spaltspannungen in Abhängigkeit der Chiprampensteilheit als schwarze Punkte. Die Fehlerbalken werden errechnet aus der Unsicherheit der Werte von I_{Pip}^{ramp} (Verstärkerrauschen 50 pA) und den Fehlern von G_K^{max} aus (A). Die maximale Spaltspannung V_J^{max} steigt mit der Steilheit an, wie von Gl. 5.20 vorhergesagt. Allerdings wird nach Gl. 5.20 ein linearer Anstieg erwartet. Der nicht-lineare Anstieg in Abb. 6.3B ist vermutlich auf die nicht-konstante Chipkapazität zurückzuführen.

Mit den gezeigten Rampen werden demnach Spannungen zwischen -39 mV und -169 mV erzeugt. Dies ist um ca. einen Faktor 2.5 größer als aus dem Phasendiagramm (Abb. 5.7) für Pulse mit $\Delta t = 4$ ms und $\Delta V_S/\Delta t_S$ zwischen 1.5 V und 5.5 V vorhergesagt. Ursache hierfür ist vermutlich, dass im Modell c_S unterschätzt und/oder g_J und g_E überschätzt wird. Ersteres ist plausibel, da die spannungsabhängige Kapazität über weite Teile der Spannung größer ist als der in den Simulationen verwendete Sättigungswert von $1.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Zweites könnte nach Gl. 5.7 auf einen geringeren Zell-Substrat-Abstand als der Wert in der Simulation von $d_J = 50$ nm, zurückzuführen sein.

Berücksichtigt man die aus Abb. 6.2 ermittelten kapazitiven Ströme am Ende der Rampe in der Auswertung von Gl. 6.3 ($I_K^{ramp} = I_{Pip}^{ramp} - I_{kap}^{ramp}$), so ändern sich die Werte nur marginal, wie die roten Dreiecke in Abb. 6.3 zeigen.

Insbesondere die Spaltspannungen bei hohen Rampensteilheiten werden durch das Vorgehen überschätzt. Wie in Abschnitt 5.2.6 beschrieben, bewirkt eine hohe K^+ -Leitfähigkeit in der Membran eine Reduzierung der durch die Chiprampe erzeugte Spaltspannung. Deshalb wird mit Gl. 5.30 die Spaltspannung nochmals korrigiert. Dazu wird mit der gemessenen Zellfläche von $242 \mu\text{m}^2$ aus den gemessenen K^+ -Leitfähigkeiten (Abb. 6.3A) die spezifische Kaliumleitfähigkeit g_K und mit Gl. 5.7 die spezifische Spaltleitfähigkeit errechnet. Die um beide Effekte (kapazitive Ströme und hohe Membranleitfähigkeit) korrigierten Werte sind in Abb. 6.3B grün eingezeichnet. Die Fehler sind identisch zum unkorrigierten Fall (schwarz).

Gatingkurve

Abb. 6.3C zeigt eine Kombination aus (A) und (B). Auf der X-Achse ist die maximale Transmembranspannung während des Pulses $V_M - V_J^{max}$ aufgetragen, wobei $V_M = -60$ mV beträgt und V_J^{max} inklusive Fehler aus (B) übernommen ist (unkorrigiert: schwarz, doppelt korrigiert: grün). Die Werte G_K^{max} auf der Y-Achse sind, zusammen mit ihren Fehlern, aus (A) übernommen. Die Auftragung entspricht einer Gatingkurve, wie sie in Abb. 5.1 für den Fall einer intrazellulären Depolarisation zu sehen war. Analog zu Abb. 5.1 bewirkt eine Erhöhung der Depolarisation eine Erhöhung der Leitfähigkeit. Die Leitfähigkeit in Abb. 5.1 ging für hohe Depolarisationen in Sättigung. Im Gegensatz dazu wird in Abb. 6.3C keine Sättigung der Leitfähigkeit erreicht (=nicht alle Kanäle geöffnet), obwohl höhere Depolarisationen erzeugt werden. Ursache hierfür ist, dass im ersten Fall die Spannungspulse sehr lange anlagen und daher die Leitfähigkeit ihren stationären Wert erreichte. Im zweiten Fall dagegen ist die Leitfähigkeit am Ende der relativ kurzen Rampe aufgetragen, wo die Leitfähigkeit auf Grund der langsamen Öffnungszeitkonstanten der Kanäle noch nicht ihren stationären Wert erreicht hat. Folglich werden selbst für die höchste Depolarisation nicht alle Kanäle geöffnet.

Der Anteil der offenen Kanäle in der adhärierten Membran kann folgendermaßen abgeschätzt werden: Mit der steilsten Chiprampe wird eine K^+ -Leitfähigkeiten von 21.4 nS erzeugt. Die Leitfähigkeit der gesamten Zelle bei einer intrazellulären Depolarisation auf +40 mV beträgt mit $V_0^K = -60$ mV nach Gl. 5.1 280 nS (Experiment nicht gezeigt). Da die gesamte Membranfläche der Zelle ca. drei mal so groß ist wie die Adhäsionsfläche [Ulbrich 2004] sollte die gesamte Leitfähigkeit der unteren Membran ein Drittel der Leitfähigkeit der gesamten Membran, also ca. 93 nS betragen. Folglich werden selbst durch die steilste Rampe nur ca. 23% der Kanäle der unteren Membran geöffnet.

6.2 Übergang zu Elektroporation

Im vorherigen Abschnitt lag die im Spalt erzeugte Spannung unterhalb der Schwelle für Elektroporation. Im Folgenden wird die Spaltspannung so weit erhöht, bis die kritische Spannung für Elektroporation überschritten wird.

6.2.1 Konzept

Ausgehend von Pulsen, die ausschließlich Kanäle öffnen, wird die Rampensteilheit immer weiter erhöht, bis Elektroporation einsetzt. Da die maximale Spannung am Chip begrenzt ist, wird dies durch eine Reduktion der Rampendauer erreicht. Für moderate Rampen wird ausschließlich eine Öffnung der Kaliumkanäle erwartet ($G_K > 0$). Für steiler werdende Rampen sollte die Spaltspannung V_J die Schwelle der Elektroporation V_C überschreiten und Poren erzeugen ($G_P > 0$). Werden Leck- und kapazitive Ströme vernachlässigt, so beinhaltet der Strom über die untere Membran nach Abklingen der transienten Ströme zwei Komponenten, nämlich die Anteile durch Kanäle und Poren,

identisch zu Gl. 5.3:

$$I_{Pip} = G_K(V_M - V_J - V_0^K) + G_P(V_M - V_J - V_0^P) \quad (6.4)$$

Im Folgenden wird für die Poren angenommen, dass deren Leitfähigkeit für alle Ionen identisch ist und für ihr Umkehrpotential somit $V_0^P = 0$ gilt.

6.2.2 Experiment

Im Experiment aus Abb. 6.4A wird die Rampendauer Δt_S in elf Schritten von 8.0 ms auf 0.4 ms reduziert (8 ms, 7 ms, 6 ms, 5 ms, 4 ms, 3 ms, 2 ms, 1 ms, 0.8 ms, 0.6 ms, 0.4 ms). Die Amplitude beträgt jeweils $\Delta V_S = -5.5$ V. Einige Verläufe von V_S sind im kleinen Bild schematisch gezeigt. Dieses Vorgehen entspricht einer horizontalen Bewegung im Phasendiagramm (Abb. 5.7) mit erwarteten maximale Spaltspannungen von bis zu -830 mV.

Wie im vorherigen Experiment beträgt die Intrazellulärspannung während der Rampe $V_M^{ramp} = -60$ mV und nach Ende der Rampe $V_M^{tail} = -120$ mV (unten). Die Kurve für die längste Rampe (rot) zeigt den im vorherigen Abschnitt beschriebenen Verlauf: Während der Rampe öffnen sich Kanäle und der Strom ist positiv (K^+ -Ausstrom). Nach Ende der Rampe schließen sich die Kanäle, was an der Abnahme des K^+ -Einstroms erkennbar ist. Für kürzer werdende Rampen ist das Öffnen der Kanäle während der Rampe auf Grund der teilweise sehr kurzen Rampendauern und der kapazitiven Transienten nur schwer zu erkennen. Die erzeugte K^+ -Leitfähigkeit kann jedoch auch für kurze Pulse anhand des

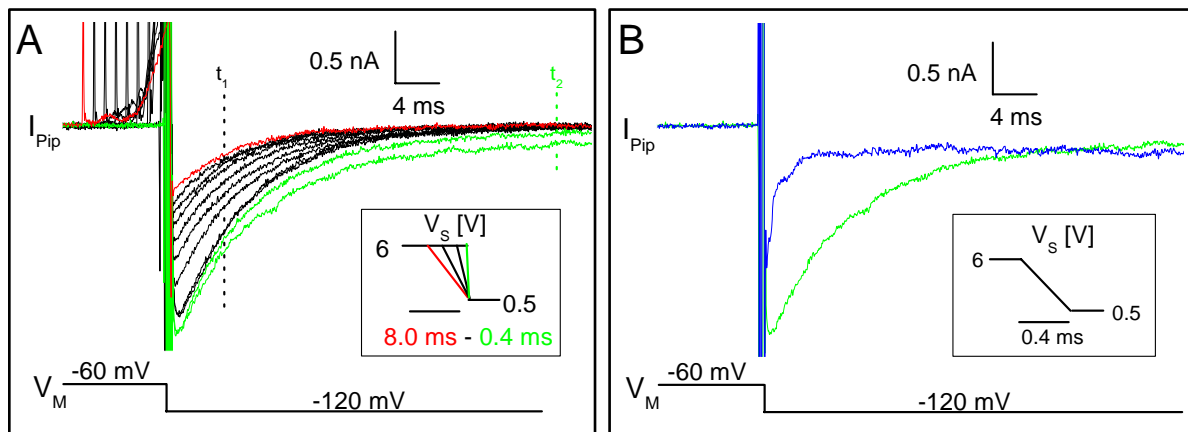


Abbildung 6.4: Öffnen von K^+ -Kanälen und Elektroporation durch extrazelluläre Stimulation. Oben: Pipettenströme I_{Pip} . Unten: Intrazellulärpotential V_M . Im kleinen Bild: Schema der Spannungsrampen V_S am Chip. (A) Variation der Rampensteilheit durch Veränderung der Rampendauer (schematisch gezeigt im Inlay). Rot und schwarz: Ausschließlich Öffnen von Ionenkanälen. Grün: Zusätzliches Erzeugen von Poren. (B) Vergleich der Membranströme vor (grün) und nach (blau) Zugabe des Kanalblockers Margatoxin für eine Rampendauer von 0.4 ms.

Stroms nach Ende der Rampe gesehen werden. Je steiler die Chiprampe, desto größer der Strom. Bei moderaten Rampensteilheiten (schwarz) ist der Strom ca. 30 ms nach Pulsende wieder auf dem Ausgangsniveau, da alle Kanäle wieder geschlossen sind. Für steile Chiprampen jedoch (grün), geht der Strom innerhalb des gezeigten Zeitintervalls nicht wieder auf das Ausgangsniveau zurück. Einige 100 ms später war der Ausgangswert wieder erreicht (nicht gezeigt), wie an den identischen Strömen vor den Pulsen abgelesen werden kann.

Die gepunkteten senkrechten Linien markieren die Zeiten, bei denen die Ströme für die später folgende Auswertung (Abb. 6.5) ermittelt werden.

6.2.3 Diskussion

Einsetzen der Elektroporation

Die beiden Kurven aus Abb. 6.4A mit den kürzesten Rampendauern von 0.6 ms und 0.4 ms (grün) unterscheiden sich in einem Punkt grundsätzlich von den anderen: Der Tailstrom klingt nicht auf den Wert vor dem Puls ab, sondern bleibt ca. 70 pA bzw. 260 pA erniedrigt. Es existiert hier eine weitere Leitfähigkeitskomponente, die auch nach dem Schließen der Kanäle erhalten bleibt und erst nach einigen hundert Millisekunden wieder auf Null zurückgeht (nicht gezeigt). Zwei Möglichkeiten kommen als Ursache für die erhöhte Leitfähigkeit nach dem Abklingen in Frage: Zum einen könnten einige Kanäle verzögert schließen und zum anderen könnten Poren in der Membran erzeugt werden.

Um den Beitrag der K^+ -Kanäle zur Leitfähigkeit zu eliminieren, wurde direkt nach der Aufnahme der untersten Stromkurve aus Abb. 6.4A der spezifische Kanalblocker Margatoxin [Garciaalvo *et al.* 1993] in die Messkammer hineinpipettiert (Endkonzentration 20 nM). Anschließend wurde die Rampe mit identischen Parametern wiederholt. Die grüne Kurve in Abb. 6.4B ist identisch zur untersten Kurve aus Abb. 6.4A und zeigt den Strom vor der Giftzugabe. Die blaue Kurve zeigt den Strom nach der Giftzugabe, sie enthält daher keinen Stromanteil durch K^+ -Kanäle. Der Sättigungsstrom nach Ende der Abklingphase ist für beide Kurven sehr ähnlich. Die zusätzliche Leitfähigkeitskomponente kann ihre Ursache daher nicht in geöffneten Kanälen haben, sie wird in der Membran erzeugten Poren zugeordnet und mit G_P identifiziert.

Die Schwelle zur Elektroporation wird bei einer Rampendauer von 0.6 ms und einer Amplitude von -5.5 V erreicht. Aus dem Phasendiagramm (Abb. 5.7) ergibt sich daraus eine Schwellenspannung von -550 mV, was in guter Übereinstimmung mit Literaturwerten ist. [Chang *et al.* 1992; Joshi & Schoenbach 2000]. Die schwarze Kurve zeigt eine Stromantwort, wie sie ausschließlich durch Elektroporation der Membran hervorgerufen wird. Charakteristisch für den Strom nach Pulsende ist der mehrphasige Verlauf. Die erste Phase ist die schnelle Relaxation innerhalb einiger Millisekunden auf den Sättigungswert, welche mit der „Stabilisationsphase“ aus Abschnitt 5.1.2 identifiziert werden kann. In der anschließenden zweiten Phase bleibt die Leitfähigkeit im gezeigten Zeitfenster konstant. Die dritte Phase, in der die Leitfähigkeit weiter abnimmt und auf den Ausgangswert sinkt,

liegt außerhalb des Zeitfensters der Abbildung. Phase zwei und drei zusammen werden von Teissie *et al.* [2005] als „Verschlussphase“ bezeichnet.

Auswertung der Leitfähigkeitskomponenten

Methode der Auswertung. Durch die angelegten Pulse werden zwei verschiedene Arten der Leitfähigkeit erzeugt. Für geringe Steilheiten (=lange Pulsdauern) wird ausschließlich die Kaliumleitfähigkeit G_K erhöht, während für hohe Steilheiten (=kurze Pulse) zusätzlich die Porenleitfähigkeit G_P einsetzt. Da G_K einige Millisekunden nach Pulsende wieder abgeklungen ist und im Gegensatz dazu G_P länger erhalten bleibt, können beide Komponenten auch ohne Einsatz eines Kanalblockers voneinander getrennt werden. Zur Bestimmung beider Leitfähigkeiten wird für jede Kurve der Strom bei $t_1 = 5$ ms und $t_2 = 35$ ms nach Pulsende ermittelt. Die beiden Zeitpunkte sind durch Pfeile in Abb. 6.4A markiert. Für die Spaltspannung gilt zu beiden Zeitpunkten $V_J = 0$.

Zum Zeitpunkt t_2 sind alle Kanäle geschlossen und ausschließlich die Elektroporationsleitfähigkeit G_P existiert. Zum Zeitpunkt t_1 ist die Stabilisationsphase der Elektroporation beendet und G_P ist näherungsweise konstant. Gleichzeitig sind noch Kanäle geöffnet $G'_K(t_1) > 0$. Die Leitfähigkeit der Kanäle zu diesem Zeitpunkt $G'_K = G'_K(t_1)$ wird zur Auswertung herangezogen. Dadurch wird zwar nicht die maximale Kanalleitfähigkeit G_K^{max} direkt nach Pulsende ausgewertet, aber Fehler aufgrund einer unbekanntem Elektroporationsleitfähigkeit werden vermieden. Die Ströme bei t_1 und t_2 sind somit gegeben durch:

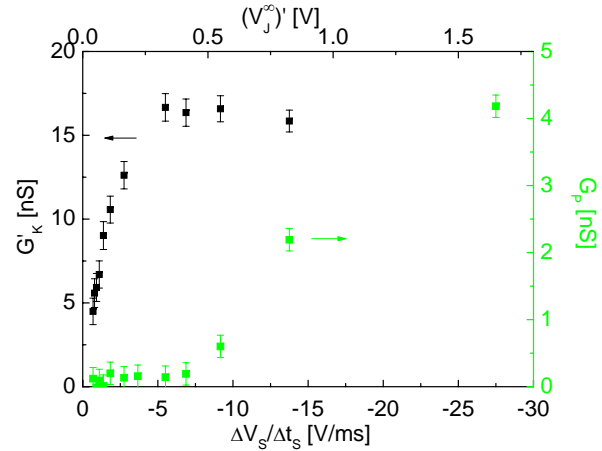
$$I_{Pip}(t_1) = G'_K(V_M - V_0^K) + G_P V_M \quad (6.5)$$

$$I_{Pip}(t_2) = G_P V_M \quad (6.6)$$

In Abb. 6.5 sind die Leitfähigkeiten G'_K (schwarz) und G_E (grün) in Abhängigkeit der Rampensteilheit aufgetragen. Dazu werden die Gln. 6.5 und 6.6 mit $V_M = -120$ mV und $V_0^K = -60$ mV verwendet, um G'_K und G_P aus $I_{Pip}(t_1)$ und $I_{Pip}(t_2)$ zu ermitteln. Die Fehlerbalken repräsentieren die Unsicherheiten in der Bestimmung der Ströme $I_{Pip}(t_1)$ und $I_{Pip}(t_2)$, wie sie durch das Rauschen des Verstärkers gegeben sind (50 pA). Um eine Vorstellung über die erzeugten Spaltspannungen zu bekommen, wird für die obere X-Achse die Rampensteilheit $\Delta V_S / \Delta t_S$ mit $c_S / g_J + c_S / g_E$ (Parameter aus Tab. 5.1) skaliert, was nach Gl. 5.18 dem stationären Wert der Spaltspannung $(V_J^\infty)'$ entspricht.

Kaliumleitfähigkeit. Durch die Verkürzung der Rampendauer im Experiment ändern sich zwei Parameter des Systems: Zum einen wird die Depolarisation der unteren Membran erhöht und zum anderen die Dauer der Depolarisation verringert. Aufgrund des ersten Effektes wird eine Zunahme und aufgrund des zweiten Effektes eine Abnahme der erzeugten K^+ -Leitfähigkeit erwartet. Der entscheidende Parameter, welcher bestimmt, ob in der Summe mehr oder weniger K^+ -Kanäle geöffnet werden, ist die spannungsabhängige Öffnungszeitkonstante der Kanäle τ_n . Nur wenn diese geringer als die Rampendauer ist, wird die stationäre Kanalstrom erreicht (siehe Abschnitt 5.1.1).

Abbildung 6.5: Leitfähigkeit der K^+ -Kanäle G'_K (schwarz) und der Poren G_P (grün) in Abhängigkeit der Chiprampe $\Delta V_S/\Delta t_S$. Die obere X-Achse zeigt die dazugehörige stationäre Spaltspannung $(V_J^\infty)'$.



Für steiler werdende Rampen nimmt die Kanalleitfähigkeit G'_K (schwarz) zunächst stark zu und geht dann für $\Delta V_S/\Delta t_S < -5.5$ V/ms ($\Delta t < 1$ ms) in Sättigung. Es werden Werte von $G'_K = G_K(t_1)$ bis zu 17 nS erreicht. Dies ist ca. halb so groß wie die maximale Kaliumleitfähigkeit direkt nach Pulsende G_K^{max} , wie Abb. 6.4 zeigt. Die maximale erzeugte Leitfähigkeit der unteren Membran ist daher ca. 34 nS. Die Ganzzelleitfähigkeit der Zelle bei einer intrazellulären Depolarisation auf ca. $V_M = 40$ mV beträgt ca. 250 nS (Experiment nicht gezeigt). Unter der Annahme, dass die Fläche der adhärenierten Membran ein Drittel der gesamten Membranfläche beträgt [Ulbrich 2004], bedeutet dies, dass nur ca. 41% der Kanäle der adhärenierten Membran geöffnet werden. Für kurze Rampendauern ($\Delta t \leq 1$ ms) bei denen Depolarisationen größer als 500 mV erwartet werden, ist die Öffnungszeitkonstante der Kanäle also entgegen der Abschätzung in Abb. 5.2 größer als die Rampendauer, so dass sich die stationäre Kaliumleitfähigkeit während der Rampe nicht ausbilden kann.

Elektroporationsleitfähigkeit. Ab ca. $\Delta V_S/\Delta t_S < -9.2$ V/ms ($\Delta t < 0.6$ ms) beginnt die Elektroporationsleitfähigkeit G_P (grün) einzusetzen. Es werden transient Leitfähigkeiten bis zu $G_P = 4.2$ nS erzeugt. Der letzte Punkt wurde dabei nach der Zugabe des Giftes für eine Rampendauer von 0.2 ms ermittelt. Die dazugehörige Stromkurve ist in Abb. 6.4A nicht gezeigt. Auch bei diesem Puls ging die Leitfähigkeit nach ca 1 s wieder vollständig auf Null zurück.

Unter der Annahme, dass die Poren mit dem Badelektrolyten (spezifische Leitfähigkeit ρ) gefüllt sind und eine Länge h besitzen, lässt sich aus der erzeugten Leitfähigkeit G_P die gesamte Fläche der Poren A_P ausrechnen:

$$A_P = \rho G_P h \quad (6.7)$$

Mit $\rho = 700$ Ωcm und $h = 5$ nm (Dicke der Lipidmembran [Hille 2001]) ergibt sich für die größte erzeugte Leitfähigkeit von $G_P = 4.2$ nS eine gesamte Porenfläche von $A_P = 147$ nm². Mit der verwendeten Methode kann nicht unterschieden werden, ob eine große

Pore der Fläche A_P oder mehrere kleine Poren erzeugt werden. Für den Fall einer großen runden Pore ergibt sich deren Radius zu $r_P = 6.8$ nm. Dies ist im Bereich der Radien, die in der Theorie für Poren erwartet werden, die nach Ende des Pulses wieder schließen [Weaver & Chizmadzhev 1996; Joshi & Schoenbach 2000]. Die Pore bzw. die Poren werden sehr wahrscheinlich im Zentrum der Adhäsionsfläche erzeugt, da dort während der Rampe die höchste Spaltspannung herrscht [Schoen & Fromherz 2006].

Anmerkung

Elektroporation macht sich im Experiment durch eine Zunahme des (negativen) Pipettenstroms bemerkbar. Eine Zunahme der Abdichtungsleitfähigkeit G_S hätte die gleiche Auswirkung auf den Pipettenstrom (siehe Gl. 5.27). Obwohl es unwahrscheinlich ist, dass Spannungspulse am Chip die Abdichtung der Pipette mit der Membran verschlechtern, wurde in Testexperimenten sichergestellt, dass tatsächlich Elektroporation die Ursache für die Leitfähigkeitserhöhung ist. Details dazu finden sich in Anhang B.

6.3 Permanente Elektroporation

Bei den bisher gezeigten Erhöhungen der Elektroporationsleitfähigkeit G_P handelte es sich um *reversible bzw. transiente* Effekte, da die Leitfähigkeit wieder vollständig auf das Ausgangsniveau zurückging. Bei einer weiteren Erhöhung der Spaltspannung durch noch steilere Rampen werden jedoch *permanente* Schäden der Zellmembran erwartet [Chang *et al.* 1992; Weaver & Chizmadzhev 1996].

6.3.1 Experiment

Den Unterschied zwischen transienter und permanenter Elektroporation zeigt Abb. 6.6. Nun werden die Ströme über mehrere Sekunden betrachtet, weshalb V_M auch nach dem Puls auf -60 mV gehalten wird, um die Zelle nicht dem Stress einer lang andauernden Hyperpolarisation auszusetzen, wie es bei -120 mV der Fall wäre. Daraus ergibt sich bei gleicher Leitfähigkeit G_P ein reduzierter Strom durch die Poren. Dies muss bei einem Vergleich der Ströme aus Abb. 6.6 mit denen aus Abb. 6.4 beachtet werden. Die gezeigten Daten werden nachträglich mit 100 Hz gefiltert. Der Stimulus ist zu kurz, um aufgelöst zu werden. Eine schematische Darstellung von V_S befindet sich im kleinen Bild.

Die schwarze Kurve zeigt den Stromverlauf für eine Rampe mit $\Delta V_S = -5.5$ V und $\Delta t = 0.2$ ms ($V_J^{max} = -1.5$ V aus Abb. 5.7). Nach Pulsende fließt zunächst ein Strom von ca. -50 pA, der innerhalb einiger hundert Millisekunden abnimmt und dann für ca. 2 s auf ca. -20 pA konstant bleibt. Danach relaxiert der Strom innerhalb weniger Sekunden weiter auf das Ausgangsniveau. Unmittelbar danach wird ein weiterer Puls an den Chip angelegt, diesmal mit der halben Dauer ($\Delta t = 0.1$ ms, $V_J^{max} = -2.45$ V aus Abb. 5.7). Die resultierende Stromkurve ist rot gezeichnet. Der maximale Strom direkt nach Pulsende ist nun deutlich erhöht bei ca. -120 pA. Auch hier nimmt der Strom innerhalb einiger hundert

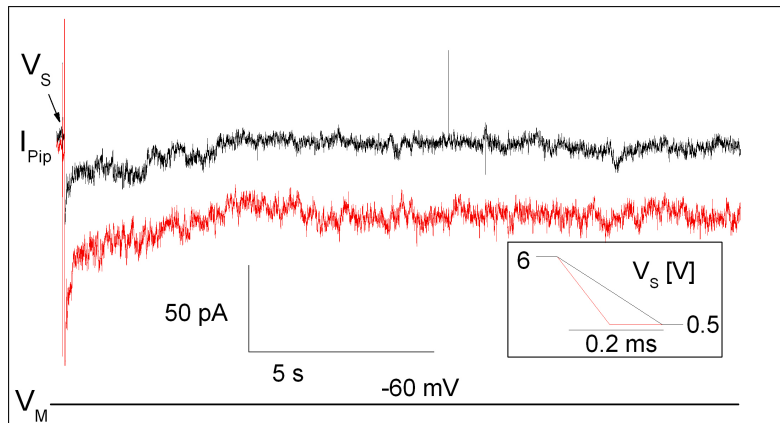


Abbildung 6.6: Unterschied zwischen transienter und permanenter Elektroporation. Membranströme I_{Pip} (oben) aufgrund von sehr kurzen Chippulsen hoher Amplitude (im kleinen Bild). Die Intrazellulärspannung V_M beträgt stets -60 mV (unten). Schwarz: Die Leitfähigkeit der Poren geht für $\Delta t_S = 0.2$ ms wieder vollständig zurück (transiente Elektroporation). Rot: Für sehr steile Rampen ($\Delta t_S = 0.1$ ms) bleibt auch nach mehreren Sekunden ein Teil der Elektroporationsleitfähigkeit bestehen (permanente Elektroporation).

Millisekunden zunächst schnell ab und bleibt auf einem niedrigerem Strom von ca. -50 pA konstant. Der Strom relaxiert innerhalb ca. 2 s deutlich, aber das Ausgangsniveau wird nicht mehr erreicht. Ein restlicher, permanenter Strom von ca. -30 pA bleibt bestehen. Auch 30 s nach Ende des Experiments beträgt der Strom noch -30 pA (nicht gezeigt).

6.3.2 Diskussion

Während den Rampen wird sowohl die Kaliumleitfähigkeit G_K als auch die Porenleitfähigkeit G_P erhöht. Nach Ende der Rampe enthält der Strom daher beide Komponenten. Der K^+ -Anteil kann jedoch vernachlässigt werden, da bereits 30 ms nach Pulsende alle wieder geschlossen sind. Der Strom nach der Rampe ist daher ausschließlich bestimmt durch die Elektroporationsleitfähigkeit ($I_{Pip} = G_P V_M$), und der Verlauf der Porenleitfähigkeit G_P kann direkt aus I_{Pip} ermittelt werden (mit $V_M = -60$ mV).

Die „Stabilisationsphase“ aus Abschnitt 5.1.2, welche nur einige Millisekunden dauert, ist in der Abbildung nicht zu erkennen. Alle sichtbaren, unterschiedlichen Abschnitte der Porendynamik sind Teil der „Verschlussphase“. Aus der Kurve für die längere Rampendauer (schwarz) geht hervor, dass G_P zunächst einige 100 ms lang fällt und für ca. 2 s konstant ca. 0.3 nS beträgt. Anschließend fällt G_P weiter und ist nach ca. 5 s wieder auf dem Ausgangsniveau, was einem vollständigen Schließen der Poren entspricht.

Bei der kürzeren Rampe (rot) fällt die Leitfähigkeit zunächst innerhalb der ersten Sekunde auf einen Wert von $G_P \approx 0.8$ nS. Dies ist ca. 0.5 nS höher als im Fall der längeren Rampe. Die höhere Spaltspannung während des Pulses hat mehr Poren oder größere Poren erzeugt. Auch hier setzt nach ca. 2 s ein Abfall von G_P ein. Allerdings geht die Leitfähigkeit nicht mehr auf Null zurück und eine permanente Leitfähigkeit von ca. $G_P^{perm} = 0.5$ nS

bleibt bestehen. Die erzeugten Poren schließen sich nicht mehr vollständig, und die Zellen werden dauerhaft beschädigt. Möglicherweise schließen sich die Poren auf einer noch längeren Zeitskala, was jedoch nicht untersucht wurde. Eine permanente Leitfähigkeit von $G_P^{perm} = 0.5$ nS entspricht nach Gl. 6.7 einer Porenfläche von $A_P = 17.5$ nm² bzw. einem Porenradius von $r_P = 2.4$ nm.

Der Verlauf von Strom bzw. Leitfähigkeit auf einer Zeitskala von Sekunden in Abb. 6.6 ist qualitativ repräsentativ für 19 untersuchte Zellen: Die Verschlussphase kann in mehrere Abschnitte gegliedert werden. Zunächst fällt die Leitfähigkeit innerhalb einiger 100 ms stark ab. Anschließend fällt die Leitfähigkeit deutlich langsamer, auf einer Zeitskala von Sekunden. Sie kann aber auch für mehrere Sekunden konstant bleiben. Die Verschlussphase resultiert nicht immer in einem vollständigen Schließen der Poren, es kann auch eine permanente Leitfähigkeit G_P^{perm} erhalten bleiben.

6.4 Details zur Elektroporation

Im Folgendem wird das Phänomen der Elektroporation genauer charakterisiert. Zunächst wird der Stromverlauf durch Poren detailliert beschrieben, bevor die Asymmetrie des Schwellwerts für Elektroporation hinsichtlich der Rampenrichtung erläutert wird. Schließlich wird der mittlere Schwellwert aus einer Statistik mehrerer Zellen bestimmt.

6.4.1 Analyse des Stromverlaufs nach Elektroporation

Experiment

In Abb. 6.7 sind Ströme gezeigt, die ausschließlich durch reversible Elektroporation hervorgerufen werden. Das Experiment wird an einer Zelle durchgeführt, deren Kanäle durch Margatoxin blockiert sind. Obwohl die Verschlussphase über das Zeitfenster der Abbildung hinausreicht, ist die Reversibilität durch den ähnlichen Strom vor den Pulsen zu erkennen.

In (A) sind fallende Rampen und in (B) steigende Rampen einer Dauer von 0.5 ms gezeigt. Die Amplitude ΔV_S wird von 0.5 V startend in 0.5 V Schritten erhöht. Die Zeit zwischen zwei Pulsen beträgt 5 s. Die Verläufe von V_S sind schematisch im kleinen Bild zu sehen. Aus Gründen der Übersicht sind nicht alle aufgenommenen Stromkurven gezeigt. In (A) betragen die Amplituden ΔV_S zu den gezeigten Daten -0.5 , -1.5 , -3.5 , -4.0 und -4.5 V und in (B) 0.5 , 2 , 2.5 und 3 V. Zur im nächsten Abschnitt folgenden Auswertung (Abb. 6.8) werden jedoch auch die restlichen Daten herangezogen. Die Intrazellulärspannung wird 50 ms vor dem Puls von -60 mV auf -120 mV geschaltet und 100 ms nach dem Pulse wieder zurück auf -60 mV. Während des gesamten gezeigten Zeitfensters beträgt V_M also -120 mV (unten).

Bei fallenden Rampen (A) zeigt der Strom nach Pulsende für kleine Steilheiten ($-\Delta V_S = 0.5$ V, 1.5 V) eine steigende Transiente, welche nach ca. 2 ms komplett abgeklungen ist. Danach ist der Strom wieder auf dem Ausgangsniveau. Erst für größere

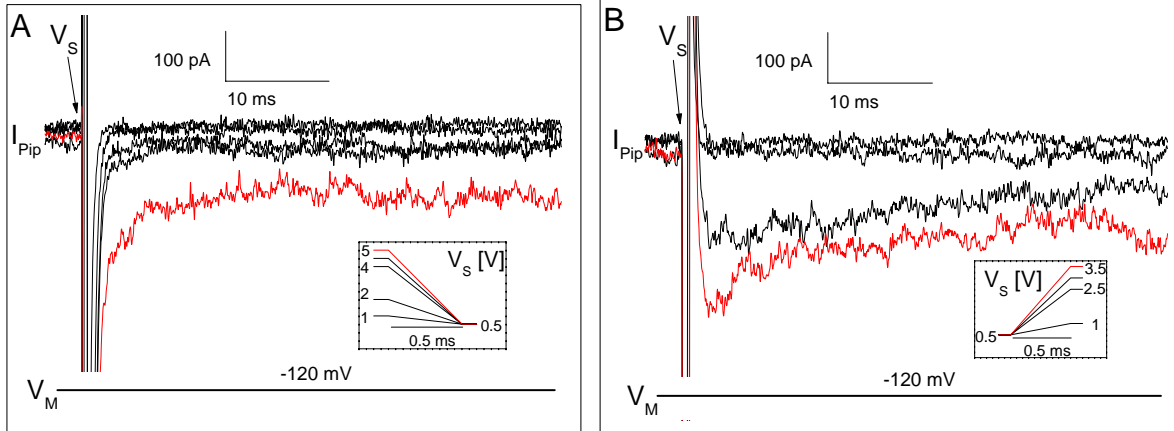


Abbildung 6.7: Pipettenströme I_{Pip} (oben) aufgrund von Elektroporation für (A) steigende Rampen und (B) fallende Rampen. Die dazugehörigen Chiprampen sind in den jeweiligen kleinen Bildern schematisch dargestellt. Die Intrazellulärspannung V_M ist konstant -120 mV (unten).

Steilheiten ($-\Delta V_S \geq 3.5$ V) fließt nach dem Abklingen der Rampe für mehr als 50 ms ein deutlicher Strom. Im Stromverlauf für die steilste Rampe mit $-\Delta V_S = 4.5$ V (rot) ist nach Ende der Transienten noch eine Relaxation mit einer etwas längeren Zeitkonstanten von ca. 10 ms zu erkennen, bevor sich der Strom ca. 100 pA unterhalb des Ausgangsniveaus stabilisiert.

Bei steigenden Rampen (B) ist ebenfalls eine schnelle Transiente nach Pulsende zu sehen, welche nun allerdings fällt. Für kleine Steilheiten ($\Delta V_S \leq 2$ V) kehrt der Strom nach Ende der Transienten auf den Wert vor dem Puls zurück. Bei steileren Rampen ($\Delta V_S = 2.5$ V, 3 V) stabilisiert sich der Strom ca. 100 pA bzw. 150 pA unterhalb des Ausgangsniveaus. Die Zeitkonstante dieses Abfalls ist mit ca. 10-20 ms ähnlich zu (A). Um denselben Strom von ca. 100 pA zu generieren, bedarf es mit steigenden Rampen einer 2 V geringeren Rampenamplitude als mit fallenden Rampen.

Diskussion

Schnelle Transiente. Die schnellen Transienten nach Ende des Pulses in (A) und (B) werden als Überlagerung von zwei Stromkomponenten interpretiert. Zum einen verursachen transienten Ströme I_{trans} einen schnellen Abfall mit den Zeitkonstanten τ_E und τ_J (siehe Abschnitt 5.2.6). Zum anderen nimmt der Stromfluss über den Chip, nach Ende der Spannungsrampe mit einer Zeitkonstanten von ca. $\tau_L = 500$ μ s ab, wie aus Abschnitt 5.3.2 bekannt ist. Dies führt nach den Gl. 5.23 bis Gl. 5.26 zu einem kapazitiven Strom über die beiden Membrankompartimente. Der Abfall mit τ_L war in den Experimenten, in denen auch Kanäle geöffnet wurden, nicht zu sehen, da die Kanalströme zu groß waren.

Relaxation auf Sättigungswert. Bei *beiden* Rampenrichtungen ergibt sich, falls sich der Sättigungswert des Stroms ändert, nach dem Ende der schnellen Transienten eine Relaxation des Stroms mit einer Zeitkonstanten von ca. 10-20 ms. Ströme durch Ionenkanäle

können als Ursache für diesen Strom ausgeschlossen werden, da diese nur durch fallende Rampen geöffnet werden, und die Kanäle durch Margatoxin blockiert wurden. Ferner konnten Effekte auf Grund des Chipstroms ausgeschlossen werden, da dieser bei unterschiedlichen Rampenrichtungen unterschiedliche Richtungen der Stromantwort hervorrufen würde. Daher wird diese Komponente Strömen durch Poren zugeordnet. Die Abnahme des Stroms wird durch das Schließen von Poren interpretiert. Die Zeitskala stimmt gut mit Angaben anderer Autoren überein [Chang *et al.* 1992; Teissie *et al.* 2005].

Der Strom nach dem Ende der schnellen Transiente ist daher ausschließlich gegeben durch die Leitfähigkeit der Poren. Werden durch den Puls keine Poren erzeugt ($G_P = 0$), so geht der Strom nach dem Ende der schnellen Transienten wieder auf das Ausgangsniveau zurück. Werden dagegen Poren erzeugt, so folgt I_{Pip} dem Verlauf von G_P . Die gezeigten, durch Elektroporation hervorgerufenen Ströme, sind hinsichtlich der auftretenden Zeitkonstanten und Amplituden typisch für mehr als 50 untersuchte Zellen.

6.4.2 Abhängigkeit der kritischen Spannung von der Rampenrichtung

Sowohl mit fallenden, als auch mit steigenden Rampen kann ein Stromfluss durch die Membran erzeugt werden. Dies bestätigt die Erfahrungen anderer Autoren, dass Elektroporation für Hyperpolarisation und Depolarisation der Membran stattfindet [Chang *et al.* 1992; Teissie *et al.* 2005]. Die Rampensteilheiten jedoch, die für das Einsetzen der Elektroporation benötigt werden, sind verschieden für die beiden Rampenrichtungen, wie bereits in Abb. 6.7 zu erkennen war.

Kritische Spannung bei $V_M = -120$ mV

Eine detaillierte Analyse dieses Phänomens ist anhand Abb. 6.8 möglich. Dort ist die mittlere Leitfähigkeit \bar{G}_P im Zeitraum 10 ms bis 25 ms nach Pulsende gegen die Rampensteilheit $\Delta V_S/\Delta t_S$ aufgetragen. Die Leitfähigkeiten werden dabei aus $I_{Pip} = G_P V_M$ mit $V_M = -120$ mV errechnet.

Die schwarzen Punkte in (A) sind aus den Daten in Abb. 6.7A ($\Delta V_S/\Delta t_S < 0$) und (B) ($\Delta V_S/\Delta t_S > 0$) gewonnen. Zusätzlich sind auch die Daten der dort nicht gezeigten Stromkurven verwendet. Der Nullpunkt der Leitfähigkeiten \bar{G}_P ist pro Ast auf den Wert von \bar{G}_P für die kleinste Steilheit bezogen, da dort keine Elektroporation erzeugt wird, also $\bar{G}_P = 0$ ist. Überschreitet die Steilheit einen gewissen Betrag, so setzt eine hohe Leitfähigkeit \bar{G}_P ein, sowohl für fallende als auch für steigende Rampen. Für steigende Rampen wird eine weniger steile Rampe benötigt, um den Schwellwert zur Auslösung von Elektroporation zu überschreiten, als für fallende Rampen. Als mögliche Ursache hierfür kommt das Intrazellulärpotential V_M in Frage, denn die gesamte über der Zellmembran abfallende Spannung ist die Differenz zwischen Intrazellulärspannung und Spaltspannung $V_M - V_J$. Es ist diese Spannung, und nicht die Spaltspannung V_J alleine, welche auf die Membran wirkt und Elektroporation verursacht. Diese Hypothese wird folgendermaßen überprüft:

Es sei V_C die kritische Transmembranspannung $V_M - V_J$, die Elektroporation auslöst. Zudem sei das Vorzeichen von V_C für das Eintreten der Elektroporation irrelevant. V_J^+ und V_J^- seien die kritischen Spaltspannungen, welche Elektroporation auslösen und durch steigende bzw. fallende Rampen erzeugt werden. Die Intrazellulärspannung V_M sei für beide Rampenrichtungen identisch. Dann gilt:

$$|V_C| = |V_M - V_J^+| = |V_M - V_J^-| \quad (6.8)$$

Für $V_J^- < V_M$ ergibt sich nach einer Umformung:

$$V_J^+ + V_J^- = 2V_M \quad (6.9)$$

Die Summe der beiden kritischen Spaltspannungen sollte demnach also der doppelten Intrazellulärspannung entsprechen. Um dies zu testen, müssen V_J^+ und V_J^- möglichst genau bestimmt werden. Bisher wurde eine konstante Kapazität des Chips c_S angenommen und V_J^{max} aus Gl. 5.20 abgeschätzt. Um die tatsächliche Spaltspannung, die während einer Rampe erzeugt wird, genauer abzuschätzen, muss die Spannungsabhängigkeit der Chipkapazität berücksichtigt werden. Diese verursacht einen nicht-konstanten Strom über den Chip, wie in Abb. 5.9 gezeigt und folglich eine nicht-konstante Spaltspannung $V_J(t)$. Nach Gl. 5.24 ergibt sich folgender Ausdruck für $V_J(t)$:

$$V_J(t) = j_S(t) \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) \quad (6.10)$$

Durch Messung des Stroms während der Rampe $j_S(t)$ kann daher die Spaltspannung genauer ermittelt werden als durch die bisher verwendete Näherung $j_S = c_S \Delta V_S / \Delta t_S$. Die maximalen Ströme, die während der Rampe, welche Elektroporation auslöst, erreicht werden, seien j_S^+ für steigende Rampen und j_S^- für fallende Rampen. Für $V_J^{(+/-)}$ gilt

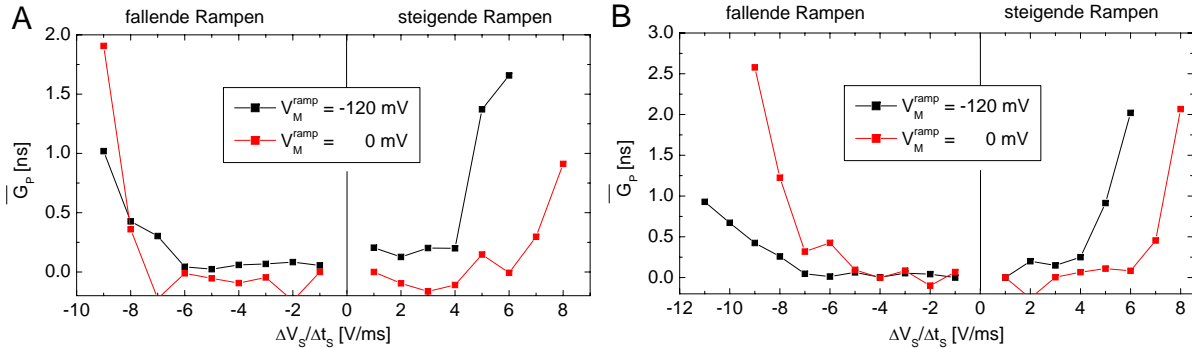


Abbildung 6.8: Mittlere Porenleitfähigkeit \bar{G}_P nach einem Puls in Abhängigkeit der Rampensteilheit für ein Intrazellulärpotential während des Pulses von $V_M^{ramp} = -120$ mV (schwarz) und $V_M^{ramp} = 0$ (rot). (A) und (B) zeigen identische Auswertungen an zwei verschiedenen Zellen.

somit nach Gl. 5.24:

$$V_J^{(+/-)} = j_S^{(+/-)} \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) \quad (6.11)$$

Für steigende Rampen beginnt ein starker Anstieg von \bar{G}_E bei $\Delta V_S/\Delta t_S \approx 4$ V/ms. Der maximale Strom, der während dieser steigenden Rampe fließt, ist $j_S^+ = 16.7$ mA/cm² (nicht gezeigt). Mit fallenden Rampen wird eine Steilheit von -6 V/ms benötigt, um Elektroporation auszulösen. Der dazugehörige maximale Chipstrom beträgt $j_S^- = -21.7$ mA/cm² (nicht gezeigt). Die Spaltleitfähigkeit ist für die gemessene Adhäsionsfläche $A_J = 332$ μm² nach Gl. 5.7 $g_J = 27$ mS/cm². Nach Gl. 6.11 ergeben sich mit der theoretischen Badleitfähigkeit von $g_E = 145$ ms/cm² die maximalen Spaltspannungen zu $V_J^+ = 733$ mV für steigende und $V_J^- = -953$ mV für fallende Rampen. Aus Gl. 6.9 folgt dann $V_M = -110$ mV. Tatsächlich beträgt V_M in der Messung -120 mV. Der geringe Unterschied legt nahe, dass der größte Teil der Asymmetrie durch das Intrazellulärpotential verursacht wird. Eine genauere Übereinstimmung kann nicht erwartet werden, da die schrittweise Erhöhung von ΔV_S keine absolut exakte Bestimmung von V_J^+ bzw. V_J^- zulässt.

Kritische Spannung bei $V_M = 0$

Weiteren Aufschluss geben die roten Datenpunkte in Abb. 6.8A. Zur Bestimmung dieser Leitfähigkeiten wird direkt nach Aufnahme der Ströme aus Abb. 6.7 das Experiment an derselben Zelle wiederholt (Stromkurven nicht gezeigt). Das Vorgehen zur Bestimmung der Daten ist identisch zum vorherigen Experiment. Direkt nach dem Ende der Rampe beträgt V_M wie im vorherigen Experiment -120 . Diesmal allerdings wird 50 ms vor der Rampe die Intrazellulärspannung $V_M^{ramp} = 0$ eingestellt. Während der Rampe ist die tatsächlich über der Membran abfallende Spannung also identisch zur Spaltspannung. Nach Gl. 6.9 sollte daher $V_J^+ = -V_J^-$ bzw. $j_S^+ = j_S^-$ gelten. Bei den Schwellen der Steilheiten $\Delta V_S/\Delta t_S = -7$ V/ms und $\Delta V_S/\Delta t_S = 7$ V/ms fließen die maximalen Ströme $j_S^+ = 22.4$ mA/cm² und $j_S^- = -21.8$ mA/cm² (nicht gezeigt), woraus sich analog zu vorher $V_J^+ = 984$ mV und $V_J^- = -958$ mV errechnet. Auf Grund dieses geringen Unterschiedes kann geschlossen werden, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit das Intrazellulärpotential für den Großteil der beobachteten Asymmetrie bei $V_M = -120$ mV verantwortlich ist.

Auch in 11 weiteren Zellen, wurde eine ähnliche Asymmetrie beobachtet. Eine Zelle davon lieferte die Daten in Abb. 6.8B, bei der ein identisches Experiment wie in Abb. 6.8A durchgeführt wurde. Nur bei $V_M = -120$ mV (schwarz) war eine deutliche Asymmetrie der Schwelle für Elektroporation hinsichtlich der Rampenrichtung ersichtlich, nicht jedoch bei $V_M = 0$ (rot).

6.4.3 Abhängigkeit der kritischen Spannung von der Adhäsionsfläche

Konzept

Der Zusammenhang zwischen der kritischen Spannung und der Adhäsionsfläche soll nun untersucht werden. Durch Einsetzen von $g_J = G_J/A_J$ und $\xi = g_J/g_E$ in Gl. 6.11 ergibt sich für die beiden Rampenrichtungen nach einer Umformung folgender Zusammenhang zwischen den kritischen Strömen über den Kondensator und der Adhäsionsfläche:

$$j_S^{(+/-)} = \frac{V_J^{(+/-)} G_J}{1 + \xi} \frac{1}{A_J} \quad (6.12)$$

Aufgrund des Intrazellulärpotentials V_M unterscheiden sich j_S^+ und j_S^- . Die Auswirkungen von V_M lassen sich eliminieren, wenn für den kritischen Strom und die kritische Transmembranspannung die Mittelwerte der Beträge für steigende und fallende Rampen ermittelt werden: $j_S^C = 1/2(|j_S^+| + |j_S^-|)$ und $V_C = 1/2(|V_J^+| + |V_J^-|)$. Ferner ist ξ für große Kontaktflächen A_J nach Gl. 5.19 viel kleiner als eins und kann in Gleichung 6.12 vernachlässigt werden. Somit gilt für die Mittelwerte:

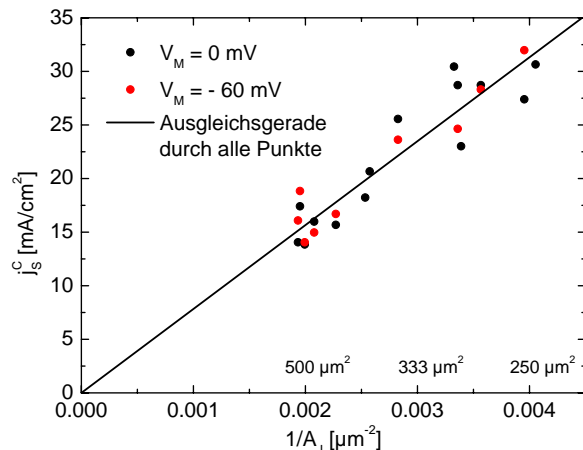
$$j_S^C = V_C G_J \frac{1}{A_J} \quad (6.13)$$

Falls die Näherung $1 + \xi \simeq 1$ zulässig ist, sollte sich daher in einer Auftragung von j_S^C gegen $1/A_J$ ein linearer Zusammenhang mit einer Steigung $V_C G_J$ ergeben. Bei bekanntem G_J ließe sich daraus die kritische Transmembranspannung V_C gewinnen.

Experiment und Auswertung

Abb. 6.9 zeigt eine Auswertung von j_S^C gegen $1/A_J$ für 16 Zellen mit Adhäsionsflächen von $250 \mu\text{m}^2$ bis $500 \mu\text{m}^2$. In dieser Messreihe wird das KCl in Intra- und Extrazellulärlösung durch CsF ersetzt. Zudem wird in der Extrazellulärlösung CaCl_2 und MgCl_2

Abbildung 6.9: Mittlere kritische Stromdichte über den Chip, bei der Elektroporation einsetzt j_S^C in Abhängigkeit der inversen Adhäsionsfläche $1/A_J$ für zwei verschiedene Intrazellulärspannungen V_M während der Rampe. Zur Definition von j_S^C siehe Text. Aus der Steigung der Ausgleichsgeraden kann die kritische Spannung V_C ermittelt werden.



durch MgSO_4 ersetzt. Auf diese Weise werden alle Kanalströme blockiert. [Hille 2001]. Die Membranströme, die mit derartigen Messlösungen erzeugt werden, sind analog zu denen, die mit blockierten Kanälen und KCl-Lösungen erzielt werden. Der gemessene spezifische Widerstand dieser alternativen Extrazellulärlösung beträgt $\rho^{CsF} = 950 \text{ } \Omega\text{cm}$. Für den Spaltwiderstand $G_J = g_J A_J$ ergibt sich demnach nach Gl. 5.7 $G_J^{CsF} = 67 \text{ nS}$.

Der für das Einsetzen der Elektroporation benötigte kritische Strom j_S^C wird folgendermaßen bestimmt: Für eine Pulsdauer von 0.4 ms wird die Rampenamplitude schrittweise erhöht. Dabei wird 50 ms vor dem Puls das Intrazellulärpotential von -60 mV auf $V_M = 0$ geschaltet und 100 ms nach dem Puls wieder zurück. Der maximale Chipstrom für steigende Rampen, bei dem erstmals eine Leitfähigkeitserhöhung erscheint, ist dann j_S^+ . Anschließend wird die Prozedur für fallende Rampen wiederholt und j_S^- ermittelt. Der Mittelwert der Beträge für beide Rampenrichtungen ist j_S^C (schwarze Punkte). Hat die Zelle noch keine permanente Schädigung, wird das Experiment für ein Intrazellulärpotential von $V_M = -60 \text{ mV}$ wiederholt und ein zweiter Wert für $|j_S^C|$ ermittelt (rote Punkte).

Wie von Gl. 6.13 vorhergesagt, nimmt der kritische Chipstrom j_S^C linear mit der inversen Zellfläche zu. Die Näherung $1 + \xi \simeq 1$ war daher zulässig. Die lineare Ausgleichsgerade durch den Ursprung für alle Datenpunkte hat die Steigung $V_C G_J = 78.3 \text{ nA}$. Daraus ergibt sich mit $G_J = 67 \text{ nS}$ eine kritische Spannung von $V_C = 1.17 \text{ V}$. Dieser Wert stimmt gut mit den in Abschnitt 6.4.2 bestimmten Schwellen und Literaturangaben überein [Chang *et al.* 1992; Joshi & Schoenbach 2000].

6.5 Zusammenfassung

Durch geeignete Wahl des Stimulationspulses konnten gezielt die beiden Stimulationsmechanismen (i) Öffnen von Ionenkanälen und (ii) Elektroporation ausgelöst werden.

Für depolarisierende Pulse (fallende Rampen) geringer Steilheit wurden ausschließlich Kanäle geöffnet. Durch Erhöhung der Rampensteilheit wurden mehr Kanäle geöffnet. Ab einer gewissen Schwelle setzte reversible Elektroporation ein. Beide Komponenten konnten durch den Kanalblocker Margatoxin unterschieden werden. Für sehr steile Rampen wurde permanente Elektroporation erzeugt und die Zellen wurden dauerhaft geschädigt. Mit hyperpolarisierenden Pulsen (steigende Rampen) konnte ausschließlich Elektroporation erzeugt werden.

Der kritische Transmembranspannung, ab der Elektroporation einsetzt lag zwischen 800 mV und 1.17 V . Hinsichtlich der Rampenrichtungen existierte eine Asymmetrie im Schwellwert der Elektroporation. Das Intrazellulärpotential, welches zur gesamten Transmembranspannung beiträgt, konnte als Ursache identifiziert werden.

Die Experimente stellen die Basis für die Entwicklung eines effektiven und zellschädlichen Stimulationsprotokolls für Nervenzellen dar.

Kapitel 7

Anwendung der Chips in anderen Projekten

Chips, welche mit den Hoch-K-Materialien HfO_2 und TiO_2 beschichtet waren, wurden auch in anderen Projekten erfolgreich angewendet. In all diesen Fällen war das jeweilige Experiment mit SiO_2 -beschichteten Chips nicht möglich.

7.1 Öffnen von K^+ -Kanälen in HEK293-Zellen

Das direkte kapazitive Öffnen des spannungsgesteuerten Ionenkanals Kv1.3 gelang mit TiO_2 -beschichteten Chips (17.6 nm auf Si_3N_4) bereits vor dieser Arbeit [Ulbrich & Fromherz 2005]. Das dazugehörige Experiment ist in Abb. 7.1 gezeigt. Das Membranpotential beträgt während der gesamten Messung $V_M = -80$ mV. Ebenso, wie in den bisher gezeigten Messungen, wird eine hochohmige Extrazellulärlösung verwendet, in der Na^+ durch Glukose ersetzt ist. Analog zu Abb. 6.1 verursachen fallende Rampen am Chip (oben) einen Ausstrom von Kalium während der Rampe (unten). Je steiler die Rampe, desto stärker der Ausstrom.

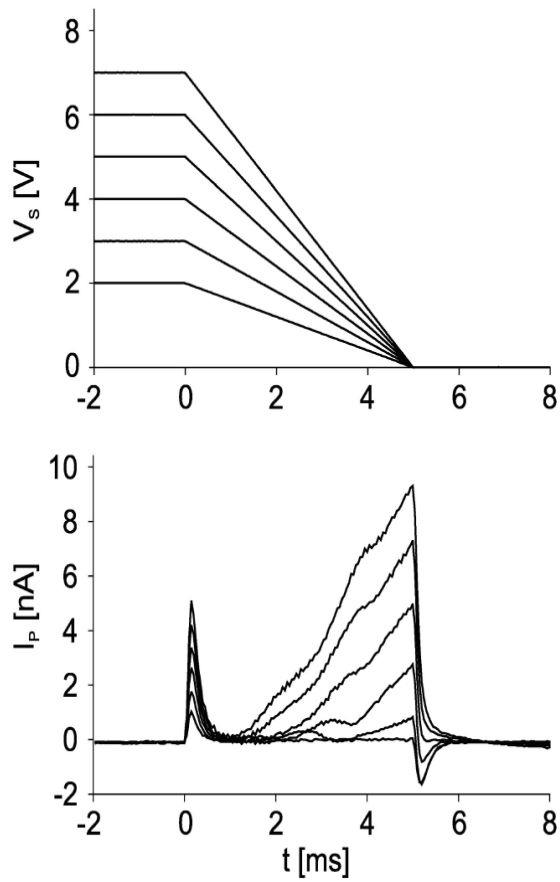


Abbildung 7.1: Kapazitives Öffnen des spannungsabhängigen Ionenkanals Kv1.3. Negative Rampen am Chip (oben) depolarisieren die adhärte Membran. Die Kanäle öffnen und bewirken einen Ausstrom von K^+ -Ionen (unten) [Ulbrich & Fromherz 2005].

7.2 Öffnen von Na^+ -Kanälen in HEK293-Zellen

Mit HfO_2 -beschichteten Chips (Dicke 10 nm) konnte der spannungsabhängige Na^+ -Kanal NaV1.4 , welcher stabil in HEK293 Zellen exprimiert wurde, kapazitiv geöffnet werden [Schoen & Fromherz 2005]. Das Vorgehen dazu war ähnlich zu den Experimenten aus Kapitel 5.

Das Experiment ist in Abb. 7.2 gezeigt. Das Intrazellulärpotential beträgt $V_M = -80$ mV. Fallende Rampen am Chip (oben) erzeugen eine Depolarisation der adhärerten Membran (Rampendauer 1 ms, Rampenamplituden -4 V bis -6 V). Dies öffnet die NaV1.4 -Kanäle. Es werden Na -Konzentrationen verwendet, welche nahe an den physiologischen Bedingungen sind (intrazellulär 5 mM, extrazellulär 50 mM). Daher bewirkt ein Öffnen der Kanäle einen Natriumeinstrom während der Rampe, was sich durch einen negativen Strom über die Membran bemerkbar macht (unten). Analog zu Kapitel 5 gilt: Je steiler die Rampe ist, desto mehr Kanäle werden geöffnet.

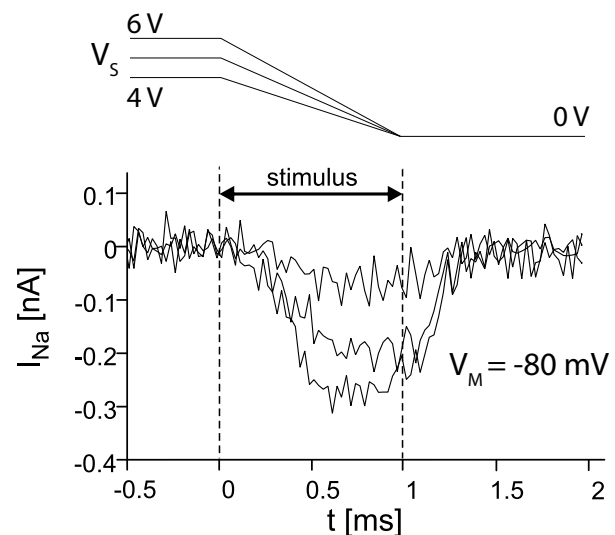


Abbildung 7.2: Kapazitives Öffnen des spannungsabhängigen Ionenkanals NaV1.4 . Negative Rampen am Chip (oben) depolarisieren die adhärerte Membran. Die Kanäle öffnen und bewirken einen Einstrom von Na^+ -Ionen (unten) [Schoen & Fromherz 2005].

7.3 Öffnen von Ionenkanälen in Schneckenneuronen

In Schneckenneuronen wurden schon in einigen Arbeiten Aktionspotentiale ausgelöst (z.B. Zeck & Fromherz [2001]; Kaul *et al.* [2004]). Da dort SiO_2 als Dielektrikum eingesetzt wurde, konnte ein Aktionspotential nur durch Elektroporation ausgelöst werden. Mit Hilfe von HfO_2 -isolierten Chips (Dicke 10 nm) gelang das kapazitive Öffnen von spannungsgesteuerten Na^+ - und K^+ -Kanälen auch unter physiologischen Bedingungen in Schneckenneuronen [Schoen & Fromherz 2006].

Ein derartiges Experiment zeigt Abb. 7.3. Das Intrazellulärpotential der Zelle wird auf $V_M = -60$ mV gehalten. Wieder wird die adhärenierte Membran durch fallende Rampen am Chip depolarisiert. Die Rampen haben eine Dauer von 20 ms und Amplituden zwischen -0.4 V und -1.4 V (oben). Die Depolarisation verursacht zunächst eine Öffnung der Na^+ -Kanäle, da deren Öffnungszeitkonstante kleiner als die der K^+ -Kanäle ist. Dies bewirkt einen negativen Strom (Na^+ -Einstrom) zu Beginn der Rampe. Der negative Strom nimmt während der Rampe wieder ab, da die Na^+ -Kanäle inaktivieren und gleichzeitig die Anzahl der geöffneten K^+ -Kanäle zunimmt. Zum Ende der Rampe sind ausschließlich K^+ -Kanäle geöffnet und der Strom ist positiv (K^+ -Ausstrom).

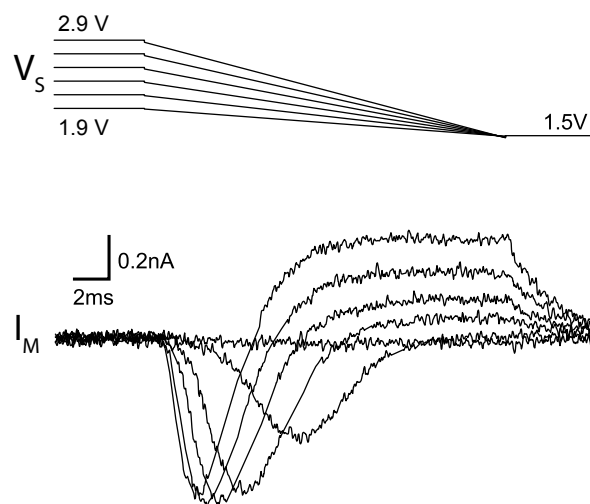


Abbildung 7.3: Kapazitives Öffnen von Ionenkanälen in Schneckenneuronen. Negative Rampen am Chip (oben) depolarisieren die adhärenierte Membran. Während der Chiprampe öffnen sich zunächst Na^+ -Kanäle, was einen negativen Strom (Na^+ -Einstrom) bewirkt. Anschließend inaktivieren die Na^+ -Kanäle und die K^+ -Kanäle öffnen sich, was einen positiven Strom (K^+ -Ausstrom) zur Folge hat (nach Schoen & Fromherz [2006]).

7.4 Stimulation von Hirnschnitten

Mit TiO_2 -beschichteten Chips wurden kultivierte Hirnschnitte kapazitiv stimuliert und die elektrische Aktivität wurde mit dem Chip gemessen [Hutzler & Fromherz 2004].

Der Chip, welcher Verwendung fand, ist in Abb. 7.4A gezeigt. Auf der linken Seite befinden sich zwölf runde Kondensatoren (Durchmesser 0.1 mm), welche den Hirnschnitt kapazitiv stimulieren. Auf der rechten Seite befinden sich zwölf Transistoren, welche die elektrische Aktivität des Hirnschnitts messen. Das Gatedielektrikum der Transistoren (Fläche $78 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$) besteht aus 8 nm TiO_2 auf 10 nm SiO_2 . Auf den Kondensatoren besteht das Dielektrikum aus einer 12 nm dicken TiO_2 -Schicht auf Al_2O_3 -Puffer. Abb. 7.4B zeigt schematisch die Lage eines kultivierten Hirnschnitts auf dem Chip.

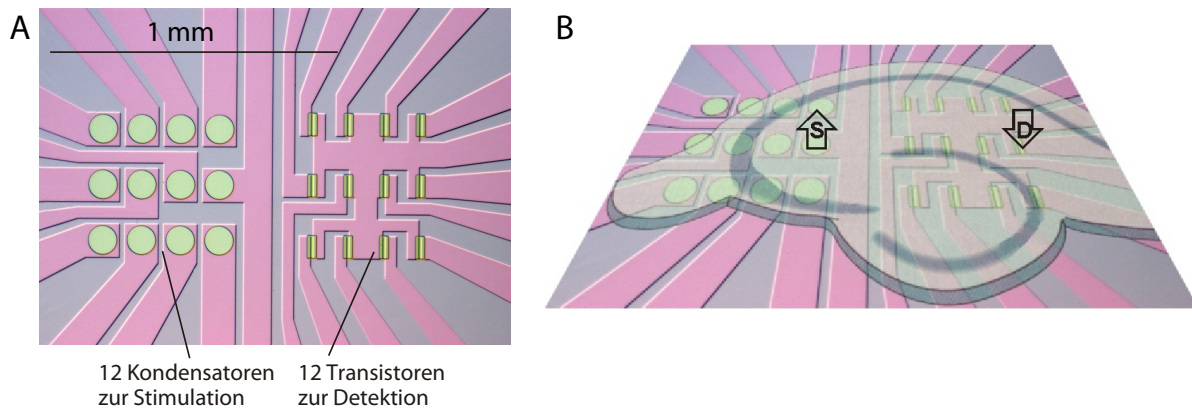


Abbildung 7.4: TiO_2 -beschichteter Chip zu Stimulation und Detektion elektrischer Aktivität in kultivierten Hirnschnitten. (A) Lage der Simulations-Kondensatoren und Detektions-Transistoren. (B) Lage des Hirnschnitts während eines Messung (nach Hutzler [2006]).

Den schematischen Ablauf eines Experiments zeigt Abb. 7.5. An einen Kondensator wird eine Spannung angelegt, wie in (A) gezeigt. Die steile fallende Transiente erzeugt in den Neuronen, welche sich oberhalb des Kondensators befinden, Aktionspotentiale. Der Ort, an dem dies stattfindet, ist in (B) durch das rote Kreuz markiert. Die Aktionspotentiale breiten sich entlang den Axonen (gelbe Bögen in B) aus. Die Axone bilden mit Dendriten anderer Zellen Synapsen. Ein Aktionspotential in den Axonen verursacht an den Synapsen einen Einstrom von Ionen. In den dazugehörigen Zellkörpern (blaues Kreuz in B) entsteht daraufhin ein Ausstrom, welcher in der Umgebung der Zellen ein sogenanntes „Feldpotential erzeugt“. Befindet sich unter den Zellen ein Transistor, so kann das Feldpotential gemessen werden, wie in (C) gezeigt ist.

Der Einsatz des TiO_2 in diesem Projekt brachte zwei Vorteile. Zum einen war die Kapazität von SiO_2 -beschichteten Kondensatoren nicht ausreichend, um ein Feldpotential auszulösen und zum anderen erhöhte es die chemische Stabilität der Chips. Während SiO_2 -beschichtete Chips nach ca. zwei Kulturzyklen unbrauchbar waren, zeigten sich die TiO_2 -beschichteten Chips als robuster. Mehr als 20 Kulturzyklen konnten mit einem Chip durchgeführt werden.

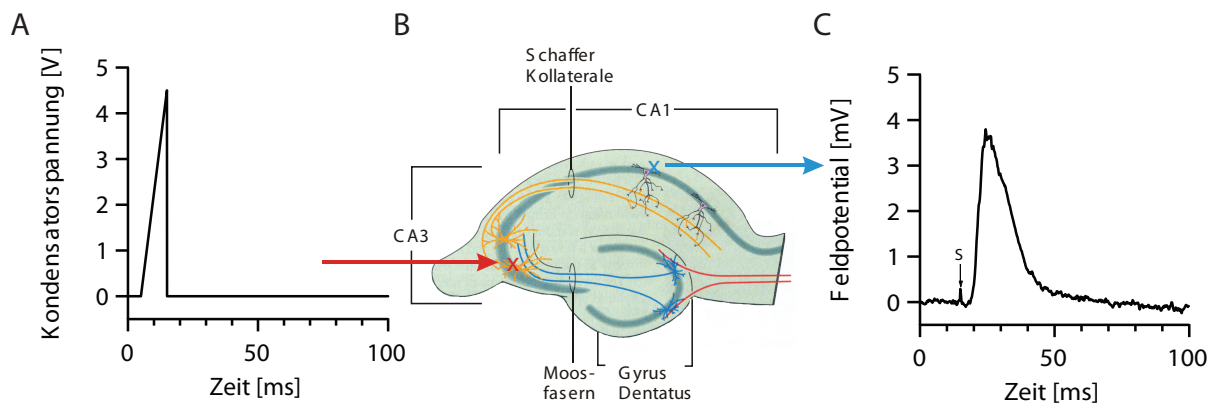


Abbildung 7.5: (A) Eine negative Spannungstransiente erzeugt Aktionspotentiale in Neuronen, die sich oberhalb des Kondensators befinden (rotes Kreuz in B). Synaptische Übertragung führt zu elektrischer Aktivität der postsynaptischen Neuronen (blaues Kreuz in B), welche mit dem Transistor gemessen wird (C) [Hutzler 2006].

Anhang A

Schottky-Mott-Plot

Im Rahmen der Boltzmannnäherung gilt im Verarmungsbereich der CV-Kurve eines MOS-Systems [Nicollian & Brews 1982]

$$\frac{1}{c_{MOS}^2} = \frac{1}{c_{OX}^2} + \frac{V_{MS} - V_{FB} - k_B T / e_0}{\varepsilon_0 \varepsilon_{Si} e_0 N_A / 2} \quad (\text{A.1})$$

In einem Schottky-Mott-Plot wird das inverse Quadrat der Kapazität eines MOS Systems $1/c_{MOS}^2$ gegen die angelegte Spannung V_{MS} aufgetragen. Der Verarmungsbereich kann nun nach Gl. A.1 linear genähert werden. Auch für Hoch-K-EOS Systeme gilt Gl. A.1, wenn c_{MOS} durch c_S , c_{OX} durch c_{SAT} und V_{MS} durch V_{ES} ersetzt wird.

Abb. A.1 zeigt die Schottky-Mott-Plots (schwarze Punkte) der Daten aus Abb. 3.2 für SiO_2 und Abb. 3.6 für HfO_2 und TiO_2 . Aus der Steigung im Verarmungsbereich kann nach Gl. A.1 die Dotierkonzentration N_A berechnet werden. Die Auswertung ist nur zuverlässig, wenn keine Grenzflächenzustände vorhanden sind. Da diese die CV-Kurve strecken (siehe Abschnitt 2.1.2), bewirken sie im Schottky-Mott-Plot eine geringere Steigung und führen somit zu einer Überschätzung von N_A .

Auch die Flachbandspannung V_{FB} kann aus dem Schottky-Mott-Plot gewonnen werden. Dazu wird der Schnittpunkt der Geraden, die sich im Verarmungsbereich ergibt (rot) mit dem Wert der Sättigung im Anreicherungsbereich (grün) ermittelt. Der Wert der Spannung am Schnittpunkt ist $V_{FB} - k_B T / e_0$.

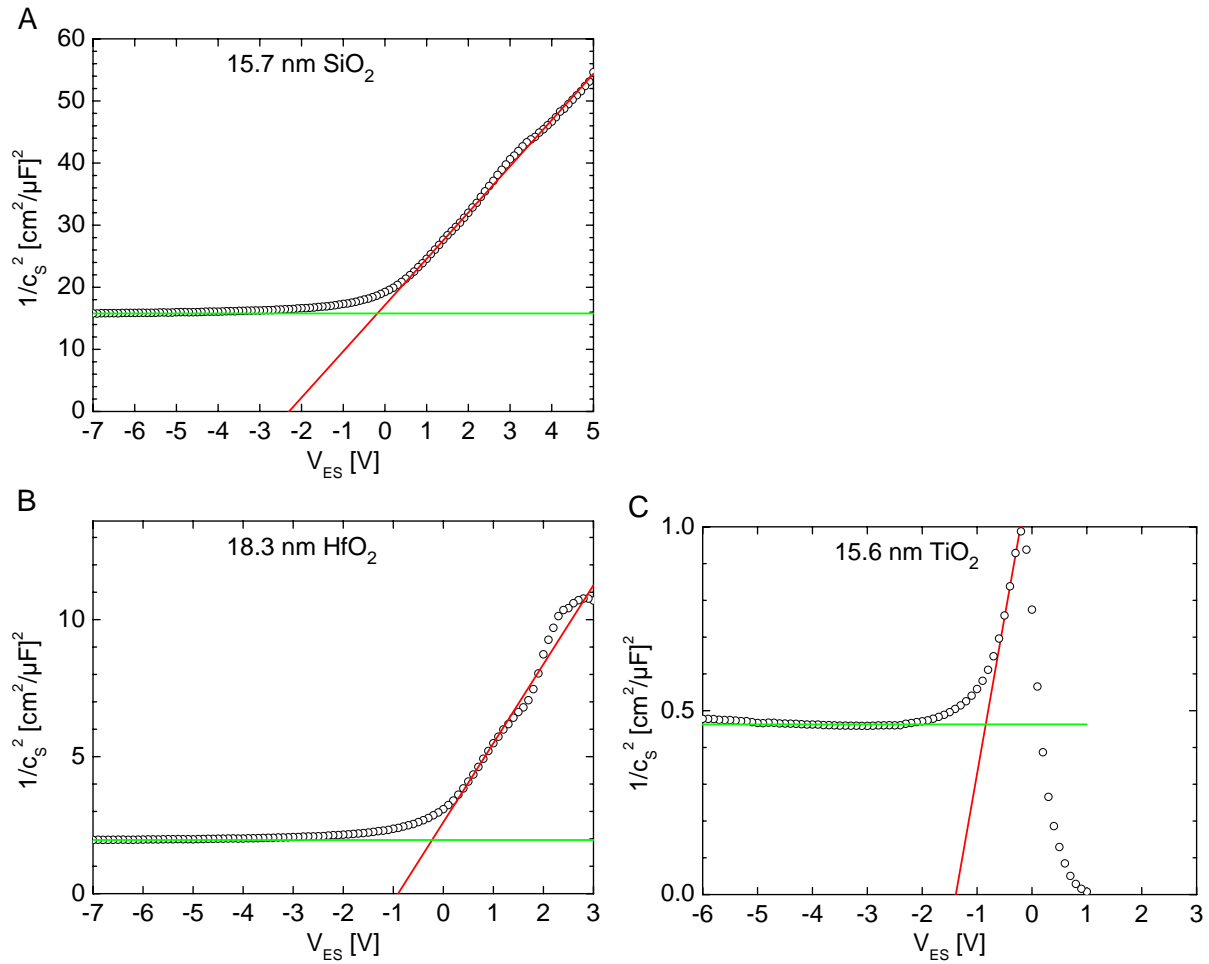


Abbildung A.1: Schottky-Mott-Plots für alle drei untersuchten Oxide. Die Daten stammen aus Abb. 3.2 für SiO_2 und Abb. 3.6 für HfO_2 und TiO_2 .

Anhang B

Test auf Elektroporation

In den Experimenten wurde davon ausgegangen, dass *Elektroporation* die Ursache für die lang anhaltende Leitfähigkeit nach dem Chippuls war. Allerdings ist auch vorstellbar, dass sich die *Abdichtleitfähigkeit* G_S zwischen Pipette und Membran erhöht (vgl. Abb. 5.6. Beide Effekte machen sich durch einen Anstieg des (negativen) Stroms in der Pipette bemerkbar.

Idee

Um zu beweisen, dass der gemessene Strom durch Poren in der unteren Membran fließt und nicht durch ein Leck an der Pipette, wird folgendes Experiment durchgeführt: Vor und nach dem eigentlichen Hauptpuls (HP), der die Leitfähigkeitserhöhung ΔG^{HP} verursacht, werden identische Testpulse (Vorpuls (VP) und Nachpuls (NP)) an den Chip angelegt, die eine Erhöhung der Spaltspannung V_J , und auch eine geringe Potentialerhöhung der Zellumgebung V_E bewirken. Die Testpulse werden dabei so gewählt, dass sie eine möglichst konstante Spaltspannung erzeugen, die weit unterhalb der Schwelle zur Elektroporation liegt. Vor dem Hauptpuls existiert in der unteren Membran keine Leitfähigkeit $G_P = 0$ und die Abdichtleitfähigkeit ist sehr gering $G_S < 1$ nS. Der Vorpuls sollte daher keinen Stromfluss über die untere Membran $I_M = 0$ und nur einen sehr geringen über die Abdichtung erzeugen. Dieser Strom dient als Referenz für den Strom während des Nachpulses. Der Hauptpuls erzeugt eine Leitfähigkeit ΔG^{HP} , die eine Änderung des Pipettenstroms verursacht. Durch den Nachpuls kann nun unterschieden werden, ob die Leitfähigkeit der Poren G_P oder die Abdichtleitfähigkeit G_S um ΔG^{HP} erhöht wurde: Aus dem Strom, der während des Nachpulses fließt und der erzeugten Leitfähigkeit ΔG^{HP} kann die Spannung, welche den Strom treibt, errechnet werden. Liegt diese im Bereich der erwarteten Spaltspannung V_J , so befindet sich ΔG^{HP} in der adhären Membran (G_P). Liegt sie dagegen im Bereich der erwarteten Spannung in der Zellumgebung V_E , so befindet sich ΔG^{HP} in der freien Membran und daher sehr wahrscheinlich an der Abdichtung zur Pipette (G_S).

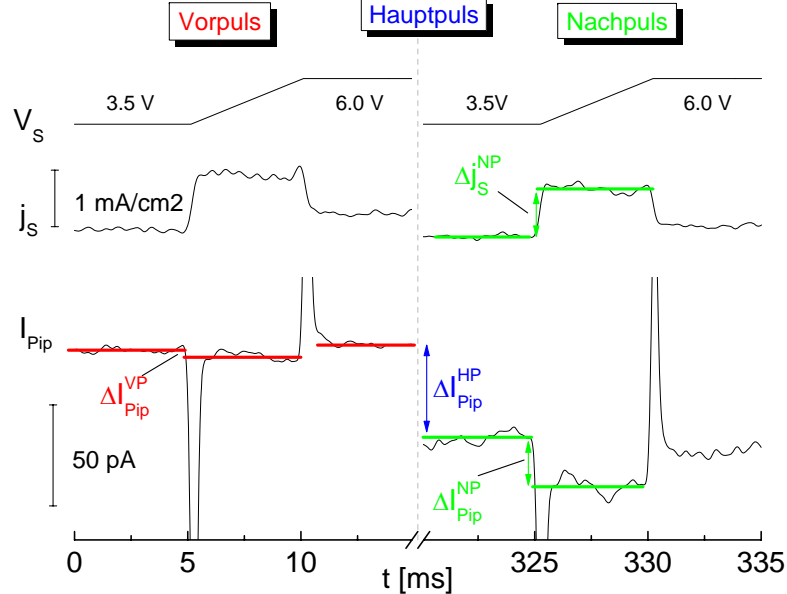


Abbildung B.1: Zur Klärung des Ursprungs der Leitfähigkeitserhöhung. Vor (links, rot) und nach (rechts, grün) dem Puls, welcher eine Leitfähigkeitserhöhung verursachte (nicht gezeigt), wurden Chiprampen einer geringen Steilheit (oben) angelegt. Der dadurch erzeugte Stromfluss j_S über den Chip ist in der Mitte und der Pipettenstrom I_{Pip} unten dargestellt. Während des Vorpulses änderte sich I_{Pip} kaum, da noch keine Leitfähigkeit in der Membran existierte. Durch den Hauptpuls wird eine Leitfähigkeit erzeugt. Aus der Änderung von I_{Pip} während des Nachpulses kann geschlossen werden, dass diese Leitfähigkeit in der unteren Membran erzeugt wird.

Experiment

Die Testrampen werden 90 ms vor und 230 ms nach dem Hauptpuls angelegt. Die Spannung bei den Testrampen wird von 3.5 V auf 6 V erhöht, da hier die Kapazität der Chips nur schwach variiert und so ein nahezu konstanter Stromfluss während der Rampen erreicht wird. Die Rampendauer der Testpulse beträgt 5 ms. Der Hauptpuls findet bei $t = 95$ ms statt. Dabei wird die Spannung zwischen zwei Samplingpunkten sprunghaft von 0.5 auf 6 V erhöht, um eine möglichst hohe Leitfähigkeit zu erzeugen. Die Rampendauer ist daher gegeben durch die Anstiegszeit des Analog-Ausgangs, die mit Hilfe eines Digital-Oszilloskops zu ca. 1 μ s gemessen wurde.

In Abb. B.1 ist der Pipettenstrom I_{Pip} (unten), die Chipstromdichte j_S (mitte) und die Chipspannung V_S (oben) während den Testpulsen gezeigt. Die Daten sind mit 1 kHz gefiltert. Die im Folgenden angegebenen Fehler werden aus den Messdaten geschätzt oder über die Gesetze der Fehlerfortpflanzung errechnet. Der Hauptpuls ist in der Abbildung nicht zu sehen; er findet zwischen den zwei Testpulsen statt.

Der absolute Strom beträgt vor dem Vorpuls ca. $I_{Pip} = -26$ pA. Da vorher noch kein Puls an den Chip angelegt wurde, ist dies der Leckstrom der Zelle nach Gl. 5.22. Die Intrazellulärspannung beträgt während der gesamten Messung $V_M = -60$ mV. Die gesamte Leckleitfähigkeit ergibt sich daher zu $g_L(A_J + A_{FM}) + G_S = I_L/V_M = 0.4$ nS.

Die Abdichtleitfähigkeit G_S ist folglich kleiner als 0.4 nS.

Auswertung

Vorpuls. Der Vorpuls erzeugt zu Beginn und am Ende des Pulses einen transienten Pipettenstrom aufgrund der Auf- bzw. Entladung der Membrankapazität. Dazwischen ist der Strom um einen geringen konstanten Betrag erniedrigt:

$$\Delta I_{Pip}^{VP} = -3.0 \pm 2.8 \text{ pA} \quad (\text{B.1})$$

Dieser Strom, der durch die Leckleitfähigkeit und kapazitive Ströme hervorgerufen wird, dient als Referenz für den Strom während des Nachpulses.

Hauptpuls. Der Hauptpuls verursacht einen Unterschied $\Delta I_{Pip}^{HP} = -45 \pm 4.5 \text{ pA}$ in den Strömen vor den beiden Testpulsen. Mit Hilfe des Intrazellulärpotentials $V_M = -60 \text{ mV}$ ergibt sich die Leitfähigkeitserhöhung durch den Hauptpuls zu:

$$\Delta G^{HP} = \Delta I_{Pip}^{HP} / V_M = 0.75 \pm 0.075 \text{ nS} \quad (\text{B.2})$$

Es gilt zu klären, ob G_S oder G_P um ΔG^{HP} erhöht wurde.

Nachpuls. Analog zum Vorpuls verursacht auch der Nachpuls zwischen den kapazitiven Transienten eine annähernd konstante Stromänderung. Allerdings ist der Betrag nun deutlich größer:

$$\Delta I_{Pip}^{NP} = -25.7 \pm 5.7 \text{ pA} \quad (\text{B.3})$$

Nach Abzug der durch den Vorpuls erzeugten Stromänderung, ergibt sich die Stromänderung, die der Nachpuls aufgrund der zusätzlichen Leitfähigkeit ΔG_{HP} bewirkt:

$$\Delta \tilde{I}_{Pip}^{NP} = \Delta I_{Pip}^{NP} - \Delta I_{Pip}^{VP} = 22 \pm 6.4 \text{ pA} \quad (\text{B.4})$$

Daraus lässt sich die Spannung \tilde{V} errechnen, die den Strom \tilde{I}_{Pip}^{NP} durch die Leitfähigkeit ΔG^{HP} treibt:

$$\tilde{V} = \tilde{I}_{Pip}^{NP} / \Delta G^{HP} = 29 \pm 8.9 \text{ mV} \quad (\text{B.5})$$

Diese Spannung muss nun mit den theoretisch möglichen Triebkräften V_J und V_E verglichen werden.

Theoretische Triebkräfte. Während den Testpulsen fließt ein fast konstanter Strom von $\Delta j_S = 0.766 \pm 0.061 \text{ mA/cm}^2$ über den Chip. Die Zellfläche beträgt $A_J = 250 \pm 25 \text{ } \mu\text{m}^2$, womit sich nach Gl. 5.7 $g_J = 36 \pm 3.6 \text{ ms/cm}^2$ ergibt. Daraus und mit $g_E = 145 \text{ ms/cm}^2$ lässt sich die Spaltspannung V_J^{NP} während des Nachpulses errechnen.

$$V_J^{NP} = j_S \left(\frac{1}{g_J} + \frac{1}{g_E} \right) = 26.6 \pm 3.4 \text{ mV} \quad (\text{B.6})$$

Für das Potential in der Zellumgebung während des Nachpulses V_E^{NP} ergibt sich:

$$V_E^{NP} = j_S \frac{1}{g_E} = 5.28 \pm 0.42 \text{ mV} \quad (\text{B.7})$$

Vergleich der Triebkräfte. Die aus dem Experiment gewonnene Triebkraft \tilde{V} liegt nahe der während des Nachpulses erwarteten Spaltspannung V_J^{NP} . Im Gegensatz dazu ist sie viel höher als das erwartete Potential in der Zellumgebung V_E^{NP} . Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Leitfähigkeit in der unteren Membran erzeugt wurde. Es liegt also Elektroporation und keine Verschlechterung der Abdichtung vor.

Für vier weitere Zellen wurde eine analoge Analyse durchgeführt und in jedem Fall war innerhalb der Fehlergrenzen $\tilde{V} \geq V_J^{NP} \gg V_E^{NP}$, so dass V_E^{NP} als Triebkraft ausgeschlossen werden konnte.

Anhang C

Chipprozessierung

Die Prozesse der Chipherstellung sind in Abb. C.1 gezeigt und in Tab. C zusammengefasst.

Nr.	Name	Parameter
1	Waferreinigung	H ₂ SO ₄ /H ₂ O ₂ , Verhältnis 3:1, 10 min H ₂ O/NH ₄ OH/H ₂ O ₂ , Verhältnis 5:1:1, 10 min HF, 1%, 1 min HCl/H ₂ O ₂ /H ₂ O, Verhältnis 6:1:1, 10 min
2	Feldoxid	Röhrenofen, Plateauzeit 6h, Plateautemp. 1000°C
3	Fotolack	Haftvermittler HMDS (30 s), 2.5 ml Lack 1215; 30 s; 4000rpm
4	Belichten	Belichtungszeit 5.2s, Wellenlänge 436 nm, Leistung 21 mW,
5	Entwickeln	Entwickler MF-84 MX, ca. 22 °C, 28 s
6	Ätzen	12.5% Ammoniumfluorid, Ätzrate ca. 80 nm/min
7	Lackentfernung	CARO: H ₂ SO ₄ /H ₂ O ₂ , Verhältnis 3:1
(8)	Pufferschicht	Si ₃ N ₄ RTP Ofen, NH ₃ , 1 atm, 30 s, 700°C Al ₂ O ₃ extern
9	Beschichtung	Al ₂ O ₃ , HfO ₂ , TiO ₂ : extern SiO ₂ : RTP-Ofen, O ₂ , 1 atm, 70 s, 1100°C; H ₂ , 1 atm, 4 min, 470°C
10	Schutzlack	wie Schritt Nr. 3 aber kein HMDS
11	Rückseitenmetallisierung	Aufdampfanlage, Aluminium, Rate ca. 5 Å/s, Dicke 200 nm
12	Wafer sägen	Quadrate mit Kantenlänge 4 mm
13	Lackentfernung	Aceton mit Ultraschall, Isopropanol, Millipore
(14)	Vorderseitenmetallisierung	wie Schritt Nr. 11, aber durch Lochmaske

Tabelle C.1: Prozessschritte der Chipherstellung. Die Schritte mit geklammerten Nummern wurden nicht bei allen Wafern durchgeführt.

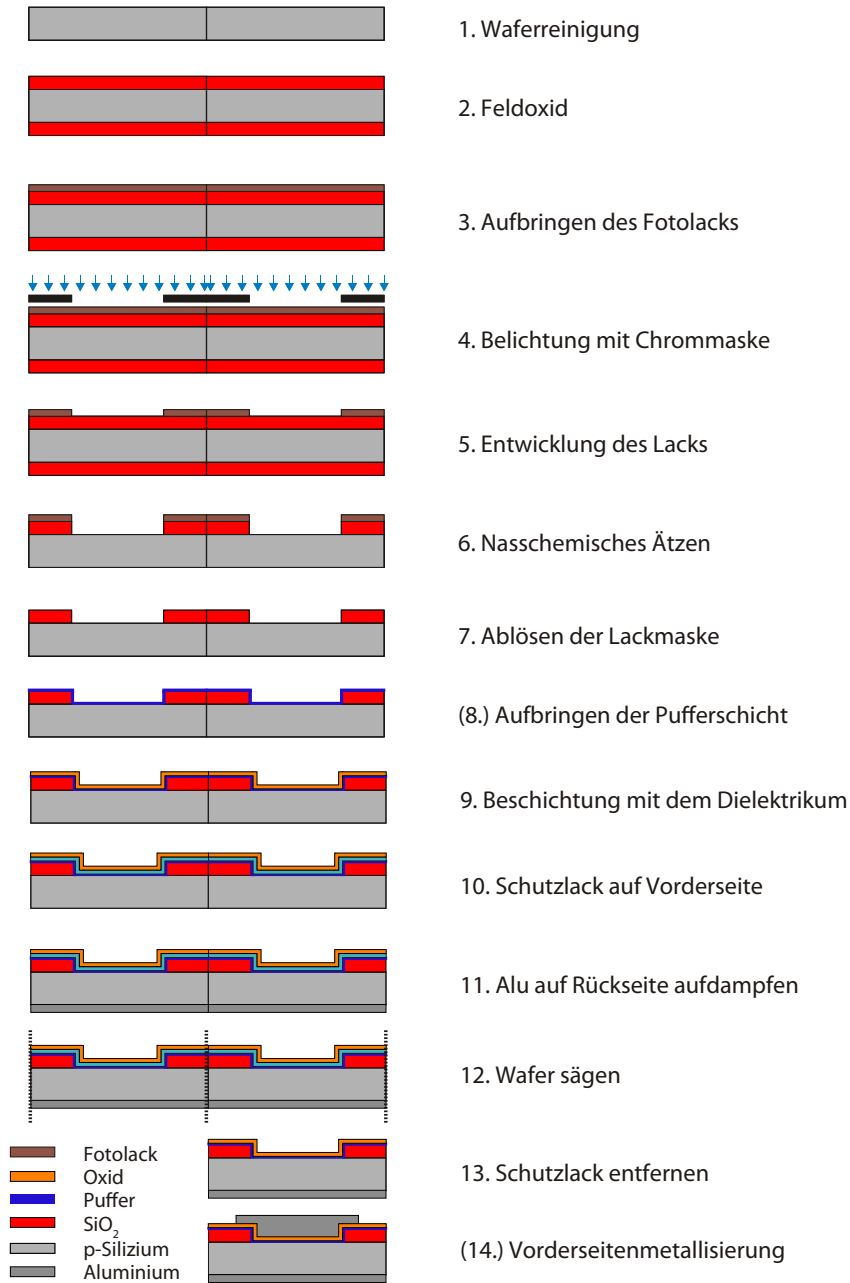


Abbildung C.1: Schema der Chipprozessschritte. Die Schritte mit geklammerten Nummern wurden nicht bei allen Wafern durchgeführt.

Anhang D

Geräte und Chemikalien

Geräte

Gerätename	Typ	Hersteller
Aufdampfanlage	Univex 450	Leybold, Hanau
Ellipsometer	EP ³	Nanofilm, Göttingen
Mask Aligner	MA 4 BSA	Karl Suss, Garching
Nass-Chemie-Bank		Arias, Schwerte
Profilometer	Dektak 6M	Veeco Instruments, Woodbury, USA
Röhrenofen	CPS 382-II	Centrotherm, Blaubeuren
RTP Ofen	STEAG AST100NT	Mattson, Fremont, USA
Trockenofen	T 6030P	Heraeus Instruments, Hanau
Probe Station	Summit 11551	Cascade Microtech, Beaverton, USA
Wafersäge	DAD 320	Disco, Tokyo, Japan
Potentiostat	Parstat 2263	Princeton Applied Research, Oak Ridge, USA
Impedanz-Analysator	4294A	Agilent, Palo Alto, USA
Patch-Clamp-Verstärker	EPC10	HEKA, Lambrecht
PC Schnittstellenkarte	PCI-1600	HEKA, Lambrecht
IEEE1394 Videokamera	XCD X710	Sony, Berlin

Lösungen

Messlösung für Chipcharakterisierung

Angaben in mM

NaCl 160

pH-Wert 5.9

gelöst in ionenfreiem Wasser

Extrazellulärmedium (standard)

Angaben in mM

KCl 5.4, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1, Glukose 250, HEPES 5

pH-Wert 7.2, eingestellt mit KOH

gelöst in ionenfreiem Wasser, steril filtriert

Extrazellulärmedium (CsF)

Angaben in mM

CsF 5.4, MgSO₄ 2.8, Glukose 250, HEPES 5

pH-Wert 7.2, eingestellt mit CsOH

gelöst in ionenfreiem Wasser, steril filtriert

Intrazellulärmedium (standard)

Angaben in mM

KCl 140, HEPES 10

pH-Wert 7.4, eingestellt mit KOH

gelöst in ionenfreiem Wasser, steril filtriert

Intrazellulärmedium (CsF)

Angaben in mM

CsF 140, HEPES 10

pH-Wert 7.4, eingestellt mit CsOH

gelöst in ionenfreiem Wasser, steril filtriert

Zellkulturmedium

Dulbecco's MEM mit Glutamax-I, Sodium Pyravate, Glucose, Pyridoxine

Cat. Nr. 21885-025, Gibco, Invitrogen

Zusatz: 10% FKS, Gibco 40F6414K (nicht bei Kultur auf Chips)

Zusatz zur Aufrechterhaltung des Selektionsdrucks: 200 µg/ml Geneticin

Puffermedium

Dulbecco's PBS, Cat. Nr. 14040-091, Gibco, Invitrogen

Bezugsquellen

Wafer

4"-Si Substrat, Bor-dotiert, Orientierung 100
Widerstand 0.006-0.010 Ωcm , Dicke 500-550 μm
evtl. mit Rückseitenoxid
Si-Mat, 86899 Landsberg

Fotolack

ma-P1215
micro resist technology GmbH, 12555 Berlin

Entwickler

MX-84 MX
Shipley, Coventry, UK

Kulturschalen

Falcon 35-3001
BD Biosciences, 69126 Heidelberg

Kleber für Chips

medizinischer Kleber MK3
Fa. Sulzer Osypka, 79618 Rheinfelden-Herten

Basisches Reinigungsmittel

Tickopur R36
Dr. H. Stamm Chemische Fabrik GmbH, 12207 Berlin

Badelektroden

Elektrode Ag/AgCl, 0.5 mm Durchmesser, EP05
World Precision Instruments Inc., Sarasota, USA

Mikropipetten

1.050-1.5 x 100 mm, GB150-T10
Science Products GmbH, 65719 Hofheim

Ionenfreies Wasser

Millipore GmbH, Am Kronberger Hang 5, 65824 Schwalbach

sonstige Chemikalien

Sigma, 89552 Steinheim; Merck, 64271 Darmstadt

Literaturverzeichnis

- AARIK, J., AIDLA, A., KIISLER, A. A., UUSTARE, T., & SAMMELSELG, V. 1997.
Effect of crystal structure on optical properties of TiO₂ films grown by atomic layer deposition.
Thin Solid Films, **305**(1-2), 270–273.
- ALEKSANDROV, O. V., & AFONIN, N. N. 2003.
Effect of oxidizing environments on the diffusion-segregation boron distribution in the thermal silicon dioxide-silicon system.
Technical Physics, **48**(5), 580–586.
- AZZAM, R.M.A, & BASHARA, N.M. 1987.
Ellipsometry and Polarized Light.
Amsterdam: Elsevier.
- BARD, A. J., & FAULKNER, L. R. 2001.
Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications.
New York: Wiley.
- BRITTINGER, M. 2004.
Elektrische und chemische Signalübertragung in Zell-Transistor-Chips mit Ionenkanälen.
Doktorarbeit, Technische Universität München.
- CAMPBELL, S. A., KIM, H. S., GILMER, D. C., HE, B., MA, T., & GLADFELTER, W. L. 1999.
Titanium dioxide (TiO₂)-based gate insulators.
IBM Journal of Research and Development, **43**(3), 383–392.
- CHANG, D. C., CHASSY, B. C., SAUNDERS, J. A., & SOWERS, A. E. 1992.
Guide to Electroporation and Electrofusion.
San Diego: Academic Press, Inc.
- DUTOIT, E. C., CARDON, F., & GOMES, W. P. 1976.
Electrochemical Properties of Semiconducting TiO₂ (Rutile) Single-Crystal Electrode.
Berichte Der Bunsen-Gesellschaft-Physical Chemistry Chemical Physics, **80**(6), 475–481.
- FROMHERZ, P. 2005.
The Neuron-semiconductor Interface.
Pages 339–394 of: WILLNER, I., & KATZ, E. (eds), Bioelectronics.
Weinheim: Wiley VCH.

LITERATURVERZEICHNIS

- FROMHERZ, P., & STETT, A. 1995.
Silicon-Neuron Junction - Capacitive Stimulation Of An Individual Neuron On A Silicon Chip.
Physical Review Letters, **75**(8), 1670–1673.
- GARCIACALVO, M., LEONARD, R. J., NOVICK, J., STEVENS, S. P., SCHMALHOFER, W., KACZOROWSKI, G. J., & GARCIA, M. L. 1993.
Purification, Characterization, And Biosynthesis Of Margatoxin, A Component Of Centruroides-Margaritatus Venom That Selectively Inhibits Voltage-Dependent Potassium Channels.
Journal Of Biological Chemistry, **268**(25), 18866–18874.
- GERISCHER, H. 1990.
The Impact of Semiconductors on the Concepts of Electrochemistry.
Electrochimica Acta, **35**(11-12), 1677–1699.
- GLEIXNER, R., & FROMHERZ, P. 2006.
The extracellular electrical resistivity in cell adhesion.
Biophysical Journal, **90**(7), 2600–2611.
- GRAHAM, F. L., SMILEY, J., RUSSELL, W. C., & NAIRN, R. 1977.
Characteristics Of A Human Cell Line Transformed By DNA From Human Adenovirus Type-5.
Journal Of General Virology, **36**(JUL), 59–72.
- HAMANN, C.H., & VIELSTICH, W. 1998.
Elektrochemie.
Weinheim: Wiley-VCH.
- HAMILL, O. P., MARTY, A., NEHER, E., SAKMANN, B., & SIGWORTH, F. J. 1981.
Improved Patch-Clamp Techniques For High-Resolution Current Recording From Cells And Cell-Free Membrane Patches.
Pflugers Archiv-European Journal Of Physiology, **391**(2), 85–100.
- HARRIS, L. A., & WILSON, R. H. 1978.
Semiconductors for Photoelectrolysis.
Annual Review Of Materials Science, **8**, 99–134.
- HARRISON, T., GRAHAM, F., & WILLIAMS, J. 1977.
Host-Range Mutants Of Adenovirus Type-5 Defective For Growth In Hela-Cells.
Virology, **77**(1), 319–329.
- HILLE, B. 2001.
Ion Channels of Excitable Membranes.
Sunderland, U.S.A.: Sinauer Associates, Inc.
- HODGKIN, A. L., & HUXLEY, A. F. 1952.
A Quantitative Description of Membrane Current and its Application to Conduction and Excitation in Nerve.
Journal of Physiology, **117**, 500–544.

- HORI, T. 1997.
Gate Dielectrics and MOS ULSIs.
Berlin: Springer.
- HOUSSA, M. 2004.
High-k Gate Dielectrics.
London: Institute of Physics.
- HOUSSA, M., STESMANS, A., NAILI, M., & HEYNS, M. M. 2000.
Charge trapping in very thin high-permittivity gate dielectric layers.
Applied Physics Letters, **77**(9), 1381–1383.
- HUFF, H. R., & GILMER, D. C. 2005.
High Dielectric Constant Materials.
Berlin: Springer Verlag.
- HUTZLER, M. 2006.
Kopplung von Halbleiterchips an organotypische Hirnschnitte: Stimulation, Detektion und Modulation neuronaler Aktivität.
Doktorarbeit, Technische Universität München.
- HUTZLER, M., & FROMHERZ, P. 2004.
Silicon chip with capacitors and transistors for interfacing organotypic brain slice of rat hippocampus.
European Journal of Neuroscience, **19**(8), 2231–2238.
- JIMBO, Y., & KAWANA, A. 1992.
Electrical Stimulation And Recording From Cultured Neurons Using A Planar Electrode Array.
Bioelectrochemistry And Bioenergetics, **29**(2), 193–204.
- JOHNSON, R. S., LUCOVSKY, G., & BAUMVOL, I. 2001.
Physical and electrical properties of noncrystalline Al₂O₃ prepared by remote plasma enhanced chemical vapor deposition.
Journal Of Vacuum Science & Technology A-Vacuum Surfaces And Films, **19**(4), 1353–1360.
- JOSHI, R. P., & SCHOENBACH, K. H. 2000.
Electroporation dynamics in biological cells subjected to ultrafast electrical pulses: A numerical simulation study.
Physical Review E, **62**(1), 1025–1033.
- KAUL, R. A., SYED, N. I., & FROMHERZ, P. 2004.
Neuron-semiconductor chip with chemical synapse between identified neurons.
Physical Review Letters, **92**(3), Art No 038102.
- KIM, S. K., KIM, W. D., KIM, K. M., HWANG, C. S., & JEONG, J. 2004.
High dielectric constant TiO₂ thin films on a Ru electrode grown at 250 degrees C by atomic-layer deposition.
Applied Physics Letters, **85**(18), 4112–4114.

LITERATURVERZEICHNIS

- KOHLI, S., RITHNER, C. D., DORHOUT, P. K., DUMMER, A. M., & MENONI, C. S. 2005.
Comparison of nanometer-thick films by x-ray reflectivity and spectroscopic ellipsometry.
Review of Scientific Instruments, **76**(2), Art No 023906.
- KUKLI, K., AARIK, J., UUSTARE, T., LU, J., RITALA, M., AIDLA, A., PUNG, L., HARSTA, A., LESKELA, M., KIKAS, A., & SAMMELSELG, V. 2005.
Engineering structure and properties of hafnium oxide films by atomic layer deposition temperature.
Thin Solid Films, **479**(1-2), 1–11.
- KUMAR, A., FISCHETTI, M. V., NING, T. H., & GUSEV, E. 2003.
Hot-carrier charge trapping and trap generation in HfO₂ and Al₂O₃ field-effect transistors.
Journal of Applied Physics, **94**(3), 1728–1737.
- LAI, S. K. 1981.
2-Carrier Nature of Interface-State Generation in Hole Trapping and Radiation-Damage.
Applied Physics Letters, **39**(1), 58–60.
- LAI, S. K. 1983.
Interface Trap Generation in Silicon Dioxide When Electrons Are Captured by Trapped Holes.
Journal of Applied Physics, **54**(5), 2540–2546.
- LESKELA, M., & RITALA, M. 2002.
Atomic layer deposition (ALD): from precursors to thin film structures.
Thin Solid Films, **409**(1), 138–146.
- LO, S. H. 2005.
Gate Dielectric Scaling to 2.0-1.0 nm: SiO₂ and Silicon Oxynitride.
Pages 123–142 of: HUFF, H. R., & GILMER, D. C. (eds), High Dielectric Constant Materials.
Berlin: Springer.
- LUCOVSKY, G., & RAYNER, G. B. 2000.
Microscopic model for enhanced dielectric constants in low concentration SiO₂-rich noncrystalline Zr and Hf silicate alloys.
Applied Physics Letters, **77**(18), 2912–2914.
- MA, T. Z., CAMPBELL, S. A., SMITH, R., HOILLEN, N., HE, B. Y., GLADFELTER, W. L., HOBBS, C., BUCHANAN, D., TAYLOR, C., GRIBELYUK, M., TINER, M., COPPEL, M., & LEE, J. J. 2001.
Group IVB metal oxides high permittivity gate insulators deposited from anhydrous metal nitrates.
IEEE Transactions on Electron Devices, **48**(10), 2348–2356.
- MAHER, M. P., PINE, J., WRIGHT, J., & TAI, Y. C. 1999.
The neurochip: a new multielectrode device for stimulating and recording from cultured neurons.
Journal Of Neuroscience Methods, **87**(1), 45–56.

- MARTIN, N., ROUSSELOT, C., RONDOT, D., PALMINO, F., & MERCIER, R. 1997.
Microstructure modification of amorphous titanium oxide thin films during annealing treatment.
Thin Solid Films, **300**(1-2), 113–121.
- MORRISON, S. R. 1980.
Electrochemistry at Semiconductor and Oxidized Metal Electrodes.
New York: Plenum Press.
- MURARKA, S. P. 1975.
Diffusion And Segregation Of Ion-Implanted Boron In Silicon In Dry Oxygen Ambients.
Physical Review B, **12**(6), 2502–2519.
- NEWMAN, J. 1966.
Resistance For Flow Of Current To A Disk.
Journal Of The Electrochemical Society, **113**(5), 501–502.
- NICOLLIAN, E. H., & BREWS, J. R. 1982.
MOS (Metal Oxide Semiconductor) Physics and Technology.
New York: Wiley.
- OGAWA, S., & SHIONO, N. 1992.
Interface-Trap Generation Induced by Hot-Hole Injection at the Si-SiO₂ Interface.
Applied Physics Letters, **61**(7), 807–809.
- PEREGO, M. 2006.
Persönliche Mitteilung.
- PIERRET, R.F. 1996.
Semiconductor Device Fundamentals.
Reading: Addison-Wesley.
- PRESS, W. H. 1986.
Numerical Recipes.
Cambridge: Cambridge University Press.
- RITALA, M. 2004.
Atomic Layer Deposition.
Pages 17–64 of: HOUSSA, M. (ed), High-K Gate Dielectrics.
London: Institute of Physics.
- ROBERTSON, J. 2000.
Band offsets of wide-band-gap oxides and implications for future electronic devices.
Journal of Vacuum Science & Technology B, **18**(3), 1785–1791.
- ROBERTSON, J. 2006.
High dielectric constant gate oxides for metal oxide Si transistors.
Reports On Progress In Physics, **69**(2), 327–396.

LITERATURVERZEICHNIS

- SAKMANN, B., & NEHER, E. 1995.
Single-Channel Recording.
New York: Plenum Press.
- SCAREL, G. 2006.
Private Mitteilung.
- SCAREL, G., SPIGA, S., WIEMER, C., TALLARIDA, G., FERRARI, S., & FANCIULLI, M. 2004.
Trends of structural and electrical properties in atomic layer deposited HfO₂ films.
Materials Science and Engineering B-Solid State Materials for Advanced Technology, **109**(1-3), 11–16.
- SCHOEN, I., & FROMHERZ, P. 2005.
Activation of Na⁺ channels in HEK293 cell membrane by capacitive stimulation with silicon chip.
Applied Physics Letters, **87**, Art No 193901.
- SCHOEN, I., & FROMHERZ, P. 2006.
The Mechanism of Extracellular Stimulation of Nerve Cells on an Electrolyte-Oxide-Semiconductor Capacitor.
submitted to Biophysical Journal.
- STÖCKER, H. 1998.
Taschenbuch der Physik.
Frankfurt am Main: Harri Deutsch.
- STUHMER, W., RUPPERSBERG, J. P., SCHROTER, K. H., SAKMANN, B., STOCKER, M., GIESE, K. P., PERSCHKE, A., BAUMANN, A., & PONGS, O. 1989.
Molecular-Basis Of Functional Diversity Of Voltage-Gated Potassium Channels In Mammalian Brain.
Embo Journal, **8**(11), 3235–3244.
- SUNTOLA, T. 1989.
Atomic layer epitaxy.
Materials Science Reports, **4**(7), 261–312.
- SZE, S. M. 1981.
Physics of Semiconductor Devices.
New York: Wiley.
- TANG, H., LEVY, F., BERGER, H., & SCHMID, P. E. 1995.
Urbach Tail Of Anatase TiO₂.
Physical Review B, **52**(11), 7771–7774.
- TAREK, M. 2005.
Membrane electroporation: A molecular dynamics simulation.
Biophysical Journal, **88**(6), 4045–4053.

- TEISSIE, J., GOLZIO, M., & ROLS, M. P. 2005.
Mechanisms of cell membrane electropermeabilization: A minireview of our present (lack of?) knowledge.
Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects, **1724**(3), 270–280.
- TIELEMANN, D.P. 2004.
The molecular basis of electroporation.
BMC Biochemistry, **5**, 10.
- ULBRICH, M. H. 2004.
Öffnen von Ionenkanälen durch kapazitive Kopplung in Zellmembranen auf Siliziumchips.
Doktorarbeit, Technische Universität München.
- ULBRICH, M. H., & FROMHERZ, P. 2005.
Opening of K⁺ channels by capacitive stimulation from silicon chip.
Applied Physics a-Materials Science & Processing, **81**(5), 887–891.
- VANHELLEMONT, J., MAES, H. E., SCHAEKERS, M., ARMIGLIATO, A., CERVA, H., CULLIS, A., DESANDE, J., DINGES, H., HALLAIS, J., NAYAR, V., PICKERING, C., STEHLE, J. L., VANLANDUYT, J., WALKER, C., WERNER, H., & SALIERI, P. 1993.
Round-Robin Investigation of Silicon-Oxide on Silicon Reference Materials for Ellipsometry.
Applied Surface Science, **63**(1-4), 45–51.
- WAGENAAR, D. A., PINE, J., & POTTER, S. M. 2004.
Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays.
Journal Of Neuroscience Methods, **138**(1-2), 27–37.
- WALLRAPP, F., & FROMHERZ, P. 2006.
TiO₂ and HfO₂ in electrolyte-oxide-silicon configuration for applications in bioelectronics.
Journal Of Applied Physics, **99**(11).
- WALLRAPP, F., & VASSANELLI, S. 2003.
unpublished.
- WEAVER, J. C., & CHIZMADZHEV, Y. A. 1996.
Theory of electroporation: A review.
Bioelectrochemistry And Bioenergetics, **41**(2), 135–160.
- WEIS, R., & FROMHERZ, P. 1997.
Frequency dependent signal transfer in neuron transistors.
Physical Review E. Statistical Physics, Plasmas, Fluids, & Related Interdisciplinary Topics, **55**(1), 877–89.
- WILK, G. D., WALLACE, R. M., & ANTHONY, J. M. 2001.
High-kappa gate dielectrics: Current status and materials properties considerations.
Journal of Applied Physics, **89**(10), 5243–5275.

LITERATURVERZEICHNIS

- YAN, J., GILMER, D. C., CAMPBELL, S. A., GLADFELTER, W. L., & SCHMID, P. G. 1996.
Structural and electrical characterization of TiO₂ grown from titanium tetrakis-isopropoxide (TTIP) and TTIP/H₂O ambients.
Journal of Vacuum Science & Technology B, **14**(3), 1706–1711.
- ZAFAR, S., CALLEGARI, A., GUSEV, E., & FISCHETTI, M. V. 2003.
Charge trapping related threshold voltage instabilities in high permittivity gate dielectric stacks.
Journal Of Applied Physics, **93**(11), 9298–9303.
- ZECK, G., & FROMHERZ, P. 2001.
Noninvasive neuroelectronic interfacing with synaptically connected snail neurons immobilized on a semiconductor chip.
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **98**(18), 10457–10462.
- ZHU, W. J., MA, T. P., ZAFAR, S., & TAMAGAWA, T. 2002.
Charge trapping in ultrathin hafnium oxide.
IEEE Electron Device Letters, **23**(10), 597–599.
- ZIMMERMANN, U., & NEIL, G. A. 1996.
Electromanipulation of Cells.
Boca Raton: CRC Press.

Danken möchte ich:

- Herrn Prof. Dr. Peter Fromherz für die interessante Themenstellung, die engagierte Betreuung und die vielen wertvollen Ratschläge.
- Herrn Prof. Dr. Andreas Bausch für die Übernahme des Zweitgutachtens.
- ASM Microchemistry für die Beschichtung mit den Hoch-K-Materialien.
- Dr. Giovanna Scarel und ihren Kollegen im Labor MDM für die TiO₂-Beschichtung, die vielen Diskussionen und die Gastfreundschaft während meines Aufenthalts.
- Helge Vogl für die technische Unterstützung bei den Reinraumarbeiten und die schnelle Hilfe bei Problemen.
- Christian Stangl für die Grundlage des Simulationsprogramms.
- Michaela Morawetz für die Kultur der HEK293-Zellen.
- Walter Wagner und Robert Papst aus der Werkstatt für die Anfertigung des Messadapters und weiterer nützlicher „Hardware“.
- allen Mitgliedern der Abteilung Membran- und Neurophysik für die große Hilfsbereitschaft, die angenehme Arbeitsatmosphäre und die tolle Zeit.
- Michael Hutzler, Ingmar Peitz, Ingmar Schön und Eva-Maria Scholz für das Korrekturlesen der Arbeit.
- meiner Familie und Martina für die dauerhafte Unterstützung.