



Fakultät für Maschinenwesen

Lehrstuhl für Medizintechnik

# Atmosphärische Plasmabeschichtung von orthopädischen Implantaten

Christin Karin Rapp

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Maschinenwesen der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktor-Ingenieurs  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. Tim C. Lüth

Prüfer der Dissertation:

1. Prof. Dr.-Ing. Harald Klein
2. Prof. Dr.-Ing. Kai-Olaf Hinrichsen

Die Dissertation wurde am 28.06.2017 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen am 02.10.2017 angenommen.





# Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>IX</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>XI</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>3</b>
1.1 Stand der Technik . . . . .	4
1.2 Motivation und Vorgehen . . . . .	5
<b>2 Theoretische Grundlagen</b>	<b>7</b>
2.1 Biokompatibilität . . . . .	7
2.1.1 Implantat-Gewebe Interaktion . . . . .	8
2.2 Implantatwerkstoffe . . . . .	9
2.2.1 Keramiken als Implantatwerkstoffe . . . . .	9
2.2.1.1 Hydroxylapatit . . . . .	9
2.2.2 Polymere als Implantatwerkstoffe . . . . .	10
2.2.2.1 Polysiloxane . . . . .	10
2.2.3 Metalle als Implantatwerkstoffe . . . . .	10
2.2.3.1 Edelstahl . . . . .	11
2.2.3.2 Titan . . . . .	11
2.3 Der Knochen und seine Zusammensetzung . . . . .	12
2.3.1 Knochenimplantate in der Medizintechnik . . . . .	14
2.3.2 Osseointegration . . . . .	14
2.3.3 Oberflächeneigenschaften von Knochenimplantaten . . . . .	15
2.3.4 Oberflächenbeschichtung von Knochenimplantaten . . . . .	17
2.4 Verfahren zur Implantatbeschichtung . . . . .	18
2.4.1 Sol-Gel Prozess . . . . .	18
2.4.2 Thermisches Spritzen . . . . .	19
2.4.3 Physikalische Gasphasenabscheidung . . . . .	19
2.4.4 Chemische Gasphasenabscheidung . . . . .	19
2.4.5 Vor- und Nachteile der Beschichtungsverfahren . . . . .	20
2.5 Plasma . . . . .	22
2.5.1 Niederdruckplasma . . . . .	23
2.5.2 Atmosphärendruckplasma . . . . .	23
2.5.3 Hochdruckplasma . . . . .	24
2.5.4 Anwendungen von Plasma in der Oberflächentechnik . . . . .	24
2.6 Die photokatalytische Wirkung von Titandioxid . . . . .	26

<b>3</b>	<b>Herangehensweise und Untersuchung der plasmabeschichteten Oberflächen</b>	<b>29</b>
3.1	PlasmaPlus <sup>®</sup> Anlage . . . . .	29
3.1.1	Precursorsysteme . . . . .	31
3.2	Verwendetes Probenmaterial und Probenpräparation . . . . .	31
3.2.1	Chirurgischer Edelstahl 316L . . . . .	32
3.2.2	Probengeometrien und Zellkulturgefäße . . . . .	32
3.2.3	Reinigung und Ätzen der Probenkörper . . . . .	34
3.3	Charakterisierung der Beschichtung . . . . .	35
3.3.1	Röntgenphotoelektronenspektroskopie . . . . .	35
3.3.2	Rasterelektronenmikroskopie mit integrierter energiedispersiver Röntgenspektroskopie . . . . .	36
3.3.3	Infrarotspektroskopie und RAMAN Spektroskopie . . . . .	37
3.3.4	Röntgendiffraktometrie . . . . .	37
3.3.5	Kontaktwinkelmessung . . . . .	37
3.3.6	Ellipsometrie . . . . .	38
3.4	Biokompatibilitätsuntersuchungen der Schicht . . . . .	38
3.4.1	Zellkulturmedium . . . . .	39
3.4.2	CCK-8 Test . . . . .	40
3.4.3	Vorgehensweise zur Ermittlung der Biokompatibilität . . . . .	41
3.4.3.1	Eluattests . . . . .	41
3.4.3.2	Direkte Besiedlungsversuche . . . . .	42
3.4.3.3	Morphologische Untersuchungen der Zellen mittels REM . . . . .	42
3.4.3.4	Morphologische Untersuchungen der Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie . . . . .	43
3.5	Evaluierung von Sterilisationsmethoden . . . . .	44
3.5.1	Verfahren mit trockener Hitze . . . . .	44
3.5.2	Verfahren mit feuchter Hitze . . . . .	45
3.5.3	Sterilisation durch $\gamma$ -Strahlung . . . . .	45
3.5.4	Sterilisation mittels 70%igem Isopropanol . . . . .	46
3.6	Beständigkeitsuntersuchungen der Beschichtungen . . . . .	46
3.6.1	Einlagerungsuntersuchungen der Beschichtungen . . . . .	46
3.6.2	Zugversuche . . . . .	48
3.7	Untersuchung des antibakteriellen Effektes . . . . .	48
3.7.1	Versuche zur photokatalytischen Aktivität mit Rhodamin B . . . . .	48
3.7.2	Versuche zur photokatalytischen Aktivität mit <i>E.coli</i> . . . . .	49
<b>4</b>	<b>Barriere- und Haftvermittlerbeschichtung</b>	<b>51</b>
4.1	Struktur und chemische Eigenschaften von Hexamethyldisiloxan . . . . .	51
4.2	Einsatzbereiche von HMDSO als Precursor . . . . .	52
4.3	Prozessparameter zur Abscheidung der EdSil Beschichtung . . . . .	53
4.4	Chemische Charakterisierung der EdSil Beschichtungen . . . . .	54
4.5	Biologische Charakterisierung der EdSil Beschichtungen . . . . .	59
4.5.1	Zytotoxizität der EdSil Beschichtungen . . . . .	59

---

4.5.2	Anwachsverhalten von Zellen auf den EdSil Beschichtungen . . .	61
4.6	Beständigkeit der Beschichtung . . . . .	63
4.7	Sterilisation der EdSil Beschichtungen . . . . .	69
<b>5</b>	<b>Antibakterielle Plasmabeschichtungen</b>	<b>71</b>
5.1	Struktur und chemische Eigenschaften von Titandioxid . . . . .	71
5.2	Titandioxid Precursoren . . . . .	72
5.2.1	Tetraisopropylorthotitanat . . . . .	72
5.2.2	Titan(IV)butoxid . . . . .	72
5.2.3	Herstellung der Precursoren Sole . . . . .	73
5.3	Prozesssystem und -parameter zur Abscheidung der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen	74
5.4	Herstellungs- und Anwendungsbereiche der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen . . . .	75
5.5	Chemische Charakterisierung der TiO <sub>2</sub> Beschichtung . . . . .	76
5.6	Biologische Charakterisierung der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen . . . . .	83
5.6.1	Untersuchung der Zytotoxizität . . . . .	83
5.6.2	Evaluierung des Anwachsverhaltens von Zellen auf den TiO <sub>2</sub> Beschichtungen . . . . .	86
5.7	Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen	87
5.7.1	Zersetzungsversuche mit Rhodamin B auf den TiO <sub>2</sub> Beschichtungen	88
5.7.2	Mikrobiologische Versuche mit <i>E.coli</i> auf den TiO <sub>2</sub> Beschichtungen	91
5.8	Beständigkeitsuntersuchungen der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen . . . . .	93
5.9	Sterilisation der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen . . . . .	99
<b>6</b>	<b>Beschichtung zur Verbesserung der Osseointegration</b>	<b>101</b>
6.1	Struktur und chemische Eigenschaften von HA . . . . .	101
6.2	Herstellung des HA Precursors . . . . .	102
6.3	Anwendung und Methoden zur Abscheidung von HA Schichten . . . . .	103
6.4	Prozesssystem und -parameter zur Abscheidung der HA Schichten . . .	103
6.5	Chemische Charakterisierung der HA Schichten . . . . .	104
6.6	Untersuchung der Morphologie der Oberfläche . . . . .	108
6.7	Biologische Untersuchung der HA Beschichtungen . . . . .	109
6.7.1	Evaluierung der Zytotoxizität der HA Beschichtung . . . . .	109
6.7.2	Morphologie und Anwachsverhalten von Saos-2 Zellen auf HA Beschichtungen . . . . .	111
6.8	Beständigkeitsuntersuchungen der HA Beschichtung . . . . .	112
6.9	Sterilisierbarkeit der HA Beschichtungen . . . . .	116
<b>7</b>	<b>Kombinationsbeschichtungen</b>	<b>117</b>
7.1	Plasmabeschichtungen aus einem Siloxan/Titandioxidprecursor . . . . .	117
7.2	Herstellung des Precursorsols . . . . .	117
7.3	Plasmaparameter zur Abscheidung der SiTi Beschichtungen . . . . .	117
7.4	Anwendungen der SiTi Beschichtungen . . . . .	118
7.5	Chemische Charakterisierung der SiTi Beschichtungen . . . . .	119

7.6	Biologische Evaluierung der SiTi Beschichtungen . . . . .	124
7.6.1	Zytotoxizitätsbestimmung der SiTi Beschichtungen . . . . .	124
7.6.2	Adhäsionsuntersuchungen von Zellen auf den SiTi Beschichtungen	126
7.6.3	Evaluierung der antibakteriellen Eigenschaften von SiTi Beschichtungen . . . . .	128
7.6.4	Zersetzungsversuche mit Rhodamin B auf den SiTi Beschichtungen	128
7.6.5	Mikrobiologische Versuche mit <i>E.coli</i> auf den SiTi Beschichtungen	131
7.7	Beständigkeit der SiTi Beschichtungen . . . . .	132
7.8	Sterilisierbarkeit der Beschichtungen . . . . .	137
<b>8</b>	<b>Evaluierung der Beschichtungen auf ihre Eignung als Implantatbeschichtungen</b>	<b>139</b>
8.1	Beurteilung der Barriere- und Haftvermittlerbeschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik . . . . .	139
8.2	Beurteilung der antibakteriellen Beschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik . . . . .	141
8.3	Beurteilung der knochenkompatiblen Beschichtung für den Einsatz in der Medizintechnik . . . . .	143
8.4	Beurteilung der Kombinationsbeschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik . . . . .	144
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>145</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b>	<b>147</b>
10.1	Verwendete Chemikalien und Geräte . . . . .	147
10.2	Statistische Auswertung . . . . .	150
10.3	Thrombogenität der EdSil Beschichtungen . . . . .	150
10.4	Überprüfung der Barriereeigenschaften der EdSil Beschichtungen . . . . .	151
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>153</b>

# Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematischer Aufbau eines menschlichen Knochens . . . . .	13
2.2	Aggregatzustand . . . . .	22
2.3	Übersicht der Anwendungsgebiete von Plasma in der Oberflächentechnik	24
3.1	Schematische Darstellung des Aufbaus einer PlasmaPlus <sup>®</sup> Anlage . . .	29
3.2	Düsenaufbau einer PlasmaPlus <sup>®</sup> Anlage . . . . .	30
3.3	Zwei mögliche Beschichtungssysteme: A) Sprühdüsenystem, B) Verdampfersystem . . . . .	31
3.4	Probenkörpergeometrien mit Abmaßen . . . . .	33
3.5	Technische Zeichnung und grafische Abbildung der Silikonnapfchenform	34
3.6	Vorgehensweise zur Reinigung und Ätzung der Probenkörper . . . . .	35
3.7	Übersicht über die durchgeführten Zytotoxizitäts- und Besiedlungsversuche	39
3.8	Umwandlung des Tetrazolium-Salzes zu Formazan . . . . .	40
3.9	Vorgehen zur Trocknung der Zellen mittels Alkoholreihe . . . . .	43
3.10	Einteilung und Übersicht möglicher Sterilisationsverfahren . . . . .	44
3.11	Eingelagerte Edelstahl, Silikon, Kupfer, EdSil31 und EdSil83 Proben in DMEM nach 14 Tagen . . . . .	47
4.1	Struktureller Aufbau von Siloxanen . . . . .	51
4.2	Strukturformel von HMDSO . . . . .	51
4.3	Erste Reaktionen von HMDSO im Plasma . . . . .	52
4.4	Folgereaktionen von HMDSO im Plasma . . . . .	52
4.5	Kontaktwinkelmessung der Beschichtungen aus HMDSO, $n=10$ . . . . .	54
4.6	XPS Übersichtspektrum der EdSil31 Beschichtung . . . . .	55
4.7	XPS Übersichtspektrum der EdSil83 Beschichtung . . . . .	56
4.8	XPS Spektren von EdSil31 und EdSil83 im Vergleich . . . . .	57
4.9	REM Aufnahmen der EdSil31 und EdSil83 Beschichtung im Vergleich zu Edelstahl und ein EDX Mapping der Beschichtungen . . . . .	58
4.10	Ermittlung der Zytotoxizität von EdSil31 und EdSil83 mittels CCK-8 Test, $i=3$ , $n=5$ . . . . .	59
4.11	CCK-8 Test der Eluate der EdSil31 und EdSil83 Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM, $i=3$ , $n=5$ . . . . .	60
4.12	REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Saos-2 Zellen auf EdSil31 und EdSil83 . . . . .	61
4.13	REM Aufnahmen und Fluoreszenzfärbung der Zelladhäsion von Hs27 auf EdSil31 und EdSil83 . . . . .	62
4.14	REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten EdSil31 Beschichtung zu verschiedenen Zeitpunkten . . . . .	64
4.15	XPS Aufnahme der EdSil31 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF . . . . .	65

4.16	REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten EdSil83 Beschichtung zu verschiedenen Zeitpunkten . . . . .	66
4.17	XPS Aufnahme der EdSil83 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF . . . . .	67
4.18	REM Aufnahmen der eingelagerten EdSil31 und EdSil83 Beschichtungen für 30 Tage in Isopropanol . . . . .	68
4.19	REM Aufnahmen der Zugstäbe nach den Zugversuchen von EdSil31 und EdSil83 . . . . .	68
4.20	REM Aufnahmen der Beschichtungen EdSil31 und EdSil83 nach dem Autoklavieren . . . . .	69
5.1	Strukturformel von TTIP . . . . .	72
5.2	Strukturformel von TTIB . . . . .	73
5.3	Kontaktwinkelmessung der Beschichtungen aus TTIB und TTIP, $n=8$ .	77
5.4	REM Aufnahmen der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen zur Analyse der Morphologie	78
5.5	RAMAN Spektrum der TTIP_V und der TTIB_V Beschichtung . . .	79
5.6	XPS Übersichtspektren der TTIB_V, TTIB_S, TTIP_V, TTIP_S Beschichtungen . . . . .	80
5.7	XPS Detailspektren von TTIP_S und TTIB_S im Vergleich . . . . .	81
5.8	REM Aufnahmen der TTIB_V Beschichtung und das dazugehörige EDX Mapping der Beschichtung . . . . .	82
5.9	Ermittlung der Zytotoxizität von TTIP_V und TTIP_S mittels CCK-8 Test, $i=3, n=5$ . . . . .	83
5.10	Ermittlung der Zytotoxizität von TTIB_V und TTIB_S mittels CCK-8 Test, $i=3, n=5$ . . . . .	84
5.11	CCK-8 Test der Eluate der TTIP_V und TTIP_S Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM, $i=3, n=5$ . . . . .	85
5.12	CCK-8 Test der Eluate der TTIB_V und TTIB_S Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM, $i=3, n=5$ . . . . .	85
5.13	REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Hs27 Zellen auf TTIB_V, TTIB_S, TTIP_V und TTIP_S . . . . .	87
5.15	Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B unter UV-Licht im Bezug auf die Kontrolle, $n=2, i=3, j=3$ . . . . .	89
5.16	Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B unter sichtbarem Licht im Bezug auf die Kontrolle, $n=2, i=3, j=3$ . . . . .	90
5.17	Reduktion von <i>E.coli</i> auf TiO <sub>2</sub> Beschichtungen unter UV Bestrahlung, $n=6$ . . . . .	91
5.18	Reduktion von <i>E.coli</i> auf TiO <sub>2</sub> Beschichtungen unter Bestrahlung mittels sichtbarem Licht, $n=6$ . . . . .	92
5.19	REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten TTIB_V und TTIP_V Beschichtungen zu verschiedenen Zeitpunkten . . . . .	94
5.20	XPS Aufnahme der TTIB_V und TTIP_V Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF . . . . .	95

---

5.21	Vergleich der XPS Aufnahmen von TTIP_V und TTIB_V nach 30-tägiger Einlagerung in SBF . . . . .	95
5.22	REM Aufnahmen der TiO <sub>2</sub> Beschichtungen für 30 Tage in 70%igem Isopropanol . . . . .	96
5.23	REM Aufnahmen der mit TTIB_V und TTIB_S beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch . . . . .	97
5.24	REM Aufnahmen der mit TTIP_V und TTIP_S beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch . . . . .	98
5.25	REM Aufnahmen einer autoklavierten TTIP_V und einer Referenzprobe	99
5.26	REM Aufnahmen einer trocken sterilisierten TTIP_V und einer Referenzprobe . . . . .	99
5.27	REM Aufnahmen einer $\gamma$ sterilisierten TTIP_V und einer Referenzprobe	100
6.1	Struktur von HA in die a,b-Ebene projiziert (Bild entnommen aus [1]) .	101
6.2	RAMAN Spektrum der HA Beschichtung . . . . .	105
6.3	XPS Spektren der HA Beschichtungen zur Analyse der Oberflächenchemie	106
6.4	EDX Aufnahme der HA Schicht . . . . .	107
6.5	XRD Spektren der HA Beschichtung und des planken Edelstahl . . . .	107
6.6	REM Aufnahme der HA Beschichtung . . . . .	108
6.7	REM Aufnahmen der HA Beschichtung einmal verfahren und einmal gehalten . . . . .	109
6.8	Ermittlung der Zytotoxizität von HA mittels CCK-8 Test, $i=3$ , $n=5$ . .	110
6.9	Ergebnisse des CCK-8 Tests der Eluate der HA Beschichtung nach 7, 14 und 21 Tagen Einlagerung, $i=3$ , $n=5$ . . . . .	111
6.10	REM-Aufnahmen der fixierten Saos-2 Zellen auf der HA Beschichtung .	112
6.11	REM Aufnahmen der nach 0, 7, 14 und 30 Tagen eingelagerten Proben in SBF . . . . .	113
6.12	XPS Aufnahme der HA Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF	114
6.13	REM Aufnahmen der eingelagerten HA Beschichtung für 30 Tage in Isopropanol . . . . .	115
6.14	REM Aufnahmen einer gezogenen und einer nicht gezogenen HA Beschichtung . . . . .	115
6.15	REM Aufnahmen der HA Beschichtung nach und vor dem Autoklavieren	116
7.1	Kontaktwinkelmessung der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung über 48 Stunde, $n=10$ . . . . .	119
7.2	IR Spektrum der SiTi27 Beschichtung . . . . .	120
7.3	XPS Übersichtspektren der SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen . . . . .	121
7.4	XPS Detailspektren von SiTi27 und SiTi28 im Vergleich . . . . .	122
7.5	REM-Aufnahmen der SiTi27 Beschichtung . . . . .	123
7.6	REM Aufnahme und EDX Mapping der SiTi27 Beschichtung . . . . .	124
7.7	Ermittlung der Zytotoxizität der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung mittels CCK-8 Test, $i=3$ , $n=5$ . . . . .	125

7.8	Ergebnisse des CCK-8 Tests der Eluate der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung, $i=3$ , $n=5$ . . . . .	126
7.9	REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Saos-2 Zellen auf SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen . . . . .	127
7.10	Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi im Dunkeln im Bezug auf die Kontrolle, $n=3$ , $i=3$ , $j=3$ . . . . .	129
7.11	Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi unter UV-Licht im Bezug auf die Kontrolle, $n=3$ , $i=3$ , $j=3$ . . . . .	129
7.12	Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi unter sichtbarem Licht im Bezug auf die Kontrolle, $n=3$ , $i=3$ , $j=3$ . . . . .	130
7.13	Reduktion von <i>E.coli</i> auf SiTi Beschichtungen unter Bestrahlung mittels UV- und sichtbarem Licht, $n=6$ . . . . .	131
7.14	EM Aufnahmen der in SBF eingelagerten SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen zu verschiedenen Zeitpunkten . . . . .	133
7.15	XPS Aufnahme der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF . . . . .	134
7.16	Einlagerung der SiTi Beschichtungen für 30 Tage in 70%igem Isopropanol	135
7.17	REM Aufnahmen der mit SiTi27 und SiTi28 beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch . . . . .	136
7.18	REM Aufnahmen der einmal mit SiTi28 beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch . . . . .	137
7.19	REM Aufnahmen einer autoklavierten SiTi28 Beschichtung und einer Referenzprobe . . . . .	137
10.1	Darstellung der Ergebnisse im Boxplott-Diagramm . . . . .	150
10.2	Absorption von Thrombozyten auf den EdSil Beschichtungen im Bezug auf Edelstahl . . . . .	151
10.3	CCK-8 Test eines verschmutzten Edelstahles zum Nachweis der Barriereigenschaften, $n=5$ . . . . .	152



# Tabellenverzeichnis

2.1	Klassifizierung von Medizinprodukten gemäß Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG . . . . .	7
2.2	Einteilung der Kompatibilität von Knochenimplantaten nach Schenk [2]	8
2.3	Vergleich von Beschichtungsverfahren [3] . . . . .	21
3.1	Zusammensetzung des Bulk-Materials von Edelstahl 316L [4] . . . . .	32
3.2	Zusammensetzung der oxidierten Oberflächenschicht von Edelstahl 316L [4]	32
3.3	Kenndaten und Zusätze der verwendeten Zellkulturmedien auf 500 mL .	40
3.4	Extraktionsverhältnis zur Zytotoxizitätsbestimmung nach DIN EN ISO 10993-12 . . . . .	42
3.5	Parameter zur Sterilisation mittels feuchter Hitze . . . . .	45
3.6	Chemische Zusammensetzung des Simulated Body Fluids auf ein Liter VE-Wasser . . . . .	47
4.1	Bindungsenergien innerhalb des HMDSO Moleküls [5, 6] . . . . .	52
4.2	Plasmaparameter zur Abscheidung von HMDSO Beschichtungen . . . .	53
5.1	Rezepturen zur Herstellung der Titanprecursoren nach [7] . . . . .	74
5.2	Plasmaparameter zur Abscheidung von Beschichtungen aus Titanprecursoren . . . . .	75
6.1	Plasmaparameter zur Abscheidung von HA Beschichtungen . . . . .	104
7.1	Plasmaparameter zur Abscheidung von SiTi Beschichtungen . . . . .	118
10.2	Liste der verwendeten Geräte . . . . .	147
10.1	Liste der verwendeten Chemikalien . . . . .	149



# Abkürzungsverzeichnis

## Chemische Analytik

XPS	Röntgenphotospektrometrie
XRD	Röntgendiffraktometrie
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarotspektrometrie
REM	Rasterelektronenmikroskopie
EDX	Energiedispersiver Röntgenspektroskopie

## Beschichtungen und Precursor

HMDSO	Hexamethyldisiloxan
TEOS	Tetraethylorthosilicat
TTIB	Titan(IV)butoxid
TTIP	Tetraisopropylorthotitanat
HA	Beschichtungen aus Hydroxylapatit
EdSil	Beschichtungen aus Hexamethyldisiloxan
TTIB_V	Beschichtungen aus Titan(IV)butoxid mittels Verdampfer
TTIB_S	Beschichtungen aus Titan(IV)butoxid mittels Sprühdüse
TTIP_V	Beschichtungen aus Tetraisopropylorthotitanat mittels Verdampfer
TTIP_S	Beschichtungen aus Tetraisopropylorthotitanat mittels Sprühdüse
SiTi	Beschichtungen aus Tetraisopropylorthotitanat und Tetraethylorthosilicat



# Danksagung

Mein Dank gilt allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Vor allem möchte ich mich bei Herrn Professor Dr.-Ing. Harald Klein bedanken, welcher als Betreuer meiner Arbeit eingesprungen ist und Herrn Professor Dr.-Ing. Kai-Olaf Hinrichsen, welcher als Mentor und Zweitprüfer mich stets unterstützt hat.

Des Weitern danke ich allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Medizintechnik und der Firma Plasmatreteat für das angenehme Arbeitsklima und die hilfreichen Diskussionsmöglichkeiten. Vor allem möchte ich Herrn Professor Thomas Schmidt-John danken, welcher mit Korrekturen und Verbesserungsvorschlägen zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Herzlichen Dank auch an den Lehrstuhl für Technische Chemie von Professor Günther, den Lehrstuhl für Selektive Trenntechnik von Professor Berensmeier, den Lehrstuhl für Makromolekulare Chemie von Professor Rieger und das Zentralinstitut für Medizintechnik für die Möglichkeit der Nutzung von analytischen Geräten, ohne welche ich meine Arbeit nicht in diesem Maße anfertigen hätte können.

Zu guter Letzt möchte ich die Möglichkeit nutzen meinen Eltern (Rudolf und Doris Rapp), meiner kleinen Schwester (Mariel Rapp), und meinem Freund (Martin Höppel) für die stetige emotionale Unterstützung und die Ermutigungen zu danken. Ohne euch hätte ich es nicht so weit gebracht, tausend Dank dafür.



# Studienarbeiten

Im Rahmen dieser Dissertation entstanden am Lehrstuhl für Medizintechnik der TU München in den Jahren 2014 bis 2016 unter wesentlicher wissenschaftlicher, fachlicher und inhaltlicher Anleitung des Autors die im Folgenden aufgeführten studentischen Arbeiten, in welchen verschiedene Fragestellungen zu plasmabeschichteten Implantatoberflächen untersucht wurden und deren Ergebnisse in Teilen in das vorliegende Dokument eingeflossen sind.

Franz, Philipp (Bachelorarbeit) [8]  
Schmid, Sonja (Bachelorarbeit) [9]  
Mahnel, Sabrina (Masterarbeit) [10]  
Baumgärtel, Andreas (Masterarbeit) [11]  
Klose, Marie (Masterarbeit) [12]  
Weber, Florian (Forschungspraktikum) [13]  
Fitzenschaft, Janina (Bachelorarbeit) [14]  
van Betteraay, Jerome (Bachelorarbeit) [15]  
Schmid, Sonja (Forschungspraktikum) [16]  
Sidhu, Dalminder (Forschungspraktikum) [17]  
Schlippe, Marius (Bachelorarbeit) [18]  
Artmann, Lucas (Bachelorarbeit) [19]  
Scherl, Anna (Forschungspraktikum) [20]  
Pagenstecher, Marcus (Masterarbeit) [21]  
Seel, Tatjana (Masterarbeit) [22]  
Schilling, Julia (Masterarbeit) [23]  
Beyersdorfer, Anna (Forschungspraktikum) [24]





# Abstract

Nowadays due to demographic change and obesity the number of orthopedic implants is increasing rapidly. Factors such as osseointegration, biocompatibility, antibacterial and anti-corrosion properties play a mayor role in the development of new implants. A flexible and promising approach is to coat implants to be able to combine the required bulk properties with those of the surface.

There are many coating techniques to choose from. The **A**tmospheric **P**ressure **P**lasma **J**et (APPJ) offers a method simple to control, easy to integrate and low in cost.

In the thesis presented medical stainless steel was coated with an APPJ to optimize the surface properties for orthopedic implants. As carrier gas nitrogen and as ionization gas oil free air was used. Four different coatings were produced: siloxane coatings, titania coatings, hydroxyapatite coatings and composite coatings out of siliciumdioxide and titania. The purpose of the siloxane coatings is to function as a barrier and adhesion promoter coating. The titania coating should be used as an antibacterial coating. Hydroxyapatite coatings increase the osseointegration and the composite coating should combine all the required properties for orthopedic implants.

The coatings were tested for chemical composition by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), X-ray powder diffraction (XRD), RAMAN spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The biocompatibility was proven through tests for cytotoxicity for up to 30 days and by performing proliferation tests on the coatings. The resistance against body fluids was tested by immersion in simulated body fluid and the resistance against disinfection by immersion in 70% isopropanol. The antibacterial properties were proven by degradation of rhodamine B and *E.coli* under UV and visible light. In addition sterilization and tensile tests were performed.

The results showed that all the coatings complied with and some even exceeded the expectation by showing the desired properties and even more. The titania and the composite coatings for example showed an antibacterial effect under visible light without any pretreatment. The only property that was sometimes lacking by performance was the adhesion, which needs to be improved for some of the coatings through variation of the parameters or the process gases.

All in all the APPJ offers a promising way to coat medical surface with variable properties for the use on orthopedic and other implants.



# 1 Einleitung

Jährlich werden in Deutschland circa 250.000 Knie- und Hüftgelenke implantiert [25]. Diese Anzahl an Endoprothesen wird sich in den folgenden zehn Jahren vermutlich verdreifachen. Gründe hierfür sind der weltweite demografische Wandel und die zunehmende Adipositas. Im Jahre 1995 waren 13,5 Millionen Menschen älter als 80 Jahre [26]. 2050 werden mit mehr als 45 Millionen über Achtzigjährigen gerechnet [26]. Übergewicht und eine alternde Gesellschaft rufen immer häufiger Rückenschmerzen, Arthrosen, Gelenkschmerzen und auch Gelenkversagen hervor. Des Weiteren kommt es, aufgrund der steigenden Anzahl an PKW's, häufiger zu Unfällen sowie zu einem erhöhten gesundheitlichen Risiko bei Freizeitaktivitäten.

Im Falle eines Versagens der Gelenke, von Frakturen oder eines Knochenschadens z. B. durch Unfälle, wird häufig die Implantation als Behandlungs- und Wiederherstellungsmethode gewählt. Die Implantation der Hüftendoprothesen ist die zehnthäufigste Operation in Deutschland mit einer Infektionsrate von ca. 1,1 % [27]. Bei Knieendoprothesen liegt diese bei ca. 1 % [28]. Die Medizintechnik entwickelt und verbessert Implantate stetig, wobei das größte Augenmerk auf der mechanischen und chemischen Stabilität, der Belastbarkeit, der Einheilgeschwindigkeit sowie der Anfälligkeit für bakterielle Infektionen gelegt wird. [26, 29]

Das Einheilen von Implantaten in Knochengewebe wird als Osseointegration bezeichnet. Wenn ein Implantat in den Körper kommt, stellt es dort eine freie Oberfläche dar, an welcher sich sowohl Zellen als auch mikrobielle Infektionserreger ansiedeln können. Es findet ein so genanntes „race for the surface“ statt. Wenn Zellen zuerst an die Oberfläche kommen, bildet sich eine Zellschicht aus, bei Bakterien ein Biofilm. Letzteres führt häufig zu einer Implantat assoziierten Infektion. Aufgrund des Filmes können Antibiotika nicht alle Bakterien erreichen. Die Biofilmbildung auf künstlichen Oberflächen ist ein bedeutender Grund für das Auftreten von Infektionen. [30]

Eine weitere Infektionsgefahr entsteht durch das Einbringen von Bakterien mit dem Implantat. Dies führt zuerst zu einem lokalen oder systemischen Entzündungsprozess und anschließend zu einem Funktionsverlust der Prothese. Diese Infektionen sind schwer antimikrobiell therapierbar und bedeuten meist eine intensive und langwierige Behandlung. Für die Patienten können im schlimmsten Fall Amputationen erforderlich sein, in vielen Fällen sind weitere Operationen notwendig und lang anhaltende Schmerzen die Folge. In 2,7-18 % der Fälle enden Implantat assoziierte Infektionen tödlich [31].

Bei Langzeitimplantaten ist sowohl die antimikrobielle Wirkung wie auch die Osseointegration von großer Bedeutung. Eine sichere und frühzeitige Verankerung im Knochen ist essenziell für einen erfolgreichen Heilungsprozess und eine Langlebigkeit des Implantates. Die Osseointegration ist eine große Herausforderung für die Implantathersteller und kann am besten mittels Oberflächenoptimierung erreicht werden. [25]

Lasttragende Implantate werden häufig aus chirurgischem Edelstahl gefertigt. Dieser ist auch aus mechanischer Sicht hervorragend geeignet. Jedoch kann es durch Verschleiß,

z. B. Abrieb durch Gelenkbewegung oder Korrosion, zu einem Ablösen von Partikeln bzw. einem Herauslösen von Ionen kommen. Edelstahl besitzt als Bestandteile unter anderem Vanadium und Nickel, welche zu allergenen Reaktionen führen können. Die herausgelösten Partikel können Entzündungsreaktionen im Körper hervorrufen, welche ein Implantatversagen zur Folge haben können.

Unter Berücksichtigung der aufgeführten Problematiken müssen Implantate entwickelt werden, welche antibakteriell wirken, eine gute Osseointegration begünstigen und das Herauslösen von allergenen Bestandteilen verhindern. Um all diese Eigenschaften und auch die mechanischen Ansprüche zu berücksichtigen, ist die Beschichtung eines geeigneten Bulkmaterials die vielversprechendste Methode zur Optimierung von Implantaten.

## 1.1 Stand der Technik

Aktuell ist die Beschichtung von Implantaten die am häufigsten gewählte Methode zur Verbesserung von Implantatoberflächen. Hierfür stehen viele Verfahren zur Verfügung. Weit verbreitet sind die Sol-Gel-Prozesse, Dip coating-Prozesse, Flammenbeschichtungen, physikalische Gasphasenabscheidungen, chemische Gasphasenabscheidungen, Sprühbeschichtungen, Vakuum-Plasma-Beschichtungen und die atmosphärischen-Plasma-Beschichtungen. [32]

Dip coating- sowie Sol-Gel-Prozesse sind nasschemische Prozesse. Bei diesen fallen chemische Abfälle an und die Integration in einen kontinuierlichen Prozess ist aufgrund der Komplexität und des aufwendigen Equipments kaum möglich. Die Flammbeschichtungen, wie auch die Sprühbeschichtungen, welche häufig mittels Plasma realisiert werden, sind oft mit sehr hohen Temperaturen verbunden. Daher können nur temperaturbeständige Materialien beschichtet werden. Des Weiteren sind die Beschichtungen eher dick und teilweise inhomogen. [3]

Klassische physikalische und chemische Gasphasenabscheidungen, sowie Vakuum-Plasma-Beschichtungen benötigen Vakuumsysteme, welche nur eine batchweise Beschichtung zulassen und dadurch eine Unterbrechung im Herstellungsprozess bewirken. Des Weiteren sind Vakuumpumpen und -kammern mit hohen Kosten verbunden. [33]

Eine geeignete Alternative bietet die atmosphärische Plasma Enhanced-Chemical Vapor Deposition (PE-CVD). Hierbei wird eine chemische Gasphasenbeschichtung mittels Plasma bei atmosphärischem Druck durchgeführt. Durch die Umsetzung sogenannter Atmospheric Pressure Plasma Jets (APPJ) ist die Beschichtung im Inline Prozess möglich und die thermische Belastung kann so minimiert werden, dass jedes Material beschichtet werden kann. Zudem können alle Geometrien beschichtet werden und auch eine partikuläre Beschichtung ist möglich. Aufgrund des atmosphärischen Drucks sind Beschichtungskammern und Vakuumequipment nicht nötig, was zu einer Kostenreduzierung für den Prozess führt. Aktuell werden solche APPJ's jedoch in der Medizintechnik kaum verwendet und sind eher Gegenstände der Forschung, der Automobilindustrie und der Verpackungsindustrie. Obwohl sie ein großes Potenzial bieten, da sie, neben den zuvor

genannten Vorteilen, sehr dünne Beschichtungen erzeugen können, die Eigenschaften der Beschichtungen durch die Plasmaparameter gesteuert werden können und die erzeugten Polymerschichten besonders stabil und resistent sind. [32, 33, 34, 35, 36, 37, 38]

## 1.2 Motivation und Vorgehen

In der vorliegenden Arbeit wurde chirurgischer Edelstahl (316L) mittels eines APPJ zur Anwendung für Knochenimplantate beschichtet. Hierfür wurden gezielte Beschichtungen entwickelt, um die Osseointegration zu steigern, Beschichtungen mit antibakteriellen Eigenschaften zu erzeugen und Barrierschichten zu generieren, welche eine Korrosion oder ein Herauslösen von Ionen aus dem Implantatbulkmaterial verhindern.

Die antibakteriellen Eigenschaften wurden mittels Titandioxid Beschichtungen verwirklicht, welche durch gasförmiges Einleiten eines Sols in die Plasmaflamme generiert wurden. Titandioxid hat den Vorteil im Vergleich zu anderen antibakteriellen Materialien, dass es biokompatibel ist und daher häufig für Knochenimplantate verwendet wird. Die antibakterielle Wirkung beruht auf der photokatalytischen Aktivität von Titandioxid, welche zum einen eine Anhaftung von Bakterien verhindern kann und zum anderen, durch Bildung von hochreaktiven Radikalen, eine abtötende Wirkung auf Bakterien hat.

Die Osseointegration wird durch Beschichtungen aus Hydroxylapatit (HA) optimiert. HA ist im natürlichen Knochen zu großen Anteilen vorhanden und bietet daher eine gute Kontaktfläche für Knochenzellen. Die Beschichtungen wurden durch ein flüssiges Einsprühen, in Form eines Sols, in die Plasmaflamme erzeugt.

Die Barrierebeschichtung wurde durch eine Plasmapolymersation von Hexamethyldisiloxan (HMDSO) durch gasförmiges Einleiten in die Plasmaflamme hergestellt. HMDSO wird bereits in vielen Bereichen als Haftvermittler und ab und an auch als Korrosionsschutz verwendet. Die mittels APPJ erzeugten Beschichtungen weisen hohe Vernetzungsgrade auf, sind relativ hitzebeständig und zeigen eine gute Adhäsion zu dem Bulkmaterial. [33]

Da Implantatoberflächen jedoch alle drei Eigenschaften erfüllen sollen, wurde zusätzlich eine Mischschicht generiert. Hierbei wurde eine siloxanartige Beschichtung mit Titandioxid erzeugt. Um solche Beschichtungen vorzunehmen, werden meist zwei Zuführsysteme benötigt, welche die jeweiligen Komponenten in das Plasma einleiten. Dies wurde hier umgangen, indem ein Sol aus zwei Komponenten hergestellt wurde, welches gasförmig in das Plasma geleitet wird. Sowohl das in der Schicht vorhandene Siliziumdioxid wie auch Titandioxid sind dafür bekannt, die Osseointegration zu steigern. Die antibakterielle Eigenschaft wird durch das Titandioxid und die Barriereeigenschaft durch das Siloxan gewährleistet. Diese multifunktionalen Beschichtungen bieten eine große Chance, um Implantate in jeder Hinsicht optimal zu verbessern.



# 2 Theoretische Grundlagen

## 2.1 Biokompatibilität

Die Auswahl eines geeigneten Werkstoffes zur Herstellung eines Implantates stellt die größte Herausforderung in der biomedizinischen Technik dar. Der Werkstoff muss unter anderem biokompatibel sein und in physiologischer Umgebung beständig sowie funktionstüchtig.

Die Biokompatibilität wird auf verschiedene Arten definiert, 1986 wurde sie auf der Consensus Conference of the European Society of Biomaterials (ESB) als „...ability of a material to perform with an appropriated host response in a specific application“ [39] definiert.

Biokompatibilität kann in Struktur- und Oberflächenkompatibilität unterteilt werden, wobei beide jeweils eine dynamische und eine statische Komponente aufweisen. Unter Oberflächenkompatibilität wird die chemische, biologische, morphologische und physikalische Anpassung der Eigenschaften des Implantates an das jeweilige Gewebe mit dem Ziel der Interaktion verstanden. Bei der Strukturkompatibilität steht die Anpassung des Implantates an das mechanische Verhalten des Gewebes im Vordergrund. Hierunter ist unter anderem das Design sowie die innere Struktur des Implantates gemeint. Die dynamische Komponente zieht die Implantatdauer in Betracht, hier werden nach Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG, Medizinprodukte in vier (I,IIa, IIb und III) Klassen unterteilt, siehe Tabelle 2.1. [2, 40]

**Tabelle 2.1:** Klassifizierung von Medizinprodukten gemäß Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG

Klasse	Definition	Einsatzdauer	Beispiele
I	kein methodisches Risiko	$\leq 60$ Minuten	Rollstühle, ärztliche Instrumente
IIa	Anwendungsrisiko	$\leq 30$ Tage	Desinfektionsmittel, Kontaktlinsen
IIb	erhöhtes methodisches Risiko	$\geq 30$ Tage	Beatmungsgeräte, Dentalimplantate
III	besonders hohes methodisches Risiko	$\geq 30$ Tage	Stents, Herzschrittmacher

Je nach Implantatklasse werden unterschiedliche Anforderungen an die Interaktion zwischen Gewebe und Implantat gestellt. Allgemein gilt jedoch, dass ein biokompatibler Werkstoff nicht toxisch, entzündlich, allergisch oder karzinogen wirken darf. Die benötigten Tests um diese Eigenschaften auszuschließen sind in DIN EN ISO 10993 festgehalten. Implantate, die in Kontakt mit Knochengewebe treten, sollten vor allem

eine gute Gewebeerträglichkeit besitzen. Schenk et al. klassifizierten, bezogen auf Knochenimplantate, folgende Arten der Kompatibilität (siehe Tabelle 2.2):

**Tabelle 2.2:** Einteilung der Kompatibilität von Knochenimplantaten nach Schenk [2]

Inkompatibel	Substanzen werden in toxischen Konzentrationen frei. Zur Folge hat dies: Allergien, Entzündungsreaktionen, Nekrosen, Fremdkörper- oder Abstoßungsreaktionen.
Biokompatibel	Substanzen werden in nicht-toxischen Mengen frei. Dies kann zu schwachen Fremdkörperreaktionen oder Einkapselungen in Bindegewebe führen.
Bioinert	Keine toxischen Substanzen werden freigesetzt.
Bioaktiv	Die Interaktion ist positiv. Es tritt eine Gewebedifferenzierung auf und dadurch eine Bindung oder Adhäsion von Knochen an das Implantat.
Induktiv	Heterotrope Knochenbildung findet statt.
Konduktiv	Das Implantat bildet ein Gerüst für die Knochenablagerung.

Um ein Implantat optimal zu gestalten, müssen dessen Eigenschaften mit denen des umliegenden oder zu ersetzenden Gewebes übereinstimmen. Es müssen sowohl die physikalischen wie auch die chemischen Eigenschaften passen, um einen geeigneten Ersatz zu schaffen. Der wesentliche Unterschied zwischen Implantaten und natürlichem Gewebe ist, dass Implantate keine eigene Regenerationsfähigkeit besitzen. Viele Erkenntnisse über Implantate beruhen auf in vivo Studien, da nur unzureichende Informationen bezüglich des Verhaltens mit biologischem Gewebe zur Verfügung stehen. Dies hat oft verheerende Folgen wie zum Beispiel Nickelallergien oder Abstoßungsreaktionen wie bei Mammoplastiken aus Silikon. Ein interessantes Beispiel ist Polytetrafluorethylen, welches sich hervorragend als Implantatmaterial für den Gefäßersatz eignet, jedoch im Bereich der Hüftgelenkpfanne zu großen Problemen führt. Daraus lässt sich schließen, dass ein Implantatmaterial für den gewünschten Einsatz spezifisch zu untersuchen und zu bewerten ist. [2, 40]

### 2.1.1 Implantat-Gewebe Interaktion

Durch den Einsatz von Implantaten in den menschlichen Körper wird eine Gewebereaktion hervorgerufen. Hier unterscheidet man vier Arten, welche aufgrund spezifischer Implantateigenschaften hervorgerufen werden [2]:

- Gewebenekrose
- Bildung einer nicht-adhärennten Bindegewebskapsel um das Implantat
- Ersatz des Gewebes durch das Implantat
- Bildung einer Bindung zwischen Gewebe und Implantat



Die Gewebenekrose, Absterben des umliegenden Gewebes, wird durch ein toxisches Implantat hervorgerufen. Hier kommt es erst zu einer Entzündung und dann zu einem Absterben. Bei inerten Werkstoffen wird das Implantat in Bindegewebe eingekapselt. Dies kann zu einer Lockerung des Implantates führen. Bioinerte Werkstoffe können jedoch durch Erhöhen der Porosität optimiert werden. Poren sorgen für eine mechanische Verankerung und dadurch eine erhöhte Festigkeit der Verbindung zwischen Implantat und Gewebe. Die optimale Porengröße liegt in diesem Fall bei  $\geq 100\text{-}150\ \mu\text{m}$  um eine ausreichende Vaskularisierung des Gewebes zu gewährleisten, da eine ungenügende Blutversorgung zum Versagen der Implantatfunktion führen kann. Ein biologisch abbaubarer Werkstoff zersetzt sich nach einer gewissen Zeit im Organismus. Diese Implantate sollen über die Zeit vom proliferierenden Gewebe vollständig ersetzt werden. Große Probleme zeigen hier die Geschwindigkeit der Zersetzung und der Verlust an Festigkeit und Stabilität über die Zeit. Die Bildung des Gewebes und die Zersetzung des Implantates müssen so abgestimmt werden, dass kein Implantatversagen auftritt und die Eigenschaften zu jedem Zeitpunkt erhalten bleiben. Bioaktive Werkstoffe hingegen sorgen für eine chemische Verbindung zwischen Implantat und umliegendem Gewebe. Hierbei sind die Dicke der gebildeten Grenzschicht, die Festigkeit der Verbindung zwischen Implantat und Gewebe sowie der Mechanismus und die Geschwindigkeit der gebildeten Grenzfläche bei jedem Implantatwerkstoff individuell. [2]

## 2.2 Implantatwerkstoffe

Ein Implantat kann aus verschiedenen Werkstoffen bestehen. Je nach Einsatzort sind unterschiedliche Materialeigenschaften erwünscht.

### 2.2.1 Keramiken als Implantatwerkstoffe

Keramiken kommen ausschließlich für verschleißrelevante und druckbelastete Implantate zum Einsatz. Im Allgemeinen findet keine Anhaftung zwischen der Keramik und dem umgebenden Knochen statt. Eine Ausnahme bildet hier Hydroxylapatit, welches die Osseointegration fördert. Die Festigkeit von Keramiken, aufgrund der kristallinen Struktur, entspricht dem Widerstand gegen Rissbrüche. [41]

#### 2.2.1.1 Hydroxylapatit

Das anorganische Grundmaterial des Knochens besteht aus Hydroxylapatit, was dieses zu einem hervorragenden Ersatzmaterial für Knochen macht. Aufgrund der keramischen Eigenschaften können Hydroxyimplantate auch bei reibungsintensivem und kraftvollem Einsetzen von Implantaten verwendet werden. Der Knochen geht mit dem Hydroxylapatit in den ersten Wochen eine feste Bindung ein. Dadurch wird eine optimale Verbindung zwischen dem lebenden Gewebe und dem Implantat geschaffen,

welche deutlich stärker als bei anderen Implantatwerkstoffen ist. Ein weiterer Vorteil von Hydroxylapatit ist die gute Übertragung von Scher-, Druck- und Zugkräften. [41]

## 2.2.2 Polymere als Implantatwerkstoffe

Polymere kamen in den 60er Jahren erstmals als Einwegartikel in Kliniken zum Einsatz. Gründe hierfür waren, die höhere Sterilität dieser im Vergleich zu wiederverwendbaren Artikeln aus Glas und Metall. Mittlerweile sind Polymere nicht nur als Einwegartikel, sondern auch als Langzeitimplantate im Einsatz, was auf den steigenden Bedarf an neuen Materialien und die Vielseitigkeit von synthetisch herstellbaren Polymeren zurückzuführen ist. [42]

### 2.2.2.1 Polysiloxane

Eine Gruppe der Polymere in der Medizintechnik sind die Polysiloxane. Sie zeichnen sich durch eine alternierende Anreihung von Silizium- und Sauerstoffatomen aus. Sie werden in Form von Schäumen, Flüssigkeiten und Elastomeren verwendet. Ihre großen Vorteile sind die Hämokompatibilität, die Langzeitbeständigkeit gegenüber Enzymen und Wasser und die Tatsache, dass sie autoklavierbar sind. Des Weiteren werden in Polysiloxanen keine Weichmacher, Additive oder Alterungsschutzmittel benötigt. Eine Zweijährige in vivo Studie hat jedoch gezeigt, dass nach dieser Zeit eine leichte Fremdkörperreaktion in Verbindung mit einer Einkapselung aufgetreten ist. Die Untersuchung des Implantates hingegen zeigte keine Degradation oder Verringerung der mechanischen Eigenschaften des Werkstoffes. Anwendungsbeispiele für Polysiloxane in der Medizintechnik sind: Bluttransfusionsschläuche, künstliche Finger-, Zehen-, Hand-, und Ellenbogengelenke, Brustimplantate, Augenimplantate und künstliche Ureter. [42]

### 2.2.3 Metalle als Implantatwerkstoffe

Metalle sind anorganische Werkstoffe und zeichnen sich durch metallische Bindungen und frei bewegliche Elektronen aus. Sie sind elektrisch leitend, meist hart und können durch verschiedene Verfahren in komplexe Formen gebracht werden. Die mechanischen Eigenschaften können mittels thermischen und mechanischen Verarbeitungsprozessen optimiert werden. Des Weiteren kann die Korrosionsneigung und Beständigkeit durch gezielte Behandlung des Werkstoffes optimiert werden [43]. Metalle sind schon seit einigen Jahrhunderten als Implantatmaterialien im Einsatz. Vor allem im Dentalbereich werden Edelmetalle zum Beispiel für Füllungen, Kronen und Brücken seit dem 15. Jahrhundert verwendet [44]. Auch heutzutage sind Metallimplantate oft die Mittel zum Erfolg, vor allem für Knochenersatzmaterialien. An metallische Werkstoffe für Implantate gibt es eine Reihe von Anforderungen. Für die Verwendung als Wirbelsäulenimplantat ist die Dehnung des Werkstoffes essenziell, bei Stents sind biologisch abbaubare Eigenschaften wünschenswert und bei Knochenschrauben darf das Gewebe nicht anwachsen. [45]

### 2.2.3.1 Edelstahl

Edelstahl ist das häufigst verwendete Material für Fixierungsimplantate im Körper. Gründe hierfür sind die Kombination aus guten mechanischen Eigenschaften, Korrosionsbeständigkeit und geringen Kosten im Vergleich zu anderen metallischen Implantaten [25]. 1943 wurde Edelstahl nach ASTM 304 als Standardimplantatmaterial deklariert. Der erste zur Implantatherstellung genutzte Stahl war 18-8 Edelstahl. Dieser ist stärker und resistenter gegen Korrosion im Vergleich zu dem vorher verwendeten Vanadiumstahl. Die Weiterentwicklung war 18-8 SMO Edelstahl (oder 316 Edelstahl), welcher einen geringen Anteil an Molybdän besitzt, was die Korrosionsbeständigkeit in Salzlösungen verbessert. Durch Reduzierung des Kohlenstoffanteiles von 0,08 zu maximal 0,03 Gew.-% konnten die Korrosionseigenschaften weiter verbessert werden. Dieser Stahl ist als 316L bekannt [46].

Die Biokompatibilität von Edelstahl wurde durch Jahrzehnte lange Implantation im lebenden Organismus bewiesen. In der Orthopädie kommt Edelstahl vor allem zum Einsatz, wenn die Steifigkeit am Wichtigsten ist. Edelstahl ist einfacher zu verarbeiten als Titan, was die Geometrieanpassung leichter macht. Jedoch hat Edelstahl auch seine Nachteile. Zum Beispiel neigt er, wenn er einmal verformt wurde, nicht dazu sich zurückzubilden, was eine Verzögerung der Kallusbildung, von Osteoblasten neu gebildete Knochensubstanz und der Knochenheilung bewirken kann, siehe Abschnitt 2.3.2. Des Weiteren kann der hohe Nickelgehalt (10-15 %) zu allergischen Reaktionen im Körper führen. Außerdem zeigt Edelstahl nur eine geringe Bioaktivität auf, was die Knochenanbindung behindert und dadurch die Lebensdauer des Implantates verringert. [46]

### 2.2.3.2 Titan

Titan ist eines der biokompatibelsten metallischen Materialien, mit hervorragenden mechanischen Eigenschaften, hoher Korrosionsbeständigkeit und einer geringen Dichte ( $4,5 \text{ g/cm}^3$ ). Das Young'sche Modul liegt, im Vergleich zu Edelstahl, bei der Hälfte, was den Einsatz für orthopädische oder dentale Anwendungen befürwortet. Die besonders guten Implantateigenschaften des Titans lassen sich hauptsächlich auf die spontan bildende, stabile Oxidschicht zurückführen. Diese ist meist nur 3-7 nm dick und besteht hauptsächlich aus Titandioxid. [47]

Etabliert wurde die Anwendung von Knochenplatten und Schrauben aus Titan im Jahre 1965. Heutzutage werden kommerziell hauptsächlich pures Titan und Ti-6Al-4V ELI (Ti64), eine Titanlegierung, im Implantatbereich verwendet. Ti64 besitzt eine hohe Korrosionsbeständigkeit, ist nichtallergischer Natur und verfügt über eine exzellente Biokompatibilität. Die Festigkeit der Legierung liegt im Bereich von Stahl und die Dichte ist 55% geringer. Diese Tatsache führt dazu, dass die Rate Festigkeit/Dichte bei Ti64 besser ist als bei allen anderen gängigen Implantatmaterialien. Verwendungen finden Titan und seine Legierungen in Dentalimplantaten, kieferorthopädischen Teilen, Gelenkersatzteilen für Hüften, Knie, Schultern und Hände, Knochenfixationsmaterial

wie Schrauben, Platten und Nägel, Gehäuse von Herzschrittmachern und künstlichen Herzpumpen sowie Operationsbesteck. [47]

Ti64 wird im Bezug auf die Langzeit-Leistungsfähigkeit jedoch kritisch betrachtet, aufgrund des möglichen Herauslösens von Aluminium und Vanadium. Beide werden in Verbindung mit langfristigen Gesundheitsproblemen wie Alzheimer, Neuropathie und Osteomalazie gebracht. Des Weiteren ist Vanadium sowohl im reinen wie auch im oxidierten Zustand toxisch. [48, 49]

Auch Titan besitzt negative Implantateigenschaften. Ein Beispiel hierfür ist die geringe Scherfestigkeit, weshalb sich Titan weniger für Knochenschrauben oder Platten eignet. Des Weiteren neigt Titan, wenn es an sich selbst oder anderen Metallen reibt, zum Verschleiß. Bei Legierungen mit einem hohen Reibungskoeffizienten kann der entstandene Abrieb zu Entzündungsreaktionen führen, welche wiederum zu Schmerzen und einem Lockern des Implantates aufgrund von Osteolyse führen. Titan besitzt aufgrund seiner kristallinen Struktur eine geringere Duktilität als Edelstahl. Daher ist das Formen von Bauteilen deutlich schwerer im Falle von Titan als bei Edelstahl. Eine weitere Folge der geringen Duktilität ist die schlechte Eignung von Titan für Drähte zur Knochenfixierung, da diese gedreht und gewickelt werden müssen. Im Bereich der kardiovaskulären Anwendungen spielen vor allem die Vorteile der Härte, der Inertheit und der nichtmagnetischen Eigenschaften von Titan eine Rolle. Jedoch wurde bei dem Versuch ein künstliches Herz rein aus Titan zu fertigen festgestellt, dass auf der Oberfläche Blutgerinnung auftritt. Daher werden Edelstahloberflächen für diesen Einsatz bevorzugt. [47]

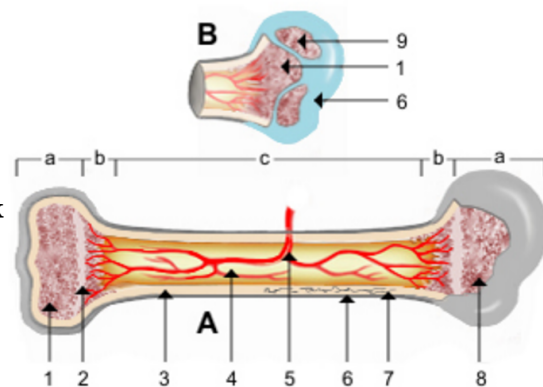
## 2.3 Der Knochen und seine Zusammensetzung

Der Knochen erfüllt im Körper sowohl strukturelle wie auch metabolische Funktionen. Strukturell stützt er den Körper gegen einwirkende Kräfte und schützt die inneren Organe. Die metabolische Funktion liegt in der Speicherung von Phosphor und Kalzium. 99% der im Körper gespeicherten Menge an Kalzium befindet sich im Knochen. Die Bestandteile des Knochens werden auf unterschiedliche Weisen eingeteilt. Eine Option ist die makroskopische Unterteilung nach Morphologie, in platte Knochen (Beckenkamm), Röhrenknochen (Fingerknochen) und pneumatisierte Knochen (Warzenfortsatz). Eine andere nach der Entstehungsart des Knochens (Ossifikation), hierbei werden geflechtartige und lamellenartige Knochen unterschieden. [50]

Der menschliche Knochen kann in vier Hauptbestandteile unterteilt werden, siehe Abbildung 2.1: Die **Periost (Knochenhaut)** (6) verbindet Sehnen und Bänder mit dem harten Anteil des Knochens und ist zuständig für die vaskuläre und nervöse Versorgung sowie für die Regeneration [50]. Die **Substantia compacta (Rindenschicht)** (3) hat einen soliden Aufbau und ca. 80% der gesamten Skelettmasse bestehen daraus. Bei der **Substantia spongiosa (Bälkchensubstanz)** (1) handelt es sich um die innere Struktur des Knochens. Es ist ein sich überschneidendes dreidimensionales Netzwerk aus Bälkchen, Stäben und Platten, in dessen Zwischenräumen das Knochenmark

vorliegt [51]. Die Spongiosa ist hauptsächlich am Ende der Knochen vorhanden und macht 20% des Knochenvolumens aus. Das **Medulla ossium (Knochenmark)** (8) kann in blutbildendes und fettspeicherndes Knochenmark unterteilt werden. Das rote, blutbildende Knochenmark liegt in den Hohlräumen der Spongiosa vor und das gelbe, fettspeichernde (4) in den Knochenmarkshöhlen. [52]

- a Epiphyse
- b Metaphyse
- c Diaphyse
- 1 Spongiosa mit rotem Knochenmark
- 2 Epiphysenlinie
- 3 Kompakta
- 4 Markhöhle mit gelbem Knochenmark
- 5 Knochenarterie
- 6 Knochenhaut
- 7 Osteon
- 8 Medulla ossium
- 9 Wachstumsfuge



**Abbildung 2.1:** Schematischer Aufbau eines menschlichen Knochens (Abbildung entnommen aus [53])

In Abbildung 2.1 ist in A der Aufbau der Knochens eines Erwachsenen und in B der eines Kindes dargestellt. Der Knochen ist in drei Bereiche: a) Epiphse (das Knochenende), b) Metaphyse (wachstumsaktive Zone) und c) Diaphyse (Knochenschaft) eingeteilt.

Der Lamellenknochen wird stetig umgebaut, wobei dies in der Spongiosa etwa dreimal so schnell wie in der Compacta stattfindet. Die Osteoklasten, Knochen abbauende Zellen, und Osteoblasten, Knochen aufbauende Zellen übernehmen diesen Prozess. [51]

Chemisch betrachtet kann der Knochen als Kompositwerkstoff mit einem mineralischen Anteil und einen organischen Anteil gesehen werden. Der mineralische Anteil macht ca. 67% des Gewichtes aus (bezogen auf den trockenen Knochen). Hierbei sind ca. 50% anorganischer Phosphor, 35% Kalzium und die restlichen 15% setzen sich aus Natrium, Karbonat, Zitrat, Nitrat, Magnesium, Fluor und einigen Spurenstoffen zusammen. Der größte Anteil der Mineralien liegt als Apatit vor. Weitere in geringeren Konzentration vorkommende Kalziumphosphate sind Bruschit, Monetit, Octakalziumphosphat und Kalzium-Pyrophosphat. Der organische Anteil des trockenen Knochens macht ca. 27,5% des Gewichtes aus und besteht zu 90-95% aus Kollagen. Des Weiteren sind Osteokalzin und Osteonektin vorhanden, welche zur Stabilität der Knochensubstanz beitragen. Der Anteil an Wasser im humanen Knochen beträgt ca. 10%. [54, 55]

### 2.3.1 Knochenimplantate in der Medizintechnik

Knochenimplantate haben die Aufgabe, der Belastung des menschlichen Körpers standzuhalten und dessen Funktion zu übernehmen. Die herrschende Druck- und Zugkraft kann dabei Maximalwerte des 4,5-fachen des Körpergewichtes erzielen.[41]

### 2.3.2 Osseointegration

Das Einsetzen eines Implantates in einen Knochen soll zu einer festen Verbindung dieser führen. Hierzu bildet sich um das eingesetzte Implantat ein einfassendes Knochenlager. Dieser Prozess wird Osseointegration genannt und verläuft in drei sich überlappenden Phasen. [56]

In der ersten Phase wird die Osseointegration eingeleitet durch Proliferation von Osteogenesenzellen auf der Implantatoberfläche und im Wundbereich. Auslöser für diese Phase ist die Verletzung des Knochengewebes durch zum Beispiel Einbringen des Implantates in den Knochen. Es bildet sich ein periimplantäres Fibringerüst durch das Einsetzen der Wundheilung aus und an der Implantatoberfläche adsorbieren Proteine aus dem umgebenden Blutplasma. Diese Proteine bilden einen Biofilm auf der Oberfläche aus, welcher, wie auch das Fibringerüst, die Anlagerung und Adhäsion von knochenbildenden Zellen unterstützt. [56]

In der zweiten Phase, der *de novo* Knochenbildungsphase, findet die Synthese und Differenzierung von knochenbildenden Zellen statt. An der Implantatoberfläche wird eine Proteinmatrix gebildet und die Osteoblasten leiten den Knochenbildungsprozess ein. [56]

Phase eins und zwei determinieren die Haftung zwischen Implantatoberfläche und Gewebe und werden zusammenfassend als Kontaktosteogenese bezeichnet. [2]

Die dritte Phase beschreibt den Remodellierungsprozess. Die Resorption durch Osteoklasten kommt zur Knochenapposition hinzu. Dies sorgt dafür, dass der Knochen neben seiner Erneuerung auch an die vorliegenden Belastungen von außen angepasst wird. Dieser Prozess wird als Verbundosteogenese bezeichnet. [2, 56]

Die Osseointegration hängt von verschiedenen Faktoren ab. Die drei Wichtigsten sind

- der Implantatwerkstoff,
- das Implantatdesign,
- die Implantatoberfläche.

Bei dem Implantatwerkstoff gilt es zu beachten, dass eine möglichst hohe Belastbarkeit bezüglich Zug, Druck und Biegung vorhanden ist und eine gleichzeitige Elastizität, welche der des Knochens entsprechen sollte. Vor allem bioinduktive Implantatwerkstoffe wie Titan haben sich in der Praxis durch ihre schnelle Osseointegration ausgezeichnet. Von vollständig inerten Materialien wie zum Beispiel Aluminiumoxidkeramiken ist, im direkten Kontakt mit Knochen, abzuraten da es hierbei zu keinem Anwachsen

kommt. Bei dem Design des Implantates spielt die Art der mechanischen Bindung zwischen Knochen und Implantat eine wichtige Rolle in Bezug auf die Osseointegration. Heutzutage wird oft die Keilverbindung gewählt. Das Implantatdesign muss des Weiteren so optimiert werden, dass keine Relativbewegung zum Knochen auftritt, da es sonst zur Bildung von störendem Bindegewebe kommt und ein Anwachsen nicht möglich ist. [41]

Die entscheidende Rolle bei der Osseointegration spielt die Oberfläche des Implantates. Eine knochenähnliche Makrostruktur, welche zum Beispiel durch Korundstrahlen erzielt werden kann, bildet die optimale Ausgangssituation. Die Festigkeit einer Keramik kann über die Korngröße gesteuert werden. Durch Erstarrungs- und Kristallisationsverfahren können die Korngrößen gesteuert werden, wobei kleine Körner gleichbedeutend mit hoher Festigkeit sind. [41]

### 2.3.3 Oberflächeneigenschaften von Knochenimplantaten

Die Oberfläche des Implantates spielt eine der wichtigsten Rollen bei der Osseointegration. Die Topographie und Oberflächenrauigkeit, die Oberflächenchemie, die Oberflächenladung und die Oberflächenenergie bzw. die Benetzbarkeit sind hier die entscheidenden Parameter.

#### Topographie und Oberflächenrauigkeit

Die Topographie der Oberfläche entscheidet über die Zellmorphologie, die Selbstorientierung, die Proliferation und die Differenziation der Zellen auf dem Implantat. Bevorzugt sind dreidimensionale Strukturen, welche mittels Mikro- und Nanoporen, Mikrorillen und Gittern zufällige Oberflächenrauigkeiten erzielen können. [57]

Wenn ein bioaktives Knochenimplantat erzeugt werden soll, muss dieses über eine komplexe Topographie verfügen. Ein Grund hierfür ist, die natürliche Knochenregeneration. Hier bietet die Resorptionsoberfläche des alten Knochens die optimale topographische Vorlage. An diese wächst das neue Knochengewebe an und schließlich auch ein. Des Weiteren kann eine hohe Oberflächenrauigkeit die Zelladhäsion stimulieren und aufgrund der größeren Oberfläche, steht mehr Raum für die Proteinadsorption bereit. Die raue Oberfläche sorgt außerdem für eine Stabilisierung der Anbindung und dadurch eine bessere Haftung zwischen Implantat und Gewebe. Sehr glatte Oberflächen sind für Knochenimplantate nicht geeignet, jedoch sind sie vielversprechend für Implantate, welche in Kontakt mit Blut stehen. [46]

Die Oberflächenrauigkeit wird in drei Hauptgruppen unterteilt (nach Vagaská et al. [58]):

- Makroskopische Rauigkeit (100  $\mu\text{m}$  - mm),
- Mikroskopische Rauigkeit (100 nm - 100  $\mu\text{m}$ ),
- Nanoskopische Rauigkeit (<100 nm).

Alle drei Gruppen haben einen unterschiedlichen Einfluss auf das Implantat. Die makroskopische Rauigkeit beeinflusst direkt die Implantatgeometrie, wohingegen sich die mikroskopische Rauigkeit auf das Ineinandergreifen von Implantat und dem mineralisierten Knochen auswirkt.[59]

Die nanoskopische Rauigkeit beeinflusst die Zell- und Proteinadsorption und damit die Osseointegration des Implantates. Bei großen Zellen wie zum Beispiel Osteoblasten und Neuronen können makroskopisch raue Oberflächen zielführend sein. Proteine hingegen bevorzugen nanoskopische Rauigkeiten. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn eine Kombination der Rauigkeiten auf der Oberfläche vorliegt.[60, 61, 62]

### **Oberflächenchemie**

Die chemische Zusammensetzung der Oberfläche spielt eine bedeutende Rolle, da diese entscheidet, welche funktionellen Gruppen an der Oberfläche zur Interaktion mit den umliegenden Biomolekülen zur Verfügung stehen. Es ist der direkteste Weg um die Protein- und Zelladhäsion zu beeinflussen. Mittels der funktionellen Gruppen kann gesteuert werden, welche Art von Zellen adhärieren. Die Oberflächenchemie beeinflusst direkt die Oberflächenladung, die Benetzbarkeit und die freie Energie der Oberfläche. Eine ungünstig gewählte Oberflächenchemie kann zu Entzündungen und zum Einkapseln des Implantates mit Bindegewebe führen. Um die Oberflächenchemie des Implantates zu optimieren, wird oft auf Beschichtungen zurückgegriffen, da diese individuell angepasst werden können. [46]

### **Oberflächenladung**

Die Oberflächenladung, an der fest-flüssig Grenzschicht zwischen Implantat und Körpermedium, ist einer der einflussreichsten Faktoren, welcher die Protein und Zelladhäsion bestimmt [63]. Im Allgemeinen begünstigen positiv geladene Oberflächen die Zelladhäsion und negative verhindern sie [64]. Bei geringer Ionenstärke, wenn die elektrostatischen Abstoßungskräfte dominieren, ist die Adhäsion der Zellen vernachlässigbar klein. Im Gegensatz dazu ist bei einer hohen Ionenstärke die Adhäsion groß, da hier die elektrostatischen Abstoßungskräfte vernachlässigbar klein sind und die Van-der-Waals Kräfte dominieren. Proteine adsorbieren bevorzugt an positiv geladene Oberflächen und stimulieren dann die Osteoblasten zu adhärieren und auf der Oberfläche zu spreiten. Allgemein lässt sich jedoch sagen, dass die Adsorption sowohl von der Protein- wie auch der Oberflächenladung abhängt aufgrund der elektrostatischen Interaktion zwischen beiden. [65, 66, 67]

### **Oberflächenenergie und Benetzbarkeit**

Auf atomarer Basis ist die Oberflächenenergie präsent als die freien chemischen Bindungen. Oberflächenatome besitzen aufgrund der vorhandenen Freiheitsgrade eine höhere Energie als Bulkatome. Diese freie Energie versuchen Oberflächen durch Anbinden an verfügbare, reaktive Moleküle zu minimieren, um einen günstigeren energetischen Zustand zu erreichen. Bei Metalloberflächen geschieht dies oft durch Anbinden von Luft oder Wasser, was zu einer Oxidschicht an der Oberfläche führt. Daher haben



Oberflächen oft eine andere chemische Zusammensetzung als das Bulkmaterial. Die Oberflächenenergie ist stark verbunden mit der Benetzbarkeit dieser. Der Unterschied ist, dass die Oberflächenenergie die Interaktion mit jeglichem Material beschreibt und die Benetzbarkeit nur die mit Flüssigkeiten. Wenn eine hohe Oberflächenenergie vorliegt, ist die Benetzbarkeit höher und die Oberfläche ist hydrophil. Bei niedriger Oberflächenenergie und schlechter Benetzbarkeit ist eine Oberfläche hydrophob. Die Oberflächenenergie wird durch die Verteilung der elektrischen Ladung bestimmt, welche wiederum durch die Oberflächenchemie und Kristallinität beeinflusst wird. Wenn eine Oberfläche in Kontakt mit Körpermedium kommt, führt die freie Energie in den meisten Fällen zu einer Reaktion mit dem Körpermedium, daher ist die Benetzung durch Körperflüssigkeiten einer der ersten Prozesse der stattfindet. Die größten Einflüsse auf die Benetzbarkeit üben die chemische Zusammensetzung der Oberfläche, die Mikrostruktur der Oberflächentopographie und die Oberflächenladung aus. [46]

Hydrophobe Oberflächen neigen dazu mehr Proteine zu adsorbieren. Hydrophile hingegen neigen dazu der Proteinadsorption entgegen zu wirken. Sehr stark hydrophobe Oberflächen verhindern jedoch die Adsorption von Proteinen und Blutplättchen und zeigen dadurch eine hohe Blutkompatibilität auf. Die Gründe hierfür sind noch nicht eindeutig entschlüsselt, jedoch wird angenommen, dass bei hydrophoben Oberflächen die Proteine, mit ihren vielen hydrophoben Resten, bzw. Aminosäuren auf ihrer amphiphilen Oberfläche, adsorbieren und dort denaturieren und der hydrophobe Kern über die Oberfläche gespreitet wird. Bei einer hydrophilen Oberfläche geht man davon aus, dass diese mit den geladenen und funktionellen Gruppen der Proteinoberfläche interagiert. Dabei wird zwar die Orientierung der adsorbierten Proteine auf der Oberfläche beeinflusst jedoch neigen die Proteine nicht zum Denaturieren oder spreiten. [46]

Bei Zellen zeigt sich jedoch, dass hydrophile Oberflächen einen bedeutsamen Anstieg der Zelladhäsion, -spreitung, -proliferation und -differenzierung bewirken. [46]

Im Fall von Osteoblasten lässt sich zusammenfassend sagen, dass sie besser an hydrophilen und stark hydrophilen Oberflächen adhäreren. Es wurde festgestellt, dass die Adhäsion bedeutend abnimmt, wenn der Kontaktwinkel von  $0^\circ$  auf  $106^\circ$  ansteigt. Fibroblasten hingegen zeigen die maximale Adhäsion an Oberflächen bei einem Kontaktwinkel zwischen  $60^\circ$  und  $80^\circ$ . [46]

### 2.3.4 Oberflächenbeschichtung von Knochenimplantaten

Der Anspruch an ein Biomaterial ist, dass eine Koexistenz zwischen Implantat und umgebendem Gewebe vorliegt, ohne das Auftreten von unerwünschten Nebeneffekten. Hierbei sind die Oberflächeneigenschaften ausschlaggebend für Abstoßung oder Akzeptanz des Implantates. Zum Beispiel findet die Proteinadsorption und Zelladhäsion an der Grenzschicht zwischen Implantatoberfläche und umliegendem Gewebe statt und wird durch die physiochemischen Eigenschaften der Implantatoberfläche beeinflusst. Die Oberfläche wird definiert als die oberen 2-10 Atom- oder Moleküllagen, was eine Dicke von ca. 0,5-3 nm ergibt [68]. [46]

In den seltensten Fällen besitzt ein Biomaterial geeignete Bulkeigenschaften und geeignete Oberflächeneigenschaften für die klinische Anwendung. Allgemein lässt sich sagen, dass nur wenige Oberflächen, der verwendeten Bulkmaterialien, biokompatibel sind. Dieser Tatsache kann durch Oberflächenbeschichtungen entgegen gewirkt werden. Durch Änderung der Chemie, der Topographie, der Energie und Ladung der Oberfläche und gleichzeitiger Erhaltung der Bulkeigenschaften kann die Biokompatibilität enorm gesteigert werden. Zum Beispiel kann mittels einer Beschichtung die Korrosionsbeständigkeit, die Verschleißfestigkeit, die antibakteriellen Eigenschaften, das Einwachsen in den Knochen und die Biokompatibilität verbessert werden. Gleichzeitig kann ein beliebiges Bulkmaterial gewählt werden, welches die gewünschte mechanische Festigkeit und Verarbeitbarkeit besitzt. Welche Beschichtungsart gewählt wird, hängt von vielen Faktoren ab. Zum einen sind nicht alle Beschichtungsarten für jedes Bulkmaterial geeignet, vor allem Temperatureinflüsse spielen hier eine Rolle. Des Weiteren kann nicht jede Geometrie mit jedem Verfahren beschichtet werden und auch der Kostenfaktor muss berücksichtigt werden. Allgemein lässt sich sagen, dass der Einsatzort des Implantates das Beschichtungsverfahren bestimmt. [46]

## 2.4 Verfahren zur Implantatbeschichtung

Die Beschichtung von Implantaten ermöglicht die Verwendung von nahezu jedem Bulkmaterial, da die Interaktion mit dem Gewebe durch die Oberflächenbeschichtung gesteuert wird. Häufig werden Verfahren zur Dünnschichtabscheidung verwendet, da diese zu einer besseren Beständigkeit und Haftung neigen.

### 2.4.1 Sol-Gel Prozess

Der Sol-Gel Prozess ist ein nasschemisches Verfahren zur Abscheidung von anorganischen Strukturen wie Monolithen, Pulvern oder dünnen Filmen aus Kolloidsuspensionen, mithilfe von anorganischen oder metallorganischen Precursoren. Die Vorteile in diesem Prozess liegen in der guten Kontrolle der Chemie und Struktur auf molekularer Ebene, der Porosität im Nanobereich und der geringen Prozesstemperaturen, welche zu einzigartigen Strukturen führen. So können zum Beispiel Nichtgleichgewichtstrukturen gebildet werden und unerwünschte Phasenübergänge und mikrostrukturelle Veränderungen können verhindert werden. Nachteile treten bei Strukturen im Bereich von  $>1$  cm auf. Hier kann es zum Schrumpfen während des Trocknungsprozesses und dadurch zur Rissbildung kommen. Des Weiteren sind manche Precursoren mit sehr hohen Kosten verbunden, die Produktionsraten im Sol-Gel Prozess sind eher gering und die Herstellung ist nur im Batchverfahren möglich. [43, 69]

Ein Sol ist eine kolloidale Suspension aus Nanopartikeln in einem flüssigen Medium (meist Wasser oder Alkohol) mit einer Säure oder Base, welche als Katalysatoren fungieren. Der Sol-Gel Prozess wird in vier Phasen unterteilt, welche sich häufig überlappen: 1. Hydrolyse und Kondensationsprozesse von anorganischen oder organischen

Precursoren zur Bildung von partikelförmigen oder polymeren Solen, 2. Agglomeration oder Clustering von Solbestandteilen zur Bildung von Gelstrukturen mit ausreichender Starrheit um eine Formbeständigkeit zu erreichen, 3. Trocknen des Gels und 4. Sintern um anorganische Phasen mit gewünschten Eigenschaften zu erzielen. [43]

### 2.4.2 Thermisches Spritzen

Das thermische Spritzen ist ein Verfahren zum Beschichten von Bauteilen mit verschiedensten Werkstoffen. Der Spritzwerkstoff wird als Pulver, Stab oder Draht in eine energiereiche Wärmequelle geleitet. Dies kann innerhalb oder außerhalb des Spritzgerätes erfolgen. In der Wärmequelle wird der Spritzwerkstoff auf-, an- oder abgeschmolzen. Die entstehenden Partikel werden mittels Gasstrom auf die Substratoberfläche beschleunigt und dort scheidet sich ein schichtbildender Niederschlag ab. [70]

Das Substrat erfährt während der Beschichtung nur eine geringe thermische Belastung und wird nicht aufgeschmolzen. In der Norm DIN EN 657 wird das thermische Spritzen nach der Art der Wärmequelle unterteilt. Die am meist verbreiteten Verfahren sind das Flammsspritzen, das Hochgeschwindigkeitsflammsspritzen, das Lichtbogenspritzen und das Plasmaspritzen. [70]

### 2.4.3 Physikalische Gasphasenabscheidung

Die physikalische Gasphasenabscheidung, auch Physical Vapour Deposition (PVD), ist ein Beschichtungsverfahren aus der Dampfphase. Hierbei werden Moleküle mittels Physisorption an die Oberfläche angelagert. Bei den Beschichtungsmaterialien handelt es sich meist um keramische oder metalloide Werkstoffe, welche auf Metallen, Gläsern, Keramiken oder Legierungen abgeschieden werden können. Durch ein gepulstes Verfahren können auch Kunststoffe beschichtet werden, da das Pulsen zu einer Erniedrigung der Prozesstemperatur führt. [71]

Meist finden PVD Verfahren unter Hochvakuum statt, was bei der Wahl des Substrates berücksichtigt werden muss. Beim PVD wird in drei Verfahrenvarianten untergliedert: Bedampfen, Sputtern, Ionenplattieren. [71]

### 2.4.4 Chemische Gasphasenabscheidung

Das Prinzip der chemischen Gasphasenabscheidung, auch Chemical Vapour Deposition (CVD) basiert auf der Chemisorption von Molekülen auf der Oberfläche. Ein weiterer Unterschied zum PVD ist, dass der Beschichtungswerkstoff erst während des Prozesses durch chemische Reaktionen erzeugt wird. Hierzu wird ein reaktives Gas (Precursor) mit einem inerten Trägergas eingeleitet. Um die benötigte Energie für die ablaufenden chemischen Reaktionen zu erhalten, werden Temperaturen von ca. 2000°C benötigt. Eine weitere Option um diese Energie zu erzeugen, ist das Verwenden von Plasma. Ein solcher Prozess wird Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition (PE-CVD)

genannt. Ein bedeutender Vorteil des PE-CVD Verfahrens ist die geringere benötigte Prozesstemperatur von  $\geq 400^\circ\text{C}$  im Vergleich zur thermischen Methode ( $\geq 700^\circ\text{C}$ ). Je nach Prozessaufbau können, vor dem Auftreffen des Precursors auf die Oberfläche, chemische Vorreaktionen ablaufen. Die eigentliche Reaktion findet jedoch auf der Substratoberfläche statt, wobei diese eine katalytische Wirkung ausübt. Ein Teil der Reaktionsprodukte bindet an der Oberfläche an und bildet dort eine Schicht. Die übrigen Reaktionsprodukte werden gasförmig als Nebenprodukte abgezogen. [71]

Der CVD Prozess ist ein komplexes Zusammenspiel vieler Konvektions- und Diffusionsprozesse sowie der ablaufenden chemischen Reaktionen. Da ein ungerichteter Stofftransport stattfindet, können auch komplexe Bauteilgeometrien beschichtet werden. Im Gegensatz zum PVD können CVD Prozesse unter Vakuum und Atmosphärendruck stattfinden. Die sich bildenden Schichten sind sehr dicht und verfügen über eine gute Haftfestigkeit bei gleichmäßiger Schichtdickenverteilung. [71]

### 2.4.5 Vor- und Nachteile der Beschichtungsverfahren

Um das, für die gewünschte Anwendung, geeignetste Beschichtungsverfahren zu wählen, ist es wichtig die Vor- und Nachteile der einzelnen Verfahren zu kennen. Einige dieser sind in Tabelle 2.3 aufgeführt.

Das CVD Verfahren, das PVD Verfahren und das thermische Spritzen können mittels Plasma als Energiequelle durchgeführt werden. Dadurch können niedrigere Prozesstemperaturen verwendet werden. Dies bringt den Vorteil mit sich, dass auch temperaturempfindliche Materialien beschichtet werden können.

Ein Nachteil des PVD Verfahren ist, dass es nur im Vakuum angewandt werden kann, was zu hohen Kosten und geringer Stückzahl, aufgrund des Batchverfahrens, führt.

Mittels Sol-Gel Prozess können sehr feine und gut kontrollierbare Strukturen abgeschieden werden, jedoch ist der Prozess kaum rentable für die große Industrie, da viele Abfallprodukte anfallen und nur eine geringe Produktionsrate erreicht werden kann.

Das thermische Spritzen überzeugt durch die große Werkstoffvielfalt, jedoch kommt es häufig zu einem Overspray, was die Beschichtungen inhomogen macht.

Im Allgemeinen muss bei der Wahl des Verfahrens die gewünschte Produktionsrate, die Schichtdicke, das Substrat und die Schichtzusammensetzung evaluiert werden, um das optimale Verfahren zu ermitteln.

**Tabelle 2.3:** Vergleich von Beschichtungsverfahren [3]

Beschichtungsverfahren	Vorteile	Nachteile
Sol-Gel Prozess	<ul style="list-style-type: none"> <li>• gute Kontrollierbarkeit der Chemie und Struktur</li> <li>• niedrige Prozesstemperaturen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• oft teure Precursor</li> <li>• Produktionsraten gering</li> </ul>
Thermisches Spritzen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• große Werkstoffvielfalt</li> <li>• Eigenschaften gut über Prozess steuerbar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Overspray</li> </ul>
PVD Verfahren	<ul style="list-style-type: none"> <li>• hohe Haftung</li> <li>• dichte Schichten</li> <li>• Verbindungen, Legierungen und Elemente abscheidbar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• niedrige Schichtraten</li> <li>• teures Vakuumequipment</li> <li>• Einschränkungen bzgl. Bauteilgeometrie</li> </ul>
CVD Verfahren	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sehr hohe Härte</li> <li>• gute Adhäsion</li> <li>• Atmosphären- und Niederdruck</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Entsorgung</li> </ul>

## 2.5 Plasma

Der Begriff Plasma wurde erstmals 1928 von Irving Langmuir [72] geprägt. Häufig wird Plasma im physikalischen Sinn als vierter Aggregatzustand definiert. Es handelt sich um ein teilweise oder vollständig ionisiertes Gas. Dieser Zustand wird erreicht, indem einem Gas Energie zugeführt wird, siehe Abbildung 2.2. Hierbei stoßen Moleküle des Gases gegeneinander, diese werden zu Atomen dissoziiert und diese wiederum zu Ionen. Im Plasma sind Elektronen, positiv und negativ geladene Ionen, angeregte und nicht angeregte Neutralteilchen und Radikale vorhanden. [73]

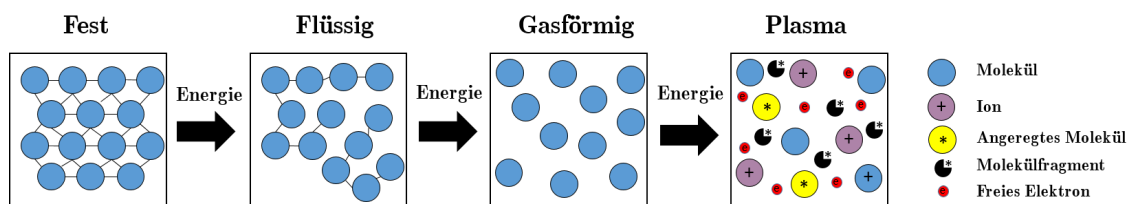


Abbildung 2.2: Übergang der Aggregatzustände

Ein Plasma entsteht durch das Einführen von Energie in ein Gas, was zu einer Reorganisation der Elektronenstruktur von Spezies wie Atomen und Molekülen führt. Es kann durch thermische Energie, durch elektrischen Strom oder elektromagnetische Strahlung erzeugt werden. Beim Anlegen eines elektrischen Feldes überträgt dieses Energie an die Gaselektronen, welche durch Stöße Energie an neutrale Spezies weitergeben. Dies kann auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen:

- Durch elastische Stöße. Hier ändert sich die innere Energie der Neutralteilchen nicht und es kommt nur zu einer leichten Erhöhung der kinetischen Energie.
- Durch inelastische Stöße. Dies geschieht, wenn die Elektronenenergie groß genug ist, dass durch einen Stoß die elektronische Struktur der Neutralteilchen verändert werden kann, was zur Bildung von angeregten Spezies oder Ionen führt.

Die meisten angeregten Spezies verfügen über eine kurze Lebensdauer und fallen anschließend zurück in den Grundzustand durch Emittieren eines Photons. [73]

Abhängig von der Energiequelle und der Menge an transferierter Energie ins Plasma ändern sich die Eigenschaften wie die Elektronendichte und Temperatur des Plasmas. Plasma lässt sich anhand des Druckes und des Gleichgewichtsgrades einteilen. Mit Gleichgewicht ist hier das thermische Gleichgewicht gemeint, welches durch die Temperatur der Elektronen, Ionen und Neutralteilchen im Plasma definiert wird. Bei einem thermischen Plasma (Local thermodynamic equilibrium plasma (LTE-Plasma)), welches auch heißes oder Hochtemperaturplasma genannt wird, ist die relative Temperatur der Elektronen ( $T_e$ ) und der Ionen ( $T_i$ ) nahezu gleich, es befindet sich im thermischen Gleichgewicht. Bei einem LTE-Plasma müssen die Übergänge und chemischen Reaktionen aufgrund von Stößen und nicht durch Strahlungsprozesse stattfinden und die Stoßphänomene müssen mikroreversibel sein. Im Falle der nicht-thermischen Gleichgewichts Plasmen (Non-local

thermodynamic equilibrium Plasma (non-LTE-Plasma)) ist  $T_i$  deutlich kleiner als  $T_e$ , was zu starken Gradienten im Plasma führt. [74, 75]

Die Einteilung der Plasmen anhand des Prozessdruckes erfolgt in Niederdruckplasma, Atmosphärendruckplasma und Hochdruckplasma.

### 2.5.1 Niederdruckplasma

Die Drücke liegen bei einem Niederdruckplasma im Bereich von  $10^{-4}$  bis  $10^{-2}$  kPa [74]. Klassischerweise handelt es sich bei Niederdruckplasmen um non-LTE-Plasmen. Die freie Weglänge der Elektronen ist deutlich länger als die Debye-Länge. Dies führt dazu, dass die Stöße der Elektronen oder Gasmoleküle untereinander deutlich seltener als im atmosphärischen Plasma sind. Jedoch kann mittels der Prozessparameter und dem Aufbau auch ein LTE-Plasma im Niederdruck erzeugt werden. In diesem Fall liegt die Plasmatemperatur einige Grad oberhalb der Raumtemperatur, was das behandeln von temperaturempfindlichen Materialien ermöglicht. Die Nachteile des Niederdruckplasmas liegen in dem aufwendigen Vakuumsystem, den relativ langen Behandlungszeiten, dem Batchverfahren, welches eine Inline Integration erschwert und der Tatsache, dass nicht punktuell beschichtet werden kann ohne aufwendige Maskierung. Große Vorteile zeigen sich jedoch in der Reinheit und guten Kontrolle der abgeschiedenen Beschichtungen und der niedrigen Prozesstemperaturen. [71, 74]

### 2.5.2 Atmosphärendruckplasma

Atmosphärendruckplasma gewinnt seit den 1990er Jahren immer mehr an Bedeutung, obwohl dieser Prozess schon 1857 unter dem „Siemens ozone process“ [76] Anwendung fand. Die aktuellen Möglichkeiten der Charakterisierung von Filmen und Plasmen, sowie die Verbesserung der elektrischen Generatoren, bieten neue Optionen diese Technik zu nutzen. [77]

Die Erkenntnisse im Bereich des Niederdruckplasmas konnten auf das Atmosphärendruckplasma übertragen werden. Die Verwendung von Atmosphärendruckplasma bietet folgende Vorteile:

- Vermeidung von organischen Lösemitteln,
- gute energetische Ausbeute (im Falle von kaltem Plasma),
- Vermeidung von teuren Pump- und Vakuumsystemen,
- einfache Integration in Fabrikationslinien,
- Plasmparameter (Spannung, Stromstärke, Volumenstrom und Zusammensetzung, Leistung) relativ einfach zu kontrollieren.

Im atmosphärischen liegt natürlich ein LTE-Plasma vor. Jedoch kann durch die Steuerung des Prozesses auch ein non-LTE-Plasma erzeugt werden. Ein bedeutender Einfluss ist die Elektronendichte. Wenn diese hoch ist, liegt ein LTE-Plasma vor.

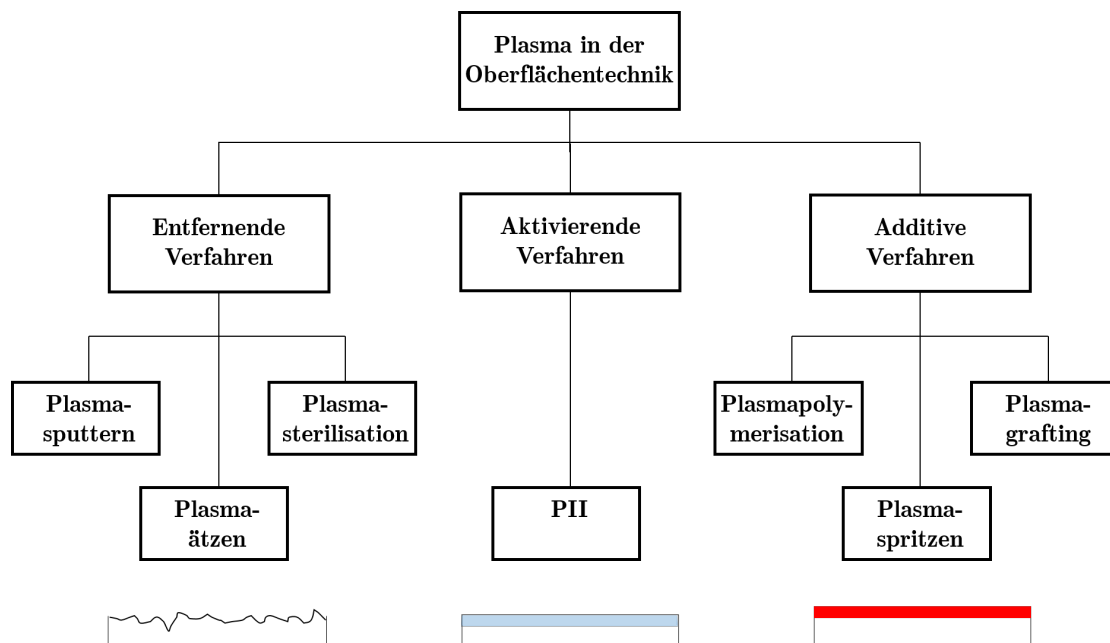
Durch eine gepulste Stromversorgung wird die Elektronendichte reduziert und ein non-LTE-Plasma generiert. [74, 77]

### 2.5.3 Hochdruckplasma

In einem Hochdruckplasma ist die Teilchendichte sehr hoch und dadurch treten Stöße, welche zu einem Gleichgewicht führen, häufiger auf. In diesem Falle spricht man von einem LTE-Plasma, da ein Temperaturengleich zwischen den Teilchen erfolgt. Hochdruckplasma wird zum Beispiel für das Unterwasserschweißen verwendet. In der Beschichtungstechnologie kommt es jedoch aktuell kaum zum Einsatz. [78]

### 2.5.4 Anwendungen von Plasma in der Oberflächentechnik

Plasma kann in der Oberflächentechnik in verschiedenen Bereichen eingesetzt werden. Beispiele hierfür sind die Plasmasterilisation, die Plasmabeschichtung, die Plasmareinigung, die Plasmaaktivierung und das Plasmaätzen. Eine Unterteilung kann in entfernende, aktivierende und additive Verfahren gemacht werden, siehe Abbildung 2.3. [75]



**Abbildung 2.3:** Übersicht der Anwendungsgebiete von Plasma in der Oberflächentechnik

Die entfernenden Verfahren sind das Plasmasputtern, die Plasmasterilisation und das Plasmaätzen. Hierbei werden Schmutz, Bakterien oder Teile der Oberfläche mittels Plasma entfernt. Die Plasmasterilisation entfernt organische Moleküle, wie zum Beispiel Bakterien oder Zellen von der Oberfläche. Dies geschieht aufgrund des Zusammenspiels der UV-Strahlung und der Plasmaradikale. Vorteile der Verwendung von Plasma zur Sterilisation sind die niedrigen Betriebskosten, die Schonung der Oberfläche durch milde



Prozessparameter und die kurze Prozesszeit. Um anorganische Verschmutzungen von der Oberfläche zu entfernen, sind die intensiveren Verfahren wie Plasmaätzen oder Plasmasputtern nötig. Beim Plasmasputtern wird die Oberfläche mit Ionen eines Inertgases bombardiert und so Verschmutzungen entfernt. Durch Wahl der Prozessparameter kann die oberste Schicht vollständig abgetragen werden. Plasmasputtering wird häufig zum Reinigen vor Beschichtungsprozessen eingesetzt, um eine fett- und oxidfreie sowie eine gleichmäßige und reproduzierbare Oberfläche zu gewährleisten. Das Plasmaätzen ist ein chemischer Prozess. Hierbei werden reaktive Partikel an der Oberfläche adsorbiert und dort reagieren sie mit Oberflächenmolekülen. Das Reaktionsprodukt desorbiert anschließend von der Oberfläche und hinterlässt freie Stellen auf der Oberfläche. Das Plasmaätzen wird, vor allem im Bereich der Mikroelektronik, zur Optimierung der Oberflächentopographie verwendet. [75]

Bei den aktivierenden Verfahren steht vor allem die Plasma-Immersions- und Ionenimplantation (PII) im Vordergrund. Hierbei werden in die Oberfläche hochenergetische Ionen eingebracht. Die Eindringtiefe beträgt bei festen Materialien nur einige Nanometer. Ein Beispiel ist die Stickstoffeinbringung zur Bildung von Nitriden. Durch die Behandlung kann die Oberflächenspannung verändert werden. Bei metallischen Werkstoffen kann das PII zur Erhöhung der Festigkeit, der Verschleißbeständigkeit, der Korrosionsbeständigkeit und der Biokompatibilität eingesetzt werden. [75]

Die additiven Verfahren beinhalten die Plasmapolymersation, das Plasmaspritzen und das Plasmagrafting. Bei der Plasmapolymersation wird ein Polymer mit hohem Molekulargewicht aus den zugehörigen Monomeren mittels Aktivierung durch Plasma erzeugt. Die Plasmaquelle wird verwendet, um aus den gasförmigen Monomeren Radikale zu erzeugen und oder Radikale auf der festen Substratoberfläche zu erzeugen. Diese rekombinieren dann und bilden auf der Substratoberfläche einen Polymerfilm aus. Die Plasmapolymersation kann verwendet werden um sehr dünne (10 bis einige hundert nm), glatte, homogene und gut adhäsive Polymerschichten auf Metallen, Polymeren, Gläsern und Keramiken auszubilden. Die Plasmapolymere unterscheiden sich von den herkömmlich hergestellten Polymeren durch ihren Aufbau. Durch die einzigartigen Reaktionsmechanismen, durch welche die Monomere kreuzvernetzen, fragmentiert werden und sich reorganisieren, entstehen unregelmäßig strukturierte Polymere. Diese unregelmäßige Struktur verbessert die mechanischen Eigenschaften und die Resistenz gegenüber Alterung, Oxidation und Schrumpfen. Die Gleichmäßigkeit des Polymers kann durch das Pulsen des Plasmastrahls erhöht werden. [75, 79]

Das Plasmagrafting unterscheidet sich von der Plasmapolymersation durch das Anbinden von Monomeren an bereits abgeschiedene Polymerschichten um Co-Polymere zu bilden. Die Radikalbildung und die Rekombinationsmechanismen laufen nahezu identisch zur Plasmapolymersation ab. [75]

Das Plasmaspritzen gehört zur Gruppe der thermischen Spritzverfahren (siehe Abschnitt 2.4.2). Meist wird ein LTE-Plasma verwendet, um die benötigten Temperaturen und Energien zum Aufschmelzen des Spritzwerkstoffes zu erzeugen. Das Ionisationsgas

beeinflusst den Grad der Aufschmelzung. Der Spritzwerkstoff liegt häufig pulverförmig vor, wobei die Tendenz zu Flüssigkeiten steigt. Mittels Plasmaspritzen können Schichtdicken von  $50\ \mu\text{m}$  bis einigen mm erreicht werden. Das Verfahren kann im Vakuum, im Atmosphärischen und im Hochdruck ablaufen. Die Beschichtungen zeichnen sich durch ihre Porosität und Dichte aus, was vor allem für die Beschichtung von Knochenimplantaten relevant ist. [70, 75]

## 2.6 Die photokatalytische Wirkung von Titandioxid

Die photokatalytische Zersetzung von Wasser an Titandioxid-Elektroden wurde erstmals 1972 von Fujishima und Honda beschrieben [80]. Anwendungen findet diese in Photokatalysatoren, Photovoltaics und Sensoren. Titandioxid ist chemisch stabil, ein Halbleiter, nicht toxisch und kostengünstig, was es zu einer guten Wahl für Anwendung im alltäglichen Gebrauch macht, zum Beispiel in der Medizintechnik als antibakterielle Beschichtung. Der Effekt beruht auf der Tatsache, dass Titandioxid ein Halbleiter ist und durch Anregung ein Übergang der Elektronen in das Leitungsband auftreten kann. Dies geschieht meist durch Anlagerung von Photonen, in Form von Strahlung ( $h\nu$ ), an der Oberfläche, wobei Elektronen aus dem Valenzband in das Leitungsband angehoben werden, was zu Elektronenlöchern im Valenzband führt.



Die zusätzlichen Elektronen im Leitungsband werden mit  $e_{LB}^-$  gekennzeichnet und die Elektronenlöcher mit  $h_{VB}^+$ . Nachdem die Probe angeregt wurde, gibt es drei Reaktionswege.

- **Rekombination**

Bei diesem Prozess rekombinieren die Löcher im Valenzband mit den Elektronen im Leiterband. Die gespeicherte Energie wird in Form von Wärme abgegeben. Der unerwünschte Prozess der Rekombination kann durch Defektstellen an der Oberfläche oder durch adsorbierte Akzeptormoleküle reduziert werden.[81]



- **Metastabile Oberflächen**

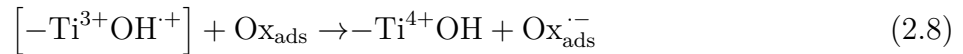
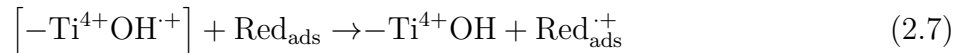
Hier wandern Elektronenlöcher und Elektronen an die Werkstoffoberfläche und bilden dort metastabile Oberflächengruppen. Die Elektronen und die Löcher können von Defektstellen aufgenommen werden. In Gleichung 2.3 und 2.4 ist dargestellt, wie die Ladungsträger eingefangen werden.



Anschließend finden entweder die Rekombinationsreaktionen der Ladungsträger an den Partikeln statt oder die metastabilen Oberflächengruppen reagieren mit an der Oberfläche adsorbierten Substanzen.[81]



$\text{Red}_{ads}$  und  $\text{Ox}_{ads}$  stehen für die adsorbierten Reduktions- bzw. Oxidationsmittel. Um eine an der Oberfläche adsorbierte Substanz photokatalytisch zu zersetzen, können also Reduktions- wie Oxidationsprozesse stattfinden. Werden die Elektronen im Leitungsband direkt reduziert spricht man von einem Reduktionsprozess (siehe Gleichung 2.7) und werden die Schadstoffe durch Radikale zersetzt von einem Oxidationsprozess (siehe Gleichung 2.8). Der stattfindende Prozess kann durch das Substrat, die Bestrahlungsdauer und die Ausgangskonzentration des Substrats beeinflusst werden. [81]



- **Direkter Schadstoffabbau durch Elektronen und Löcher an der Oberfläche**

Auch in diesem Fall wandern Elektronenlöcher und Elektronen an die Oberfläche und reagieren dort mit an der Oberfläche adsorbierten Substanzen. Der Abbau von Schadstoffen erfolgt hier direkt durch die Elektronen und Elektronenlöcher. Des Weiteren können, durch adsorbiertes Wasser oder Hydroxidionen ( $\text{OH}^-$ ) und Elektronenlöcher, freie  $\cdot\text{OH}$ - Radikale entstehen. Bei der Übertragung des  $e_{LB}^-$  auf Sauerstoff entsteht ein Superoxidradikal- Anion ( $\cdot\text{O}_2^-$ ). Diese reagieren mit Wasserstoffkationen weiter zu radikalischem Wasser. Welches bei der Reaktion miteinander Sauerstoff und Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) bildet und bei der Reaktion mit einem Elektron und einem Wasserstoffkation zu Wasserstoffperoxid reagiert. Das entstandene Wasserstoffperoxid kann wiederum mit Elektronen zu einem Hydroxylradikal ( $\cdot\text{OH}$ ) und einem Hydroxylanion ( $\text{OH}^-$ ) reagieren oder mit einem Superoxidradikal- Anion zu einem Hydroxylradikal, einem Hydroxylanion und Sauerstoff. [82, 83]



# 3 Herangehensweise und Untersuchung der plasmabeschichteten Oberflächen

## 3.1 PlasmaPlus<sup>®</sup> Anlage

Bei der PlasmaPlus<sup>®</sup> Anlage der Plasmatrete GmbH handelt es sich um ein atmosphärisches Plasmasystem. Es besteht aus einem Generator, einem Transformator und einer Düse. Diese wird mittels Ionisationsgas betrieben.

Durch die Hochspannungsentladung (5-15 kV, 10-100 kHz), welche in der Düse stattfindet, wird ein gepulster Lichtbogen erzeugt und dadurch ein non-LTE Plasma [84]. Der schematische Aufbau der Anlage ist in Abbildung 3.1 dargestellt.

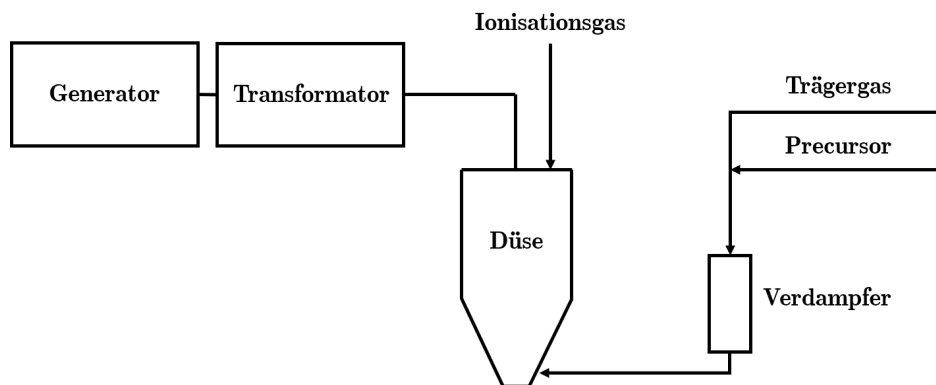
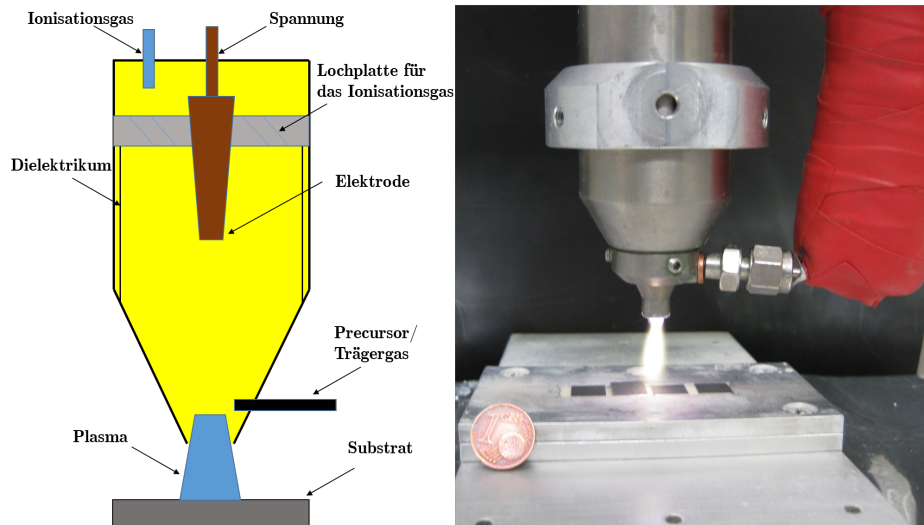


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung des Aufbaus einer PlasmaPlus<sup>®</sup> Anlage

Das Ionisationsgas (meist Luft) wird durch die Düse geleitet, dort angeregt bzw. ionisiert und mittels Düsenkopf auf die Oberfläche geleitet. Aufgrund der Erdung und der besonderen Geometrie des Düsenkopfs werden potenzialführende Teilchen zurückgehalten und es tritt ein nahezu potenzialfreies Plasma aus der Düse [84].

Des Weiteren kann mittels Düsenkopfgeometrie die Geometrie des Plasmastrahls bestimmt werden. Die Düse ist in Abbildung 3.2 ersichtlich.

Die Wirkung von atmosphärischem Plasma basiert unter anderem auf seinen oxidierenden Eigenschaften. Metalle zum Beispiel können mittels Plasma intensiv gereinigt werden. Fette und Öle werden verdampft und teilweise zu CO<sub>2</sub> und Wasser umgesetzt. Prinzipiell führt eine Plasmabehandlung immer zu einer Erhöhung der Oberflächenspannung. [84, 85]



**Abbildung 3.2:** Düsenaufbau einer PlasmaPlus<sup>®</sup> Anlage

Große Vorteile des atmosphärischen Plasmas sind das geringe elektrische Potenzial, im Vergleich zur Korona-Behandlung, welches auf das Material wirkt und die Tatsache, dass kaum Spannung beaufschlagt wird und daher auch elektronische Bauteile behandelt werden können [77]. Durch den homogenen Plasmastrahl wird eine gleichmäßige und hohe Aktivierung der Oberfläche erzielt und es können unterschiedlichste Werkstoffe behandelt werden, da die Leitfähigkeit des Materials keine Rolle spielt.

Das PlasmaPlus<sup>®</sup> System hat die Besonderheit, dass es zur Plasmabeschichtung verwendet werden kann. Häufig wird eine Beschichtung mittels Atmosphärendruckplasma als Plasmapolymersation bezeichnet. Der Precursor, der Ausgangsstoff welcher zur Umsetzung ins Plasma eingeleitet wird, ist gasförmig oder flüssig. Im letzteren Fall wird der flüssige Precursor mit Trägergas verdampft, ins Plasma geleitet, dort angeregt beziehungsweise fragmentiert und anschließend auf der Oberfläche abgeschieden. Auf dieser findet die Vernetzung zu einer geschlossenen Schicht statt. In manchen Fällen kommt es nach der Beschichtung zu einer Nachvernetzung bei Raumtemperatur.

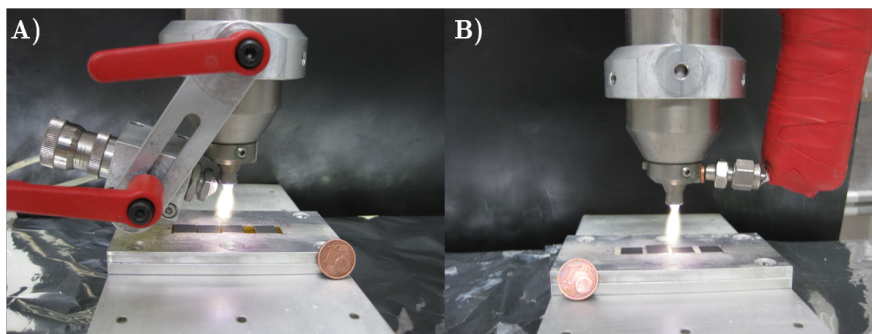
Die wichtigsten Einflussgrößen für die entstehende Schicht sind: der Precursormassenstrom, der Düsenabstand zur Probe, die Geschwindigkeit der Verfahrenheit, der Einspeiseort des Precursors, das Prozessgas, die Geometrie des Düsenkopfs und die Plasmaleistung. Zum Beispiel bewirkt eine niedrige Plasmaintensität einen höheren organischen Anteil in der Beschichtung, was diese meist hydrophober macht. Hingegen führt eine hohe Plasmaleistung zu einem geringeren organischen Anteil und damit zu einer hydrophileren Oberfläche. Dieser Effekt kann alternativ durch eine Nachbehandlung der Schicht mit Plasma erzielt werden. [86]

Des Weiteren kann der Beschichtungsprozess einmalig oder mehrfach durchgeführt werden, was zu einer Multilayer-Schicht führt. Die Schichtparameter können so gewählt werden, dass je nach Anwendungsgebiet, die gewünschten Eigenschaften der Beschichtung erreicht werden.

### 3.1.1 Precursorsysteme

Um Beschichtungen mittels atmosphärischem Plasma auf Oberflächen abzuscheiden, werden Precursor benötigt. Bei diesen handelt es sich um Ausgangsstoffe, welche im Plasma angeregt beziehungsweise fragmentiert werden und auf der Oberfläche die gewünschte Beschichtung ausbilden. Precursor können auf verschiedene Weisen in das Plasma geleitet werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Systeme verwendet, siehe Abbildung 3.3. Zum einen eine Sprühdüse und zum anderen ein Verdampfersystem.



**Abbildung 3.3:** Zwei mögliche Beschichtungssysteme: A) Sprühdüsen-System, B) Verdampfersystem

Bei dem System mit Sprühdüse wird der Precursor in das austretende Plasma im  $90^\circ$  Winkel mittels Luft, welches als Trägergas fungiert, eingesprüht. Dort reagiert dieser und auf der Oberfläche entsteht eine Beschichtung. Im Falle des Verdampfersystems wird der Precursor mittels Schlauchpumpe in den Verdampfer gepumpt. Dort wird er mittels Trägergas, in diesem Fall Stickstoff, verdampft und in die Plasmadüse geleitet. Der Unterschied zwischen den zwei Systemen besteht also im Aggregatzustand und dem Einspeiseort des Precursors.

## 3.2 Verwendetes Probenmaterial und Probenpräparation

Da die generierten Beschichtungen auf Implantaten zum Einsatz kommen sollen, wurde als Substrat chirurgischer Edelstahl 316L verwendet. Dieser wird für viele orthopädische Implantate verwendet. Jede Probe wurde vor der Verwendung zugeschnitten, gereinigt und geätzt. Die Materialien, sowie die Vorgehen sind im Folgenden beschrieben.

### 3.2.1 Chirurgischer Edelstahl 316L

Als Substrat wurde chirurgischer Edelstahl 316L (Werkstoffnummer 1.4404) der Firma Cochius verwendet. Hierbei handelt es sich um einen Chrom-Nickel-Molybdän-Stahl (DIN Bezeichnung X2CrNiMo17-13-2).

Aufgrund des hohen Chrom- und Nickelgehaltes und des niedrigen Kohlenstoffgehaltes verfügt er über eine gute Korrosionsbeständigkeit [87]. Bei der Herstellung wird das Material zuerst kaltgewalzt. Die Bestandteile des Bulkmaterials sind in Tabelle 3.1 aufgeführt.

**Tabelle 3.1:** Zusammensetzung des Bulk-Materials von Edelstahl 316L [4]

Element	Symbol	Gewichtsprozent
Eisen	Fe	Rest
Chrom	Cr	16,5-18,5
Nickel	Ni	10,0-14,0
Molybdän	Mo	2,00-2,50
Mangan	Mn	≤ 2,00
Silizium	Si	≤ 1,00
Kohlenstoff	C	≤ 0,03

Vor allem Nickel kann zu allergischen Reaktionen im Körper führen [88]. Edelstahl bildet jedoch eine oxidierte Oberflächenschicht aus, welche prozentual weniger Nickel aufweist, was zu einer höheren Biokompatibilität führt. Die Zusammensetzung der Oxidschicht ist in Tabelle 3.2 aufgelistet.

**Tabelle 3.2:** Zusammensetzung der oxidierten Oberflächenschicht von Edelstahl 316L [4]

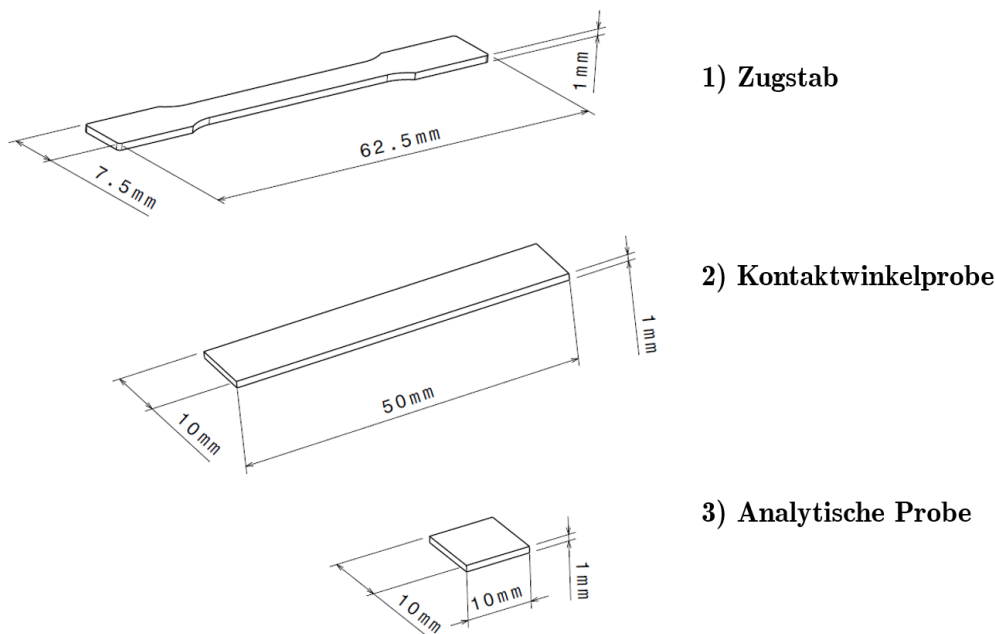
Element	Symbol	Gewichtsprozent
Sauerstoff	O	44,6
Chrom	Cr	36,3
Eisen	Fe	13,9
Molybdän	Mo	2,90
Nickel	Ni	2,40

### 3.2.2 Probengeometrien und Zellkulturgefäße

Die Proben aus chirurgischem Edelstahl 316L werden mittels Schlagschere zugeschnitten. Zur Bestimmung der Kontaktwinkel werden aus einem 1 mm dickem Blech 10 mm breite



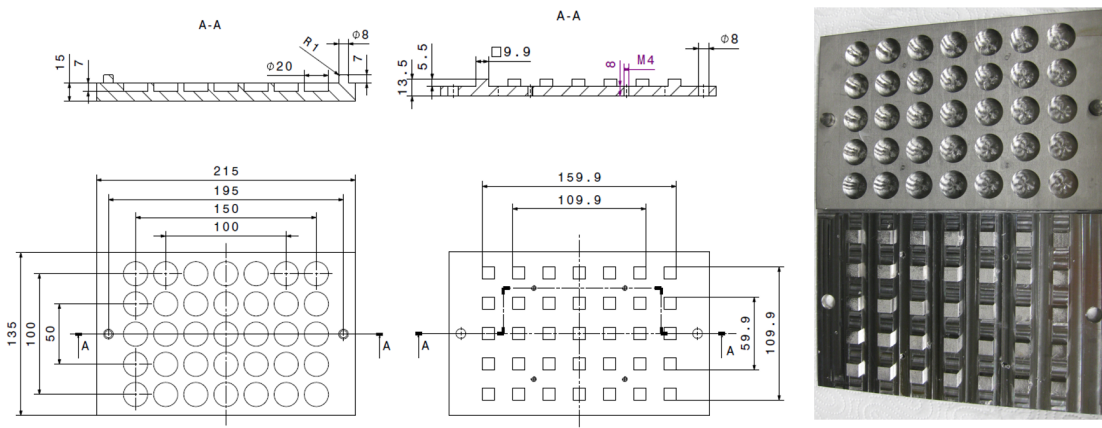
und 50 mm lange Proben zugeschnitten. Alle restlichen Methoden werden auf 10 mm breiten und 10 mm langen Proben durchgeführt. Um die Haftung der Beschichtung auf der Oberfläche zu testen, wurden miniaturisierte Zugprüfkörper in Anlehnung an die DIN 50125 hergestellt. Die Probenkörpergeometrien sind in Abbildung 3.4 dargestellt.



**Abbildung 3.4:** Probenkörpergeometrien mit Abmaßen

Zur Verwendung in der Zellkultur werden die beschichteten Proben in Nöpfchen aus Silpuran 2430 (Wacker Chemie AG), einem medizinischen Silikonelastomer, gelegt. Silpuran 2430 ist ein raumtemperaturvernetzender Zweikomponenten-Silikonkautschuk, welcher bei Temperaturen über 100°C zu einem Silikonelastomer mittlere Härte vulkanisiert [89]. Zur Herstellung der Nöpfchen werden die beiden Silpuran 2430 Komponenten A und B im Verhältnis 1:1 gemischt und in die Form, siehe Abbildung 3.5, gegeben. Für die positiv Kontrolle des Eluattests werden zusätzlich runde Silikonförmchen mit einem Innendurchmesser von 9 mm gefertigt.

Die mit Silikonkautschuk gefüllte Form wird für 30 min bei 120°C gehärtet. Anschließend wird die entstandene Silikonmatte aus der Form entnommen und für weitere vier Stunden bei 200°C getempert. Die Silikonöpfchen werden nach dem Tempern mit einem Stanzeisen ausgestanzt und mit Isopropanol in einem Falcon für zwei Minuten gevortext um Verschmutzungen zu entfernen. Anschließend werden die Nöpfchen zum Abdampfen für mindestens 24 Stunden im Exsikkator gelagert.



**Abbildung 3.5:** Technische Zeichnung und grafische Abbildung der Silikonnapfchenform

### 3.2.3 Reinigung und Ätzen der Probenkörper

Um eine reproduzierbare und homogene Oberfläche zu gewährleisten, wurden die zugeschnittenen Proben gereinigt und geätzt.

Da beim Zuschneiden häufig Verschmutzungen, wie zum Beispiel Staub und Körperfette, auf der Oberfläche zurückbleiben, wurden die Proben zuerst einem Reinigungsprozess unterzogen. Hierzu werden die Proben jeweils für zehn Minuten in Aceton und 30 %igem Ethanol im Ultraschallbad gereinigt. Nach jedem Reinigungsschritt werden die Proben zuerst gründlich mit vollentsalztem (VE) Wasser und danach mit doppelt destilliertem (DD) Wasser abgespült. Zum Ätzen werden die gereinigten Proben für zehn Minuten in 65 %iger Salpetersäure im Ultraschallbad behandelt. Nach dem Ätzprozess werden die Proben abermals erst mit VE-Wasser und anschließend mit DD-Wasser abgespült um mögliche Rückstände zu entfernen. Die vorbehandelten Proben werden anschließend zum Abdampfen in einen Abzug gelegt und nach ca. 24 Stunden in Alufolie verpackt im Exsikkator bis zur Verwendung gelagert. Der Prozess ist in Abbildung 3.6 schematisch dargestellt.

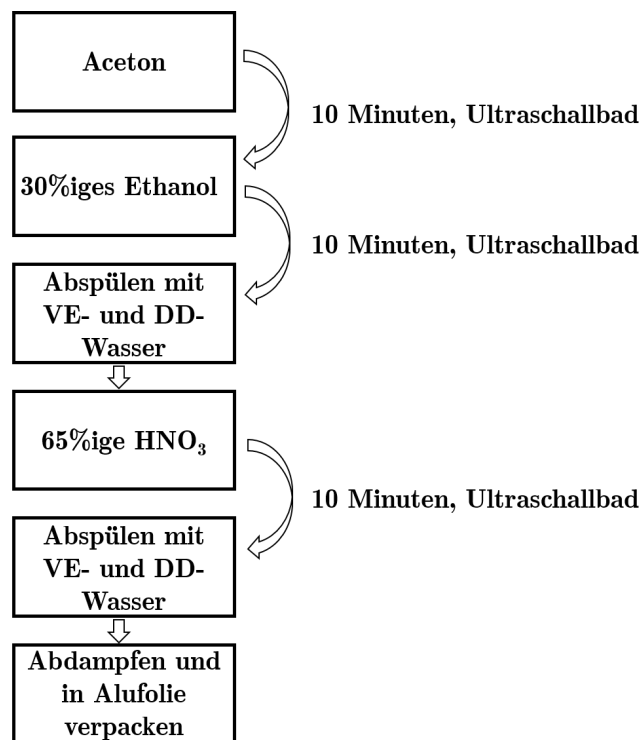


Abbildung 3.6: Vorgehensweise zur Reinigung und Ätzung der Probenkörper

### 3.3 Charakterisierung der Beschichtung

Die abgeschiedenen Beschichtungen werden auf ihre chemische Zusammensetzung mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie, Infrarotspektroskopie und RAMAN Spektroskopie untersucht. Die Kristallstruktur kann mittels Röntgendiffraktometrie und die Benetzbarkeit mittels Kontaktwinkelmessung ermittelt werden. Die Rasterelektronenspektroskopie mit integrierter energiedispersiver Röntgenspektroskopie dient zur Bestimmung der Topographie und der Verteilung der chemischen Elemente auf der Probe. Die Schichtdicke kann mittels Ellipsometrie bestimmt werden.

#### 3.3.1 Röntgenphotoelektronenspektroskopie

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) ermöglicht die Bestimmung der chemischen Zusammensetzung der Oberfläche einer Probe [90, 91]. Hierfür wird die Probe mit charakteristischer Röntgenstrahlung bestrahlt, was ein Herausschlagen der Elektronen aus der inneren Schale der Atome zur Folge hat. Dieser Vorgang wird als Photoeffekt bezeichnet. Die Energie der verwendeten Röntgenstrahlung ( $h\nu$ ) und die Bindungsenergie der Elektronen ( $E_B$ ) haben einen direkten Zusammenhang mit der kinetischen Energie ( $E_{kin}$ ) der emittierten Elektronen, siehe Gleichung 3.1.

$$E_{kin} = h\nu - E_B \quad (3.1)$$

Die Bindungsenergie der Elektronen ist als die Differenz zwischen der Energie des ionisierten Endzustands ( $E_{Ion}$ ) und des Ausgangszustands ( $E_{Atom}$ ) definiert, siehe Gleichung 3.2.

$$E_B = E_{Ion} - E_{Atom} \quad (3.2)$$

Bei der XPS wird die kinetische Energie der emittierten Photoelektronen gemessen. Über diese und die Strahlungsenergie kann nach Gleichung 3.1 die Bindungsenergie bestimmt werden. Die Bindungsenergie gibt Aufschluss über den Bindungszustand der Atome und die elementare Zusammensetzung [92].

In der vorliegenden Arbeit wird  $MgK\alpha$  als Strahlungsquelle ( $h\nu = 1253,6 \text{ eV}$ ) verwendet und die XPS Messungen erfolgen unter Ultrahochvakuum ( $p \leq 5 \cdot 10^{-8} \text{ mbar}$ ).

### 3.3.2 Rasterelektronenmikroskopie mit integrierter energiedispersiver Röntgenspektroskopie

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM) wird die Probe mit einem Elektronenstrahl beschossen, wodurch Sekundärelektronen aus der Probe treten [90]. Diese werden mithilfe eines Detektors registriert und in eine Spannung umgewandelt. Die Spannung wird anschließend an eine Kathodenstrahlröhre weiter geleitet und bewirkt dort eine Veränderung der Lichtintensität auf dem Bildschirm.

Je höher die Probe ist, desto mehr Sekundärelektronen werden emittiert [90]. Daher kann mithilfe von REM Bildern eine Aussage über die Oberflächenbeschaffenheit einer Probe getroffen werden.

Mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) kann die elementare Zusammensetzung der Oberfläche einer Probe bestimmt werden. Durch das Zusammenstoßen eines Elektrons aus dem primären Elektronenstrahl mit einem Elektron der inneren Schalen (K,L,M) wird dieses angeregt und herausgeschleudert [90]. Ein Elektron der äußeren Schale füllt diesen leeren Platz in der inneren Schale. Aufgrund der Energieunterschiede entstehen Röntgenphotonen. Diese werden beim EDX analysiert und sind charakteristisch für die einzelnen Elemente [93]. Ein Nachteil dieser Methode ist die relativ hohe Eindringtiefe, weshalb dünne Schichten auf der Oberfläche nur schwer detektiert werden können [93].

Die Proben für REM, wie auch EDX Messungen werden auf Probenteller aufgeklebt und im Exsikkator für mindestens 24 Stunden gelagert. Die Proben werden zur REM Analyse mit Gold besputtert (Bal-Tec SCD 005 BU) und zur EDX Analyse mit Kohlenstoff (Bal-Tec SCD 005/CEA 035). Bei dem REM handelt es sich um ein JSM-6390 System (Jeol Ltd., Japan) und das EDX Spektrum wird mittels Jeol JSM-6060LV (Jeol Ltd., Japan) aufgenommen.

### 3.3.3 Infrarotspektroskopie und RAMAN Spektroskopie

Die Infrarotspektroskopie (IR-Spektroskopie) sowie die RAMAN Spektroskopie sind Methoden zur Strukturaufklärung von chemischen Verbindungen. Es können feste, flüssige und gasförmige Proben getestet werden und nahezu alle Strukturen aufgeklärt werden [94].

Bei der IR-Spektroskopie wird die Absorption von unterschiedlichen IR-Frequenzen einer Probe in einem IR-Strahl gemessen [94]. Chemische Gruppen absorbieren bei charakteristischen Frequenzen der IR-Strahlung, was zur Strukturaufklärung verwendet wird. Die Infrarotstrahlung reicht von ca.  $13.000$  bis  $10\text{ cm}^{-1}$  und liegt im Wellenbereich von  $0,78$  bis  $1000\text{ }\mu\text{m}$  [95]. Bei IR-Spektren wird die Wellenzahl oder die Wellenlänge auf der  $x$ -Achse aufgetragen und die Absorptionsintensität oder die prozentuale Transmission auf der  $y$ -Achse. Die Messungen werden mit dem Vertex 70 (Bruker Corporation, USA) durchgeführt.

Im Falle der RAMAN-Spektroskopie wird die Probe mittels monochromatischem Laser beschossen. Ein Großteil des Lichts wird von der Materie in der gleichen Frequenz gestreut, diese Strahlung wird als Rayleigh-Strahlung bezeichnet. Ein Teil der Strahlung wird ebenfalls gestreut, jedoch in einer anderen Frequenz aufgrund von Absorption und Re-Emission bei der Schwingungslöschung oder -anregung der Probe. Die Differenz aus eingestrahlttem und gestreutem Licht (RAMAN) ergibt die Frequenz der Schwingung, welche für jedes Molekül charakteristisch ist [96]. RAMAN-Spektroskopie kann nur für Proben verwendet werden, in welcher während der Schwingung die Polarisierbarkeit der Moleküle sich ändert [96]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird das Bruker Senterra (Bruker Corporation, USA) zur Messung von RAMAN-Spektren verwendet.

### 3.3.4 Röntgendiffraktometrie

Die Röntgendiffraktometrie (XRD) beruht auf der Tatsache, dass monochromatische Röntgenstrahlung bei regelmäßig angeordneten Atomen im Kristallgitter gestreut wird und dabei Interferenzen auftreten [97].

Es sind Beugungserscheinungen zu beobachten, welche in einem Diagramm aufgezeichnet werden. Bei diesen wird die Intensität über den Beugungswinkel  $2\theta$  aufgetragen. Beugungsdiagramme sind für jeden Stoff einzigartig, wodurch sie zur qualitativen Identifizierung kristalliner Substanzen dienen können [97]. In der vorliegenden Arbeit wird mit einer  $\text{CuK}_\alpha$  Strahlung gearbeitet.

### 3.3.5 Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkelmessung dient der Bestimmung des Benetzungsverhaltens eines Materials. Es handelt sich um ein zerstörungsfreies Verfahren, durch welches die Oberflächenspannung bestimmt werden kann [98].

In der vorliegenden Arbeit wird das Gerät OCA 20 (DataPhysics, Deutschland) verwendet, welches mit der Methode des liegenden Tropfens misst. Bei dieser Methode können Sedimentationseffekte und Verdunstungseffekte die Messung beeinflussen, was bedeutet, dass die Messung zeitabhängig ist und die Reproduzierbarkeit verschlechtert wird [99].

Doppelt destilliertes Wasser wird, in dieser Arbeit, als Messflüssigkeit verwendet. Auf die Probenkörper mit einer Länge von 50 mm werden zehn Tropfen à 2000  $\mu\text{L}$  gegeben.

### 3.3.6 Ellipsometrie

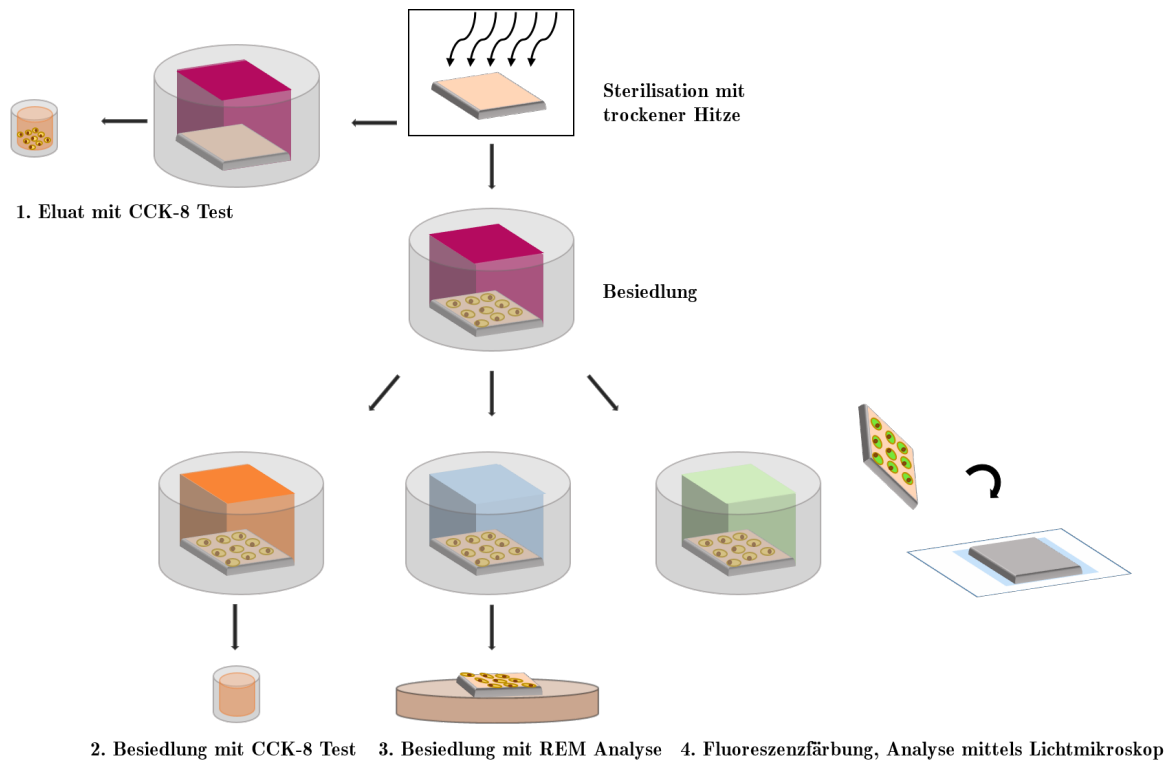
Die Ellipsometrie ist ein Verfahren zur Schichtdickenbestimmung. Hierbei wird diese optisch auf Basis des Reflexionsgesetzes und des Brechungsgesetzes nach Snellius ermittelt [90]. Die Messung erfolgt auf Siliziumwafern und es wird das SE 800 (SENTECH Instruments GmbH, Deutschland) verwendet.

## 3.4 Biokompatibilitätsuntersuchungen der Schicht

Die Biokompatibilität der Beschichtung ist die Voraussetzung für den Einsatz als Implantatbeschichtung. In der DIN EN ISO 10993 sind die möglichen und erforderlichen Verfahren beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurde sich auf Zytotoxizitäts- und Besiedlungsversuche beschränkt. Diese dienen als erster Indikator um das Potenzial der Schichten für medizinische Anwendungen zu bestimmen.

Zur Evaluierung der Zytotoxizität von Beschichtungen stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, siehe Abbildung 3.7. Verfahren 1 beschreibt die Evaluierung der Zytotoxizität durch Eluate. Verfahren 2 beruht auf der direkten Besiedlung der Probe und einer anschließend Proliferationsmessung mittels CCK-8 Test. Die Morphologie der Zellen auf der Oberfläche kann mittels Verfahren 3 durch die Fixierung und anschließende Betrachtung im REM geschehen oder durch Verfahren 4, welches die Fluoreszenzfärbung mit Calcein-AM beschreibt.

Die verwendeten Zellen oder Zelllinien müssen, je nach gewünschtem Einsatzgebiet der Beschichtung, ausgewählt werden. Es ist zu empfehlen, für den Einsatz am Knochen, Knochenzellen zur Testung zu verwenden. Des Weiteren, muss entschieden werden, ob Primärzellen oder Zelllinien verwendet werden.



**Abbildung 3.7:** Übersicht über die durchgeführten Zytotoxizitäts- und Besiedlungsversuche

In der vorliegenden Arbeit wurde sich für die Arbeit mit den Zelllinien Hs27 und Saos-2 entschieden. Die Zelllinie Saos-2 wurde 1973 aus einem osteogenen Sarkom eines elfjährigen kaukasischen Mädchens extrahiert. Sie dient zur Evaluierung der Eignung von Implantatoberflächen in Kontakt mit Knochengewebe. Bei der Zelllinie Hs 27 handelt es sich um humane Fibroblasten, welche aus der Vorhaut eines männlichen Neugeborenen gewonnen wurden. Diese wurden zur Bestimmung der Zytotoxizität verwendet.

### 3.4.1 Zellkulturmedium

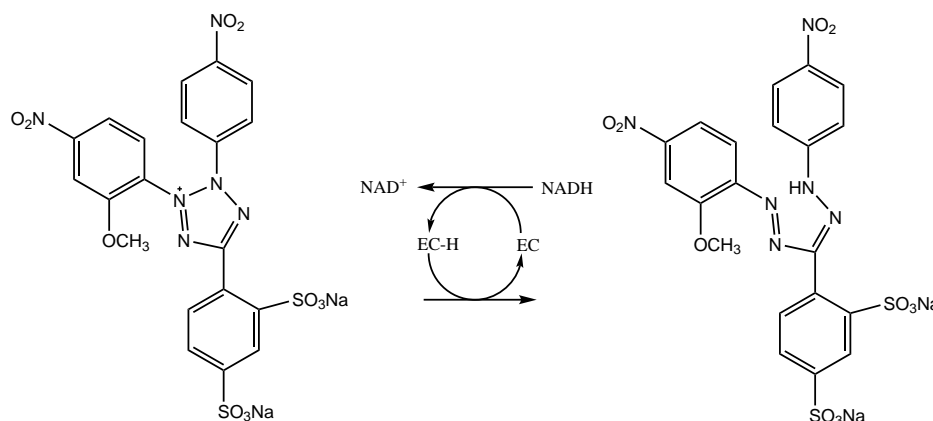
Um mit Zellen in Kultur arbeiten zu können, müssen diese mit Nährstoffen versorgt werden. Hierfür wird im Falle von Hs 27 das Zellkulturmedium Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) verwendet und im Falle von Saos-2 McCoy's 5A, die weiteren Zusätze sind aus Tabelle 3.3 zu entnehmen.

**Tabelle 3.3:** Kenndaten und Zusätze der verwendeten Zellkulturmedien auf 500 mL

	DMEM	Mc Coys 5A
Hersteller	Biochrom	Biochrom
Katalognummer	F1015	FG0435
Zugabe an L-Glutamin	4,5 mL	0,0 mL
Zugabe an Amphotericin	5,0 mL	5,0 mL
Zugabe an Penicillin/Streptomycin	5,0 mL	5,0 mL
Zugabe an Fötalem Bovinem Serum	75 mL	25 mL

### 3.4.2 CCK-8 Test

Der CCK-8 Test (Dojindo) gibt Aussage über die metabolische Aktivität der Zellen. Es handelt sich um einen sensitiven und kalorimetrischen Test auf der Basis von 2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium. Stoffwechselaktive Zellen können mittels der Dehydrogenasen, welche in den Mitochondrien lokalisiert sind, das Tetrazolium-Salz reduzieren und dabei ein farbiges Formazan bilden, siehe Abbildung 3.8 [100]. Die Bildung kann mittels photometrischer Messung determiniert werden. Die Menge des gebildeten Formazans ist proportional zur Anzahl an metabolisch aktiven, lebenden Zellen [101].

**Abbildung 3.8:** Umwandlung des Tetrazolium-Salzes zu Formazan

Die CCK-8 Stocklösung wird im Verhältnis 1:10 mit Zellkulturmedium verdünnt. Das Zellkulturmedium der zu untersuchenden besiedelten Probenkörper wird durch das Gemisch aus Stocklösung und Zellkulturmedium ersetzt und für 60 Minuten inkubiert. Danach werden die Absorptionen, mittels Photometer, bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Korrekturwellenlänge von 620 nm gemessen. Die Absorption der Stocklösung wird von den gemessenen Absorptionswerten abgezogen, um einen Einfluss des Mediums



auszuschließen. Die Proliferation wird prozentual im Verhältnis zur Kontrolle (Zellen in der Zellkulturplatte) gesetzt.




### 3.4.3 Vorgehensweise zur Ermittlung der Biokompatibilität

Da Zellversuche unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden müssen, ist eine vorangestellte Sterilisierung der Proben und verwendeten Materialien nötig. Die gereinigten und beschichteten Proben werden mittels trockene Hitze, drei Stunden bei 200 °C im Wärmeschrank Typ FED 240 (Firma Binder GmbH, Deutschland) sterilisiert. Um nur den Einfluss der Oberflächenbeschichtung auf die Zellkultur zu testen, werden Silikonnapfchen als Zellkulturgefäße verwendet, siehe Abschnitt 3.2.2. Diese werden bei 121 °C autoklaviert. Die getemperten, abgekühlten Proben werden anschließend unter der Laminar Flow in die Napfchen mittels Pinzetten gelegt. Die Napfchen sind so konzipiert, dass sie passgenau mit den Proben abschließen und somit ein Unterlaufen der Flüssigkeit ausgeschlossen ist.

#### 3.4.3.1 Eluattests

Bei dem Eluattest wird das Lösen von toxischen Substanzen aus der Beschichtung mittels CCK-8 Test evaluiert.

Um die Eluate anzusetzen, werden die beschichteten und sterilisierten Prüfkörper in Napfchen gelegt. Es werden immer negative und positive Kontrollproben sowie eine Referenz mitgeführt. Als Positivkontrolle dienen hierbei leere runde Silikonnapfchen, da Silikon bioinert ist. Als negativ Kontrolle dienen Kupferplättchen aus einem Kupferblech. Als Referenz dienen Wells einer 12er-Wellplatte. Auf die Proben wird die nach DIN EN ISO 10993-12, siehe Tabelle 3.4, berechnete Menge an Medium gegeben um Eluate herzustellen und anschließend werden die Proben für 72 Stunden bei 37 °C und 8% CO<sub>2</sub> inkubiert. 24 Stunden vor Ende der Inkubation werden in einer 96-Wellplatte pro Probe ein Well mit 5000 Zellen/cm<sup>2</sup> Hs27 besiedelt und inkubiert. Nach Verstreichen der 72 Stunden Inkubation der Eluate werden diese auf die in 96er Wells angesetzten Zellen gegeben. Hierfür wird zuerst das alte Medium abgesaugt und anschließend das Eluat darauf gegeben. Die beimpften Zellen werden erneut für 72 Stunden in den Inkubator gestellt. Nach der Inkubation wird das alte Medium von den Zellen entfernt und es werden zehn Teile Medium mit einem Teil CCK-8 Lösung gemischt und auf die Zellen gegeben. Nach einer Stunde im Inkubator kann der Farbumschlag der CCK-8 Lösung mittels Photometer bestimmt werden.

Probe	Edelstahl 	Silikon (negativ Probe) 	Kupfer (positiv Probe) 
Grundfläche [cm <sup>2</sup> ]	1	0,636	1
Extraktionsverhältnis [cm <sup>2</sup> /mL]	3	3	6 (Blech)
Menge an Medium [μL]	333	212	167

**Tabelle 3.4:** Extraktionsverhältnis zur Zytotoxizitätsbestimmung nach DIN EN ISO 10993-12

### 3.4.3.2 Direkte Besiedlungsversuche

In diesem Fall wird auch mit dem CCK-8 Test die Zellvitalität bestimmt, jedoch diesmal nicht über Eluate, sondern direkt auf der Oberfläche. Die Silikonnapfchen mit den eingelegten, beschichteten Prüfkörpern werden mit 5000 Zellen/cm<sup>2</sup> beimpft. Hierfür werden entweder Zellen der Zelllinie Saos-2 oder der Zelllinie HS27 verwendet. Die Wells werden auf 333 μL mit Zellkulturmedium (DMEM für Hs27 und Mc Coys 5A für Saos-2) aufgefüllt und dann im Inkubator bei 37 °C und 8% CO<sub>2</sub> für vier Tage inkubiert. Im nächsten Schritt wird das Zellkulturmedium abgezogen und mit 333 μL pro Napfchen einer 10:1 Mischung aus Zellkulturmedium und CCK-8 Lösung ersetzt. Dies wird anschließend für eine Stunde inkubiert. Danach werden aus jeder Probe 100 μL in eine 96er Wellplatte überführt. Die Proliferation der Zellen wird mittels photometrischer Messungen bestimmt.

### 3.4.3.3 Morphologische Untersuchungen der Zellen mittels REM

Zur Untersuchung der Morphologie der Zellen (Hs27 oder Saos-2) auf der Beschichtung werden die Proben in Silikonnapfchen gelegt und anschließend mit 4000 Zellen/cm<sup>2</sup> beimpft und für vier Tage bei 8% CO<sub>2</sub> und 37 °C inkubiert. Anschließend werden die Zellen mit PBS gewaschen, um tote Zellen und Mediumrückstände zu entfernen. Auf die Zellen werden 333 μL einer 3%igen Glutaraldehydlösung zur Fixierung gegeben und für weitere drei Tage bei 4 °C gelagert. Nach dem Fixieren der Zellen müssen diese getrocknet werden. Hierfür wird eine aufsteigende Alkoholreihe auf die Zellen gegeben, siehe Abbildung 3.9. Nach der Alkoholreihe werden die Zellen mit 99%igem Alkohol für 24 Stunden im Kühlschrank inkubiert und anschließend werden die Proben im Exsikkator getrocknet. Nach dem Trocknen werden die Proben mit Gold besputtert und mittels REM analysiert.

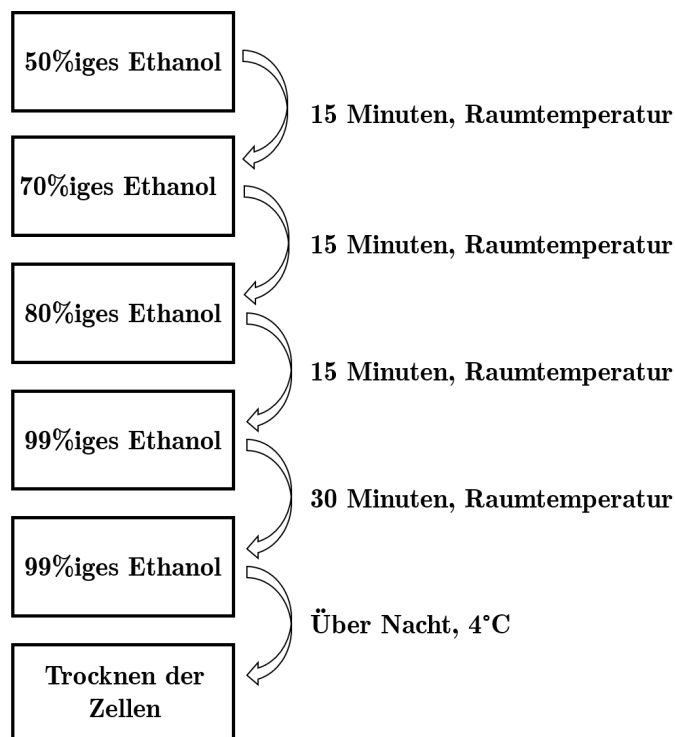


Abbildung 3.9: Vorgehen zur Trocknung der Zellen mittels Alkoholreihe

#### 3.4.3.4 Morphologische Untersuchungen der Zellen mittels Fluoreszenzmikroskopie

Unter Fluoreszenz wird die Absorption von kurzwelligem Licht und anschließende Emission von längerwelligem charakteristischem Licht verstanden [101]. Um die Morphologie von Zellen auf Substratoberflächen darzustellen, kann die Calcein-Fluoreszenzfärbung angewandt werden. Bei dieser wird Calcein-Acetoxymethylester (Calcein-AM), ein nicht fluoreszierender, ungiftiger und zellwandpermeabler Stoff, zu den Zellen gegeben [102]. In lebenden Zellen wird der AM Rest im Zytoplasma unspezifisch von mitochondrialen Enzymen (Esterasen) abgespalten [103]. Dadurch wird das Calcein-AM in das stark fluoreszierende Calcein umgewandelt, welches nicht zellpermeabel ist und daher lebende Zellen nicht passieren kann [104]. Calcein besitzt ein Emissionsmaximum bei 530 nm und ein Anregungsmaximum bei 485 nm [104].

Um die Morphologie der Zellen (Hs27) auf den plasmabeschichteten Probenkörpern zu detektieren, werden diese in Silikonnäpfchen mit einer Zelldichte von 3500 Zellen/cm<sup>3</sup> besiedelt und für fünf Tage bei 37° und 8% CO<sub>2</sub> inkubiert. Anschließend wird das alte Zellkulturmedium (DMEM) abgezogen und mit einer, mittels DMEM verdünnten Calceinlösung (DMEM:Calcein, 2000:1) ersetzt. Darauf erfolgt eine 15-minütige Inkubation und danach wird die verdünnte Calceinlösung abgezogen und die Zellen werden drei Mal mit PBS gewaschen. Des Weiteren wird auf ein Objektträgerglas ein Tropfen PBS gegeben und die besiedelten Plättchen werden mit der Beschichtung nach unten auf diesen Tropfen gelegt. Nach dieser Präparation müssen die Zellen direkt mittels Fluoreszenzmikroskopie untersucht werden.

### 3.5 Evaluierung von Sterilisationsmethoden

Unter Sterilisation versteht man die Abtötung beziehungsweise die irreversible Inaktivierung von Mikroorganismen [105]. Das Ziel ist eine absolute Keimfreiheit zu erzielen, was jedoch in der Realität nicht verwirklicht werden kann. Die Sterilität kann nur mit definierter Wahrscheinlichkeit angegeben werden. Aus diesem Grund wurde festgelegt, dass von einer Sterilisation gesprochen werden kann, sobald die Ausgangskeimzahl um sechs Logarithmuskufen reduziert wird [105]. Die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination hängt daher, neben dem Sterilisationsverfahren, auch von der Ausgangskeimlast des Materials ab. Aus diesem Grund ist eine gründliche Reinigung und Desinfektion des Materials vor der Sterilisation nötig. Sterilisationsverfahren können in Physikalische und Chemische unterteilt werden, siehe Abbildung 3.10. Die physikalischen sind weiter in Strahlung, wozu UV- und Gamma-Strahlung zählen, und Hitze unterteilt. Bei der Behandlung mittels Hitze wird zwischen der trockenen und feuchten Hitze unterschieden. Zu den chemischen Verfahren gehören unter anderem Plasma, Isopropanol und Ethylenoxid.

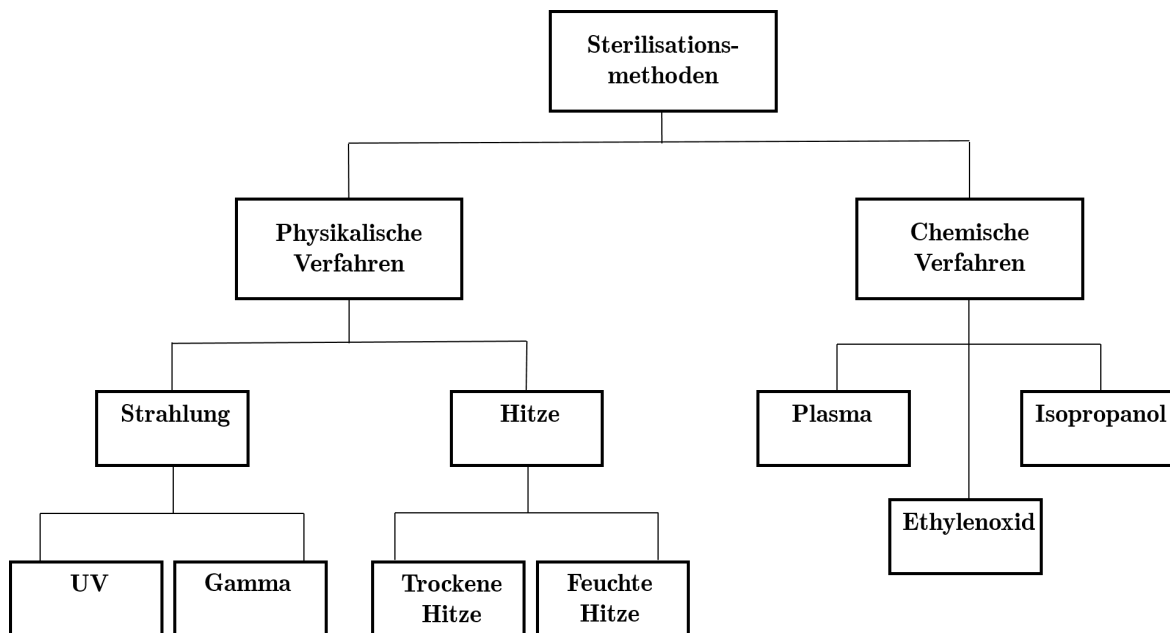


Abbildung 3.10: Einteilung und Übersicht möglicher Sterilisationsverfahren

Da Implantate sterilisiert werden müssen, werden die im Folgenden ausgewählte Sterilisationsverfahren durchgeführt und die Schicht anschließend auf ihre Resistenz und Beständigkeit untersucht.

#### 3.5.1 Verfahren mit trockener Hitze

Das Verfahren der trockenen Hitze wird vor allem für Glaswaren und Metallinstrumente verwendet. Da trockene Luft Wärme schlechter leitet, als feuchte, werden zur Sterilisation

mit trockener Hitze längere Sterilisationszeiten und höhere Temperaturen als bei der feuchten Hitze benötigt.

In der vorliegenden Arbeit werden alle verwendeten Proben mittels trockener Hitze sterilisiert, da dieses für die verwendeten Beschichtungen und das Bulkmaterial am schonendsten eingeschätzt wurde. Die Proben werden für drei Stunden bei 200 °C sterilisiert und nach dem Abkühlen sofort für weitere Versuche verwendet.

### 3.5.2 Verfahren mit feuchter Hitze

Bei diesem Verfahren erfolgt die Sterilisation durch gesättigten bzw. überhitzten Dampf. Hierbei ist laut DIN EN 285 eine Mindesttemperatur von 121 °C bei 2 bar für mindestens 15 Minuten vorgeschrieben. Der Dampf muss Zugang zu den Oberflächen haben und die Sterilgüter müssen bei der Verwendung trocken sein, da nur bei vollkommener Trockenheit die Sterilität garantiert ist.

Zur Sterilisation der Silikonnapfchen, Pinzetten und Kupferplättchen für die Zellkultur und die Instrumente, sowie das Agar für die Mikrobiologie wird das Verfahren der feuchten Hitze, mittels Autoklaven, verwendet. Die gewählten Parameter sind in Tabelle 3.5 aufgelistet. Des Weiteren werden Proben in Pipettenboxen autoklaviert und anschließend wird die Beständigkeit der Beschichtung mittels REM Aufnahmen nachgewiesen.

**Tabelle 3.5:** Parameter zur Sterilisation mittels feuchter Hitze

Sterilgut	Sterilisationstemperatur [°C]	Sterilisationszeit [min]
Silikonnapfchen	121	20
Metallische Güter (z.B. Pinzetten)	134	15
Flüssigkeiten	121	20

### 3.5.3 Sterilisation durch $\gamma$ -Strahlung

Die Sterilisation mittels  $\gamma$ -Strahlung gilt, aufgrund der hohen Eindringtiefe, als ein sehr effektives Sterilisationsverfahren. Meist wird  $^{60}\text{Co}$  als Strahlungsquelle verwendet und eine Strahlungs-dosis von 25 kGy. Das Verfahren wird häufig für Güter aus Kunststoff verwendet. Nachteile sind die möglichen irreversiblen Veränderungen des Materials und die hohen Kosten im Vergleich zu anderen Sterilisationsverfahren [106, 107].

In der vorliegenden Arbeit werden einige Beschichtungen mittels  $\gamma$ -Strahlung sterilisiert und danach auf ihre Beständigkeit durch REM Aufnahmen untersucht.

### 3.5.4 Sterilisation mittels 70%igem Isopropanol

Isopropanol gilt im engeren Sinn nicht als Sterilisationsmittel, sondern als wirksames Desinfektionsmittel. Die Verdünnung mit Wasser begünstigt die Permeabilität der Bakterienzellwand. Das Isopropanol bewirkt innerhalb des Bakteriums eine unspezifische Proteinfällung, wodurch lebenswichtige Zellfunktionen nicht mehr ablaufen können. Aufgrund der unspezifischen Fällung wirkt es gegen alle Arten von Bakterien und Hefen, für Sporen ist es jedoch nicht geeignet.

In der vorliegenden Arbeit wird die Resistenz gegenüber flüssigen Desinfektionsmitteln durch die Einlagerung in 70%igem Isopropanol bestimmt. Hierfür werden jeweils zwei Proben in 2 mL Isopropanol in einem 15 mL Falcon bei 37°C für 7, 14 und 30 Tage eingelagert. Nach Ende der Einlagerung werden die Proben getrocknet und in einem Exsikkator gelagert. Zur Analyse werden die Proben mit Gold besputtert und mittels REM analysiert.

## 3.6 Beständigkeitsuntersuchungen der Beschichtungen

Die plasmagenerierten Beschichtungen werden, aufgrund ihres beabsichtigten Einsatzes im Körper auf ihre Beständigkeit, in flüssigen Medien und auf die Haftung der Beschichtung an dem Bulkmaterial untersucht. Dies geschieht durch Einlagerungen der Beschichtungen und Zugversuche.

### 3.6.1 Einlagerungsuntersuchungen der Beschichtungen

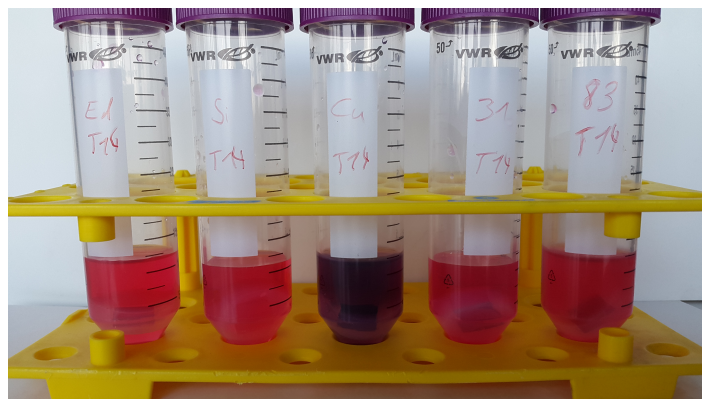
Da die generierten Beschichtungen auf Implantaten angewandt werden sollen, müssen die Beständigkeit und das Verhalten in körperähnlichen Flüssigkeiten untersucht werden. Hierfür wurden zwei Medien gewählt: Simulated Body Fluid (SBF) und Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM). Die Einlagerung in SBF, welches ein wasserbasierendes Medium mit einer Ionenkonzentration nahe der des flüssigen Körpermediums ist, gibt Aufschluss über die Beständigkeit der Beschichtung im Körper. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 3.6 gezeigt. Des Weiteren kann die Eignung als Knochenimplantat überprüft werden. Wenn ein Material in Kontakt mit SBF Kalziumphosphat an der Oberfläche ausbildet, deutet dies auf eine gute Osseointegration hin [108].

Es werden jeweils zwei Proben für 7, 14 und 30 Tage in einem 15 mL Falcon mit 2 mL SBF bei 37°C in einem Inkubator eingelagert. Nach Ende der Einlagerungszeit werden die Proben aus den Falcons entnommen, mit PBS ab gespült und anschließend in einem Exsikkator für mindestens 24 Stunden gelagert. Danach werden die Proben auf Probenteller geklebt, mit Gold besputtert und mittels REM untersucht. Die Proben, welche 30 Tage in SBF eingelagert waren, werden zusätzlich mittels XPS untersucht, um die Bildung von Kalziumphosphat nachzuweisen.

**Tabelle 3.6:** Chemische Zusammensetzung des Simulated Body Fluids auf ein Liter VE-Wasser

Chemikalie	Strukturformel	Menge
Natriumchlorid	NaCl	8,035 g
Natriumhydrogencarbonat	NaHCO <sub>3</sub>	0,355 g
Kaliumchlorid	KCl	0,225 g
Dikaliumhydrogenphosphat · Trihydrat	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3 H <sub>2</sub> O	0,231 g
Magnesiumchlorid · Hexahydrat	MgCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	0,311 g
1 molare Salzsäure	1M - HCl	0,039 L
Kalziumchlorid	CaCl <sub>2</sub>	0,292 g
Natriumsulfat	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,072 g
Tris-hydroxymethylaminomethan	(HOCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub>	6,118 g
1 molare Salzsäure (pH-Wert einstellen)	1M - HCl	bis 0,005 L

Des Weiteren werden jeweils zwei beschichtete Proben, pro Zeitpunkt, sterilisiert (mittels trockener Hitze) und in Näpfcchen gelegt um Einflüsse des Bulkmaterials auszuschließen. Die Proben in den Näpfcchen werden in 50 mL Falcons mit 15 mL DMEM für 7, 14 und 30 Tage eingelagert. Als positiv und negativ Kontrolle wird pro Zeitpunkt jeweils eine Kupferprobe und ein Silikonäpfcchen mit DMEM eingelagert. Als Referenz dient ein Falcon nur mit DMEM und einer mit Edelstahl, welche unter den gleichen Bedingungen eingelagert werden. Nach Verstreichen der Einlagerungszeit werden CCK8-Tests durchgeführt, um die Zytotoxizität über Zeit zu evaluieren. Exemplarisch sind in Abbildung 3.11 eingelagerte Falcons nach 14 Tagen abgebildet.

**Abbildung 3.11:** Eingelagerte Edelstahl, Silikon, Kupfer, EdSil31 und EdSil83 Proben in DMEM nach 14 Tagen

### 3.6.2 Zugversuche

Um die Beständigkeit der Beschichtungen im Belastungsfall zu untersuchen, wurden Zugversuche durchgeführt. Hierfür wird die Z050 (Zwick Rolle) mit einer Kraftmessdose, welche bis 50 kN bei einer Genauigkeit von 0,1 N misst verwendet. Die Zugproben werden einseitig beschichtet, eingespannt und mit einer Prüfgeschwindigkeit von 5 m/min und einer Oberkraftgrenze von 2 kN gezogen. Diese obere Grenze wurde ermittelt, in dem nicht beschichtete Proben zerrissen wurden. Anhand des Spannungs-Dehnungs-Diagramms wurde eine Belastung oberhalb der Streckgrenze aber unterhalb der Zugfestigkeit gewählt. Dies ist der Bereich der plastischen Verformung. Anschließend wurden die Zugproben mittels REM untersucht, um die Beständigkeit der Schicht zu evaluieren.

## 3.7 Untersuchung des antibakteriellen Effektes

Einige der hergestellten Beschichtungen weisen einen photokatalytischen Effekt im UV-Licht sowie im sichtbaren Licht auf. Dieser Effekt führt zu einer antibakteriellen Eigenschaft der Oberflächen. Um beides nachzuweisen, wurden Versuche zur photokatalytischen Zersetzung von Rhodamin B, sowie zur Abtötung von *E. coli* auf der Oberfläche durchgeführt.

### 3.7.1 Versuche zur photokatalytischen Aktivität mit Rhodamin B

Die photokatalytische Aktivität eines Materials lässt sich mithilfe der Zersetzung eines Farbstoffes, hier Rhodamin B evaluieren.

Es werden beschichtete Plättchen und Edelstahlplättchen in eine 24er Wellplatte gelegt. Auf diese werden jeweils 2 mL wässrige Rhodamin B Lösung (mit einer Konzentration von 1,5 g/L) gegeben. Zusätzlich wird eine Referenzprobe, Kavität mit Rhodamin B ohne Plättchen, mitgeführt um eventuelle Einflüsse durch die Zersetzung des Farbstoffes unter Licht, zu berücksichtigen. Die Zersetzung wird immer im Bezug auf diese Referenzprobe bestimmt.

Die Wellplatten werden entweder unter UV-Licht mit einer Wellenlänge von 365 nm, oder unter sichtbares Licht im Bereich von 400 bis 750 nm gestellt. Pro Kavität werden nach bestimmten Zeitpunkten dreimal 100  $\mu$ L entnommen und jeweils in eine Kavität einer 96er Mikrotiterplatte gegeben. Die optische Dichte der Lösung wird mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 540 nm bestimmt. Anhand der gemessenen optischen Dichten zu verschiedenen Zeiten kann das Zersetzungsverhalten des Farbstoffes über die Zeit evaluiert werden.

Es ist zu beachten, dass aufgrund von Verdunstungseffekten, welche einen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse haben, die Wellplatten meist mit einem Deckel versehen wurden. Durch Messung mittels UV-Vis Spektrometer (Varian Cary 50 Scan) wurde



festgestellt, dass der Deckel 11-24 % des UV-Lichtes bei einer Wellenlänge von 365 nm filtert. Dies ist eine Menge, welche toleriert werden kann, da aufgrund des Deckels die Zersetzung über einen längeren Zeitraum betrachtet werden kann.

### 3.7.2 Versuche zur photokatalytischen Aktivität mit *E.coli*

*Escherichia coli* (*E.coli*) sind gramnegative, stäbchenförmige Bakterien [109]. Sie können im Darm von Säugetieren vorgefunden werden. Die Chromosomen liegen als ringförmig geschlossene Moleküle im Zytoplasma vor, da *E.coli* keinen Zellkern besitzen. Das Zytoplasma hingegen ist von einer Membran und der Zellwand umgeben, welche eine Barriere für den Stoffaustausch zwischen dem Zellinneren und der Umgebung darstellt. Die Flagellen, welche sich an der Oberfläche befinden, sorgen für die Vorwärtsbewegung des Bakteriums. [110]

Ein K-12 Sicherheitsstamm (nichtpathogen) von *E.coli* wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet, um das Absterben von Bakterien aufgrund der photokatalytischen Aktivität der Beschichtungen nachzuweisen. Bei *E.coli* handelt es sich um eines der gängigsten Modellbakterien. Gründe hierfür sind, die anspruchslose Ernährung, die kurze Generationszeit (20 Minuten) und die daraus folgende einfache Handhabung im Labor. [110]

Die zu untersuchenden Proben werden beschichtet und vor den Versuchen zuerst mit Plasma aktiviert und anschließend für zwei Stunden zur Voraktivierung mit UV oder sichtbarem Licht behandelt. Danach werden die Probekörper mit *E.Coli* beimpft. Hierzu müssen die, mit einer optischen Dichte (OD) von sechs, bei -80°C gelagerten *E.colis* aufgetaut und verdünnt werden. Die optische Dichte wird mittels Photometer bei einer Wellenlänge von 620 nm bestimmt. Zur Verdünnung werden zu den 500 µL Bakteriensuspension erst 600 µL PBS-Puffer (phosphatgepufferte Salzlösung) gegeben und diese Mischlösung dann für eine Minute gevortext. Danach werden 150 µL der Bakteriensuspension entnommen und wieder mit 850 µL PBS vermischt.

Anschließend werden die beschichteten Proben mit 10 µL der angesetzten Bakteriensuspension beimpft und für eine Stunde unter sichtbarem, UV-Licht oder im Dunkeln gelagert. Nach Verstreichen der Zeit werden die Proben in zurechtgeschnittene Silikonnapfchen gelegt. Die Silikonnapfchen werden so weit gekürzt, bis die obere Kante mit der oberen Kante der Probe abschließt. Die Proben in den Silikonnapfchen werden anschließend in einem Falcon gelegt und mit PBS für drei Minuten gevortext. Die Menge an PBS wird je nach erwarteter photokatalytischer Wirkung variiert. Danach werden jeweils 100 µL der verdünnten Suspension auf eine Agarplatte aufgetragen. Es werden immer drei Agarplatten beimpft und diese werden für 24 Stunden bei 37°C inkubiert um anschließend die Kolonie bildenden Einheiten (KbE) zu zählen.



# 4 Barriere- und Haftvermittlerbeschichtung

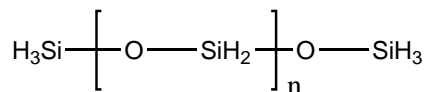
Die Korrosion und das daraus resultierende Herauslösen von Ionen ist ein großes Problem der metallischen Implantate. Die freigesetzten Ionen, z. B. Nickel und Chrom, können Allergien und Entzündungen im Körper hervorrufen, was zu einem Implantatversagen führen kann. Dieser Effekt kann durch das Aufbringen einer Barrierschicht auf der Oberfläche verhindert werden.

Ein weiteres Problem ist das Ablösen der Beschichtung von dem Bulkmaterial. Die gelösten Beschichtungsfragmente können im Körper Fremdkörperreaktionen und darauf folgend Entzündungen auslösen. Eine Möglichkeit um dies zu verhindern, ist das Aufbringen einer Haftvermittlerschicht zwischen dem Bulkmaterial und der Beschichtung.

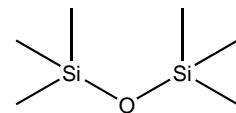
Eine Beschichtung, welche sowohl haftvermittelnde wie auch Barriereeigenschaften aufweist, ist die Plasmabeschichtungen aus Hexamethyldisiloxan.

## 4.1 Struktur und chemische Eigenschaften von Hexamethyldisiloxan

Hexamethyldisiloxan (HMDSO) gehört der Gruppe der Siloxane an [111]. Diese sind Sauerstoffverbindungen des Siliziums, siehe Abbildung 4.1.



**Abbildung 4.1:** Struktureller Aufbau von Siloxanen.



**Abbildung 4.2:** Strukturformel von HMDSO

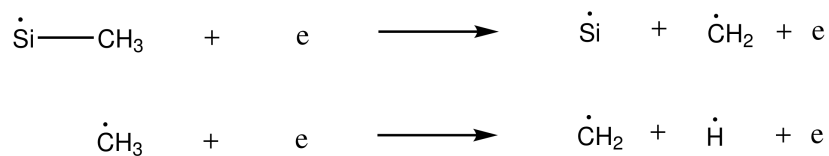
Bei HMDSO handelt es sich um einen farblosen, flüssigen, weitestgehend umweltverträglichen und nur geringfügig giftigen Stoff mit der Strukturformel  $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{OSi}_2$  [112]. Unter Standardbedingungen ( $20^\circ\text{C}$ ) beträgt der Dampfdruck 44 hPa und die Dichte  $0,764 \text{ g/cm}^3$  [112].

Der Siedepunkt liegt bei  $101^\circ\text{C}$  und die Grundstruktur ist aus einer Silizium-Sauerstoff-Silizium Kette mit jeweils drei Methylgruppen an jedem Siliziumatom aufgebaut [111], siehe Abbildung 4.2.

**Tabelle 4.1:** Bindungsenergien innerhalb des HMDSO Moleküls [5, 6]

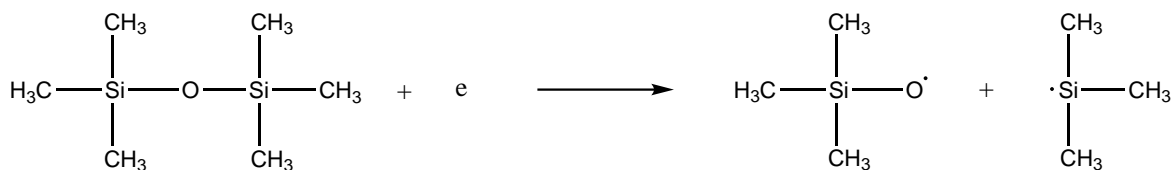
Verbindung	Bindungsenergie [eV]
R-Si-O	8,3
R-Si-C	4,7
R-C-H	3,5

Die Bindungsenergien sind in Tabelle 4.1 aufgeführt. R steht hierbei für einen beliebigen Rest. Wird HMDSO ins Plasma geleitet, können verschiedene Reaktionen auftreten. Aufgrund der niedrigen Bindungsenergie von C-H Bindungen werden zuerst die Methylgruppen oder der Wasserstoff abgespalten, siehe Abbildung 4.3 [5].

**Abbildung 4.3:** Erste Reaktionen von HMDSO im Plasma

Diese reagieren unter Anwesenheit von Sauerstoff weiter zu H<sub>2</sub>O, CO oder CO<sub>2</sub>. Unter hoher Energieeinwirkung kann die Si-O Bindung gespalten werden, siehe Abbildung 4.4 [6].

Si-O-Si Bindungen bilden häufig die Bausteine zur Ausbildung einer Polymerschicht, welche in der Regel aus Si-H, Si-O-C, SiO<sub>x</sub> und C-H Verbindungen aufgebaut ist [113].

**Abbildung 4.4:** Folgereaktionen von HMDSO im Plasma

Durch die Plasmaparameter und das Ionisationsgas kann die chemische Zusammensetzung und damit auch die Eigenschaften (Benetzbarkeit, Biokompatibilität etc.) der generierten Plasmapolymerschicht beeinflusst werden.

## 4.2 Einsatzbereiche von HMDSO als Precursor

Die besonders hohe Abscheiderate und die Möglichkeit Struktur und Eigenschaften der Beschichtung durch Prozessparameter zu steuern, ist der Grund für den häufigen Einsatz von HMDSO in der Plasmatechnologie [34]. Die Beschichtungseigenschaften können

durch die Gewichtung der Anteile von polarem Siliziumoxid und unpolaren Kohlenwasserstoffen variiert werden [33]. Dies geschieht durch die Variation der Parameter und des Ionisations- und Trägergases. Des Weiteren birgt HMDSO den Vorteil, im Vergleich zu Tetramethoxysilan und Tetraethoxysilan, dass die Abscheidung bei 50 °C beginnt und dadurch temperaturempfindliche Substrate, wie zum Beispiel Polymerfolien oder Elastomere, beschichtet werden können [114].

Die Beschichtungen weisen eine hohe Transparenz im sichtbaren Bereich sowie hohe chemische, mechanische und thermische Stabilität auf [115], was für ein breites Anwendungsspektrum sorgt.

Mittels HMDSO Precursor können Beschichtungen zum Korrosionsschutz von Stählen oder anderen Metallen abgeschieden werden [36, 38]. Diese Eigenschaft ist vor allem im Bereich der Medizintechnik höchst relevant, da Metalle einige allergene, wie auch zytotoxische Bestandteile besitzen, welche über die Zeit in den Körper freigesetzt werden können und dort zu Entzündungen, allergische Reaktionen und Implantatversagen führen können. Ein weiterer Anwendungsbereich ist das Abscheiden von schützenden Schichten, sogenannten Barrierschichten, welche das heraus- oder hereindiffundieren von Gasen verhindern [32, 116]. Diese Schichten können für Verpackungen in der Lebensmittel- oder Pharmaindustrie verwendet werden.

In der Medizintechnik können die dünnen, passiven plasmapolymersierten Schichten die Biokompatibilität von Implantaten erhöhen. Die Forschungsschwerpunkte liegen auf dem Kontakt zwischen HMDSO Schichten und Blut [117], zwischen HMDSO Schichten und Zellen [118], zwischen HMDSO Schichten und adhäsionsvermittelnden Proteinen wie Fibronectin [119] und allgemein zwischen HMDSO Schichten und Proteinen [120]. Die Ergebnisse sind bisweilen durchwegs positiv, was HMDSO als Passivierungsschicht in der Implantattechnologie qualifiziert.

### 4.3 Prozessparameter zur Abscheidung der EdSil Beschichtung

Bei der atmosphärischen Plasmabeschichtung mittels APPJ gibt es viele verschiedene Parameter, welche das Ergebnis des Plasmas und somit der Schicht beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Parametereinstellungen (EdSil31, EdSil83) gewählt, welche in Tabelle 4.2 dargestellt sind.

**Tabelle 4.2:** Plasmaparameter zur Abscheidung von HMDSO Beschichtungen

	PP	PCT	$U$	$d$	$\dot{V}_{Luft}$	$\dot{V}_N$	$\dot{M}_{Precursor}$	$T_{Verdampfer}$
	kHz	%	%	mm	L/h	L/h	g/h	°C
EdSil31	23	100	86	10	2000	300	65	120
EdSil83	23	100	86	20	2000	300	50	80

Hierbei steht PP für die Plasma Power, PCT für die Plasma Cycle Time,  $U$  für die Spannung,  $d$  für den Abstand zwischen Probe und Austritt der Plasmaflamme,  $\dot{V}_{Luft}$  für den Volumenstrom des Ionisationsgases,  $\dot{M}_{Precursor}$  für den Massenstrom des Precursors und  $T_{Verdampfer}$  für die Verdampfertemperatur.

Die Beschichtungsgeschwindigkeit beträgt immer 10 m/min und die Anzahl der Beschichtungsvorgänge zwei. Als Ionisationsgas wird ölfreie Druckluft und als Trägergas Stickstoff 5.0 verwendet. Die zwei Beschichtungen EdSil31 und EdSil83 wurden nach einer umfangreichen Parameterstudie als vielversprechende Einstellungen für die Beschichtung von Implantaten gewählt.

## 4.4 Chemische Charakterisierung der EdSil Beschichtungen

Die Beschichtungen wurden zuerst auf ihre Benetzbarkeit mittels Kontaktwinkelmessung untersucht. Hierfür wurde als Testsubstanz DD-Wasser gewählt. Die Kontaktwinkel wurden in einem Zeitraum von 48 Stunden (nach 0, 5, 24, 29 und 48 Stunden) bestimmt um die Veränderungen der Beschichtung über die Zeit festzustellen. Es wurden pro Zeitpunkt zehn Tropfen vermessen ( $n=10$ ). Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.5 dargestellt.

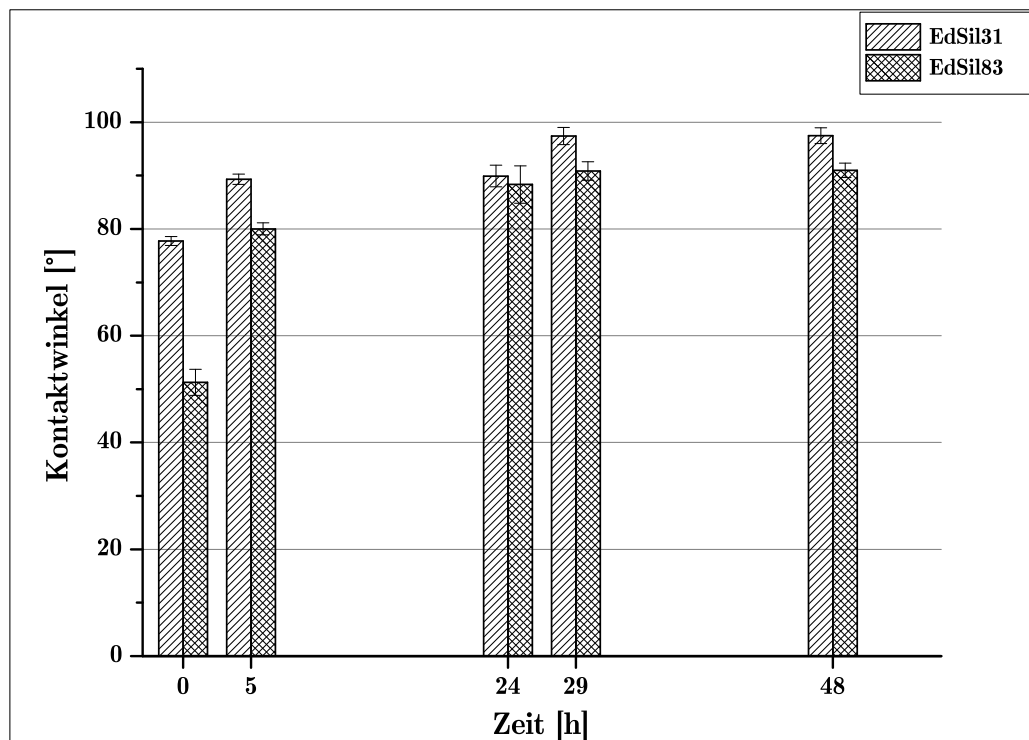
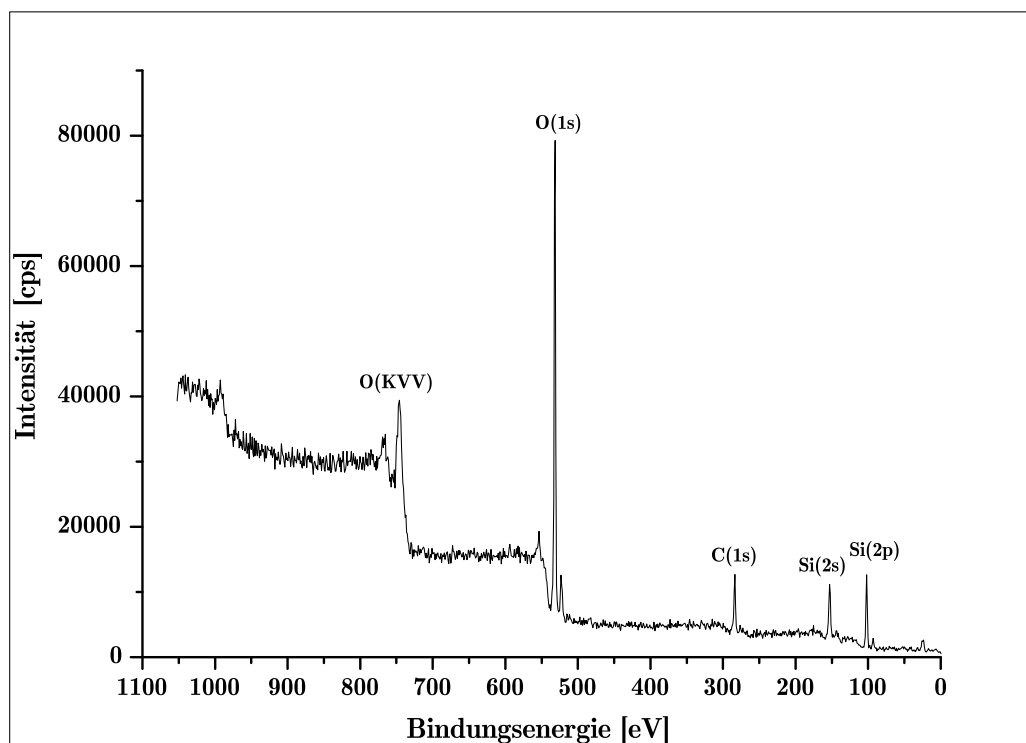


Abbildung 4.5: Kontaktwinkelmessung der Beschichtungen aus HMDSO,  $n=10$

Zu Beginn beträgt der Kontaktwinkel von EdSil31  $78^\circ$ , dieser steigt jedoch aufgrund der Nachvernetzung der Schicht an. Nach 29 Stunden pendelt er sich bei  $97^\circ$  ein und bleibt für mindestens zwei Monate, bei Lagerung im Exsikkator, konstant. Damit handelt es sich bei EdSil31 um eine leicht hydrophobe Beschichtung. Die EdSil83 Beschichtung ändert sich ebenfalls von anfänglichen  $51^\circ$  auf  $90^\circ$  nach 24 Stunden. Hiermit liegt der Kontaktwinkel direkt am Übergang zwischen hydrophilen und hydrophoben Beschichtungen. Um eine möglichst vergleichbare Beschichtung zu verwenden, wurden die Proben immer mindestens 29 Stunden, nach der Beschichtung, gelagert. Die Kontaktwinkel der Beschichtungen können durch eine Aktivierung mit Plasma wieder auf den Ausgangswert gesenkt werden.

In der Literatur wurden ähnliche Kontaktwinkel verzeichnet [33, 121]. Die hydrophoben Eigenschaften der Beschichtung können laut Gandhiraman et al. auf Anwesenheit von Methylgruppen und Kohlenwasserstoffen in den Beschichtungen zurückgeführt werden [122]. Diese wurden auch mittels XPS Spektren, siehe Abbildung 4.6 und 4.7, in beiden Schichten detektiert. Möglichkeiten um den Anteil an Kohlenstoff in den Beschichtungen zu reduzieren, ist die Zufuhr von Sauerstoff in das Plasma [122].

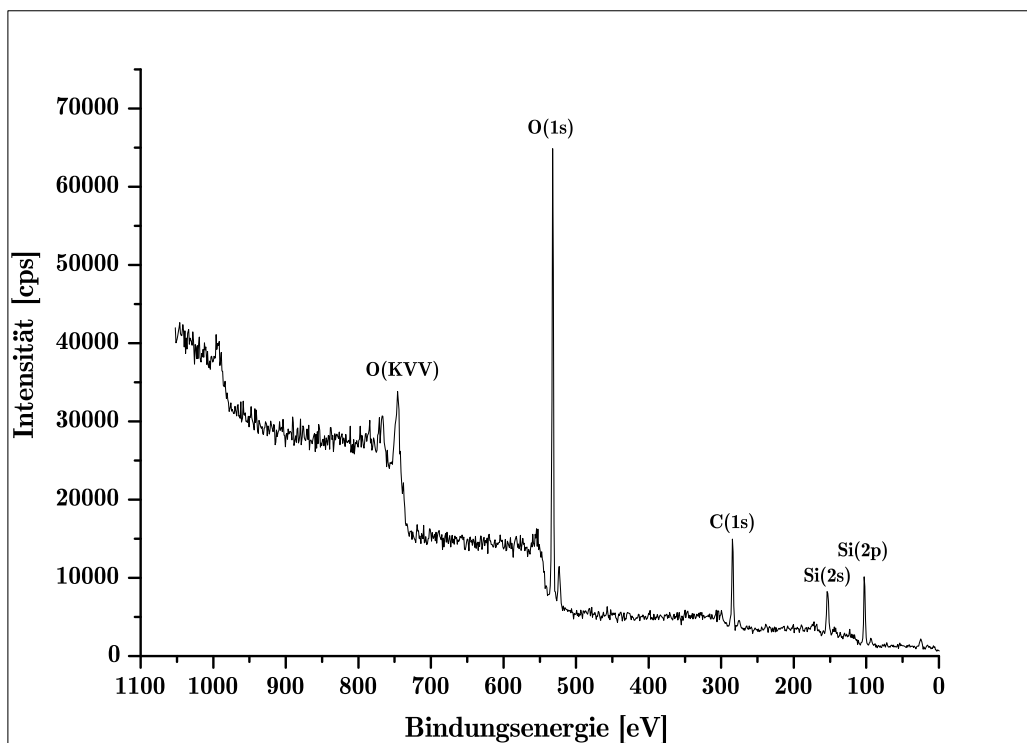


**Abbildung 4.6:** XPS Übersichtspektrum der EdSil31 Beschichtung

Jacoby et al. [37] und Prasad et al. [118] führen den organischen bzw. anorganischen Charakter der Beschichtungen, neben dem Sauerstoffgehalt, auf die Plasmaleistung zurück. Durch das Erhöhen der Leistung steigt die Elektronenenergie, was zu einer

stärkeren Fragmentierung der HMDSO-Moleküle führt und zu einer Oxidierung des Kohlenstoffs zu  $\text{CO}_2$  und Wasser [118, 37].

Die chemische Zusammensetzung der Beschichtung wurde mittels XPS bestimmt. Sowohl bei EdSil31, siehe Abbildung 4.6, wie auch bei EdSil83, siehe Abbildung 4.7, sind die folgende Peaks vorhanden: O(1s), C(1s), Si(2s), Si(2p).

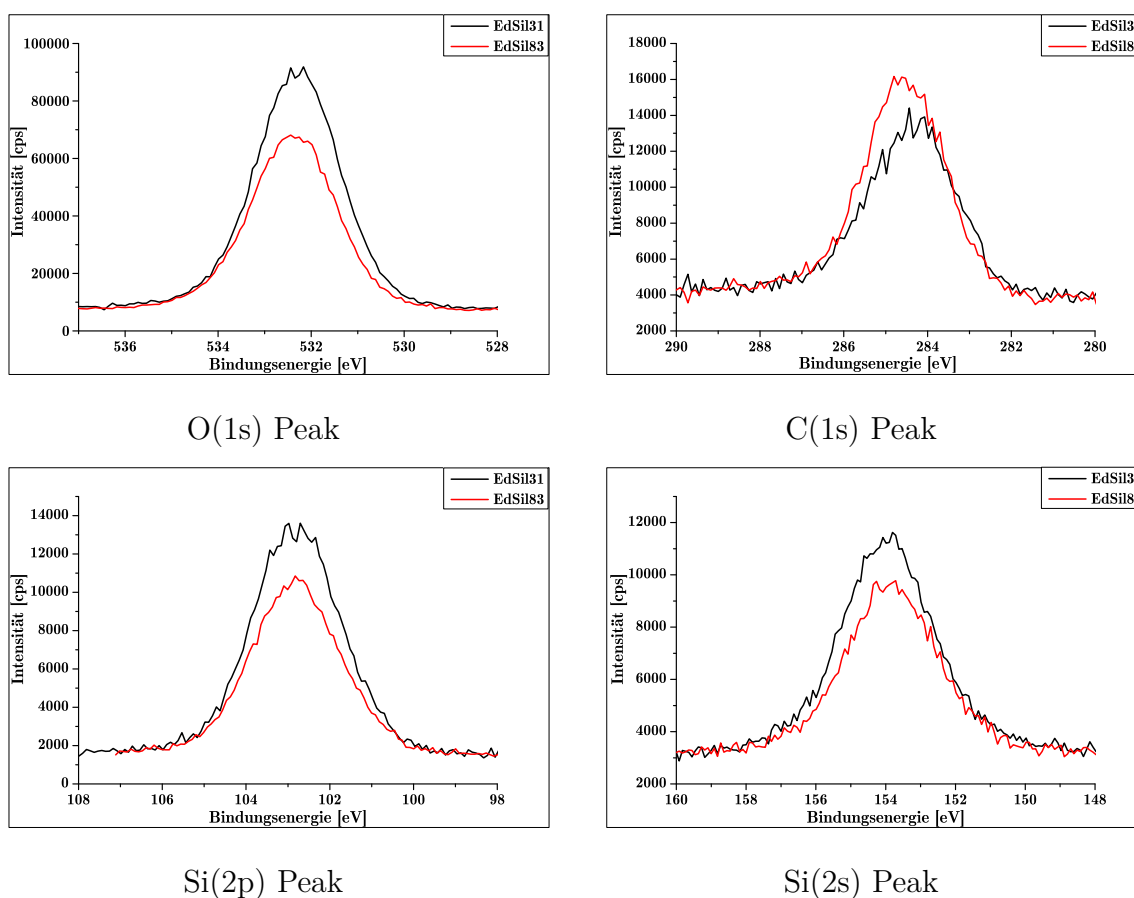


**Abbildung 4.7:** XPS Übersichtsspektrum der EdSil83 Beschichtung

Die Zusammensetzung ist daher nahezu identisch, jedoch weisen sie unterschiedliche Gehälter der jeweiligen Bestandteile auf, siehe Abbildung 4.8.

Die Analyse des EdSil83 und EdSil31 Kohlenstoffpeaks ergibt einen großen Peak bei 284,4 eV. Durch die Analyse des Peaks ergibt sich eine Zusammensetzung aus zwei Komponenten. Der größere Peak bei 284,4 eV kann den C-H und C-C Bindungen zugewiesen werden. Der kleinere Peak taucht bei einer um ca 2 eV höheren Bindungsenergie auf. Dieser kann den Ether-, Hydroxyl- oder Epoxykohlenstoff-Verbindungen zugewiesen werden [123]. Bei EdSil31 ist der zweite Peak größer als bei EdSil83. Der Sauerstoffpeak ist für beide Beschichtungen symmetrisch und weist keine Unregelmäßigkeit auf.





**Abbildung 4.8:** XPS Spektren von EdSil31 und EdSil83 im Vergleich

Die gemessenen Si(2p) Peaks bieten nicht genügend Informationen, um einen Fit durchzuführen. Aus Literaturquellen und im Vergleich mit den Ergebnissen anderer Gruppen konnte jedoch  $\text{Si}(-\text{O})^4$ ,  $\text{Si}(-\text{O})^3$ ,  $\text{Si}(-\text{O})^2$ ,  $\text{Si}(-\text{O})^1$  in absteigender Konzentration gefunden werden [123]. Die XPS-Ergebnisse deuten auf Si-C- und Si-O- Bindungen in der Schicht hin. Durch den hohen Kohlenstoffanteil kann von einer eher polymer- und weniger glasartigen Schicht ausgegangen werden.

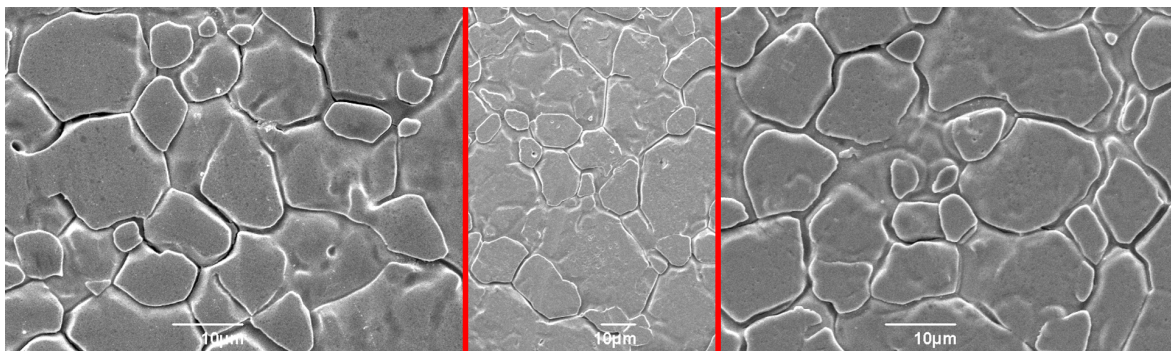
EdSil83 weist sowohl weniger Silizium beim Si(2s) wie auch beim Si(2p) Peak auf. Dies ist auf den niedrigeren Precursorstrom, im Vergleich zu EdSil31, zurückzuführen. Dieser Effekt ist auch bei dem O(1s) Peak zu verzeichnen. Bemerkenswert ist jedoch, dass der C(1s) Peak bei EdSil83 höher ist, als bei EdSil31. Dieser Effekt kann aufgrund der niedrigeren Verdampftemperatur und des höheren Abstands zur Probe erklärt werden. Die niedrigeren Verdampftemperaturen reduzieren den Energieeintrag und dadurch wird das HMDSO Molekül weniger stark fragmentiert, was zu einem höheren Anteil an Kohlenstoff in der Beschichtung führt. Durch den höheren Abstand zur Probe können die austretenden Fragmente mit der Umgebung und untereinander reagieren, was ebenfalls den Gehalt an Kohlenstoff steigern kann [36, 124].

Kakiuchi et al. [34] beschreiben, dass durch den Abstand die Verweilzeit des Moleküls im Plasma beeinflusst wird und eine geringere Distanz die Abscheiderate und die Oxidation der Fragmente erhöht. Ein zu hoher Abstand hingegen kann zu Partikelbildung auf der

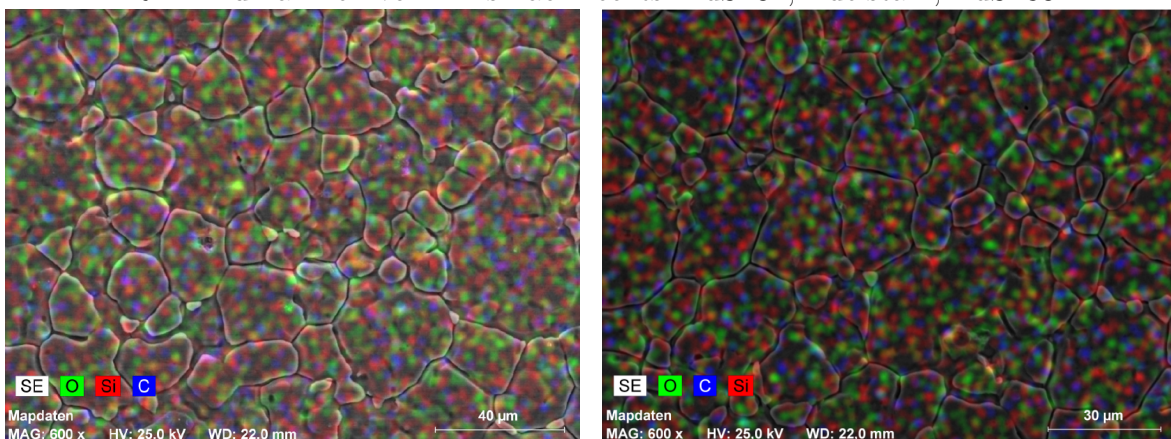
Oberfläche und dadurch zu einer schlechteren Abscheiderate und nicht ausreichenden Beschichtungseigenschaften führen. Pulyptel et al.[125] begründen den Einfluss des Abstandes durch den Temperaturgradienten in der Düse. Eine weitere Vermutung wäre Verschmutzungen auf der Probe, diese konnten jedoch durch ein Sputtern der Proben mittels Argon innerhalb des XPS ausgeschlossen werden. Da jedoch das Sputtern die Zusammensetzung der Oberfläche ändern kann, wurde bei weiteren Messungen auf dieses verzichtet [37].

Die durch XPS gemessenen höheren Anteile an Silizium und Sauerstoff bei EdSil31, verursacht durch den höheren Precursorstrom, lassen auf eine dickere Schicht schließen. Dies wurde mittels Ellipsometriemessungen evaluiert. Hierbei ergibt sich, nach zweimaligem Beschichten, eine höhere Schichtdicke von 190,4 nm für EdSil31 und eine geringere von 146,4 nm für EdSil83.

Die REM Aufnahmen weisen keinen Unterschied auf. Beide Beschichtungen sind homogen und glatt. Das EDX Mapping zeigt eine gleichmäßige und deckende Beschichtung aus Si, O und C. Die REM und EDX Aufnahmen sind in Abbildung 4.9 dargestellt.



REM Aufnahmen von links nach rechts: EdSil31, Edelstahl, EdSil83



EDX Mapping der EdSil31 Beschichtung

EDX Mapping der EdSil83 Beschichtung

**Abbildung 4.9:** REM Aufnahmen der EdSil31 und EdSil83 Beschichtung im Vergleich zu Edelstahl und ein EDX Mapping der Beschichtungen

Die Beschichtungen lassen sich von nicht beschichtetem Edelstahl durch die weicheren Übergänge zwischen den einzelnen Körnern, der stärkeren Kontraste an den Kornrändern

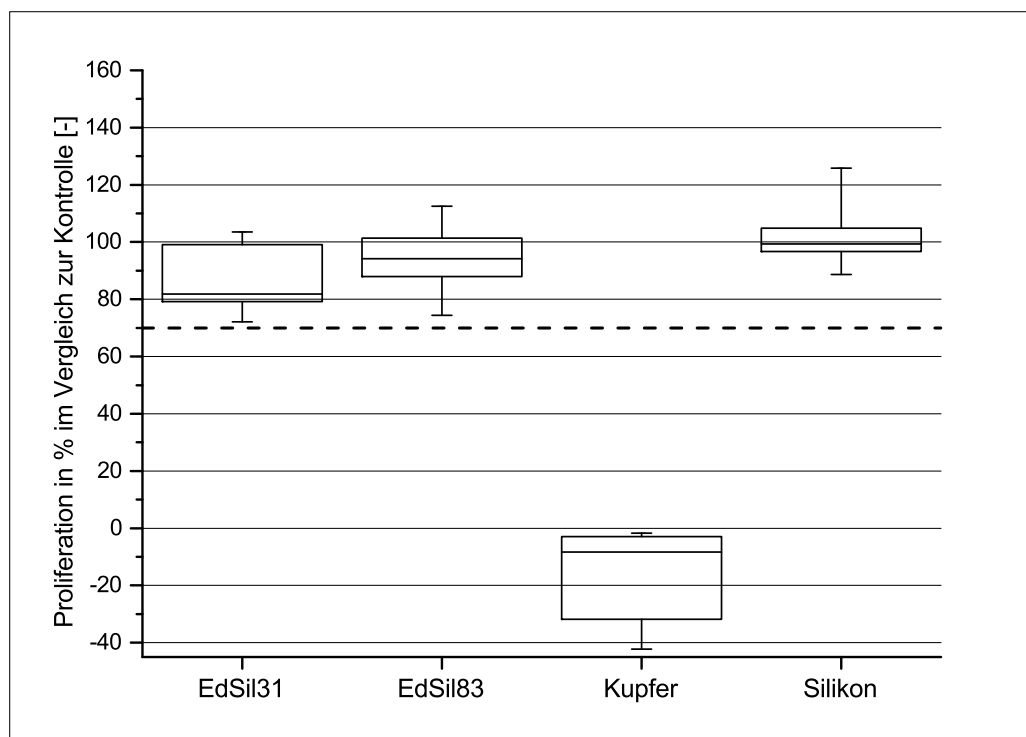
und den ebener wirkenden Flächen unterscheiden. Die Beschichtung selbst zeigt keine Struktur auf und bildet stattdessen die darunter liegende Edelstahlstruktur ab.

## 4.5 Biologische Charakterisierung der EdSil Beschichtungen

Um die Eignung der Beschichtungen für Implantate zu prüfen, wurde die Zytotoxizität und das Anwachsverhalten von Zellen evaluiert. Die Auswertung erfolgte mittels Box Plots, wobei der untere und obere Strich jeweils den geringsten bzw. den höchsten Wert kennzeichnet.

### 4.5.1 Zytotoxizität der EdSil Beschichtungen

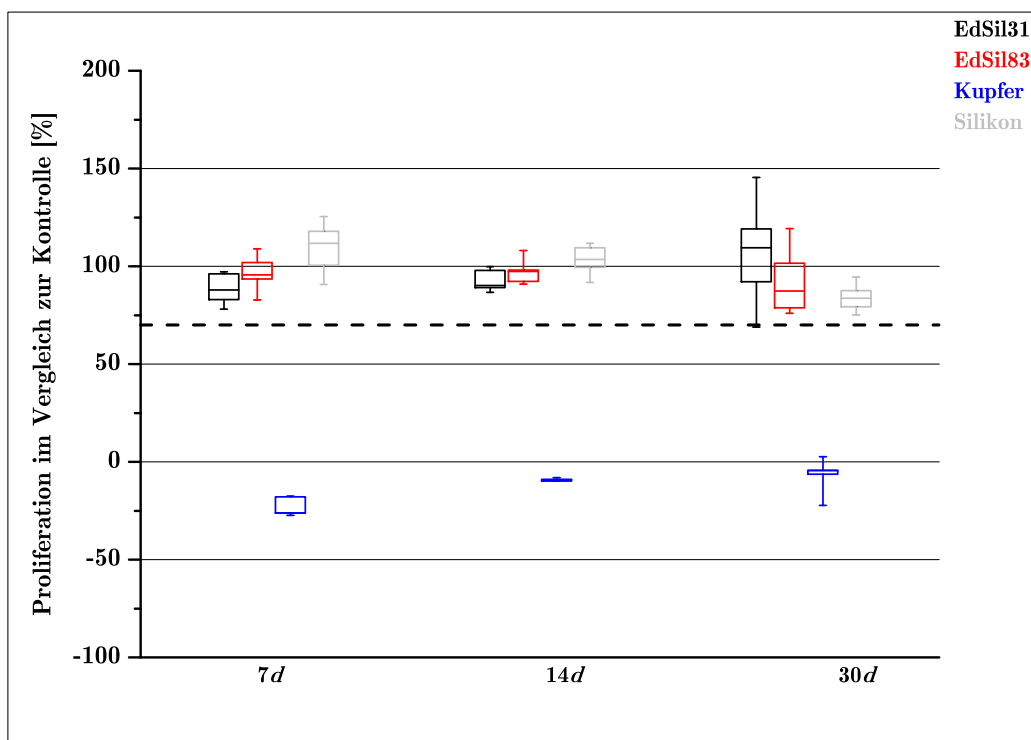
Die Zytotoxizitätsversuche nach DIN EN ISO 10993-5 zeigen sowohl für EdSil31 wie auch EdSil83 keine Zytotoxizität auf, siehe Abbildung 4.10. Die Werte liegen über 70%, was die Zytotoxizitätsgrenze kennzeichnet. Kupfer und Silikon wurden als negativ bzw. positiv Kontrolle mitgeführt. Der Versuch wurde dreimal mit jeweils fünf Proben durchgeführt ( $i=3$ ,  $n=5$ ).



**Abbildung 4.10:** Ermittlung der Zytotoxizität von EdSil31 und EdSil83 mittels CCK-8 Test,  $i=3$ ,  $n=5$

Laut DIN EN ISO 10993-1 wird ein Implantat, welches bis zu maximal 30 Tage im Körper verbleibt, der Klasse II zugeteilt und Implantate, die länger im Körper verbleiben, der Klasse III. Da die Beschichtungen im besten Fall für Implantate der Klasse III verwendet werden sollen, wurden jeweils drei Proben für 7, 14 und 30 Tage in DMEM eingelagert und anschließend wurden von jeder Probe fünf Mediumsproben mittels CCK-8 Test evaluiert ( $n=3, i=5$ ).

Abbildung 4.11 zeigt das Verhalten der Zellproliferation über die Zeit. Es ist ersichtlich, dass auch nach 30 Tagen Einlagerung noch keine Zytotoxizität vorhanden ist. Jedoch steigt die Standardabweichung der Ergebnisse. Alles in allem zeigt die Beschichtung zu keiner Zeit ein zytotoxisches Verhalten auf. Die Streuung der Messpunkte, vor allem nach 30 Tagen, kann aufgrund von Alterungseffekten des Mediums, dem Zustand der Zellkultur oder der Versuchsdurchführung auftreten. Am wahrscheinlichsten ist der Zustand der Zellkultur, da nach 30 Tagen auch die Silikonproben schlechter abgeschnitten haben. Wenn Zellkulturen in zu hohen Passagen vorliegen oder die Durchmischung der Zellen zu keiner gleichmäßigen Verteilung führt, treten Schwankungen in den einzelnen Wells auf, was unterschiedliche Proliferationen mit sich bringt.

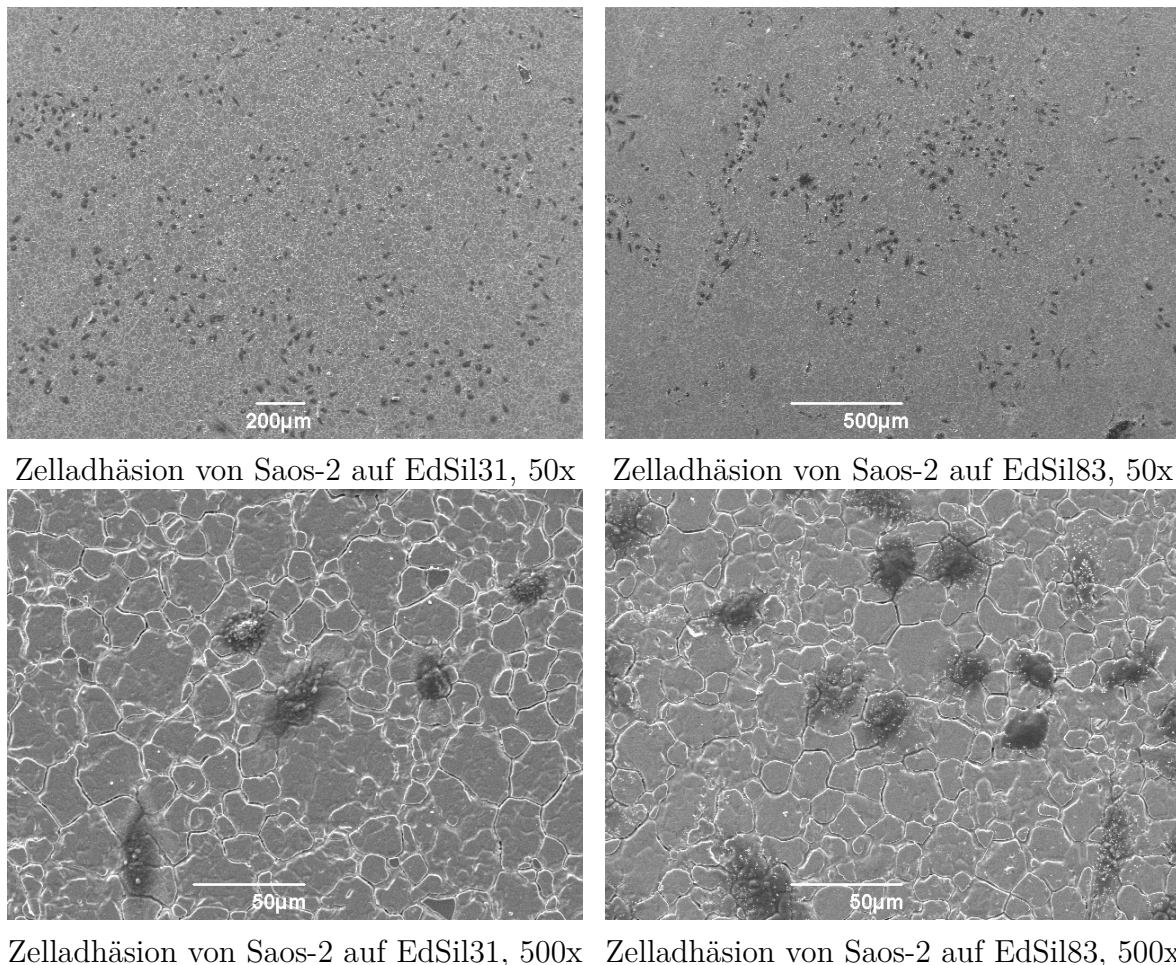


**Abbildung 4.11:** CCK-8 Test der Eluate der EdSil31 und EdSil83 Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM,  $i=3, n=5$

Durch das Überprüfen mittels REM und XPS konnte sichergestellt werden, dass sich die Schicht nicht von der Oberfläche gelöst hat. Daher konnte ein nicht zytotoxisches Verhalten und eine Beständigkeit nach 30 Tagen in DMEM nachgewiesen werden.

### 4.5.2 Anwachsverhalten von Zellen auf den EdSil Beschichtungen

Um das Verhalten der Zellen auf der Oberfläche zu evaluieren, wurden Besiedlungsversuche mit Osteoblasten und Fibroblasten durchgeführt. Eine anschließende Proliferationsmessung mittels CCK-8 gibt Aufschluss über die Zellaktivität auf den Beschichtungen. In Abbildung 4.12 sind REM Aufnahmen der mit Saos-2 (Osteoblasten ähnliche Zellen) besiedelten Beschichtungen dargestellt.



**Abbildung 4.12:** REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Saos-2 Zellen auf EdSil31 und EdSil83

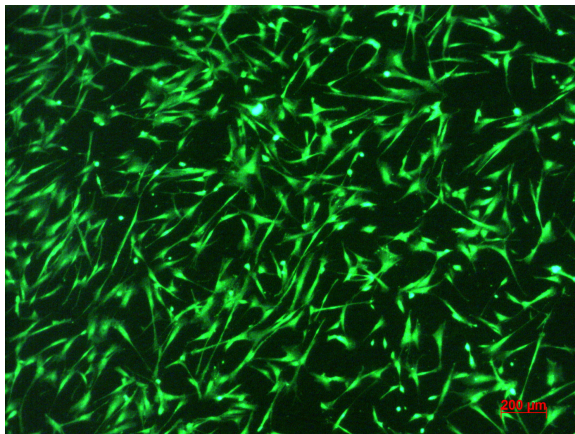
Die Bilder zeigen eine Adhäsion und ein Spreiten der Zellen auf der Oberfläche. Die Besiedlungstests mit anschließendem CCK-8 Test weisen, bei zehn getesteten Proben, für EdSil31 eine Proliferation von  $49,75\% \pm 12,99\%$  und für EdSil83  $39,29\% \pm 5,05\%$  auf. Im Gegensatz hierzu verfügt blanker Edelstahl über eine Proliferation von  $75,13\% \pm 10,40\%$  im Bezug auf die Referenz. Die hohen Standardabweichungen können aufgrund von Unregelmäßigkeiten in den Beschichtungen auftreten. Der vorhandene Verfahrtisch kann nur in  $x$ -Richtung verfahren werden, was eine flächendeckende und geschlossene Beschichtung erschwert. Je kleiner der Abstand zwischen Düse und Substrat ist, umso größer ist dieser Effekt, was die hohe Standardabweichung bei EdSil31 bestätigt.



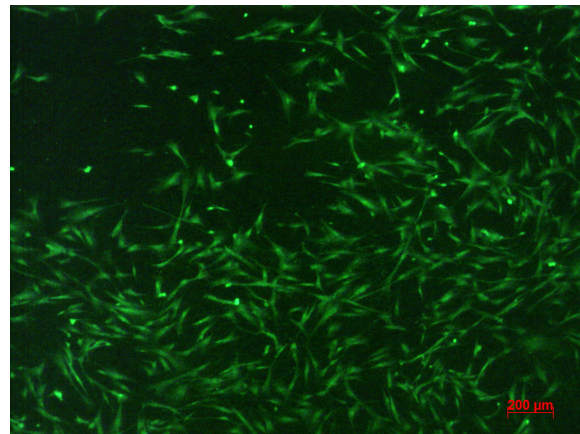
Aufgrund dieser kann keine Aussage bezüglich der geeigneteren Beschichtung für die Adhäsion von Saos-2 getroffen werden.

Im Vergleich zu Edelstahl weisen die Beschichtungen jedoch eine schlechtere Adhäsion auf, daher sind sie für den Einsatz im Kontakt mit Knochenmaterial weniger gut geeignet. Ein Grund hierfür könnte der Kontaktwinkel sein, Edelstahl ist mit ca.  $65^\circ$  deutlich hydrophiler als die Beschichtungen, welche Kontaktwinkel im Bereich von  $90^\circ$  bis  $100^\circ$  aufweisen. In der Literatur wird größtenteils ein hydrophiler Kontaktwinkel als besser für die Zelladhäsion befunden, da die Proteinadsorption begünstigt wird [33, 121, 126, 127, 128].

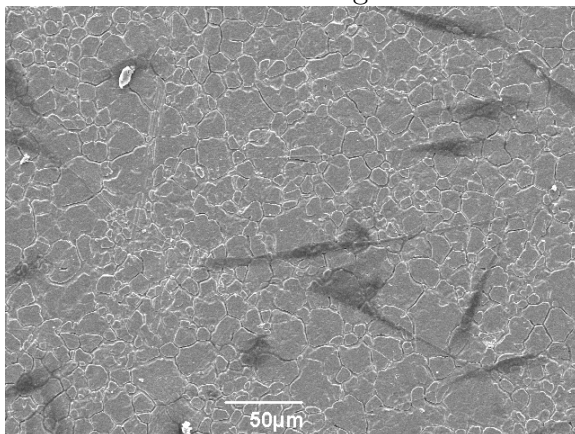
Jede Art von Zellen reagiert anders auf Oberflächen. Aus diesem Grund wurde die Reaktion von Fibroblasten auf der Oberfläche ebenfalls getestet. Die Morphologie der Zellen wurde durch Fluoreszenzfärbung und REM Aufnahmen evaluiert, siehe Abbildung 4.13.



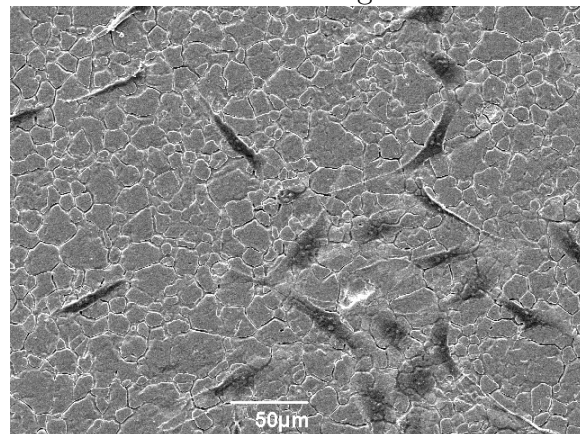
Fluoreszenzfärbung EdSil31



Fluoreszenzfärbung EdSil83



Zelladhäsion auf EdSil31



Zelladhäsion auf EdSil83

**Abbildung 4.13:** REM Aufnahmen und Fluoreszenzfärbung der Zelladhäsion von Hs27 auf EdSil31 und EdSil83

Im Falle der Zelllinie Hs27 adhäreren, trotz der gleichen Besiedlungsdichte, mehr Zellen an der Oberfläche als bei Saos-2. Die Zellen sind eher stabförmig und spreiten in der vollen Länge über die Oberfläche. Die Besiedlungsversuche mit anschließendem CCK-8

Test, für sechs getestete Proben, im Bezug auf die Kontrollprobe, ergeben einen Wert von  $64,70\% \pm 15,78\%$  für EdSil31 und  $70,49\% \pm 5,62\%$  für EdSil83. Die höhere Standardabweichung bei EdSil31 ist auch hier auf die Problematik der Beschichtungsbreite zurückzuführen. Edelstahl weist hingegen einen Wert von  $95,79\% \pm 2,51\%$  auf und ist damit für die Zellen besser geeignet.

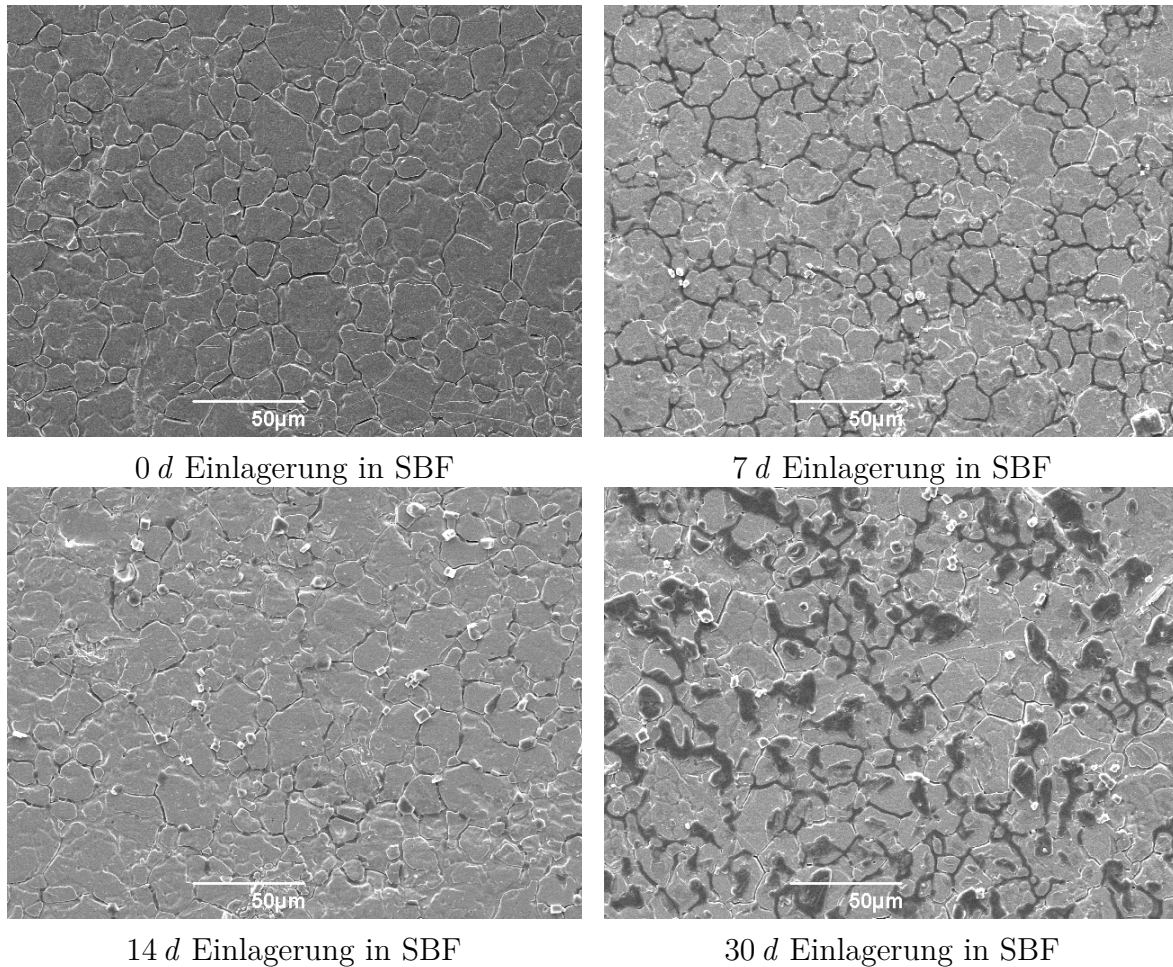
Jedoch kann gezeigt werden, dass Zellen der Zelllinie Hs27 besser an der Oberfläche adhäreren als Zellen der Linie Saos-2. Ein Grund hierfür könnte die Morphologie der Oberfläche sein. Fibroblasten bevorzugen scharfkantige oder glatte Oberflächen[75]. Osteoblasten hingegen adhäreren am Besten an porösen Oberflächen, da sich die Zellen hier in die Poren einkugeln können [62, 129, 130, 131, 132].

Durch eine Strukturierung der Oberfläche oder der Beschichtung, zum Beispiel durch Schablonen oder Sandstrahlen könnte die Oberfläche für die Zelladhäsion verbessert werden. Des Weiteren könnte die Oberflächenspannung durch Aktivierung mittels Plasma angehoben werden, was zu einer erhöhten Hydrophilie der Oberfläche führt, welche die Zelladhäsion steigern kann [133].

## 4.6 Beständigkeit der Beschichtung

Um die Beständigkeit der Beschichtungen in Körperumgebung zu testen, wurden die Proben in SBF bei  $37^{\circ}\text{C}$  gelagert. Den Einfluss von Desinfektionsmitteln wurde durch die Einlagerung in Isopropanol getestet und die Beständigkeit gegenüber einwirkenden Kräften mittels Zugversuchen.

Die REM-Aufnahmen der für 0, 7, 14 und 30 Tage in SBF eingelagerten EdSil31 Proben sind in Abbildung 4.14 dargestellt.

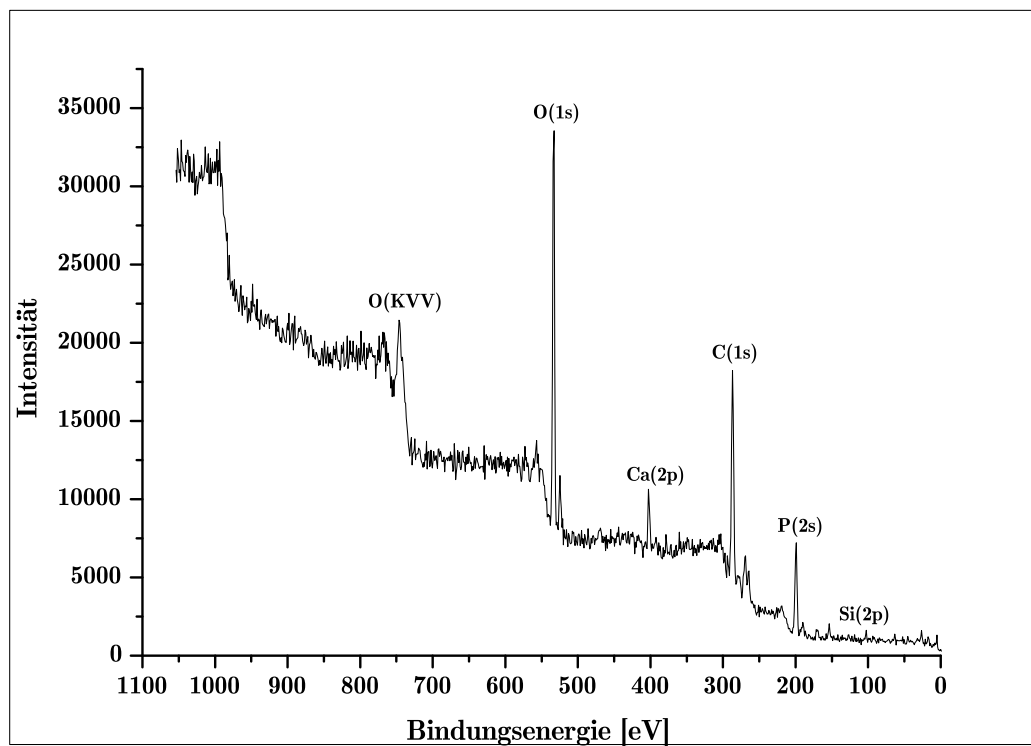


**Abbildung 4.14:** REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten EdSil31 Beschichtung zu verschiedenen Zeitpunkten

Es ist zu erkennen, dass sich über die Zeit Anlagerungen auf der Oberfläche bilden. Nach sieben Tagen ist diese großflächig zu erkennen und nach 14 Tagen bilden sich größere rechteckförmige Kristalle. Die Aufnahme nach 30 Tagen zeigt große Anlagerungen, welche eine Schichtbildung erahnen lassen, da es bereits an einigen Stellen zum Zusammenschluss der Anlagerungen gekommen ist. Des Weiteren treten Einlagerungen in den Korngrenzen auf.

Um nachzuweisen, dass es sich bei den Anlagerungen um Kalziumphosphat handelt, wurde eine Untersuchung mittels XPS vorgenommen, siehe Abbildung 4.15. Hierfür wurde die Probe, welche 30 Tage eingelagert war, gewählt.

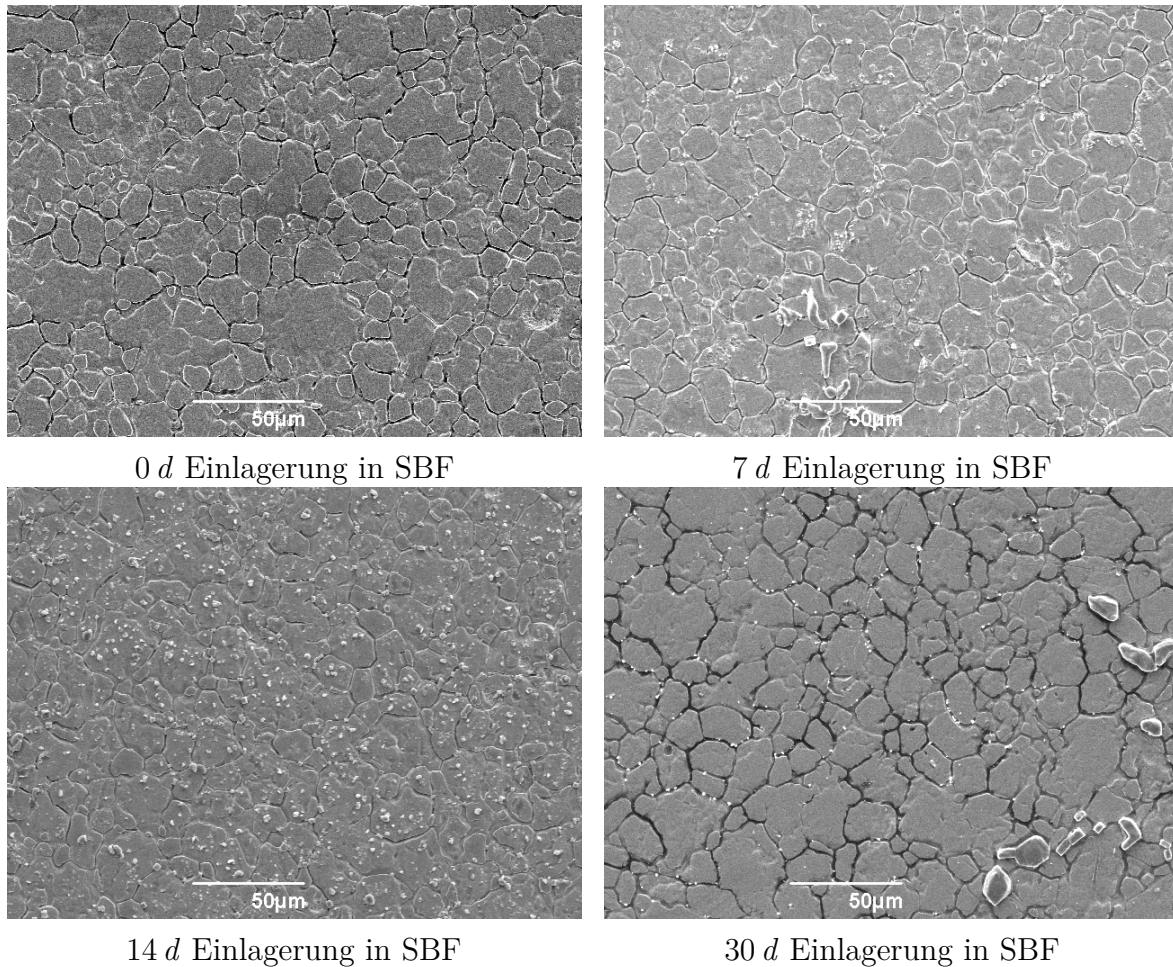




**Abbildung 4.15:** XPS Aufnahme der EdSil31 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

Die XPS Messung ergibt, dass sowohl ein charakteristischer Silizium Peak, welcher auf die Beschichtung hinweist, wie auch ein Phosphor und Kalzium Peak auftreten. Bei den Rückständen auf der Probe handelt es sich daher um Kalziumphosphat-Verbindungen.

Die REM-Aufnahmen der EdSil83 Beschichtungen nach Einlagerung in SBF sind in Abbildung 4.16 dargestellt.

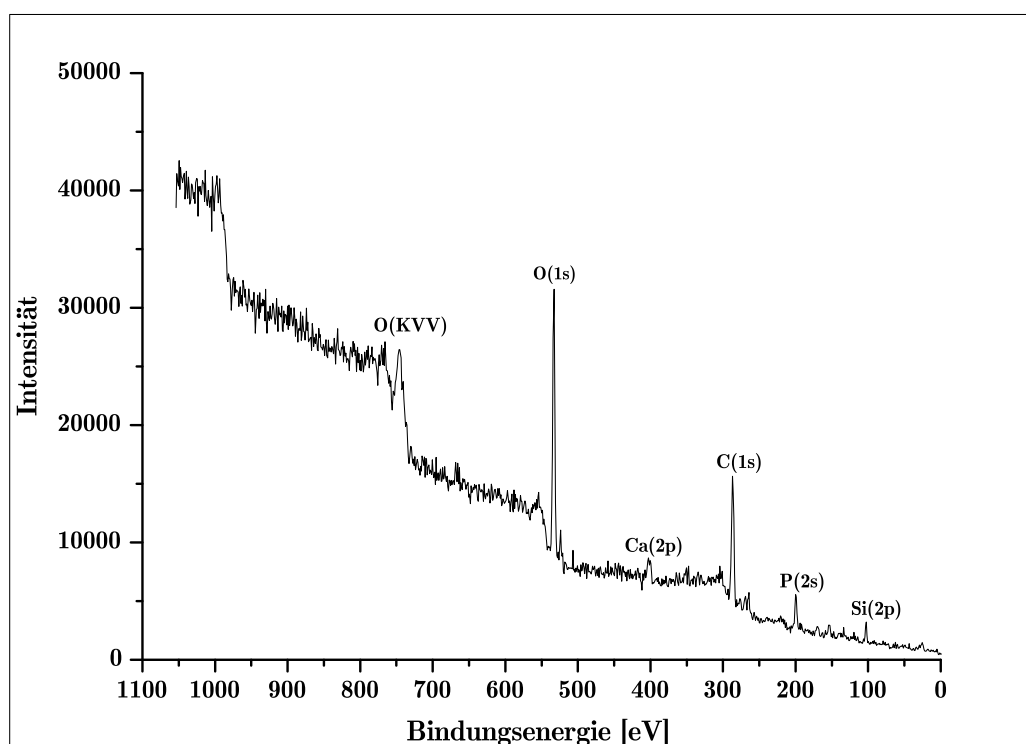


**Abbildung 4.16:** REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten EdSil83 Beschichtung zu verschiedenen Zeitpunkten

Nach sieben Tagen sind vereinzelte Kristalle zu erkennen und nach 14 Tagen bereits eine flächendeckende Anlagerung. Die Aufnahme nach 30 Tagen zeigt zusätzlich große kristallförmige Anlagerungen und eine Einlagerung in den Korngrenzen.

Die XPS Messung, siehe Abbildung 4.17 zeigt auch im Falle der EdSil83 Beschichtung eine Anlagerung von Kalziumphosphat auf der Oberfläche.

Durch einen Vergleich der REM-Aufnahmen, lässt sich erkennen, dass sich bei EdSil31 deutlich mehr Kalziumphosphat anlagert. Dies konnte auch durch Auswertung der XPS Spektren bestätigt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich vermuten, dass EdSil31 die bessere Beschichtung für die Integration in den Körper ist. Jedoch muss auch hier der Einfluss der Düsenbreite berücksichtigt werden, welcher die Ergebnisse verfälschen könnte. Alles in allem lässt sich jedoch sagen, dass sich auf beiden Beschichtungen Kalziumphosphat anlagert, was ein gutes Zeichen für das Verhalten der Beschichtungen im Körper ist.

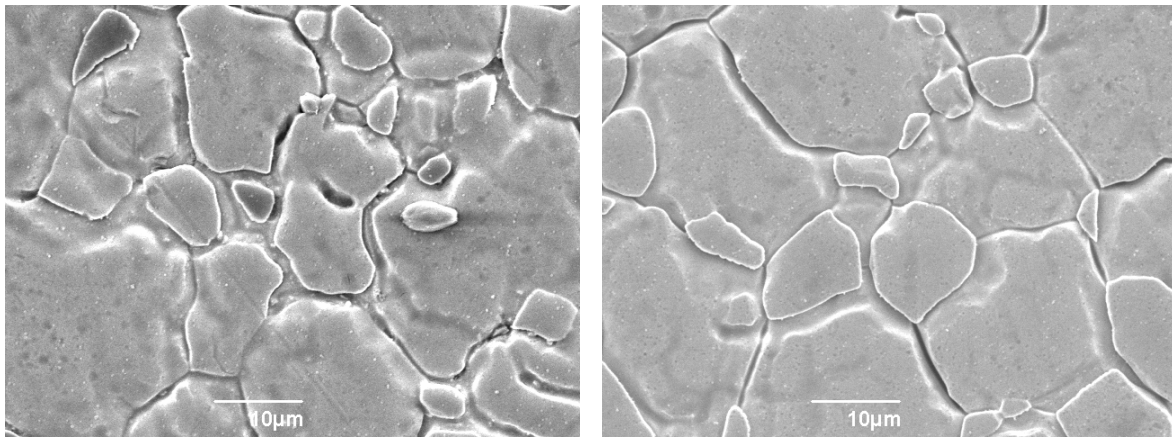


**Abbildung 4.17:** XPS Aufnahme der EdSil83 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

Die Einlagerung in Isopropanol erfolgte für 7, 14 und 30 Tage. In Abbildung 4.18 ist exemplarisch die REM-Aufnahme nach einer 30-tägigen Einlagerung dargestellt.

Sowohl bei EdSil31 wie auch bei EdSil83 ist kein Ablösen der Beschichtung zu erkennen. Es lagern sich eher kleine Kristalle aus dem Isopropanol an der Oberfläche an. Dies geschieht aufgrund der Verwendung von technischem Isopropanol, welches häufig Verschmutzungen und Rückstände enthält.

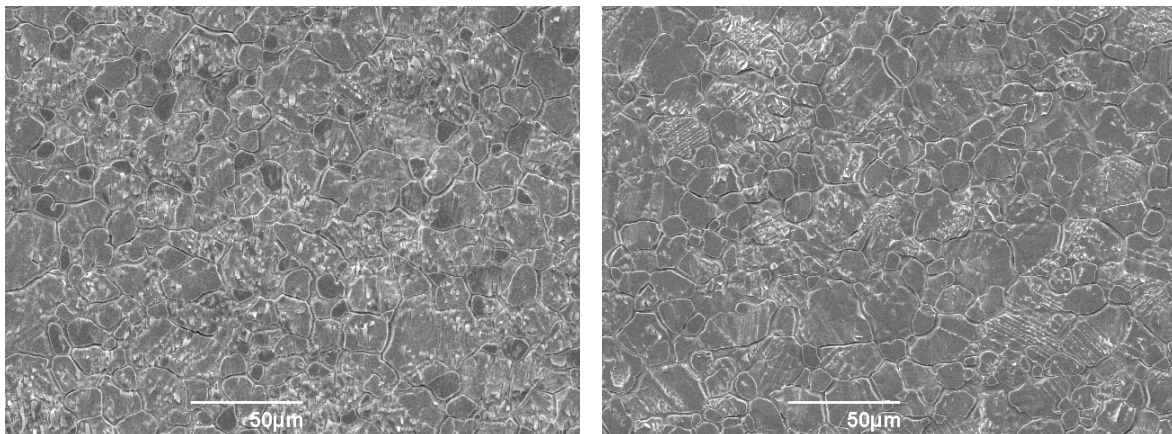
Anhand der positiven Ergebnisse ist eine Desinfektion mittels Isopropanol nach aktuellem Kenntnisstand als unproblematisch zu erachten.



30 d Einlagerung in 70%igem Isopropanol    30 d Einlagerung in 70%igem Isopropanol

**Abbildung 4.18:** REM Aufnahmen der eingelagerten EdSil31 und EdSil83 Beschichtungen für 30 Tage in Isopropanol

Die Zugproben wurden nach der Belastung zerschnitten und im REM untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.19 dargestellt.



Zugversuch von EdSil31

Zugversuch von EdSil83

**Abbildung 4.19:** REM Aufnahmen der Zugstäbe nach den Zugversuchen von EdSil31 und EdSil83

Beide Aufnahmen zeigen ein Abplatzen der Schicht. Bei EdSil31 ist dieser Effekt jedoch stärker als bei EdSil83. Dies könnte an der höheren Schichtdicke liegen. Die Zugversuche wurden mit einmaligem Beschichten wiederholt. In diesem Fall bleibt die Schicht intakt und weist nur Dehnungen aber kein Abplatzen auf.

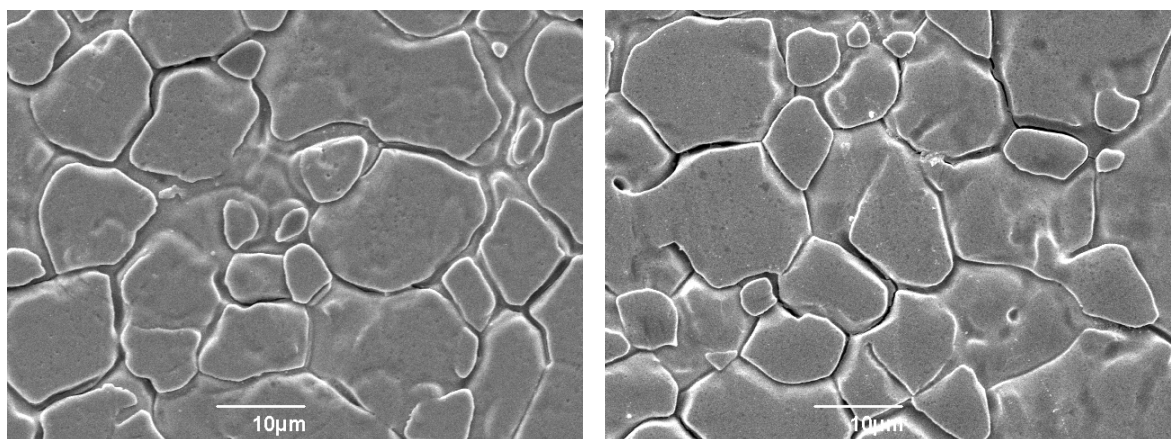
Ein weiterer Grund der geringen Haftung nach Zugbelastung könnte die Zusammensetzung der Beschichtung sein. Gandhiraman et al. [122] haben nachgewiesen, dass polymerartige HMDSO basierte Beschichtungen, wie sie in dem Fall dieser Arbeit vorliegen, eine schlechtere Haftung auf Edelstahl aufweisen als silikaähnliche Beschichtungen. Gründe hierfür sind die, bei silikaähnlichen Schichten, gebildeten -Fe-O-Si und -Cr-O-Si Bindungen zwischen der Beschichtung und dem Edelstahl. Durch Anpassen

der Prozessparameter kann eine solche Beschichtung erzeugt werden und somit die Zugbeständigkeit der Beschichtung optimiert werden.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die erzeugten Beschichtungen der Kraft von 2 kN nicht standhalten, jedoch kann dies durch eine dünnere Beschichtung und oder ein Anpassen des Kohlenstoffgehaltes in den Beschichtungen verbessert werden.

## 4.7 Sterilisation der EdSil Beschichtungen

Der Einfluss von Sterilisationsmethoden auf die Beschichtungen wurde mittels REM untersucht. Die Sterilisation im Autoklaven erfolgte in einer Pipettenbox, da das Autoklavieren innerhalb von Autoklavierbeuteln ein Ablösen der Schicht bewirkte. In Abbildung 4.20 sind die REM Aufnahmen nach der Autoklavierung dargestellt.



Autoklavierte EdSil31 Probe

Autoklavierte EdSil83 Probe

**Abbildung 4.20:** REM Aufnahmen der Beschichtungen EdSil31 und EdSil83 nach dem Autoklavieren

Es ist zu erkennen, dass die Beschichtungen keine optische Veränderung aufweisen. Dies konnte auch für  $\gamma$ -Sterilisation, Sterilisation durch trockene Hitze und Plasma festgestellt werden. Die Kontaktwinkel ändern sich im Falle der Autoklavierung und Plasmasterilisation deutlich. Bei der Plasmasterilisation ist dies auf die Aktivierung der Oberfläche zurückzuführen. Im Falle der Autoklavierung könnte sich Wasser an der Oberfläche angelagert haben und dort reagieren. Im Allgemeinen lässt sich jedoch sagen, dass keine der Sterilisationsmethoden eine optische Änderung der Beschichtung bewirkt hat und auch das Anwachsverhalten wurde nicht negativ beeinflusst, was für die Anwendung der Verfahren spricht.



# 5 Antibakterielle Plasmabeschichtungen

Implantatversagen aufgrund von Infektionen ist immer noch eine große Problematik. Hierbei werden Bakterien durch das Implantat oder die Umgebung während der Operation in den Körper eingebracht. Um dies zu reduzieren bzw. zu verhindern ist ein möglicher Ansatzpunkt die Aufbringung einer antibakteriellen Beschichtung. In der vorliegenden Arbeit wurde hierfür Titandioxid verwendet, da dieses aufgrund der Photohalbleitereigenschaft antibakteriell wirkt und des Weiteren biokompatibel ist.

## 5.1 Struktur und chemische Eigenschaften von Titandioxid

Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ) kommt in der Natur in drei verschiedenen Kristallstrukturen vor: Rutil, Brookit und Anatas. Rutil ist hierbei die thermodynamisch stabilste Form, in welche sich Anatas bei  $915^\circ\text{C}$  und Brookit bei  $750^\circ\text{C}$  umwandeln. Der Schmelzpunkt von Rutil liegt bei ca.  $1830\text{-}1850^\circ\text{C}$ . Alle drei Kristallstrukturen sind dadurch gekennzeichnet, dass Titanatome von oktaedrisch verzerrten O-Atomen umgeben sind. [134]

Von technischer Bedeutung sind jedoch nur Anatas und Rutil. Bei der Kristallstruktur von Anatas handelt es sich um eine kubisch dichteste Kugelpackung der O-Atome, wobei die Hälfte der tetraedrischen Lücken von Ti-Atomen besetzt ist. Rutil verfügt über eine hexagonal dichteste Kugelpackung der O-Atome, wobei die Hälfte der oktaedrischen Lücken mit Titanatomen ausgefüllt ist. Die bevorzugte Oxidationsstufe von Titan ist  $4+$ , aus diesem Grund ist  $\text{TiO}_2$ , chemisch betrachtet, reaktionsträge und unlöslich in Wasser. Des Weiteren ist es thermisch relativ stabil, ungiftig und unbedenklich für die Umwelt. Die letale Dose liegt für Ratten bei  $\text{LD}_{50}=10\text{ g/kg}$ . [134]

Titandioxid ist ein Photohalbleiter. Die Absorptionsbande für Rutil liegt im UV-Vis Spektrum bei einer Wellenlänge von  $\lambda=397\text{ nm}$  und für Anatas bei  $377\text{ nm}$ . Durch die Adsorption von Licht werden Elektronen aus dem Valenzband in das Leitungsband angehoben, wodurch ein getrenntes Elektronenlochpaar entsteht, welches Exciton genannt wird. Dieses Exciton ist der Grund für die Photohalbleitereigenschaften. [135, 136]

Anatas verfügt über eine höhere Photoaktivität als Rutil. Gesenhues et al. [137] begründet dies, durch die Differenz der Absorptionsenergien von Rutil ( $3,02\text{ eV}$ ) und Anatas ( $3,15\text{ eV}$ ), welche bei  $0,13\text{ eV}$  liegt. Mit der Annahme, dass die Leitungsbänder beider ca. auf der gleichen Höhe liegen, muss das Valenzband von Anatas, im Vergleich zu Rutil, um  $0,13\text{ eV}$  erniedrigt werden. Aus diesem Grund entstehen bei der Bildung von Excitons Löcher auf niedrigerem Potenzial als bei Rutil, was zur Entstehung von

Hydroxylradikalen mit ebenfalls niedrigerem Potenzial führt. Diese wirken stärker oxidierend als zum Beispiel die entstehenden Hydroxylradikale im Rutil. [135, 138]

## 5.2 Titandioxid Precursoren

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei Titandioxid Precursoren verwendet: einer auf Basis von Titan(IV)butoxid (TTIB) und der andere auf Basis von Tetraisopropylorthotitanat (TTIP). Da beide Chemikalien hygroskopische Eigenschaften besitzen, gestaltet sich die Verwendung als Precursor kompliziert, da die Flüssigkeit in Kontakt mit Wasser oder Luft kristallisiert. Um diesen Prozess zu verhindern und trotzdem die genannten Precursoren zu verwenden, wurden Sole hergestellt. Des Weiteren trägt die Verdünnung des Precursors dazu bei, dass die Abscheidung mittels atmosphärischem Plasma leichter kontrolliert werden kann.

### 5.2.1 Tetraisopropylorthotitanat

Tetraisopropylorthotitanat (TTIP) ist eine Titanalkoxidverbindung mit der Summenformel  $C_{12}H_{28}O_4Ti$  und einer molaren Masse von 284,22 g/mol [139]. Vier Propan-2-oxid Gruppen sind an das zentrale Titanatom gebunden, siehe Abbildung 5.1.

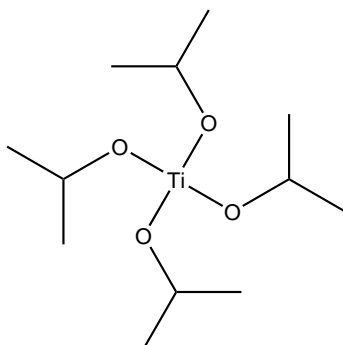


Abbildung 5.1: Strukturformel von TTIP

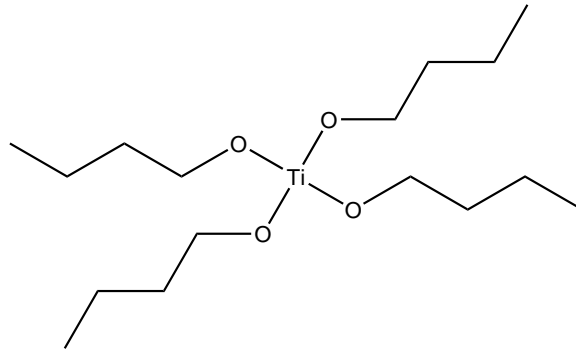
Unter Normalbedingungen ist es flüssig, hellgelb und reagiert mit Oxidationsmitteln explosionsartig. Es hydrolysiert in Wasser und muss daher trocken gelagert werden. Der Siedebeginn liegt bei 232 °C und die Dichte beträgt 0,96 g/mL [139].

TTIP wird in der Organik als Synthesemolekül verwendet und in der Oberflächentechnik als Precursor zur Herstellung von Beschichtungen aus Titandioxid Verbindungen [140].

### 5.2.2 Titan(IV)butoxid

Titan(IV)butoxid (TTIB) mit der Summenformel  $C_{16}H_{36}O_4Ti$  gehört zur Gruppe der Titanalkoxid Verbindungen. Die Struktur besteht aus einem zentralen Titan Molekül, an welchem vier Butanoxid Gruppen gebunden sind, siehe Abbildung 5.2.





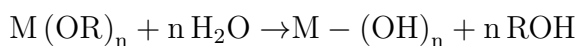
**Abbildung 5.2:** Strukturformel von TTIB

TTIB wird, wie auch TTIP, in der Oberflächentechnik zur Abscheidung von Titandioxid Beschichtungen verwendet [141]. Des Weiteren wird es als Katalysator für chemische Prozesse angewandt. Bei TTIB handelt es sich um eine farblose bis leicht gelbliche, viskose Flüssigkeit. Beim Erhitzen über den Flammpunkt können mittels der entstehenden Dämpfe explosive Gasgemische entstehen. [142]

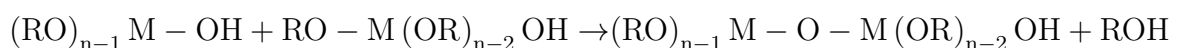
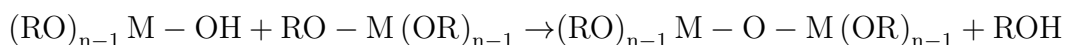
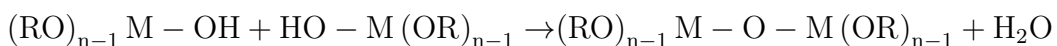
### 5.2.3 Herstellung der Precursoren Sole

Die beiden Ausgangsprecursor TTIP und TTIB sind aufgrund der Kristallisation an Luft und der hohen Viskosität nur schwer in die Plasmadüse zu leiten. Es kommt häufig zu Verstopfungen und Kristallbildungen. Um dies zu vermeiden, wurden in der vorliegenden Arbeit Sole hergestellt.

Zur Herstellung eines Sols muss der Ausgangsstoff mittels Zugabe von Wasser hydrolysiert werden. Nachfolgend sind die Reaktionsgleichungen zur Hydrolysierung am Beispiel eines Metallalkoholats ( $M(OR)_n$ ) dargestellt:



Durch Beenden der Hydrolyse entstehen teilweise hydrolysierte Produkte ( $(RO)_{n-1}M-OH$ ). Anschließend findet eine Kondensation zwischen den hydrolysierten und teilweise hydrolysierten Produkten statt. Hierbei bildet sich Wasser und Alkohol:



Nach diesen beiden Schritten, der Hydrolyse und der Kondensation, entstehen entweder Makromoleküle, Oligomere oder Partikel. Durch Variation der Wassermenge, der verwendeten Metallverbindung, des pH-Wertes, der Temperatur, der Lösemittel und der Katalysatoren bzw. Komplexbildnern kann die Morphologie und Struktur des entstehenden Netzwerkes variiert werden. Im Vergleich zu Silizium kommt es bei Titanalkoholaten oder -chloriden auch bei unterstöchiometrischer Wassermenge zur Bildung von Kolloiden.

Dies ist auf den größeren Unterschied zwischen den Elektronegativitäten zurückzuführen, wodurch diese Verbindungen viel hydrolyseempfindlicher sind.

In der vorliegenden Arbeit wurden TTIB und TTIP Sole (3,5 mol-%) hergestellt. Zuerst wird 1-Propanol vorgelegt und der jeweilige Titanprecursor wird unter rühren zugegeben. Nach fünf Minuten wird ein Gemisch aus Salzsäure und 1-Propanol tropfenweise hinzugegeben. Die Lösung wird für fünf weitere Minuten gerührt und anschließend wird ein Gemisch aus Wasser und 1-Propanol langsam hinzugegeben. Das so erhaltene Sol wird für 30 Minuten gerührt und anschließend in einem Feuerschutzschrank gelagert. Die exakten Mengen der verwendeten Reagenzien sind in Tabelle 5.1 aufgeführt.

**Tabelle 5.1:** Rezepturen zur Herstellung der Titanprecursoren nach [7]

	TTIP-Sol	TTIB-Sol
<b><u>Vorlage</u></b>		
1-Propanol	108,56 mL	68,00 mL
Titan-Precursor	19,42 mL	15,70 mL
<b><u>Salzsäure-1-Propanol Gemisch</u></b>		
37%ige Salzsäure	1,10 mL	0,81 mL
1-Propanol	9,33 mL	5,90 mL
<b><u>Wasser-1-Propanol Gemisch</u></b>		
DD-Wasser	1,55 mL	1,10 mL
1-Propanol	18,66 mL	12,30 mL

### 5.3 Prozesssystem und -parameter zur Abscheidung der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Zur Abscheidung der Titandioxidsole wurde sowohl die Sprühdüse wie auch der Verdampfer verwendet. Beschichtungen mittels Verdampfer sind mit einem V gekennzeichnet und Beschichtungen, welche mit der Sprühdüse abgeschieden wurden, mit S. Die gewählten Prozessparameter sind in Tabelle 5.2 dargestellt.

Hierbei steht PP für die Plasma Power, PCT für die Plasma Cycle Time,  $U$  für die Spannung,  $d$  für den Abstand zwischen Probe und Austritt der Plasmaflamme,  $\dot{V}_{Luft}$  für den Volumenstrom des Ionisationsgases,  $\dot{M}_{Precursor}$  für den Massenstrom des Precursors und  $T_{Verdampfer}$  für die Verdampfer Temperatur.

**Tabelle 5.2:** Plasmaparameter zur Abscheidung von Beschichtungen aus Titanprecursoren

	PP	PCT	$U$	$d$	$\dot{V}_{Luft}$	$\dot{V}_N$	$\dot{M}_{Precursor}$	$T_{Verdampfer}$
	kHz	%	%	mm	L/h	L/h	g/h	°C
TTIB_V	19	35	80	10	2500	300	60	230
TTIB_S	19	35	80	20	2500		50	
TTIP_V	23	100	86	10	2000	300	60	230
TTIP_S	23	100	86	20	2000		50	

Im Falle des Verdampfers wird Stickstoff als Trägergas und Luft als Ionisationsgas verwendet. Bei den Sprühbeschichtungen hingegen wird Luft als Ionisations- und Trägergas gewählt. Die Sprühbeschichtungen werden sechsmal mit einer Verfahrensgeschwindigkeit der Probe von 2 m/min beschichtet. Bei den Verdampferbeschichtungen werden die Proben viermal mit einer Verfahrensgeschwindigkeit der Probe von 10 m/min beschichtet.

## 5.4 Herstellungs- und Anwendungsbereiche der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Titandioxid ist aufgrund seiner guten chemischen und biologischen Eigenschaften, dem hohen Reflexionsindex und der weißen Farbe ein weitverbreitetes und vielversprechendes Material [143].

Anwendung findet Titandioxid zum Beispiel in der Medizintechnik, Lebensmittelindustrie, bei Luftfiltern oder auf Sanitäroberflächen [143]. Titandioxid wird in nahezu allen weißen Farben verwendet. Bezüglich der Kristallstruktur wird hierbei auf Anatas zurückgegriffen. Der Grund hierfür liegt in der geringeren Mohs'schen Härte im Vergleich zu Rutil. Die Verwendung von Anatas im Vergleich zu Rutil sorgt für einen geringeren Maschinenverschleiß in der Textil- und Kunststoffindustrie und für ein Schonen der Schneidewerkzeuge in der Papierindustrie [134].

Aufgrund der hohen Biokompatibilität ist Titandioxid, welches sich auch auf Titan Oberflächen ausbildet, ein weitverbreitetes Beschichtungsmaterial für den Einsatz auf Implantaten.

Eine weitere Besonderheit zeichnet die photokatalytische Eigenschaft von Titandioxid aus. Diese führt zum Einsatz im Bereich von Oberflächendesinfektionen, zur Wasserspaltung, für Photovoltaikzellen, für Wasserfilter, als Katalysatoren und als selbstreinigende Oberflächen. Obwohl es viele Materialien mit photokatalytischen Eigenschaften gibt, gilt Titandioxid als das beste Material im Bezug auf Kosten, chemische Stabilität und Toxizität. [143, 144, 145]

Die photokatalytische Eigenschaft kann auf zwei Weisen verbessert werden. Zum einen kann eine Dotierung durchgeführt werden, welche die Aktivität vom UV-Licht ins sichtbare Licht verschiebt. Zum anderen durch Verhinderung der Rekombination von Elektronenlochpaaren. Ersteres kann durch Zugabe von Phosphaten, Stickstoff oder Kohlenstoff erreicht werden. Zur Verhinderung der Rekombination werden ebenfalls Fremdatome hinzugegeben, hier aber Edelmetallcluster zum Beispiel aus Platin oder Gold. [143]

Titandioxid Beschichtungen können auf verschiedene Arten erzeugt werden. Die gängigsten Methoden sind das Sol-Gel Verfahren, das CVD-Verfahren, das Plasmaspraying, die elektrophoretische Abscheidung und die Plasma- Immersions- und Ionenimplantation [146].

Die nasschemischen Verfahren wie Sol-Gel und elektrophoretische Abscheidung führen immer zu chemischen Abfällen, was die Verfahrenskosten erhöht und auch das Upscaling schwieriger macht. Die Plasmaverfahren sind in den meisten Fällen mit hohen Temperaturen verbunden und daher nicht für alle Materialien geeignet. Eine Alternative hierzu bietet das Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition (PE-CVD). Die Temperaturen sind bei diesem Verfahren gering, sodass Polymere, Gewebe und biologische Fasern beschichtet werden können. [143]

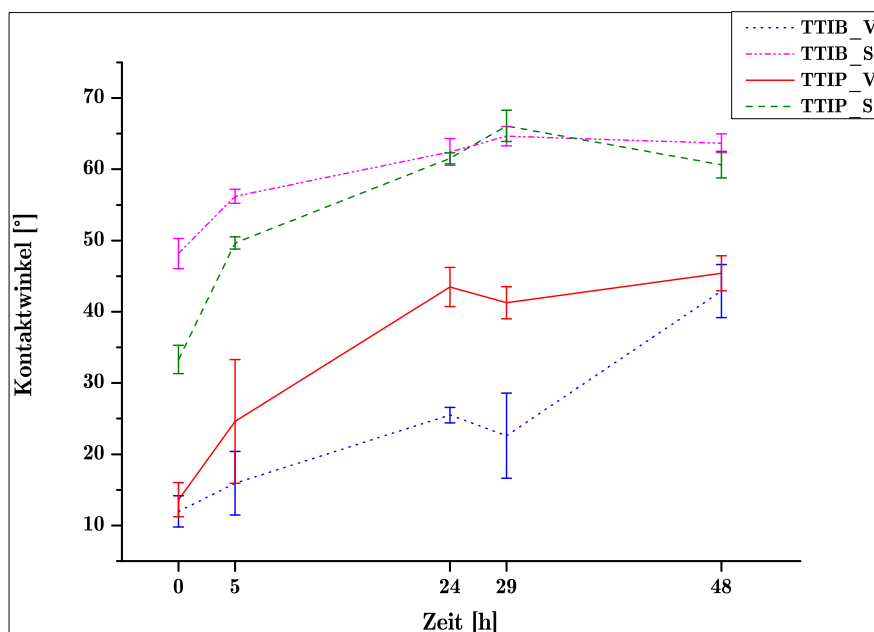
Die mittels PE-CVD Verfahren hergestellten Beschichtungen können biologisch eingesetzt werden und zum Beispiel die Bildung von Biofilmen aus *Pseudomonas fluorescens* verhindern [147]. Des Weiteren bieten die mittels „kaltem“ Plasma erzeugten Schichten durch Variation der Parameter die Option, amorphe und kristalline Beschichtungen abzuscheiden [148]. Die Schichten zeigen außerdem eine hohe Reinheit und der Prozess ist gut kontrollierbar [149].

## 5.5 Chemische Charakterisierung der $\text{TiO}_2$ Beschichtung

Die generierten Beschichtungen wurden auf ihre chemischen Eigenschaften untersucht. Die Benetzbarkeit wurde mittels Kontaktwinkelmessung determiniert, siehe Abbildung 5.3.

Die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen, TTIP\_V und TTIB\_V weisen sehr niedrige Kontaktwinkel zum Zeitpunkt der Beschichtung ( $t=0$ ) auf. Der Kontaktwinkel von TTIP\_V steigt von  $11,97^\circ \pm 2,20^\circ$  auf  $42,89^\circ \pm 3,72^\circ$  nach 48 Stunden Lagerung an. Im Falle von TTIB\_V beträgt der anfängliche Wert  $13,61^\circ \pm 2,40^\circ$  und nach 48 Stunden  $45,40^\circ \pm 2,45^\circ$ . Titandioxid weist aufgrund seiner photokatalytischen Eigenschaft, im angeregten Zustand, eine Superhydrophilie auf. Diese kann bei beiden Beschichtungen erkannt werden. Die Aktivierung entsteht vermutlich durch das Plasma [150]. Über die Zeit baut sich die Aktivierung ab und die erzeugten Elektronenlochpaare rekombinieren. TTIP\_V weist nach 29 Stunden eine große Streuung der Werte auf, dies tritt bei

TTIB\_V nach 5 Stunden auf. Gründe hierfür könnten inhomogene Beschichtungen oder punktuell unterschiedlich schnelle Rekombinationen auf der Oberfläche sein.

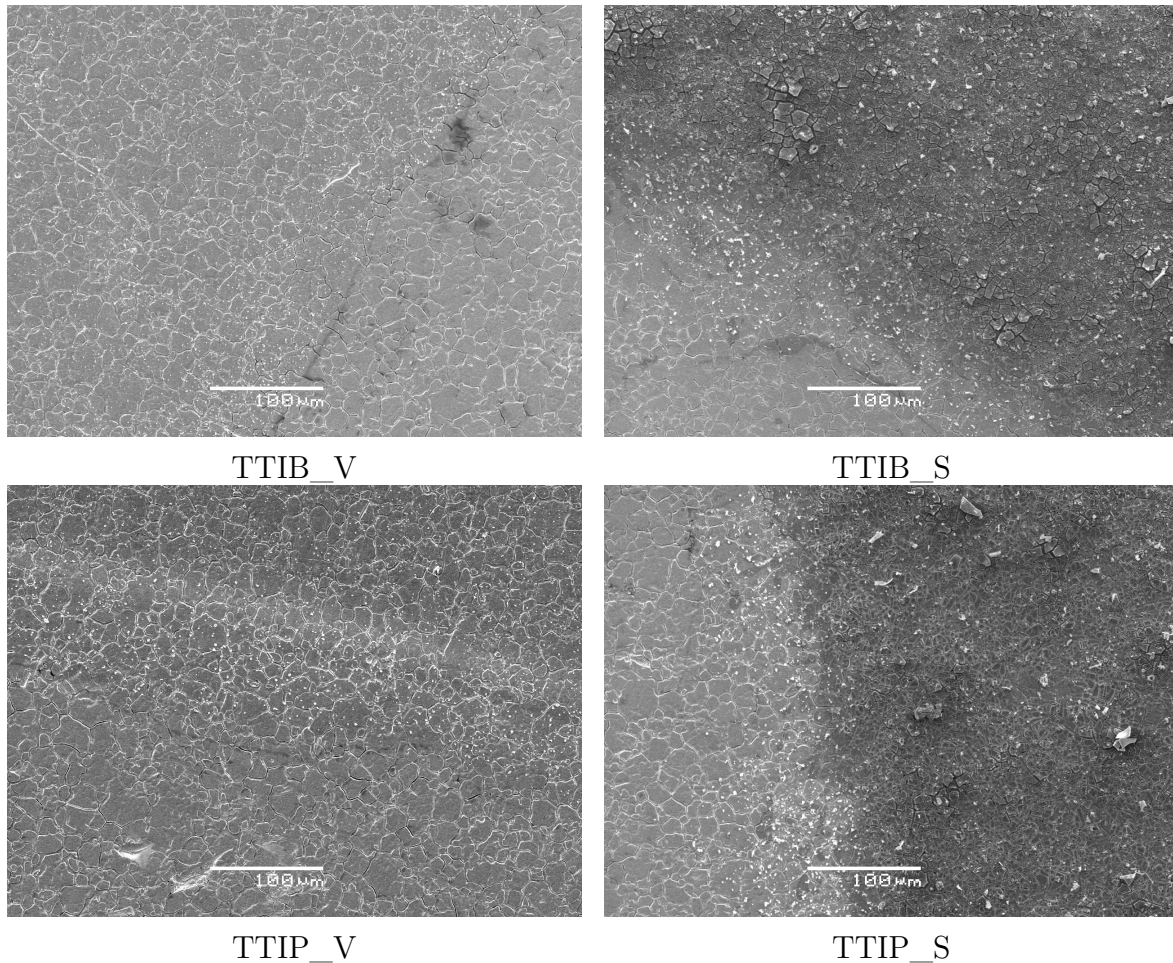


**Abbildung 5.3:** Kontaktwinkelmessung der Beschichtungen aus TTIB und TTIP,  $n=8$

Die gesprühten Beschichtungen, TTIP\_S und TTIB\_S hingegen zeigen deutlich höhere Kontaktwinkel auf. Bei TTIP\_S steigert sich der anfängliche Wert von  $33,29^\circ \pm 1,98^\circ$  auf  $60,65^\circ \pm 1,87^\circ$  nach 48 Stunden. Im Falle von TTIB\_S liegt der Kontaktwinkel anfänglich bei  $48,18^\circ \pm 2,11^\circ$  und nach 48 Stunden bei  $63,68^\circ \pm 1,30^\circ$ . Auch bei den Sprühbeschichtungen ist ein Anstieg des Kontaktwinkels zu erkennen. Jedoch liegt dieser zu keinem Zeitpunkt im Bereich der Superhydrophilie. Gründe hierfür könnten die Morphologie der Beschichtung, die nicht ausreichende Aktivierung mittels Plasma und die eventuelle Verschmutzung der Oberfläche sein.

Der Vergleich zwischen TTIP und TTIB zeigt, dass sich im Falle des Sprühens TTIB hydrophober verhält. Beim Verdampfen ist dies invers. Die Beschichtungen sind jedoch schwer zu vergleichen, da im Falle der Sprühbeschichtungen Luft als Träger- und Ionisationsgas und beim Verdampfen Luft lediglich als Ionisationsgas und Stickstoff als Trägergas verwendet wurde. Dies kann die Chemie der Beschichtung grundlegend ändern und daher auch die Kontaktwinkel.

Die Morphologie der Beschichtungen wurde anhand von REM Aufnahmen beurteilt. Diese sind Abbildung 5.4 zu entnehmen.

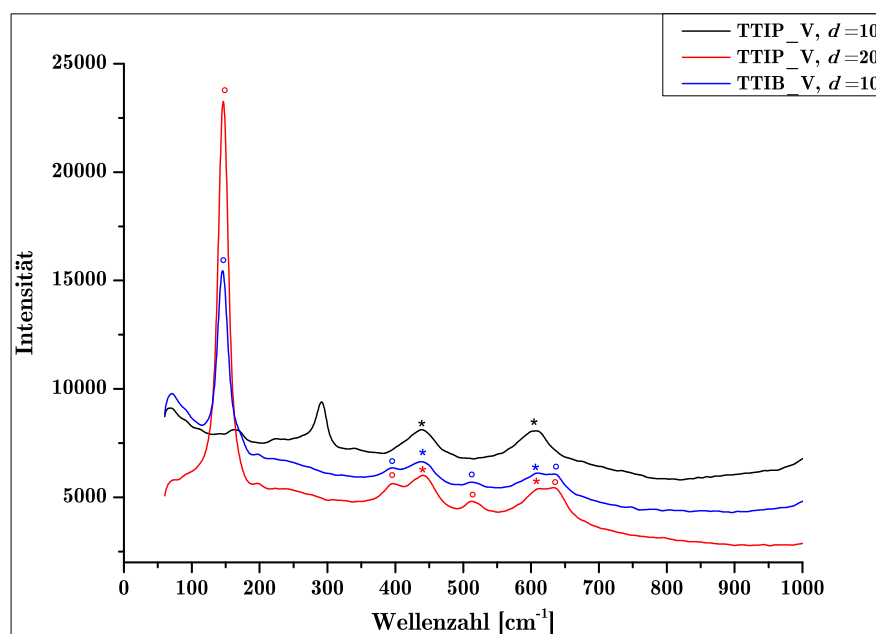


**Abbildung 5.4:** REM Aufnahmen der  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen zur Analyse der Morphologie

Alle Proben sind nur teilweise beschichtet, um den Unterschied zum unbeschichteten Edelstahl besser darzustellen. Im Falle von TTIB\_V ist die rechte untere Ecke nicht beschichtet. Es ist zu erkennen, dass sich auf der Oberfläche keine geschlossene Schicht gebildet hat. Vielmehr sind einzelne kleine Partikel, welche homogen verteilt sind, vorhanden. Im Falle von TTIP\_V ist der untere Teil des Bildes nicht beschichtet. TTIP\_V weist die gleiche Morphologie der Beschichtung auf wie TTIB\_V.

Die TTIB\_S REM Aufnahme zeigt im linken unteren Bereich den blanken Edelstahl und im restlichen Bild die Beschichtung. Durch das Sprühen entsteht eine deckende Beschichtung, welche jedoch viele Artefakte aufweist und im Allgemeinen einen inhomogenen Eindruck macht. TTIP\_S weist die gleiche Morphologie auf und hier ist der linke Teil des Bildes unbeschichtet.

Die Kristallstruktur der Beschichtungen wurde mittels RAMAN Spektroskopie ermittelt, siehe Abbildung 5.5.



**Abbildung 5.5:** RAMAN Spektrum der TTIP\_V und der TTIB\_V Beschichtung

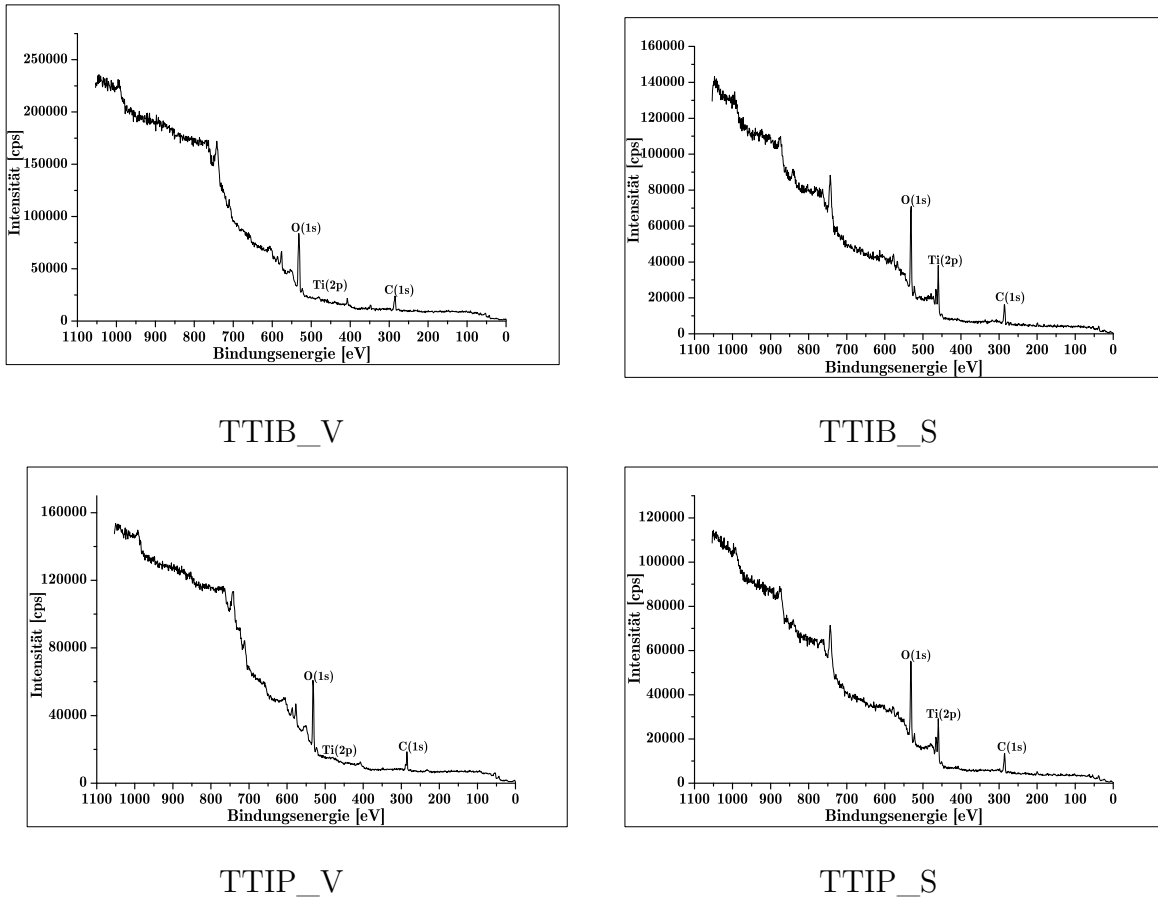
Standardmäßig wurden die, mittels Verdampfer erzeugten, Beschichtungen mit einem Abstand von  $d=10$  mm angefertigt. Die mit \* gekennzeichneten Peaks sind der Rutil Kristallstruktur zuzuordnen und die mit  $\circ$  kennzeichnen die Peaks der Anatasstruktur. Im Falle von TTIP\_V ( $d=10$  mm) treten Peaks bei  $445\text{ cm}^{-1}$  und  $613\text{ cm}^{-1}$  auf. Daher kann davon ausgegangen werden, durch Vergleiche mit der Literatur, dass hier nur Rutil und eventuell amorphes TiO<sub>2</sub> vorliegt. [133, 151]

Im Falle von TTIB\_V ( $d=10$  mm) treten, neben den oben genannten Peaks, auch noch Peaks bei  $146,5\text{ cm}^{-1}$ ,  $397\text{ cm}^{-1}$ ,  $513\text{ cm}^{-1}$  und  $637\text{ cm}^{-1}$  auf. Diese Peaks können der Anatas Kristallstruktur zugewiesen werden, genauer noch folgenden Zuständen:  $E_{g(1)}$ ,  $B_{1g(1)}$ ,  $A_{1g}$  und  $E_{g(3)}$  [136]. Anhand dieser Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass im Falle von TTIB, bei den gewählten Parametern, eine Beschichtung auftritt, welche sowohl Anatas wie auch Rutil Anteile besitzt. [133, 151, 152]

Durch Vergleich der beiden Spektren könnte davon ausgegangen werden, dass durch Beschichtung mit TTIP nur Rutil und durch TTIB eine Mischung aus Rutil und Anatas entsteht. Jedoch wurde zum Vergleich eine Beschichtung aus TTIP erzeugt mit einem Abstand von 20 mm (TTIP\_V,  $d=20$ ) und diese zeigt die gleichen Peaks wie TTIB\_V auf. Dadurch konnte gezeigt werden, dass die Kristallstruktur nicht von dem Precursor, sondern den Plasmaparametern abhängt. Die Plasmaparameter der TTIP\_V ( $d=10$  mm) Beschichtung im Vergleich zur TTIB\_V Beschichtung wurden so gewählt, dass ein höher energetisches und somit „heißeres“ Plasma entsteht. Durch hohe Temperaturen wird die Bildung von Rutil bevorzugt. Wenn jedoch der Abstand vergrößert wird, ist der Energieübergang zwischen Plasmaflamme und Substrat schlechter und dadurch wird die Probe weniger erwärmt. Also kann durch eine Reduktion der Plasmatemperatur, zum Beispiel durch Reduktion der Plasmaenergie, durch Erhöhung des Flusses des

Ionisations- oder Trägergases, durch Vergrößerung des Abstandes zwischen Düse und Substrat etc., die Bildung von Anatas begünstigt werden [133].

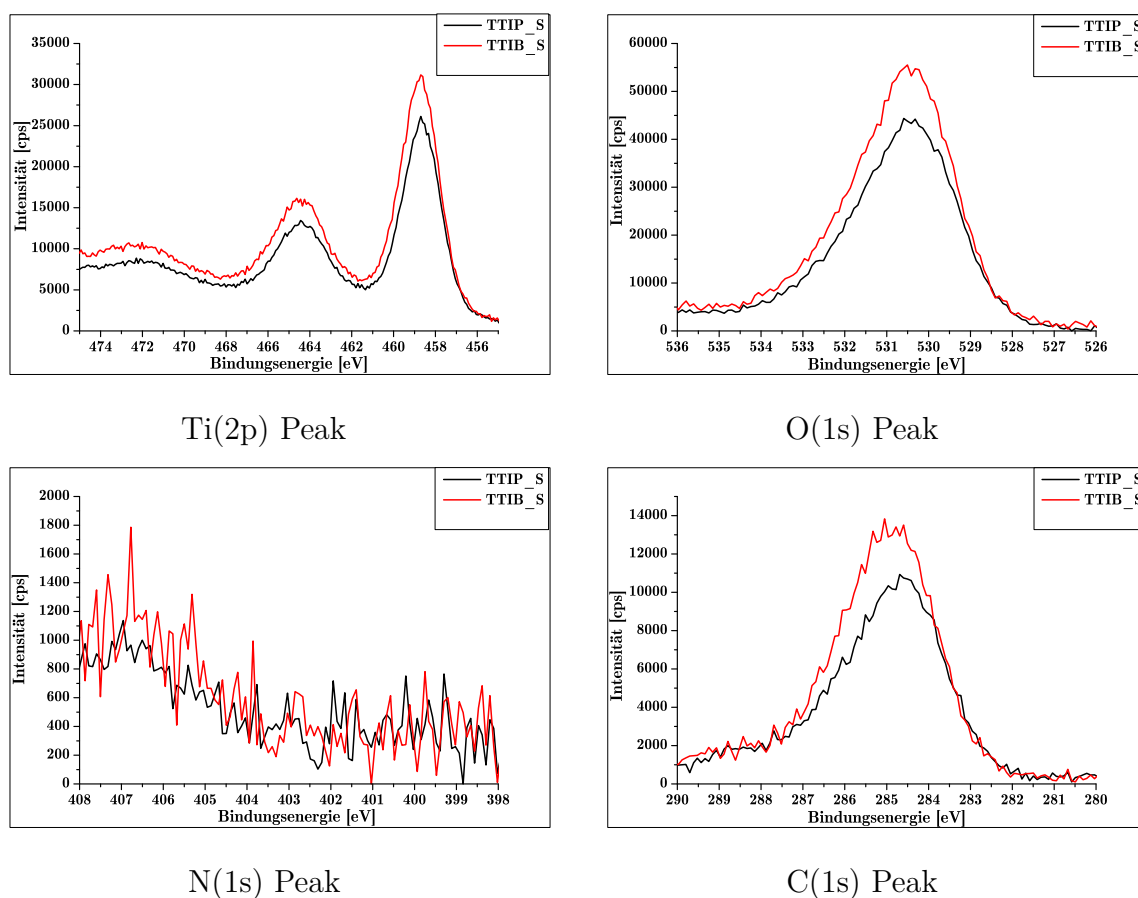
Die chemische Struktur der Beschichtungen wurde mittels XPS Messungen bestimmt. In Abbildung 5.6 sind die Übersichtspektren aller vier Beschichtungen dargestellt.



**Abbildung 5.6:** XPS Übersichtspektren der TTIB\_V, TTIB\_S, TTIP\_V, TTIP\_S Beschichtungen

Die Spektren der gesprühten Beschichtungen ähneln sich stark und die der mittels Verdampfer erzeugten ebenfalls. Alle Spektren weisen einen O(1s), einen Ti(2p) und einen C(1s) Peak auf. Der Ti(2p) Peak ist bei den Verdampferbeschichtungen nur durch eine sehr hohe Scanzahl erkennbar. Des Weiteren sind im Spektrum die Peaks von Edelstahl zu erkennen. Da die gesprühten Beschichtungen deutlichere Peaks aufweisen, wurden diese zur genauen Charakterisierung in Abbildung 5.7 miteinander verglichen.





**Abbildung 5.7:** XPS Detailspektren von TTIP\_S und TTIB\_S im Vergleich

Um elektrostatische Aufladungseffekte zu kompensieren, wurde der C(1s) Peak auf einen Wert von 285 eV gesetzt. Diese Verschiebung wurde für alle Spektren durchgeführt. Der vorhandene Kohlenstoff kann durch Oberflächenverunreinigungen mit Kohlenwasserstoffen oder durch unvollständige Umsetzung des Titanprecursors entstehen. Aus diesem Grund wurden 285 eV als Wert gewählt. Dieses Vorgehen wurde von Fakhouri et al. [153] postuliert, welche ebenfalls TTIP in einen APPJ der Firma Plasmatreat gesprüht haben.

Die Bindungsenergien des Ti(2p) Peaks, welcher sich in zwei Peaks aufspaltet, liegen bei 458,7 eV und 464,5 eV. Der Peak bei 458,7 eV kann Ti(2p<sub>3/2</sub>) zugewiesen werden und der bei 464,5 eV Ti(2p<sub>1/2</sub>). Diese Positionen lassen auf Ti-O Bindungen schließen. Das Spinorbitaldelta von 5,8 eV ist ein klarer Indikator für Ti<sup>4+</sup> gebunden an O<sup>2-</sup> und dadurch für Titandioxid. Die gemessenen Werten stimmen sehr gut mit den in der Literatur aufgeführten überein, siehe [152, 153, 154, 155, 156].

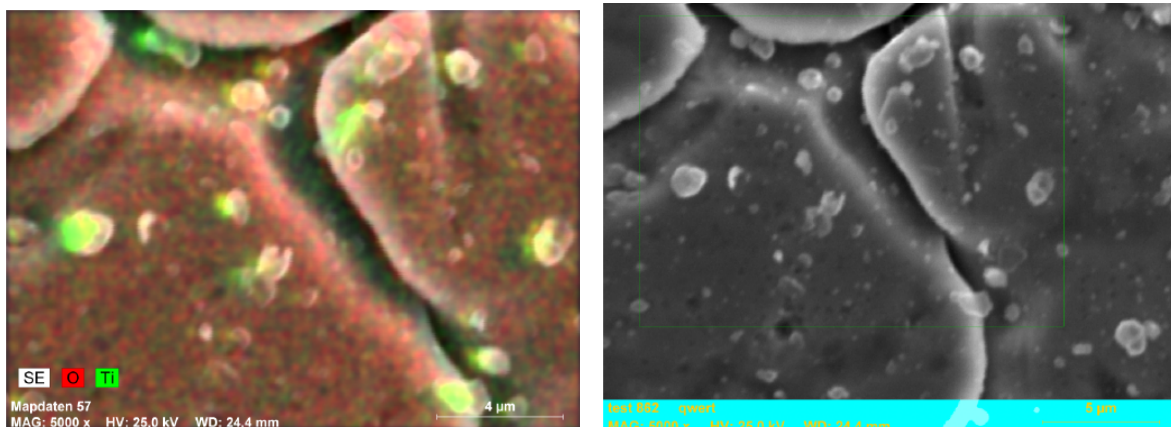
Der Sauerstoffpeak besitzt ein Maximum, welches bei 530 eV liegt und damit dem Sauerstoff des Titandioxids zuzuweisen ist. Durch die Breite des Peaks kann von einer Anwesenheit von Hydroxylgruppen und organischen Kontaminationen (C-O) auf der Oberfläche ausgegangen werden. [152, 154]

Stickstoff kann nicht nachgewiesen werden. Laut Literatur müsste dieser bei 400 eV auftreten [149, 153, 154].

Der Kohlenstoff Peak ist recht breit, was für viele verschiedene Spezies spricht. Kirsch et al. [138] deuten die vorhandenen Peaks bei 288,6 eV und 288,9 eV auf die Anwesenheit von Ti-O-C und Ti-OCO Gruppen. Dies ist auch in den vorliegenden Beschichtungen sehr wahrscheinlich.

Der Vergleich der Beschichtungen deutet darauf hin, dass sich bei den Beschichtungen aus TTIB eine dickere Beschichtung ablagert. Dies könnte auf die unterschiedlichen Reaktionsmechanismen von TTIB und TTIP zurückzuführen sein oder auf die unterschiedlichen Plasmaparameter. TTIP wird in ein hochenergetischeres Plasma eingebracht, was zu einer stärkeren Fragmentierung des Precursors führen kann. Diese kann die Schichtbildung verlangsamen. Jedoch kann es auch zu einem geringeren Kohlenstoffanteil führen, was häufig erwünscht ist.

Da das XPS nicht die Option bietet optisch zu bestimmen, an welcher Stelle gemessen wird, wurde mittels EDX nachgewiesen, dass es sich bei den Partikeln, welche sich auf den mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen ablagern, um Titandioxid handelt. Die zugehörigen REM Aufnahmen sind in Abbildung 5.8 dargestellt.



**Abbildung 5.8:** REM Aufnahmen der TTIB\_V Beschichtung und das dazugehörige EDX Mapping der Beschichtung

Links ist das abgerasterte und eingefärbte REM Bild gezeigt und rechts ist das Ausgangsbild und der gescannte Bereich dargestellt. Es wird exemplarisch nur TTIB\_V dargestellt, da sich TTIP\_V gleich verhalten hat. Die grüne Färbung steht hier für Titan und die rote Färbung für Sauerstoff. Die Partikel sind grün markiert, was darauf schließen lässt, dass diese zu einem Großteil aus Titan bestehen. Die XPS Auswertung hat ergeben, dass es sich um Titandioxid handelt. Jedoch deutet die Färbung des darunter liegenden Bulkmaterials darauf hin, dass eventuell neben den gut identifizierbaren Partikeln im  $\mu\text{m}$ -Bereich auch welche im Nanometerbereich vorhanden sind.

## 5.6 Biologische Charakterisierung der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Beschichtungen, welche im medizinischen Bereich eingesetzt werden, müssen auf ihre Zytotoxizität geprüft werden, um eine toxische Reaktion des Körpers auszuschließen. Des Weiteren ist die Reaktion der Zellen auf die Oberfläche zu testen, als Indikator für die Eignung des Implantates zur Anwendung im Körper.

### 5.6.1 Untersuchung der Zytotoxizität

Die Beschichtungen dürfen nur im Körper verwendet werden, wenn diese keine Zytotoxizität aufweisen. Zur Überprüfung wurden daher CCK-8 Tests nach DIN EN ISO 10993-5 angefertigt. Die Ergebnisse für die TTIP Beschichtungen sind in Abbildung 5.9 und die Ergebnisse für die TTIB Beschichtungen in Abbildung 5.10 dargestellt.

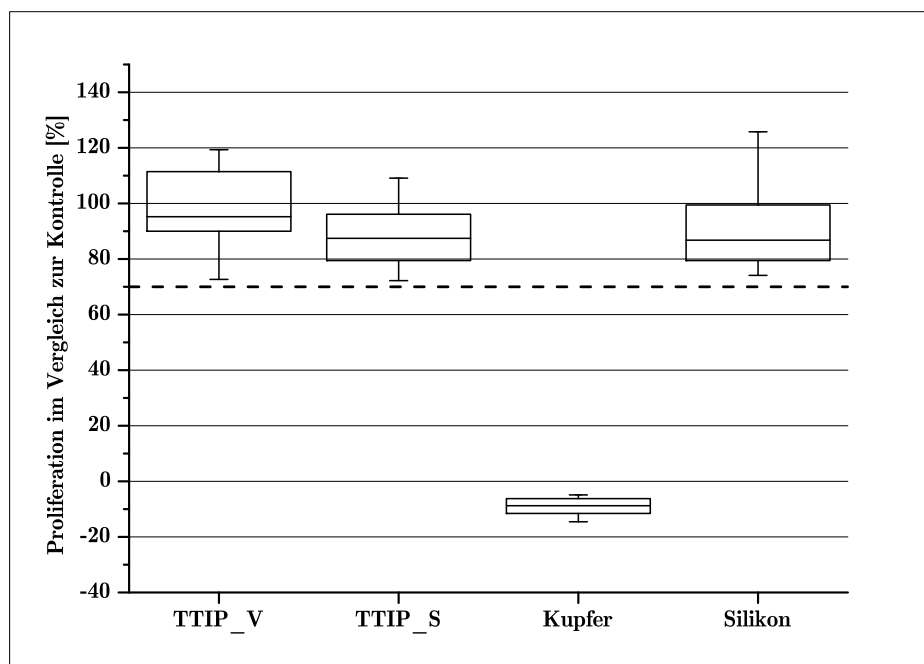
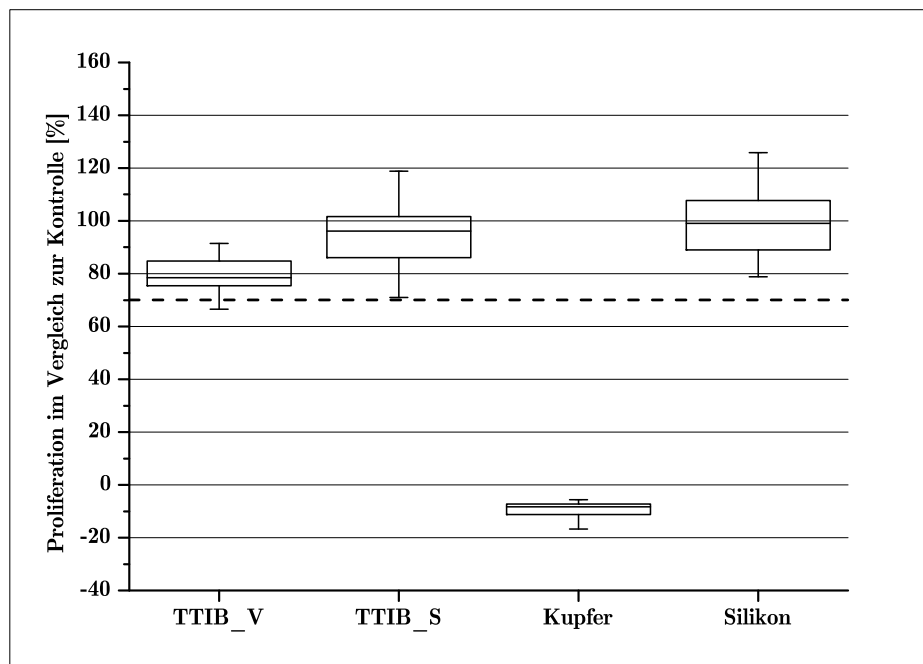


Abbildung 5.9: Ermittlung der Zytotoxizität von TTIP\_V und TTIP\_S mittels CCK-8 Test,  $i=3$ ,  $n=5$



**Abbildung 5.10:** Ermittlung der Zytotoxizität von TTIB\_V und TTIB\_S mittels CCK-8 Test,  $i=3$ ,  $n=5$

Alle vier Beschichtungen liegen oberhalb der Zytotoxizitätsgrenze und sind daher als nicht zytotoxisch nach 72 Stunden Einlagerung einzustufen. Kupfer wurde als positiv und Silikon als negativ Kontrolle mitgeführt.

Die TTIB\_V Beschichtung weist kleine Ausreißer unterhalb der Zytotoxizitätsgrenze auf. Diese sind vermutlich auf eine nicht ausreichende Reinigung der Probe vor dem Beschichten zurückzuführen. Die Proben werden vor dem Beschichten mit  $\text{HNO}_3$  geätzt, dessen Rückstände ein zytotoxisches Verhalten initiieren können.

Da die beschichteten Implantate in der Regel länger als 72 Stunden im Körper verbleiben, wurden Einlagerungsversuche mit anschließenden CCK-8 Tests für 7, 14 und 30 Tage angefertigt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.11 für TTIP und in Abbildung 5.12 zusammengefasst.

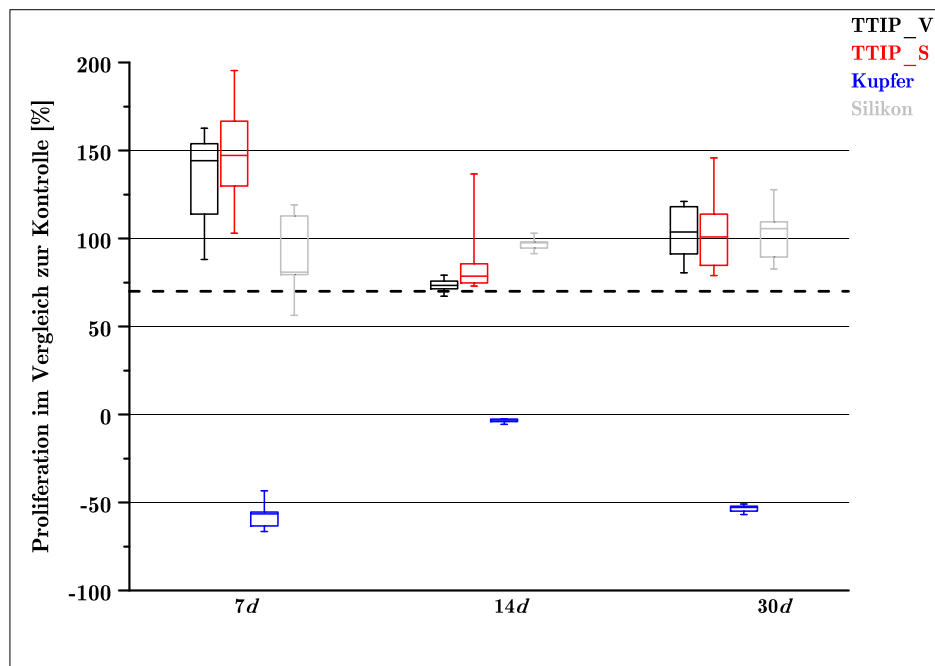


Abbildung 5.11: CCK-8 Test der Eluate der TTIP\_V und TTIP\_S Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM,  $i=3$ ,  $n=5$

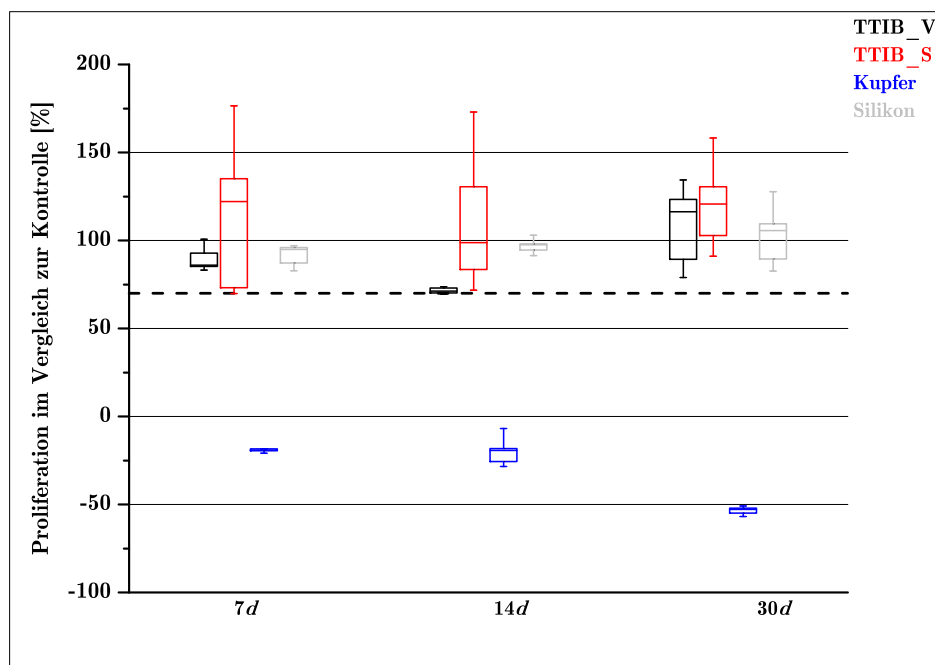


Abbildung 5.12: CCK-8 Test der Eluate der TTIB\_V und TTIB\_S Beschichtungen nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung in DMEM,  $i=3$ ,  $n=5$

Alle Beschichtungen zeigen zu keinem Zeitpunkt ein zytotoxisches Verhalten. Jedoch sind sowohl bei den TTIB wie auch den TTIP Sprühbeschichtungen große Schwankungen zu erkennen. Ein Grund hierfür könnte das Ablösen der Beschichtungen sein. Die Beschichtungen sind relativ dick und wirken pulvrig, was ein Herauslösen bzw. Ablösen begünstigt. Durch diese gelösten Rückstände können zum einen die photometrischen Messungen zur Bestimmung der Zellproliferation verfälscht werden. Zum Anderen können die Partikel einen Einfluss direkt auf die Zellen haben und dadurch deren Verhalten beeinflussen.

Zusammenfassend zeigen jedoch alle CCK-8 Tests für TTIB und TTIP, dass diese nicht zytotoxisch sind und daher Potenzial für den Einsatz im Körper besitzen.

### 5.6.2 Evaluierung des Anwachsverhaltens von Zellen auf den TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Die erzeugten TiO<sub>2</sub> Beschichtungen sind als antibakterielle Komponente auf Implantaten gedacht. Da die Implantate jedoch für Knochenersatz bzw. -reparatur angewandt werden sollen, ist neben der antibakteriellen Eigenschaft die Integration in den Körper essenziell. Um eine erste Einschätzung dieser zu erhalten, wurden die TiO<sub>2</sub> Beschichtungen mit Hs27 Zellen besiedelt. Die Ergebnisse der REM Untersuchungen sind in Abbildung 5.13 dargestellt.

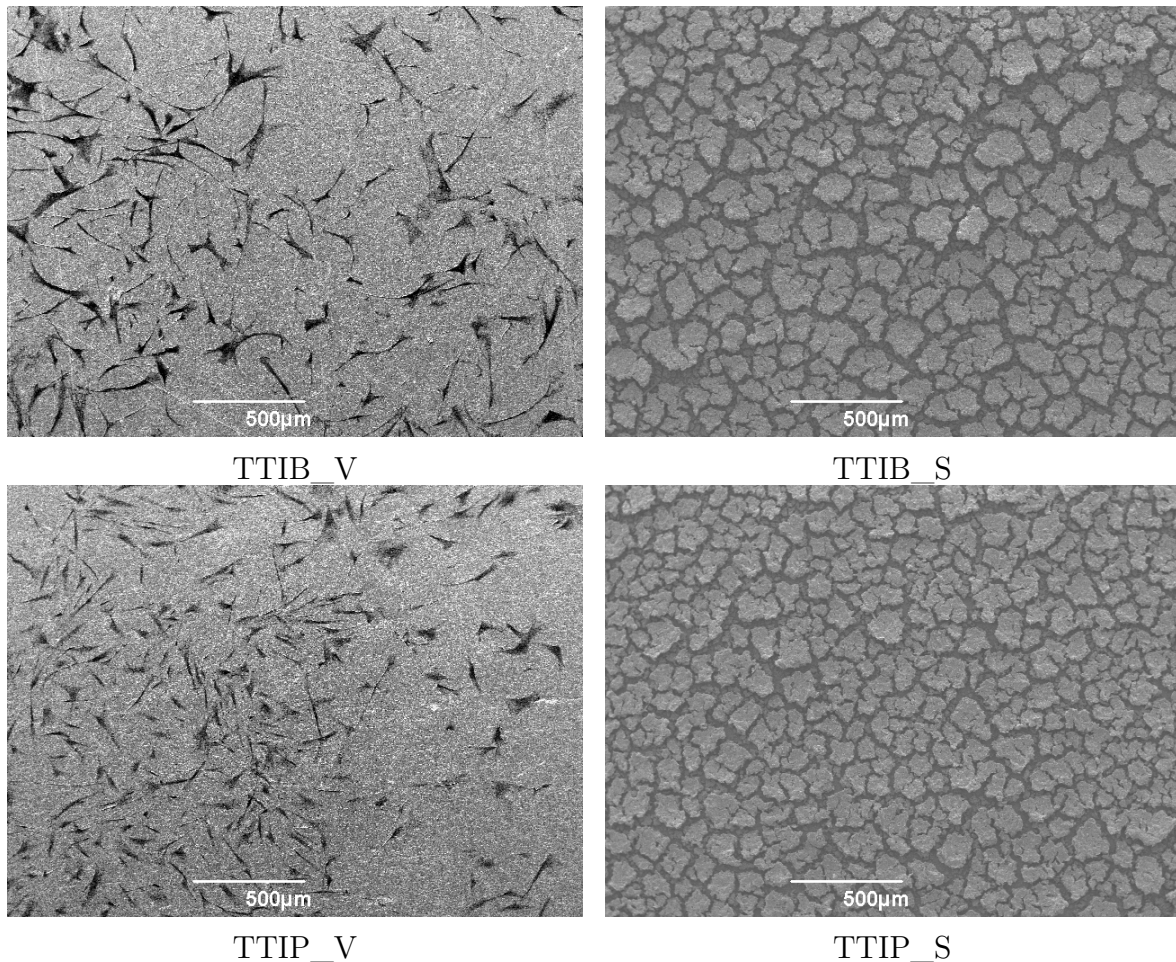
Auf den Sprühbeschichtungen sind keine Zellen zu erkennen. Hierfür gibt es zwei mögliche Erklärungen. Zum einen kann die Oberfläche für Zellen unattraktiv sein und daher findet keine Anlagerung statt. Zum anderen könnte aber auch durch das Trocknen und die zugehörigen Waschschrte, zur Fixierung der Zellen, diese von der Oberfläche abgelöst sein worden. Die Oberfläche ist pulvrig, was diese Theorie stützt.

Die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen hingegen zeigen eine gute Zelladhäsion. Die Fibroblasten spreiten, was für eine zellkompatible Beschichtung spricht.

Da die Beschichtungen jedoch für Knochenimplantate verwendet werden sollen, wurde zusätzlich die Aktivität von Saos-2 Zellen auf der Oberfläche mittels CCK-8 Test bestimmt ( $n=3$ ,  $i=5$ ). Für TTIB\_V ergibt sich ein Wert von  $59,17\% \pm 11,13\%$  und für TTIP\_V  $61,41\% \pm 7,72\%$ . Die Werte weisen hohe Standardabweichungen auf, liegen jedoch im selben Bereich. Die hohen Standardabweichungen können durch ungleichmäßige Beschichtungen, unterschiedliche Passagen sowie Ungenauigkeiten bei der Versuchsdurchführung entstehen. Die Ergebnisse zeigen, dass bei den mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen die Proliferation auf TTIP und TTIB nahezu identisch ist.

Im Falle der Sprühbeschichtungen zeigt TTIB\_S eine Zellproliferation von  $68,29\% \pm 9,98\%$  und TTIP\_S eine von  $44,32\% \pm 8,05\%$  auf. Die Unterschiede hierbei sind deutlich größer zwischen TTIB und TTIP. Ein Grund hierfür könnte, wie zuvor erwähnt, das eventuelle Ablösen der Beschichtung sein.

Blanker Edelstahl weist eine Proliferation von 70,72 % ± 7,60 % auf. Daher liegt es nahe, dass im Falle von TTIB\_S sich die Schicht abgelöst hat. Die schlechtere Zellproliferation der gesprühten Beschichtungen konnte ebenfalls für Fibroblasten, mittels REM Aufnahmen, siehe Abbildung 5.13, gezeigt werden.



**Abbildung 5.13:** REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Hs27 Zellen auf TTIB\_V, TTIB\_S, TTIP\_V und TTIP\_S

Anhand der Proliferationsergebnisse für die Sprühbeschichtungen ist davon auszugehen, dass sich zwar Saos-2 Zellen anlagern, diese jedoch keine gute Haftung ausbilden und die Beschichtungen sich in Kontakt mit Medium lösen.

## 5.7 Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Die mittels Plasma generierten Beschichtungen wurden als antibakterielle Komponenten für Implantatbeschichtungen erzeugt. Der antibakterielle Effekt lässt sich im Falle von Titandioxid auf die photokatalytische Aktivität zurückführen. Diese kann mittels

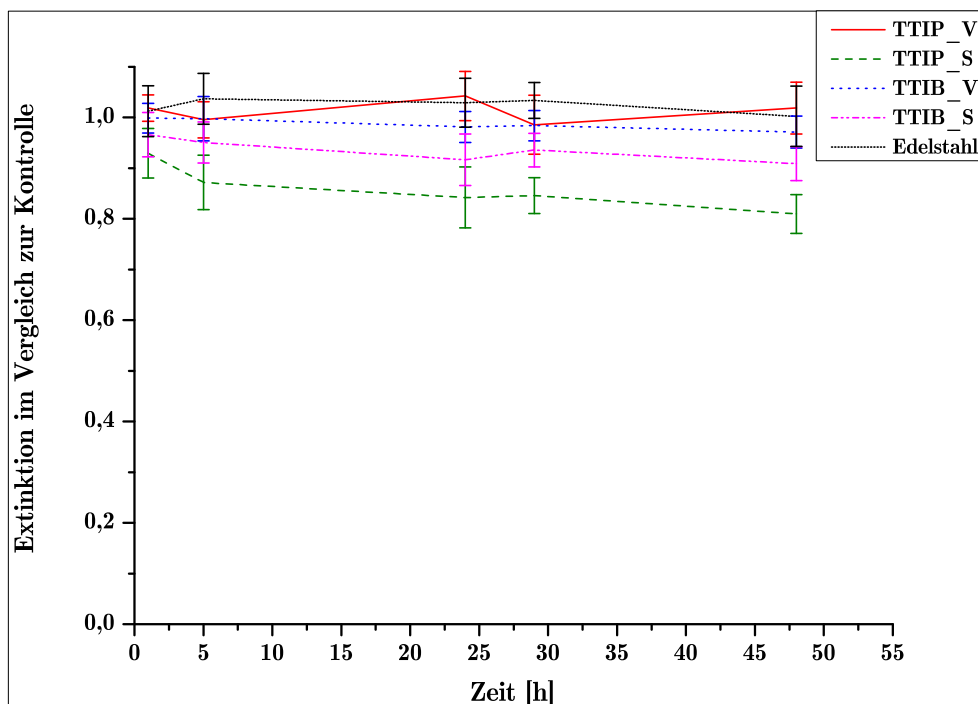
Degradation von Farbstoffen überprüft werden. Die tatsächliche antibakterielle Wirkung wird mittels Testkeimen, in diesem Fall *Escherichia coli* (*E.coli*) bestimmt.

### 5.7.1 Zersetzungsversuche mit Rhodamin B auf den TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Als Testfarbstoff, zur Ermittlung des photokatalytischen Effektes, wurde Rhodamin B verwendet. Dieser besitzt, im Vergleich zum häufig verwendeten Metylenblau, eine bessere Beständigkeit gegenüber UV-Licht.

Titandioxid besitzt aufgrund der Bandlücke eine Aktivität im UV Bereich. Um dies nachzuweisen wurden Versuche im dunklen und bei Bestrahlung mittels UV-Licht durchgeführt.

Die Ergebnisse der Aktivität im Dunkeln sind in Abbildung 5.14 dargestellt.



**Abbildung 5.14:** Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B im Dunkeln im Bezug auf die Kontrolle,  $n=2$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

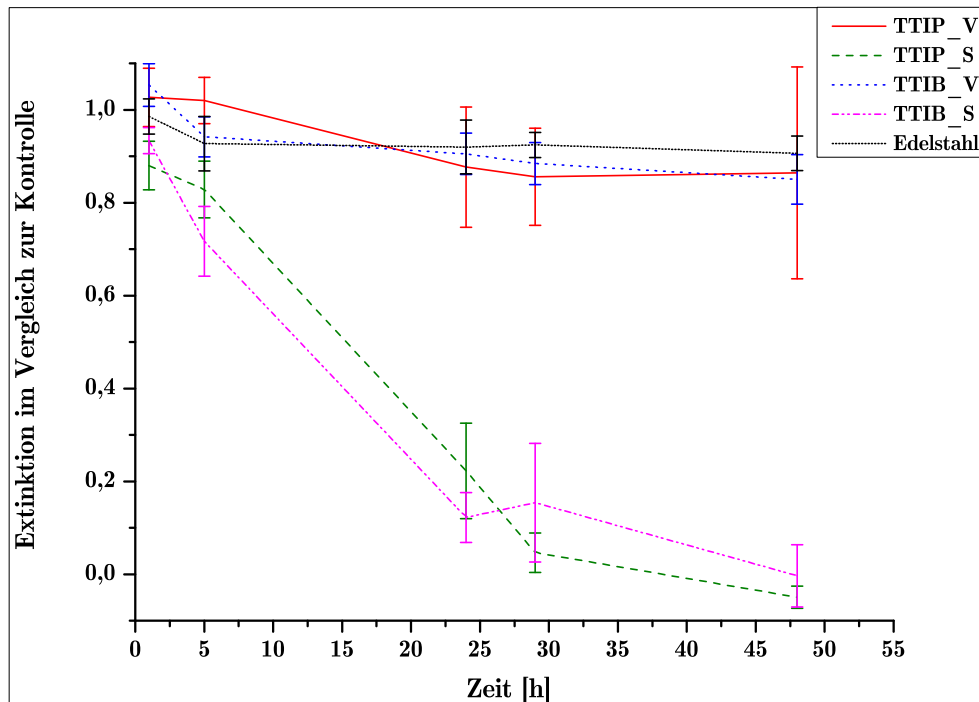
Als Kontrolle wird Rhodamin B in einem Well mitgeführt. Der Versuch wurde zweimal wiederholt ( $n=2$ ) mit jeweils drei Proben ( $i=3$ ) und zu jedem Zeitpunkt wurden drei Proben der Lösung entnommen, um die Extinktion zu bestimmen ( $j=3$ ).

Edelstahl und TTIP\_V zeigen in der Abwesenheit von Licht keinerlei Aktivität. Die Aktivität von TTIB\_V ist ebenfalls kaum vorhanden. Nur die Sprühbeschichtungen zeigen eine Änderung der Extinktion.



Die Aktivität von TTIP\_S ist im Vergleich zu TTIB\_S deutlich höher. TTIP\_S reduziert nach 48 Stunden Lagerung die Färbung der Lösung um ca 20%. Ein Grund hierfür könnte die vorherige Plasmabehandlung sein. Die Proben wurden direkt nach der Abscheidung in Rhodamin B gegeben. Das Plasma kann Titandioxid aktivieren, sodass es photokatalytisch aktiv ist [150].

Die tatsächliche photokatalytische Aktivität wird durch Bestrahlung mittels UV-Licht bestimmt, siehe Abbildung 5.15.

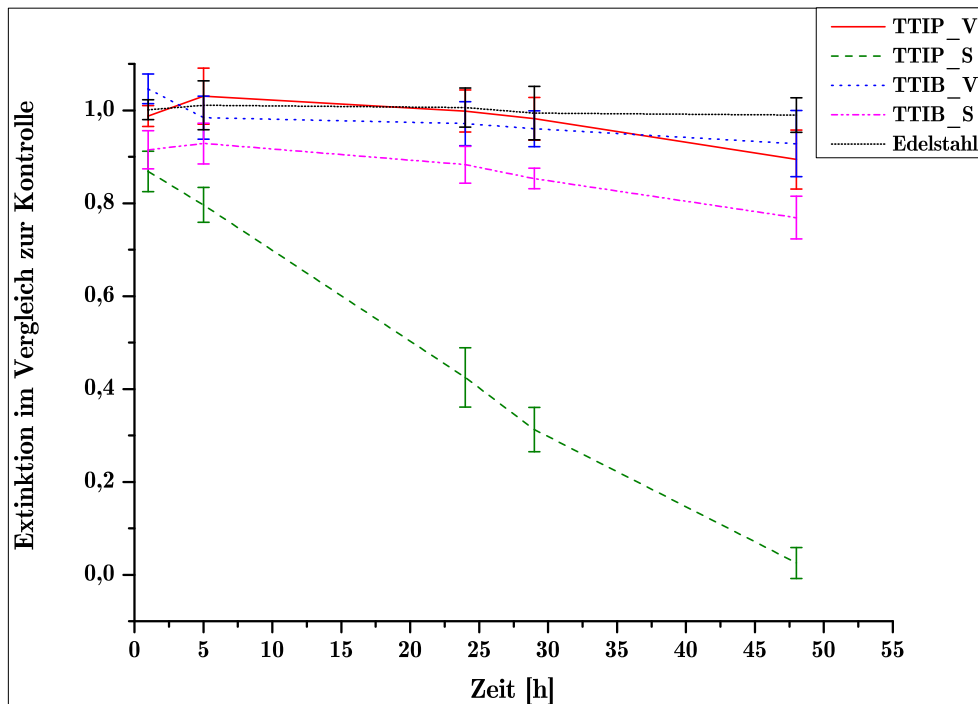


**Abbildung 5.15:** Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B unter UV-Licht im Bezug auf die Kontrolle,  $n=2$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

Auch hier zeigen die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen eine sehr geringe Aktivität. Sie verhalten sich ähnlich zum Edelstahl. Jedoch sind die Standardabweichungen der TTIP\_V Beschichtung so hoch, dass davon ausgegangen werden kann, dass die Beschichtungen recht inhomogen waren und einige eine höhere Aktivität aufgezeigt haben. Die geringe Aktivität kann auch auf die nur vereinzelt vorhandenen Partikel zurückgeführt werden, da dickere Beschichtungen eine deutlich höhere Aktivität aufweisen. Eventuell war die Lösung zu stark mit Rhodamin B eingefärbt, sodass die Aktivität nicht gezeigt werden konnte, jedoch vorhanden ist. Darauf deuten die sehr geringen Kontaktwinkel hin, siehe Abbildung 5.3.

Die TTIB\_S und die TTIP\_S Beschichtungen zeigen eine vollständige Entfärbung der Lösung nach 48 Stunden auf. Die photokatalytische Aktivität ist für beide sehr hoch und aufgrund der hohen Standardabweichungen kann keine Beschichtung besser als die andere eingestuft werden.

Neben der Aktivität im UV-Licht berichten zum Beispiel Fakhouri et al. [153] das mittels Plasma generierte Titandioxidschichten auch im sichtbaren Bereich Aktivitäten aufweisen. Jedoch wurden die Beschichtungen thermisch nachbehandelt. Ob diese Aktivität auch bei den hier erzeugten Beschichtungen und ohne Nachbehandlung vorhanden ist, wurde durch Bestrahlung mittels sichtbarem Licht überprüft, siehe Abbildung 5.16.



**Abbildung 5.16:** Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B unter sichtbarem Licht im Bezug auf die Kontrolle,  $n=2$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

Die Bestrahlung mit sichtbarem Licht löst eine sehr leichte Aktivität in den mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen, TTIB\_V und TTIP\_V, aus. TTIB\_S zeigt eine deutlich stärkere Aktivität. Der größte Effekt kann jedoch bei der TTIP\_S Beschichtung erkannt werden. Die Lösung ist nach 48 Stunden Bestrahlung vollständig entfärbt. Dieses Ergebnis ist unerwartet, da im allgemeinen Anatas als photokatalytisch aktiver gilt und dieses in der TTIB Schicht und nicht in der TTIP Schicht vorhanden ist, siehe Abbildung 5.5. Des Weiteren weißt die TTIP Schicht weniger Titandioxid auf, siehe Abbildung 5.7, was ebenfalls den Effekt mindern sollte. Eine mögliche Erklärung ist, dass sich an der TTIP Oberfläche mehr reaktive Hydroxylgruppen befinden, welche die Aktivität steigern. Hierfür sprechen die gemessenen Kontaktwinkel.

Der Grund für die photokatalytische Aktivität der Beschichtung ist vermutlich eine Dotierung. Chappuis et al. [143], Fakhouri et al. [153] und Chen et al. [149] führen diesen Effekt auf die Anwesenheit von Stickstoff in der Beschichtung zurück. Der Stickstoff reduziert die zu überwindende Bandlücke, sodass Licht im Bereich der

sichtbaren Wellenlängen ausreicht, um eine Aktivität zu bewirken [143]. Jedoch weisen die gemessenen XPS Spektren kein Stickstoff auf und es wurde auch nicht, wie bei den anderen Gruppen, Stickstoff als Trägergas verwendet, sondern Luft. Es könnte sein, dass Stickstoff trotzdem vorhanden ist und nur unterhalb der Nachweisgrenze liegt, jedoch ist es unwahrscheinlich, dass dieser ausschließlich die Dotierung bewirkt.

Eine Möglichkeit ist, dass die Dotierung auf Kohlenstoff zurückzuführen ist. Es wird berichtet, dass die Aktivität im sichtbaren Bereich in diesem Fall aufgrund der vorhandenen Kohlenstoffspezies auftritt. Diese Theorie wird nicht überall vertreten und andere schreiben den entstandenen Sauerstoffleerstellen die treibende Kraft zu. [138]

### 5.7.2 Mikrobiologische Versuche mit *E.coli* auf den TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Der photokatalytische Effekt kann mittels Farbzersetzung nachgewiesen werden, um jedoch die antibakterielle Wirksamkeit zu bestimmen müssen Versuche mit Testbakterien durchgeführt werden. In diesem Fall wurde sich für *E.coli* entschieden. Die Ergebnisse der Reduktion von *E.coli* auf den TiO<sub>2</sub> Beschichtungen unter UV-Licht sind in Abbildung 5.17 dargestellt.

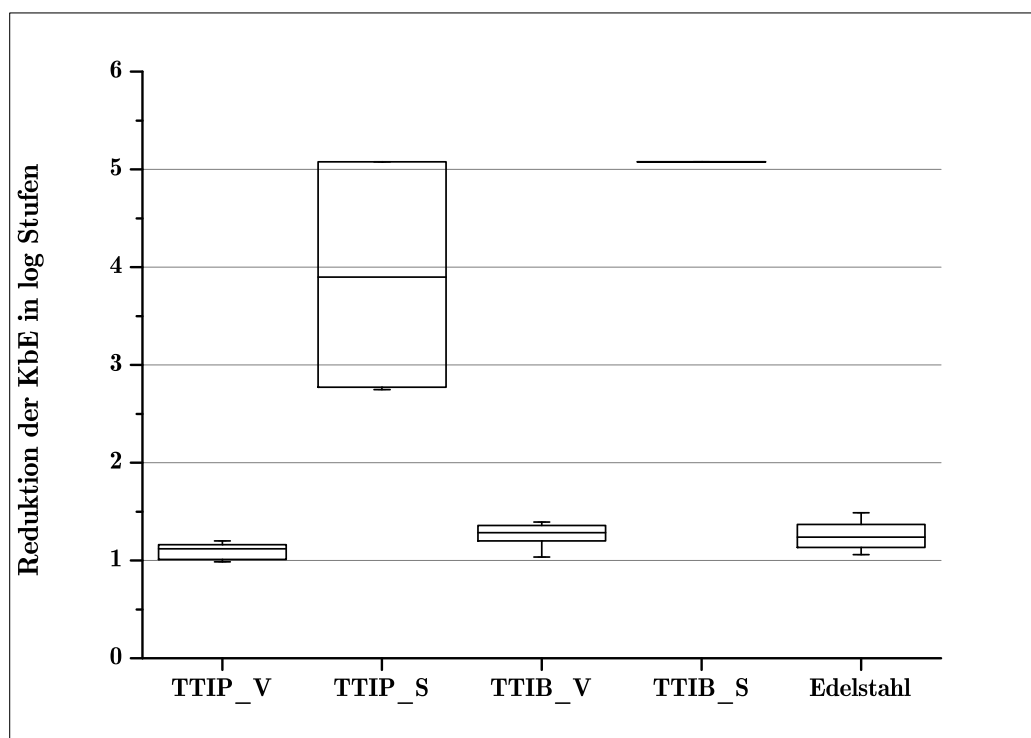


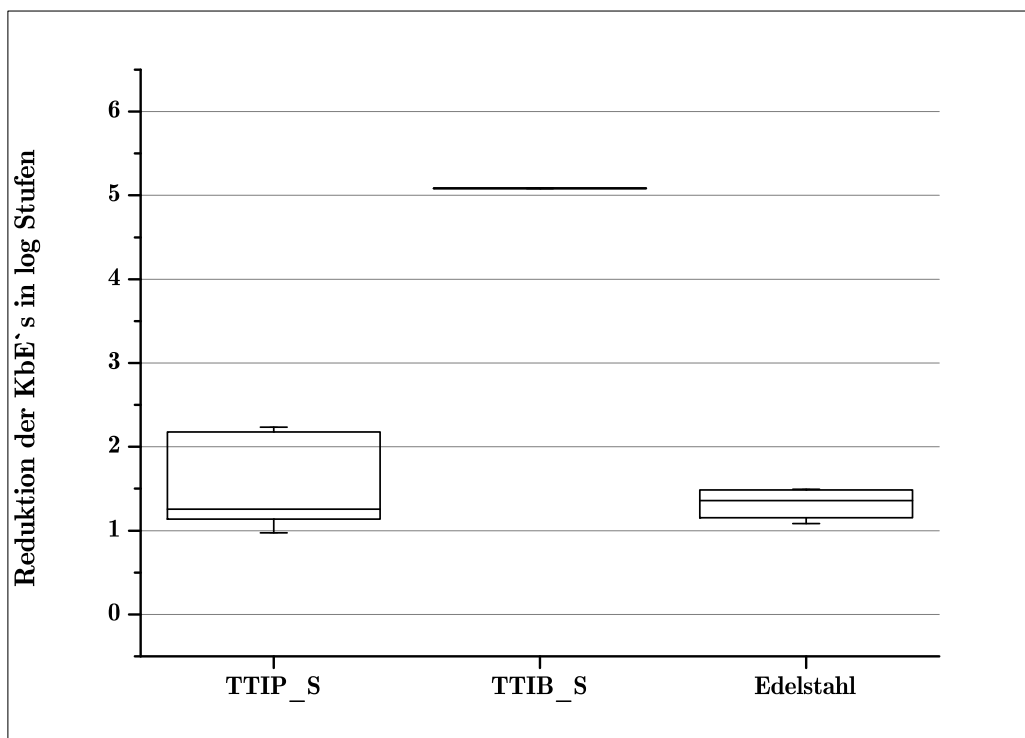
Abbildung 5.17: Reduktion von *E.coli* auf TiO<sub>2</sub> Beschichtungen unter UV Bestrahlung,  $n=6$

Auch hier zeigen die mittels Verdampfer aufgebrauchten Beschichtungen unter UV Bestrahlung keine bzw. dieselbe antibakterielle Effektivität wie unbeschichteter Edelstahl. Der Grund hierfür liegt vermutlich an der sehr dünnen Beschichtung. Die Bakterien müssen direkt mit Titandioxid in Kontakt kommen, um eine Reduktion zu erzielen.

Die Sprühbeschichtungen hingegen sind sowohl photokatalytisch wie auch antibakteriell aktiv. TTIB\_S wird mit einer Reduktion von 5 dargestellt. Dies entspricht jedoch nicht dem tatsächlichen Wert, da auf den Agarplatten keine koloniebildenden Einheiten gezählt werden konnten. Daher kann kein tatsächlicher Wert angegeben werden. Jedoch zeigt das Ergebnis, dass TTIB\_S über die größte antibakterielle Wirkung verfügt.

Im Falle von TTIP\_S ist die Streuung größer als bei TTIB\_S. Eine Reduktion um ca. drei log Stufen tritt mindestens auf. Die Streuung ist vermutlich auf Inhomogenitäten in der Beschichtung zurückzuführen.

Da die Beschichtungen unter sichtbarem Licht photokatalytisch aktiv sind, wurde auch für diesen Fall die antibakterielle Eigenschaft bestimmt. Die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen haben auch hier keinen Effekt gezeigt, aus diesem Grund wurden die Ergebnisse hierzu nicht dargestellt. Die antibakteriellen Eigenschaften der Sprühbeschichtungen unter Bestrahlung mittels sichtbarem Licht sind in Abbildung 5.18 aufgezeigt.



**Abbildung 5.18:** Reduktion von *E.coli* auf TiO<sub>2</sub> Beschichtungen unter Bestrahlung mittels sichtbarem Licht,  $n=6$

Auch hier zeigt TTIB\_S die größere Wirkung und es konnten keine kbE's mehr auf den Agarplatten detektiert werden. Die TTIP\_S Beschichtungen hingegen zeigen eine maximale Reduktion von 2,2 log Stufen.

Die Ergebnisse sind unerwartet, da die TTIP\_S Beschichtung einen deutlich stärkeren photokatalytischen Effekt aufweisen als die TTIB\_S Beschichtungen. Hajkova et al. [157] erklären die unterschiedlichen Verhalten bezüglich photokatalytischer Aktivität und antibakteriellem Effekt durch verschiedene Abbaumechanismen. Rhodamin B ist ein Farbstoff mit Ionen, dessen Zersetzung hauptsächlich durch die Anwesenheit von OH Radikalen dominiert wird. Bakterien hingegen sind lebendige Organismen, deren Reduktion deutlich komplexer ist. Hier ist sowohl die Zersetzung der Zellwand wie auch die der Zellmembran des Zytoplasmas vermutlich auf reaktive Sauerstoffspezies, wie Hydroxylradikale oder Wasserstoffperoxid, zurückzuführen. Diese führen dann zu einem Auslaufen der Zellbestandteile, einer Zellyse und eventuell einer vollständigen Mineralisation des Organismus. Der Effekt ist am stärksten, wenn ein enger Kontakt zwischen Organismus und TiO<sub>2</sub> besteht. [144]

Daher bestimmt nicht nur die Aktivität, sondern auch die Adsorptionseigenschaft der Oberfläche die antibakterielle Wirkung. Die Versuche haben gezeigt, dass die gesprühten Beschichtungen einen antibakteriellen Effekt im sichtbaren, sowie im UV Bereich aufweisen und daher als antibakterielle Beschichtungen vielversprechend sind.

## 5.8 Beständigkeitsuntersuchungen der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

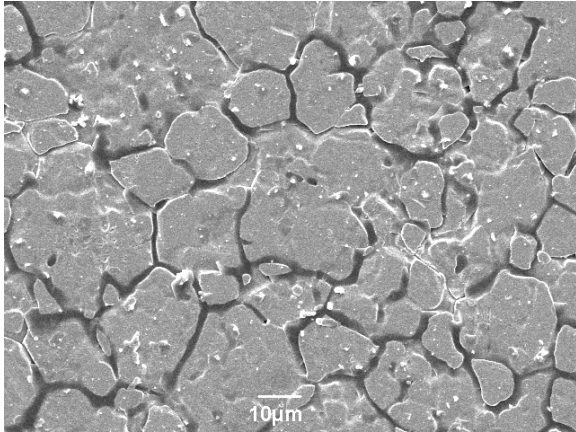
Um die Beständigkeit der Beschichtungen gegenüber Körperflüssigkeiten zu testen, wurden die Proben für sieben, 14 und 30 Tage in SBF eingelagert. Die gesprühten Beschichtungen haben sich bereits nach sieben Tagen vollständig vom Edelstahl gelöst, weshalb diese nicht dargestellt sind. Die REM Aufnahmen der Beschichtungen mittels Verdampfer sind in Abbildung 5.19 ersichtlich.

Die Aufnahmen zeigen, dass nach 30 Tagen Einlagerung in beiden Fällen noch die charakteristischen weißen Partikel zu erkennen sind, welche durch die Beschichtung entstehen. Daher kann optisch davon ausgegangen werden, dass sich bei den mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen nichts gelöst hat und diese beständig in SBF sind. Die Beständigkeit von TiO<sub>2</sub> wird auch in der Literatur beschrieben [143].

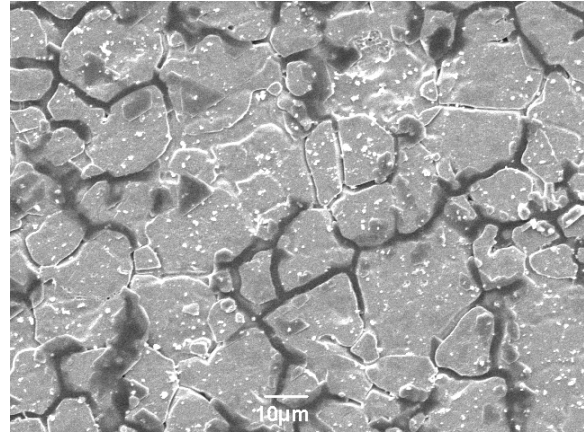
Im Falle von TTIB\_V sind nach sieben Tagen dunklere Stellen in den Korngrenzen zu erkennen. Diese lassen auf Anlagerungen aus dem SBF schließen. Nach 14 Tagen sind zusätzlich auch größere kristallartige Partikel an den Korngrenzen erkennbar. Nach 30 Tagen sind diese kristallartigen Partikel verschwunden, jedoch sind nun auch dunklere Schatten auf den Edelstahlkörnern zu erkennen, was für eine Schichtbildung spricht.

Bei der Einlagerung von TTIP\_V sind nach sieben Tagen ebenfalls Anlagerungen, in Form von dunklen Stellen, bevorzugt an den Korngrenzen, sichtbar. Die REM

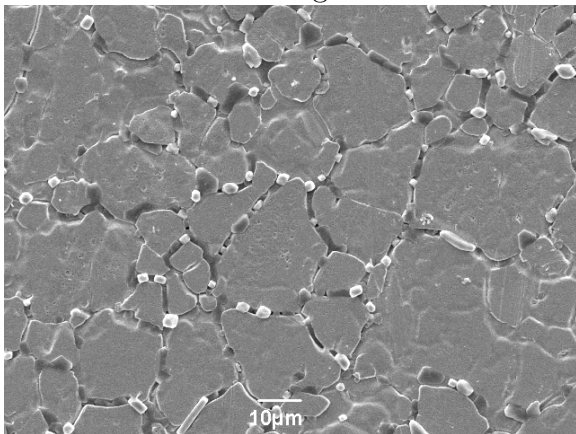
Aufnahmen nach 14 Tagen Einlagerung weisen ebenfalls kristallartige Partikel auf, wie bei TTIB\_V. Nach 30 Tagen sind große Ablagerungen zu erkennen, welche eine dicke und deckende Schicht auf der Oberfläche ausbilden.



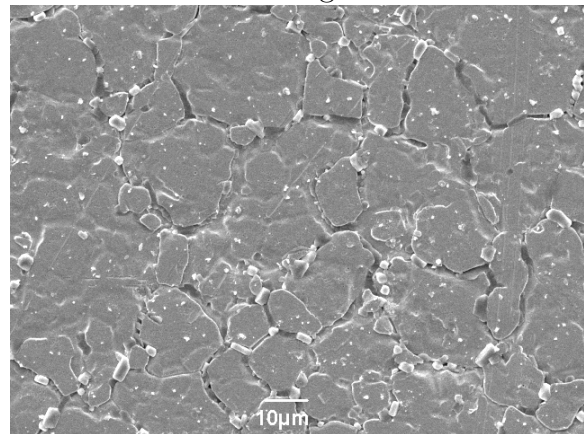
7 d Einlagerung der TTIB\_V  
Beschichtung in SBF



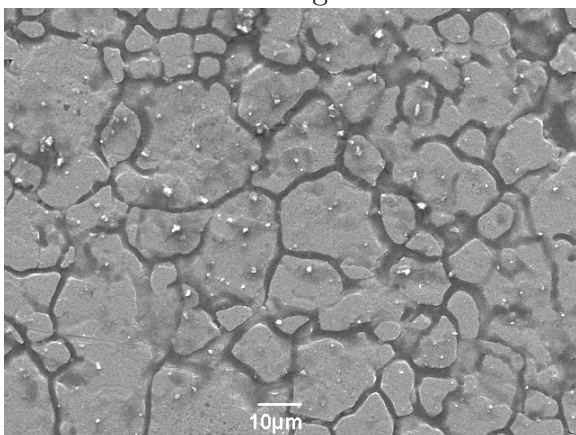
7 d Einlagerung der TTIP\_V  
Beschichtung in SBF



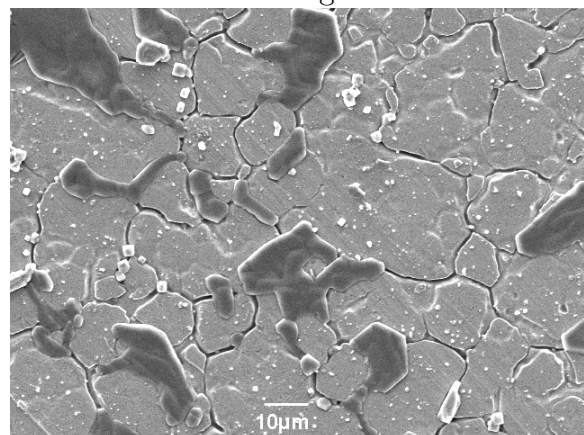
14 d Einlagerung der TTIB\_V  
Beschichtung in SBF



14 d Einlagerung der TTIP\_V  
Beschichtung in SBF



30 d Einlagerung der TTIB\_V  
Beschichtung in SBF

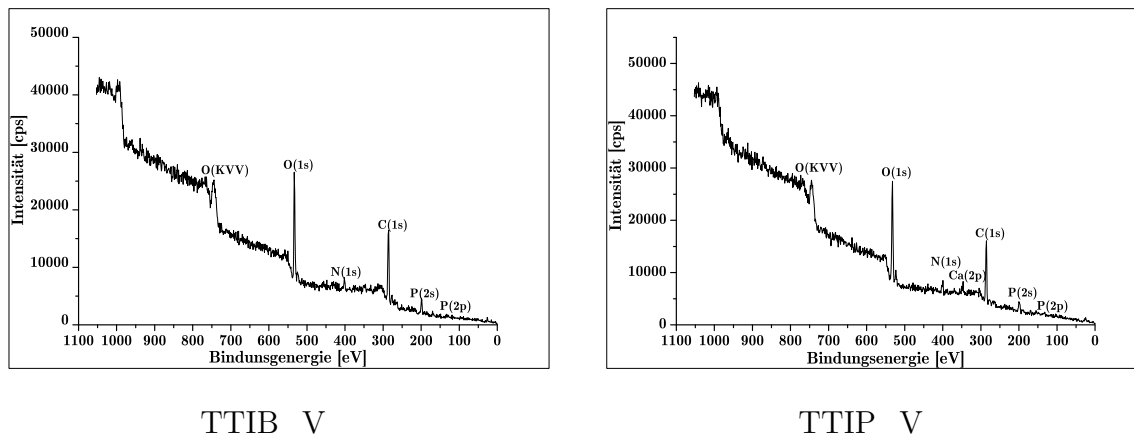


30 d Einlagerung der TTIP\_V  
Beschichtung in SBF

**Abbildung 5.19:** REM Aufnahmen der in SBF eingelagerten TTIB\_V und TTIP\_V Beschichtungen zu verschiedenen Zeitpunkten

Die chemische Zusammensetzung der Anlagerungen wurde mittels XPS Messungen bestimmt, siehe Abbildung 5.20.

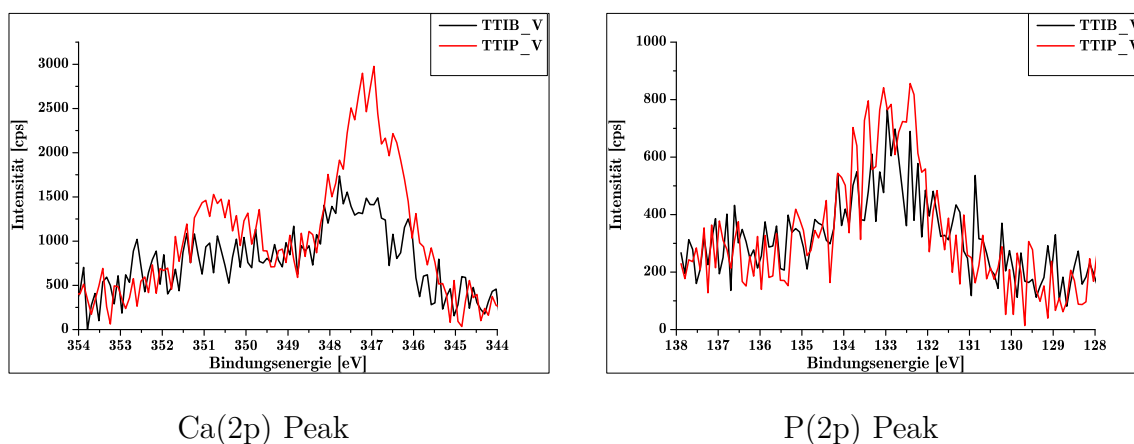
Die Übersichtsspektren zeigen, neben den vor der Einlagerung vermessenen O(KVV), C(1s) und O(1s) Peaks, nach der Einlagerung des weiteren N(1s), Ca(2p), P(2s) und P(2p) Peaks auf. Der Titandioxid Peak (doppel Peak bei 458,7 eV und 464,5 eV) kann nur bei sehr hohen Scanzahlen erkannt werden und ist daher im Übersichtsspektrum nicht ersichtlich.



**Abbildung 5.20:** XPS Aufnahme der TTIB\_V und TTIP\_V Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

Die neu auftretenden Peaks können auf Anlagerungen aus dem SBF zurückgeführt werden. Es ist bekannt, dass sich an knochenkompatible Implantate Kalziumphosphate anlagern, falls diese mit SBF in Kontakt kommen [108].

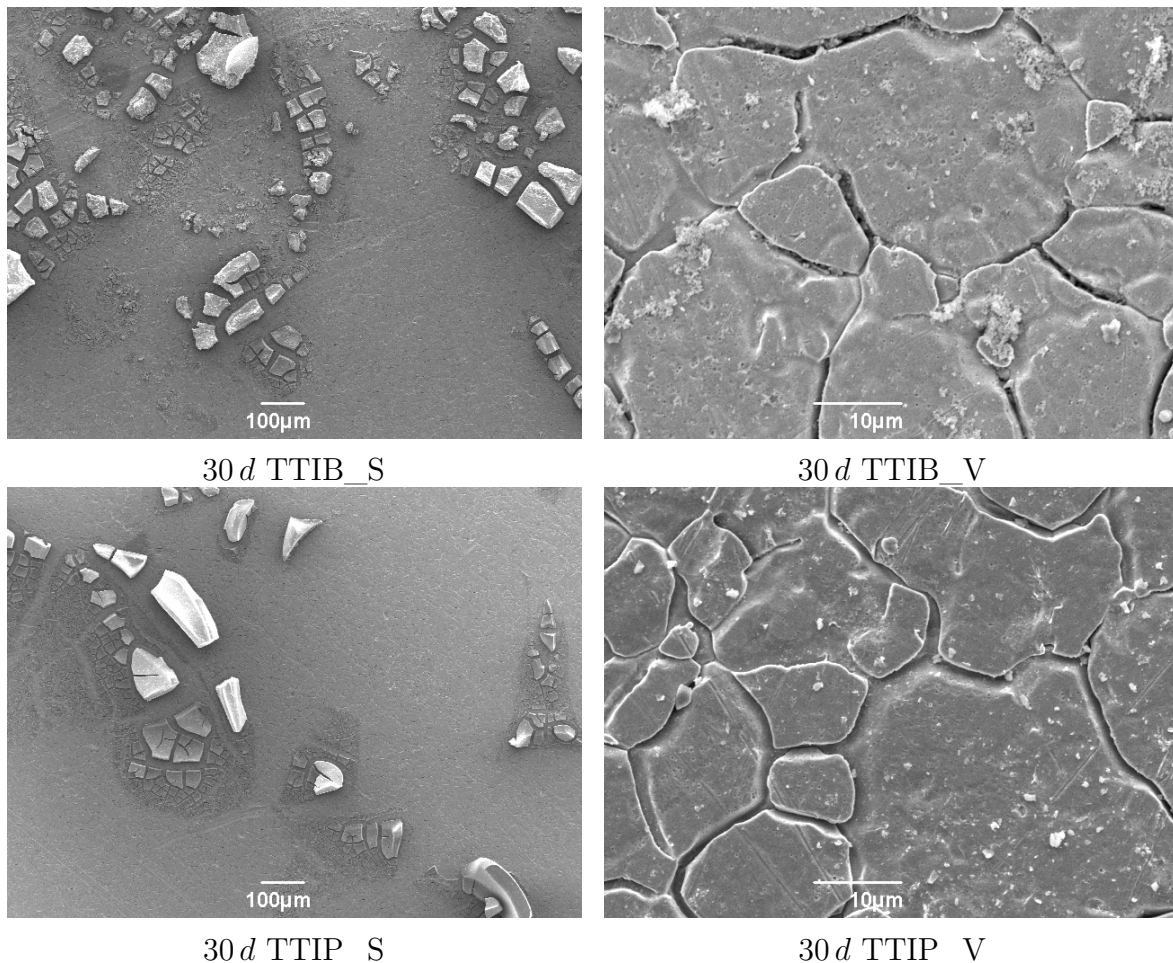
Der Vergleich, der Ca(2p) und P(2p) Peaks zeigt, dass sich deutlich mehr Kalzium bei der TTIP\_V Beschichtung als bei der TTIB\_V Beschichtung ablagert, siehe Abbildung 5.21. Der Phosphorgehalt ist auf beiden Beschichtungen identisch.



**Abbildung 5.21:** Vergleich der XPS Aufnahmen von TTIP\_V und TTIB\_V nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der Einlagerung von TTIP\_V und TTIB\_V in SBF eine Anlagerung von Kalziumphosphat, was auf eine bioaktive Oberfläche schließen lässt [143].

Da Oberflächen, welche im medizinischen Bereich eingesetzt werden, desinfiziert werden müssen, wurde die Beständigkeit der Titandioxidbeschichtung gegenüber 70%igem Isopropanol getestet. Die Proben wurden für sieben, 14 und 30 Tage in 70%igem Isopropanol eingelagert. In Abbildung 5.22 sind die REM Aufnahmen der für 30 Tage eingelagerten Proben dargestellt.



**Abbildung 5.22:** REM Aufnahmen der  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen für 30 Tage in 70%igem Isopropanol

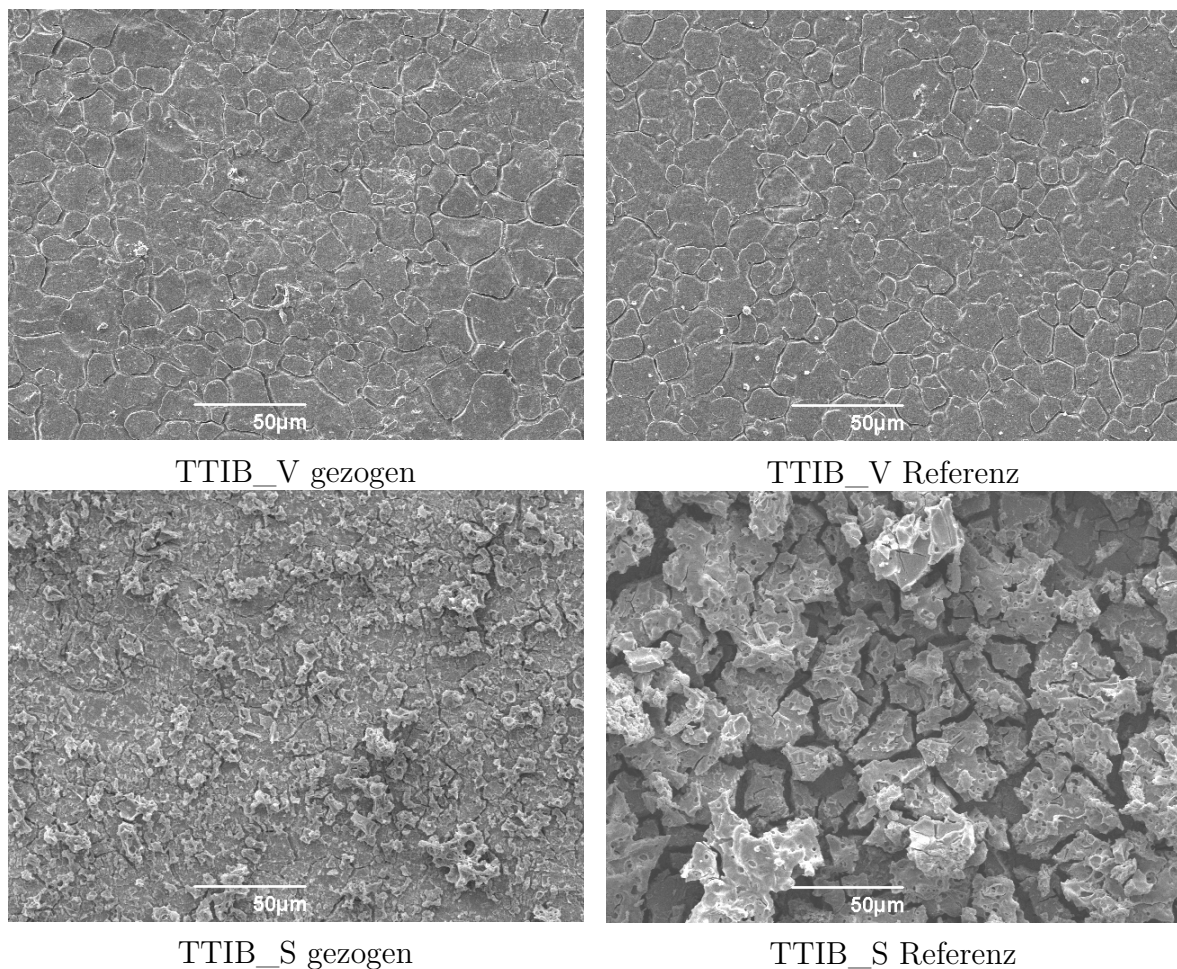
Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass die Sprühschichten nicht beständig gegen Isopropanol sind. Dieses Verhalten konnte sowohl nach sieben, wie auch 14 Tagen beobachtet werden. Die pulverigen Sprühbeschichtungen zeigen in allen Einlagerungsversuchen nur eine unzureichende Haftung zur Oberfläche. Daher sind diese ohne weitere Modifikation oder Prozessoptimierung nicht für den Einsatz mit flüssigen Medien geeignet. Die Beschichtungen mittels Verdampfer hingegen zeigen, auch nach Einlagerung in Isopropanol, die weißen Partikel auf der Oberfläche, welche Titandioxid zugewiesen



werden konnten. Diese sind also beständig und können mittels Isopropanol desinfiziert werden.

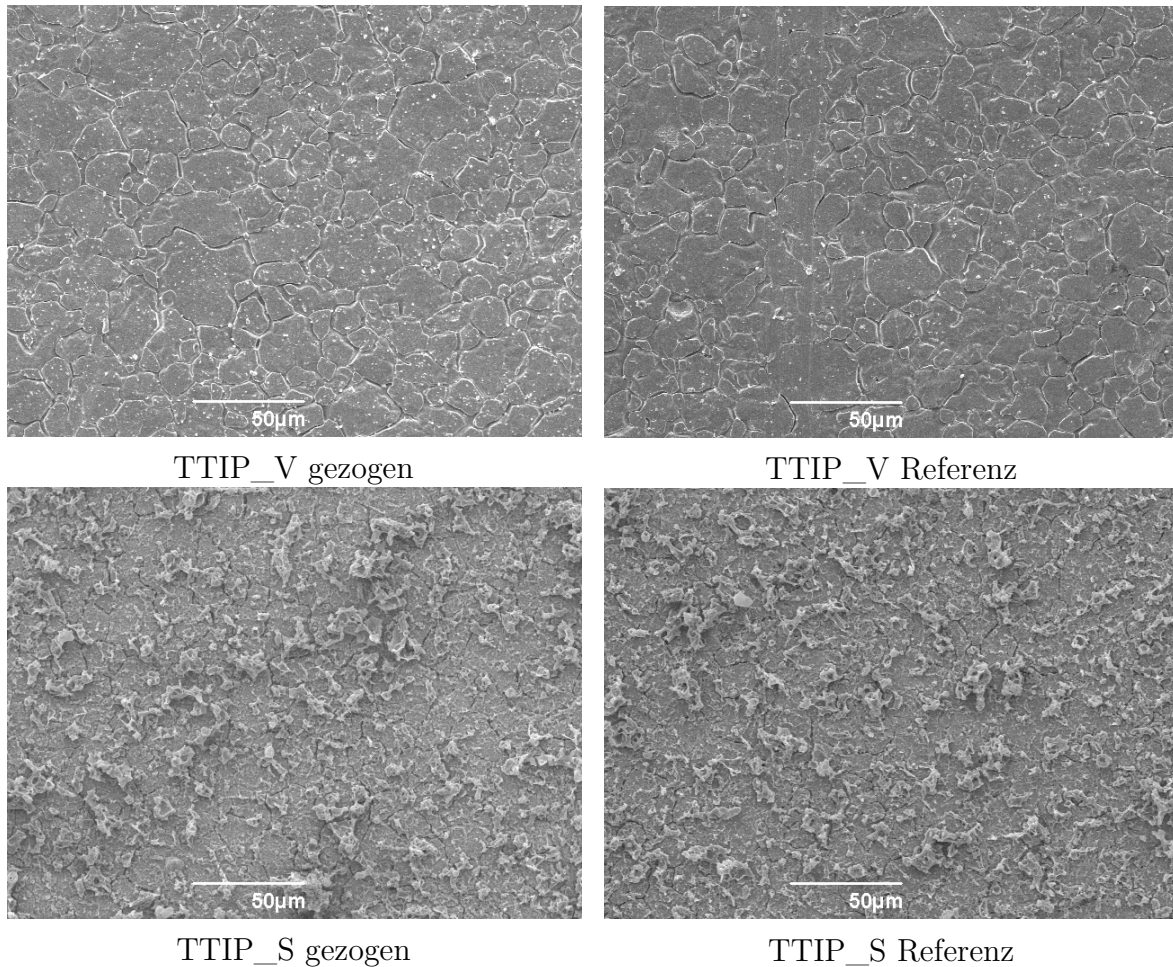
Bei der TTIB\_V Beschichtung sind Rückstände auf der Probe ersichtlich. Diese können dem Isopropanol zugewiesen werden, da es sich um technisches Isopropanol handelt, welches häufig Unreinheiten aufweist, die sich an die Oberfläche anlagern können.

Die Haftung der Beschichtung auf dem Implantat unter Belastung ist vor allem für den Einsatz auf lasttragenden Implantaten essenziell. Um dies zu prüfen, wurden Zugversuche durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.23 und Abbildung 5.24 dargestellt.



**Abbildung 5.23:** REM Aufnahmen der mit TTIB\_V und TTIB\_S beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch

Die TTIB\_V Beschichtung zeigt keine Unterschiede vor und nach dem Zugversuch. Im Falle von TTIB\_S hingegen hat sich ein großer Teil der Beschichtung gelöst. Jedoch ist zu erkennen, dass ein Teil der Beschichtung an der Oberfläche haftet und dort nach der Belastung verbleibt.



**Abbildung 5.24:** REM Aufnahmen der mit TTIP\_V und TTIP\_S beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch

Im Falle von TTIP\_V ist wie bei der TTIB\_V Beschichtung keine Änderung der Beschichtung nach dem Zugversuch zu erkennen und die Partikel verbleiben auf der Oberfläche.

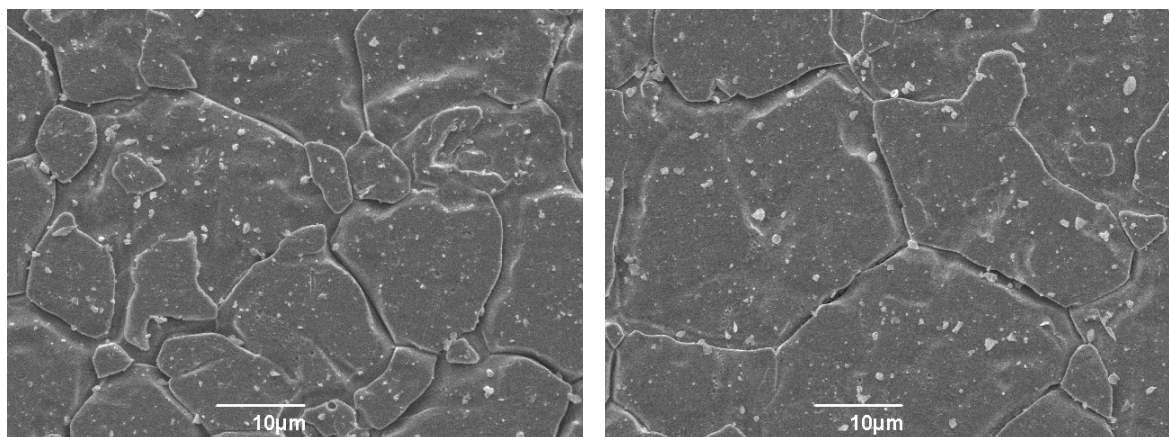
Die TTIP\_S Beschichtung zeigt im Gegensatz zur TTIB\_S Beschichtung keine optische Veränderung durch den Zugversuch. Es ist jedoch anzumerken, dass die TTIB\_S Referenzbeschichtung deutlich dicker ist als die von TTIP\_S. Dies kann aufgrund von Verstopfungen in der Düse geschehen oder durch Variation der Umgebungsparameter. Hierzu zählen zum Beispiel die Luftfeuchte, die Substrattemperatur und wie lange das Plasma eingeschaltet ist.

Alles in allem zeigen die Verdampferbeschichtungen eine sehr gute Beständigkeit gegenüber Zugbelastung und sind daher vielversprechend für den Einsatz auf lasttragenden Implantaten.

Die Sprühbeschichtungen müssen bezüglich ihrer Haftung optimiert werden, um sie auf lasttragenden Implantaten anwenden zu können.

## 5.9 Sterilisation der TiO<sub>2</sub> Beschichtungen

Medizinprodukte, zum Beispiel Implantate, müssen vor dem Einsatz sterilisiert werden. Hierfür stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. In Abbildung 5.25 sind Aufnahmen der TTIP\_V Beschichtung vor und nach dem Autoklavieren abgebildet. Da sich die Sprühbeschichtungen beim Einlagern gelöst haben, sind hier nur die Ergebnisse der TTIP\_V Beschichtung dargestellt. Die TTIB\_V Beschichtung verhält sich äquivalent.



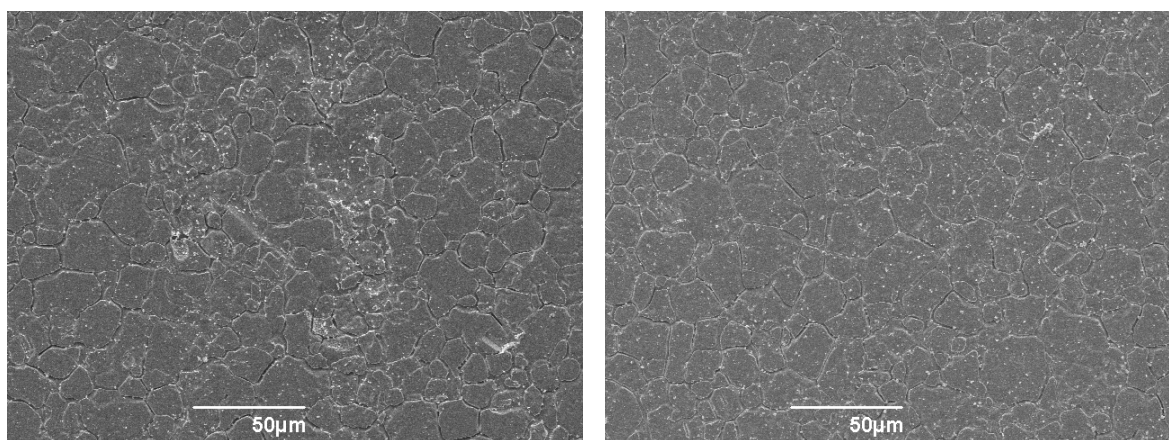
Autoklaviert

Referenz

**Abbildung 5.25:** REM Aufnahmen einer autoklavierten TTIP\_V und einer Referenzprobe

Die autoklavierte wie die Referenzprobe zeigen vereinzelte weiße Partikel auf der Oberfläche auf. Bei der Anzahl dieser ist kein sichtbarer Unterschied zu erkennen. Daher kann anhand dieser Ergebnisse kein Ablösen oder eine optische Veränderung der Beschichtung erkannt werden. Dies lässt darauf schließen, dass die Beschichtungen autoklavierbar sind.

Die mittels trockener Hitze sterilisierte Probe ist in Abbildung 5.26 ersichtlich.



Trockene Hitze

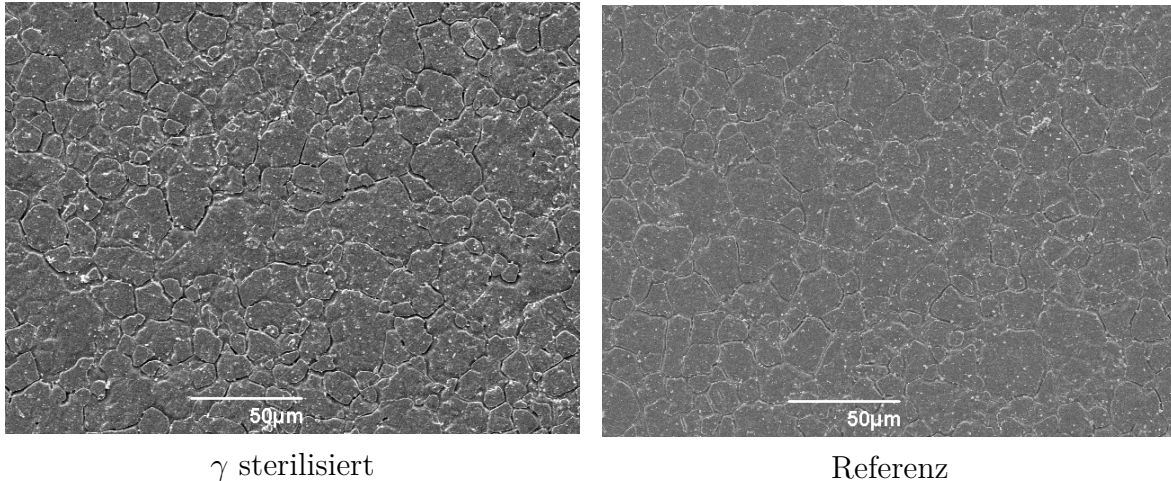
Referenz

**Abbildung 5.26:** REM Aufnahmen einer trocken sterilisierten TTIP\_V und einer Referenzprobe

Auch im Falle der trockenen Sterilisation ist kein optischer Unterschied zwischen der sterilisierten und der Referenzprobe zu erkennen. Dies lässt darauf schließen, dass die Beschichtung durch das Behandeln mit trockener Hitze, soweit optisch beurteilbar, nicht abgelöst oder morphologisch verändert wird.

Der Einfluss der  $\gamma$ -Sterilisation ist in Abbildung 5.27 zu erkennen.

Auch nach dieser Art der Sterilisation ist optisch keine Veränderung erkennbar und die Oberfläche ist identisch zu der nicht sterilisierten Probe.



**Abbildung 5.27:** REM Aufnahmen einer  $\gamma$  sterilisierten TTIP\_V und einer Referenzprobe

Alle getesteten Sterilisationsverfahren zeigen optisch und morphologisch keinen Einfluss. Die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen sind sehr stabil und dadurch vielversprechende Kandidaten für die Anwendung in der Medizintechnik.

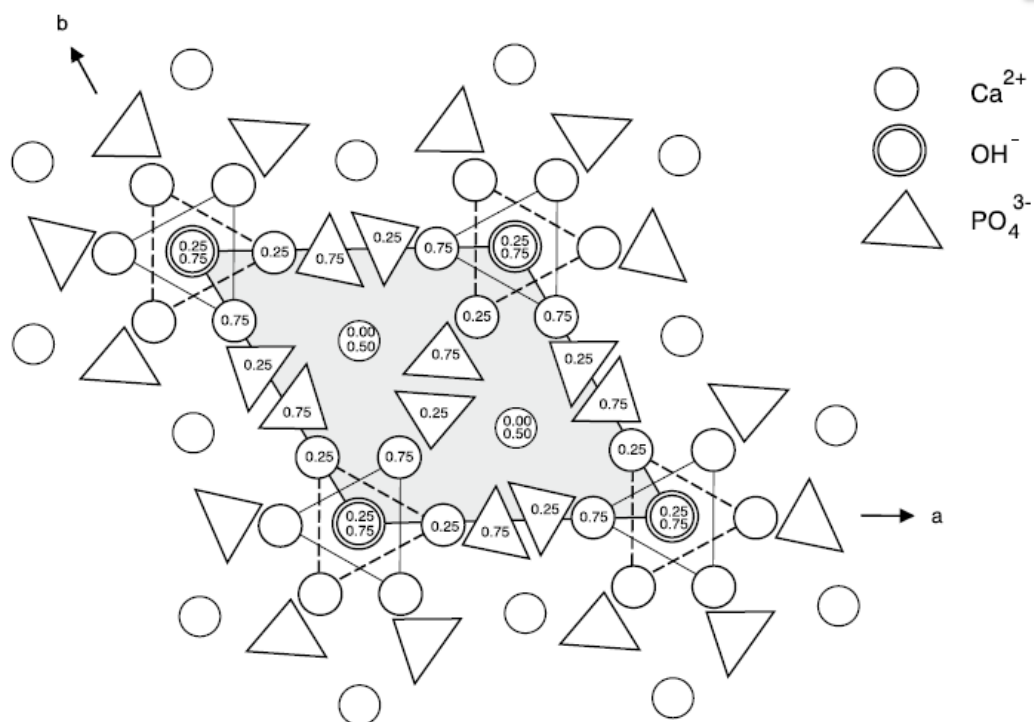
# 6 Beschichtung zur Verbesserung der Osseointegration

Die Osseointegration spielt eine große Rolle beim erfolgreichen Einsetzen eines Implantates. Um diese zu verbessern, wird häufig ein möglichst knochenähnliches Material zur Beschichtung verwendet. In der vorliegenden Arbeit wurde sich für Hydroxylapatit entschieden, welches dem Apatit im Knochen ähnlich ist und als Implantatwerkstoff großen Zuspruch und weite Anwendung findet.

## 6.1 Struktur und chemische Eigenschaften von HA

Hydroxylapatit (HA) gehört zur Gruppe der Kalziumphosphate und besitzt die Strukturformel  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Das synthetische HA kommt in zwei Kristallstrukturen vor. Zum einen in der hexagonalen Struktur mit der Raumgruppe  $P6_3/m$  und zum anderen in der monoklinen Struktur, welche die Raumgruppe  $P2_1/b$  aufweist. Die monokline Struktur kann durch Erhitzen der hexagonalen auf  $850^\circ\text{C}$  und anschließendes Abkühlen an Luft auf Raumtemperatur erzeugt werden. [1]

Häufiger ist daher die hexagonale Struktur, wessen Aufbau in Abbildung 6.1 dargestellt ist.



**Abbildung 6.1:** Struktur von HA in die a,b-Ebene projiziert (Bild entnommen aus [1])

Die Struktur ist in die a,b-Ebene projiziert. Hierbei stehen die einfachen Kreise für  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen, die doppelten Kreise für  $\text{OH}^-$ -Ionen und die Dreiecke für die  $\text{PO}_4^{3-}$ -Gruppen.

Das synthetisch hergestellte Hydroxylapatit hat sehr große Ähnlichkeit mit dem natürlich im Körper (Knochen und Zähne) vorkommenden Apatit. Aufgrund der geringen Ermüdungsfestigkeit wird es häufig als Beschichtung für Knochen- und Dentalimplantate verwendet. Das stöchiometrische HA besteht zu 39,9% aus Kalzium, zu 18,5% aus Phosphor und zu 3,4% aus Hydroxylgruppen. Es besitzt ein molares Ca/P-Verhältnis von 1,67. Bei natürlichem Apatit im Knochen handelt es sich um nicht- stöchiometrisches HA. Es besitzt ein niedrigeres molares Ca/P-Verhältnis und hat weitere Bestandteile wie Natrium-, Magnesium-, Carbonat-, Fluorid- und Chlorid-Ionen, welche im Austausch gegen  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  in das Kristallgitter treten und dadurch die Gitterstruktur stören und die Löslichkeit verändern. [1]

Um das synthetische HA für den Körper zu optimieren und es dem natürlichen ähnlicher zu machen, besteht die Möglichkeit, durch die Substitution von Hydroxylgruppen die Apatitstruktur zu verändern und dadurch die Löslichkeit zu steigern [158]. Beispiele für diese Substituenten sind Natrium, Fluor, Chlor oder Brom [159]. Eine weitere Möglichkeit bietet das Dotieren mit Metallen wie Strontium, Silber, Silizium oder Magnesium, was zu einer besseren Zellinteraktion mit dem HA führt und die mechanischen Eigenschaften, wie die Beständigkeit gegenüber Lösungsmitteln, verbessert [160].

Synthetisch erzeugtes HA kann also durch verschiedene Herstellungsprozesse und Parametervariationen so angepasst werden, dass es eine optimale Implantatoberfläche widerspiegelt. Wichtige Eigenschaften sind hierbei die Kristallstruktur, die Löslichkeit, die thermische Stabilität und die chemische Beständigkeit.

## 6.2 Herstellung des HA Precursors

Um den HA Precursor herzustellen, wird ein Sol nach dem Vorgehen von Liu et al. hergestellt [161]. Hierfür werden 7,5 mL flüssiges Triethylphosphit in 50 mL DD-Wasser gelöst und anschließend für zehn Minuten gerührt. In einem separaten Becherglas werden 17,3 g Kalziumnitrat in 150 mL DD-Wasser gelöst und dann tropfenweise über 30 Minuten zu der ständig gerührten Triethylphosphit Lösung gegeben. Die Lösung wird danach weitere zehn Minuten gerührt und anschließend muss das hergestellte Sol bei Raumtemperatur für 24 Stunden altern, bevor es verwendet wird. Das molare Verhältnis in dem Sol zwischen Kalzium und Phosphor beträgt 1,67 und für den Fall einer vollständigen Umsetzung entstehen 7,34 Gew.-% Hydroxylapatit.

## 6.3 Anwendung und Methoden zur Abscheidung von HA Schichten

Die Ähnlichkeit zur chemischen Struktur von Knochen ist der Grund für den häufigen Einsatz von Hydroxylapatit (HA) im Bereich der Medizintechnik. Es ist beständig in biologischer Umgebung und wird oft als Beschichtung zur Verbesserung der Biokompatibilität von Bulkmaterialien im Implantatbereich verwendet. HA ist bioaktiv, biokompatibel und weist eine spontane Osseointegration zwischen Implantatoberfläche und Knochen auf. Aus diesem Grund wird es zur Reparatur, Rekonstruktion und zum Ersatz von beschädigtem oder erkranktem Knochenmaterial verwendet. Einsatzgebiete sind hier zum Beispiel Knie-, Hüft- und Dentalimplantate. [162, 163, 164, 165]

Neben der Anwendung als Biomaterial wird HA auch in der Chromatografie oder der Keramikherstellung verwendet. Die Eigenschaften des HA hängen stark davon ab, ob es natürlich oder synthetisch gewonnen wurde und können auch durch den Herstellungsprozess modifiziert werden. Hierbei sind die gängigsten Verfahren das Plasmaspraying, die Galvanotechnik, die gepulste Laserabscheidung und das Sol-Gel Verfahren. [56, 164, 166]

Das Plasmaspraying ist ein schnelles Verfahren, was jedoch bei sehr hohen Temperaturen stattfindet. Durch die hohen Temperaturen können unerwünschte Phasenübergänge stattfinden und die Beschichtungen können aufgrund von Schrumpfungseffekten Risse bilden. Diese Risse können zu einem Verlust der Adhäsion zwischen Beschichtung und Bulkmaterial führen. [167, 168, 169]

Die Galvanotechnik hingegen läuft bei geringen Temperaturen ab, jedoch werden Bäder benötigt, welche zu einer großen Menge an chemischen Abfällen führen. Das Sol-Gel Verfahren ist ebenfalls ein nasschemisches Verfahren, jedoch preiswerter als die Galvanotechnik. [166]

Bei der gepulsten Laserabscheidung fallen keine chemischen Abfälle an, jedoch wird Vakuumequipment benötigt, was den Prozess kostspielig macht. Die Abscheidung mittels atmosphärendruck Plasma ist ein recht neues Verfahren, welches jedoch aufgrund des wegfallenden Vakuumequipments und der Tatsache, dass keine chemischen Abfälle anfallen, eine vielversprechende Alternative zu den bislang verwendeten Verfahren bietet. Des Weiteren sind die Prozesstemperaturen niedrig, sodass auch temperaturempfindliche Substrate beschichtet und unerwünschte Phasenübergänge verhindert werden können.

## 6.4 Prozesssystem und -parameter zur Abscheidung der HA Schichten

Der HA Precursor wird mittels Spraydüse in die Plasmaflamme eingebracht, dort ionisiert und als Schicht auf der Oberfläche abgeschieden. Als Trägergas für die Sprühdüse und



als Ionisationsgas für das Plasma wird Luft verwendet. Die Parameter zur Abscheidung sind in Tabelle 6.1 dargestellt.

**Tabelle 6.1:** Plasmaparameter zur Abscheidung von HA Beschichtungen

	PP	PCT	$U$	$d$	$\dot{V}_{Luft}$	$\dot{M}_{Precursor}$	$T_{Verdampfer}$
	kHz	%	%	mm	L/h	g/h	°C
HA	23	100	80	20	2000	40	0

Hierbei steht PP für die Plasma Power, PCT für die Plasma Cycle Time,  $U$  für die Spannung,  $d$  für den Abstand zwischen Probe und Austritt der Plasmaflamme,  $\dot{V}_{Luft}$  für den Volumenstrom des Ionisationsgases,  $\dot{M}_{Precursor}$  für den Massenstrom des Precursors und  $T_{Verdampfer}$  für die Verdampfer Temperatur.

Die Proben werden für zehn Sekunden unter dem Plasmastrahl gehalten und anschließend thermisch nachbehandelt. Hierfür wird die Probe zuerst auf 200°C aufgeheizt und bei dieser Temperatur für eine Stunde gehalten um flüchtige Rückstände und Verschmutzungen von der Oberfläche zu entfernen. Danach wird die Temperatur auf 500°C erhöht und für 15 Minuten gehalten um kristallines HA zu erzeugen. Nach dem Abkühlen werden die Proben bis zur Verwendung im Exsikkator gelagert. Das Halten unter dem Plasmastrahl ist ungeeignet um größere Flächen zu beschichten, aus diesem Grund wurden größere Proben bei einer Geschwindigkeit von 1,5 m/min sechsmal durch das Plasma gefahren.

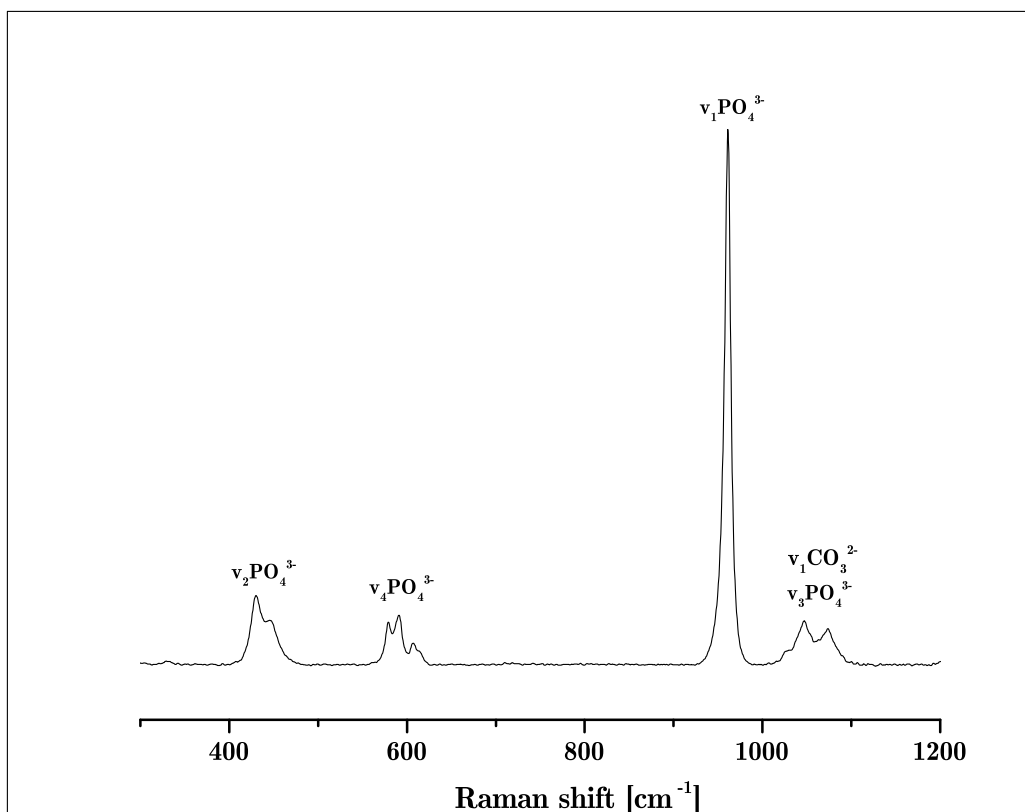
## 6.5 Chemische Charakterisierung der HA Schichten

Die Benetzbarkeit der Beschichtung wurde mittels Kontaktwinkelmessung bestimmt. Hierbei wurde ein mittlerer Kontaktwinkel von  $36,1^\circ \pm 7,3^\circ$  aus acht Messungen bestimmt.

Um die chemische Zusammensetzung der Schichten zu bestimmen, wurden XPS sowie RAMAN Messungen vorgenommen. Die Ergebnisse der RAMAN Messung sind in Abbildung 6.2 dargestellt.

Die Messung zeigt Banden bei  $1073,5 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1047 \text{ cm}^{-1}$ ,  $961 \text{ cm}^{-1}$ ,  $607 \text{ cm}^{-1}$ ,  $591 \text{ cm}^{-1}$ ,  $579 \text{ cm}^{-1}$ ,  $445,5 \text{ cm}^{-1}$  und  $430 \text{ cm}^{-1}$ . Diese können der Reihe nach den folgenden Signalen zugeordnet werden:  $\nu_1(\text{CO}_3)$ ,  $\nu_3(\text{PO}_4)$ ,  $\nu_3(\text{PO}_4)$ ,  $\nu_1(\text{PO}_4)$ ,  $\nu_4(\text{PO}_4)$ ,  $\nu_4(\text{PO}_4)$ ,  $\nu_2(\text{PO}_4)$ . Vergleiche mit der Literatur zeigen eine gute Übereinstimmung und es konnte bestätigt werden, dass es sich bei der untersuchten Probe um ein Kalziumphosphat, höchstwahrscheinlich Hydroxylapatit, handelt [170, 171, 172].



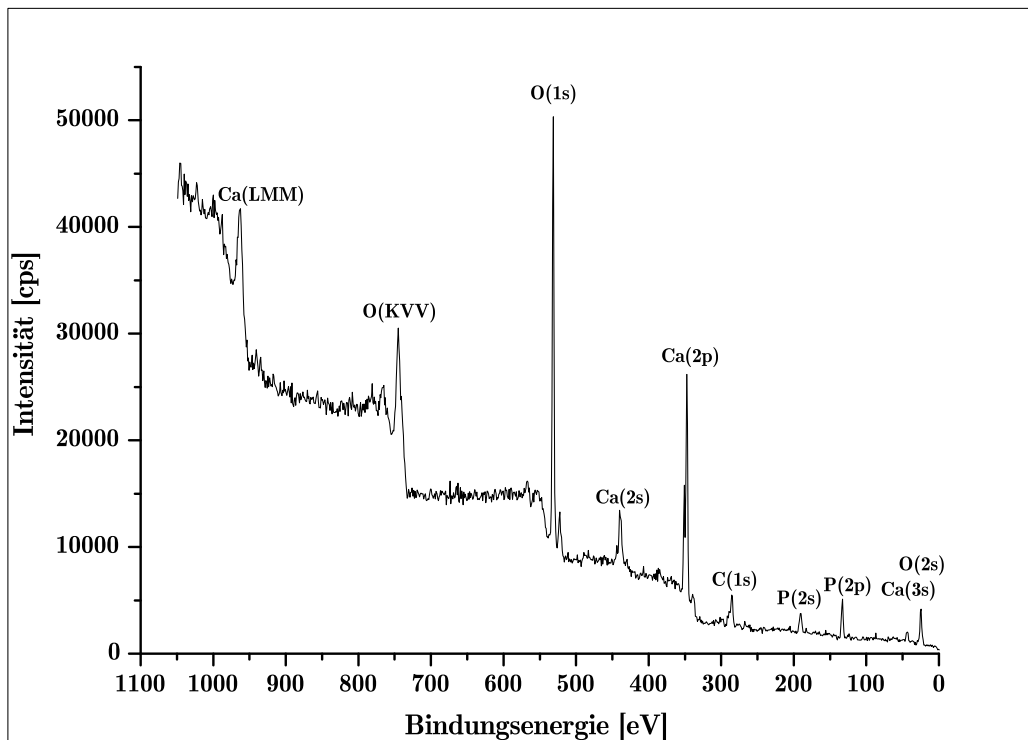


**Abbildung 6.2:** RAMAN Spektrum der HA Beschichtung

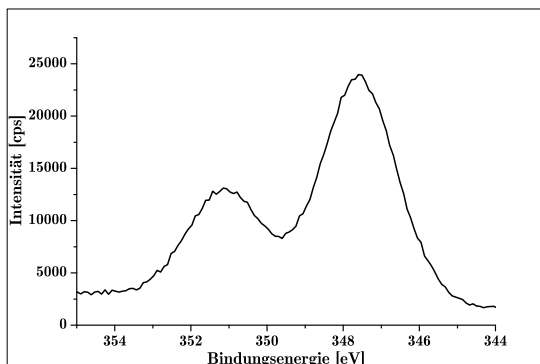
Um gezielt die Oberflächenchemie zu untersuchen, wurden XPS Messungen angefertigt, siehe Abbildung 6.3.

Die Auswertung der Spektren ergeben einen O(1s) Peak bei 531,7 eV, einen Ca(2p<sub>3/2</sub>) bei 347,5 eV, einen Ca(2p<sub>1/2</sub>) bei 351,2 eV, einen P(2p) bei 133,6 eV und einen C(1s) Peak mit zwei Maxima bei 284,9 eV und 285,3 eV. Durch Vergleiche mit der Literatur können die Ca, P, O und C Peaks Hydroxylapatit zugewiesen werden [162, 164, 165, 166, 168, 173].

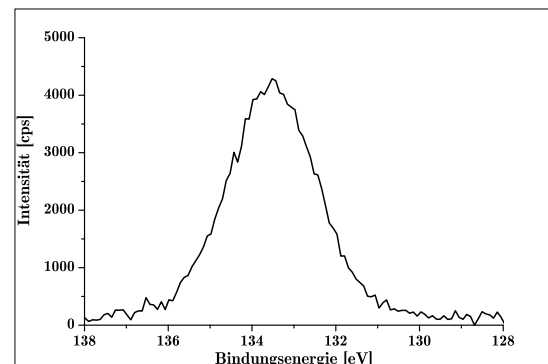
Der Kohlenstoff Peak könnte durch Verunreinigungen an der Oberfläche entstehen [162]. Des Weiteren ist Kohlenstoff eine gängige Verunreinigung in synthetisch hergestellten Kalziumphosphaten, welche bei der Erzeugung eingebaut werden, durch die Anwesenheit von CO<sub>2</sub> in der Lösung oder der Umgebung [162]. Im Falle des atmosphärischen Plasmas ist dies sehr wahrscheinlich, da es sich bei dem Ionisationsgas um Luft handelt und der Beschichtungsprozess nicht im Vakuum stattfindet. Der Haupt-Sauerstoff Peak bei 531,7 eV kann dem Sauerstoff der OH-Gruppen und dem Sauerstoff der PO<sub>4</sub> Gruppen zugeordnet werden.



XPS Übersichtsspektrum der HA Beschichtung



Ca(2p) Peak

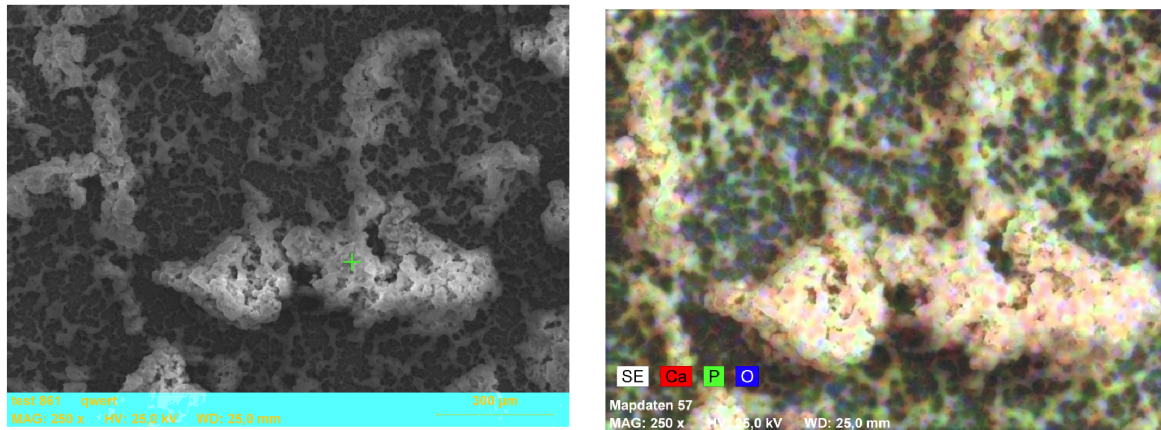


P(2p) Peak

**Abbildung 6.3:** XPS Spektren der HA Beschichtungen zur Analyse der Oberflächenchemie

Um das Verhältnis zwischen Kalzium und Phosphor zu bestimmen, welches im Falle von synthetischem HA bei 1,67 liegt, wurden EDX Messungen angefertigt. Der Vorteil von EDX Messungen im Vergleich zu XPS Messungen ist, dass das Bulkmaterial und nicht nur die Oberfläche analysiert wird. Die EDX Aufnahmen sind in Abbildung 6.4 dargestellt.

Im linken Bild ist die REM Aufnahme und der Bereich, welcher mittels XPS analysiert wurde, dargestellt. Rechts ist das Ergebnis durch Einfärbung der Oberfläche in rot für Kalzium, grün für Phosphor und blau für Sauerstoff dargestellt.

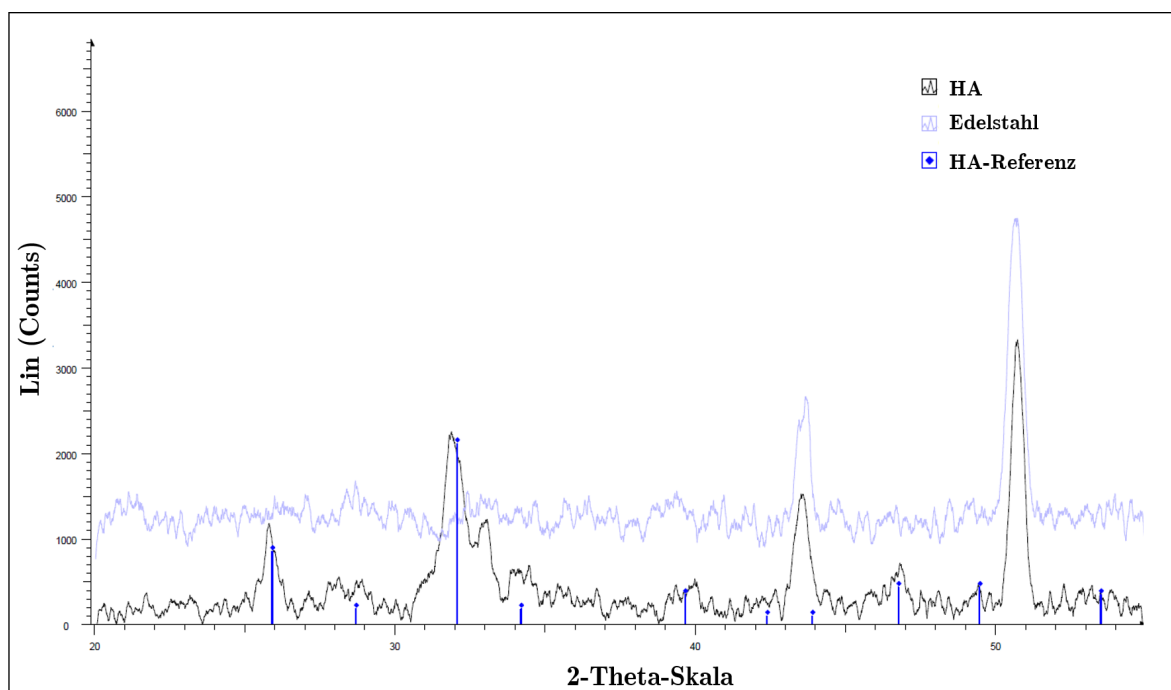


REM Aufnahme und Kennzeichnung des zu analysierenden Bereiches

EDX Mapping der HA Oberfläche für einen definierten Bereich

**Abbildung 6.4:** EDX Aufnahme der HA Schicht

Eine Gewichtsverhältnisanalyse hat ein Verhältnis zwischen Kalzium und Phosphor von 1,61 ergeben. Hydroxylapatit zeigt im idealen Fall ein Verhältnis von 1,67 auf. Ein Grund, warum dieses Verhältnis abweicht, könnte die Inhomogenität der vermessenen Beschichtung sein. Außerdem ist die Schicht nicht deckend, was dazu führt, dass unter anderem Teile des Edelstahls mitvermessen werden. Die zuvor mittels XPS detektierten Kohlenstoffverunreinigungen können das gemessene Verhältnis ebenfalls beeinflussen [162]. Des Weiteren könnten neben Hydroxylapatit weitere Kalziumphosphate vorhanden sein. Um dies zu überprüfen, wurden XRD Messungen durchgeführt, siehe Abbildung 6.5.



**Abbildung 6.5:** XRD Spektren der HA Beschichtung und des planen Edelstahls

Das Spektrum der HA Beschichtung zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Literaturwerten für HA, in Blau dargestellt. Die zusätzlichen Peaks können nahezu alle Edelstahl zugewiesen werden. Der Grund hierfür ist die Eindringtiefe der Messmethode und die porige Struktur, was dazu führt, dass Edelstahl partiell mit vermessen wird. Es treten jedoch eine Bande von Peaks im Bereich von  $27-31^\circ$  auf. Diese sind charakteristisch für Tetrakalziumphosphate und  $\beta$ -Trikalziumphosphate [173]. Aufgrund der XRD Messung kann davon ausgegangen werden, dass neben HA weitere Kalziumphosphatstrukturen vorliegen.

Dieses Phänomen kann sowohl beim klassischen Plasmaspraying wie auch beim Sol-Gel Prozess und vielen anderen Herstellungsverfahren für HA festgestellt werden. Gründe hierfür sind zu geringe Temperaturen im Prozess, zu kurze Calcinationszeiten, schnelle Kristallisationsprozesse oder Verschmutzungen in den Ausgangslösungen. Die zusätzlichen Kalziumphosphatverbindungen sind jedoch für den Einsatz im Körper unbedenklich, da der Knochen die meisten dieser ebenfalls besitzt. [174, 175, 176]

## 6.6 Untersuchung der Morphologie der Oberfläche

Die abgeschiedene HA Beschichtung weist eine porige Struktur auf, siehe Abbildung 6.6. Durch das Vermessen von 100 Poren konnte eine mittlere Porengröße von  $1,060 \mu\text{m}$  bestimmt werden. Die kleinste vermessene Pore ist  $0,208 \mu\text{m}$  groß und die größte  $2,942 \mu\text{m}$ .

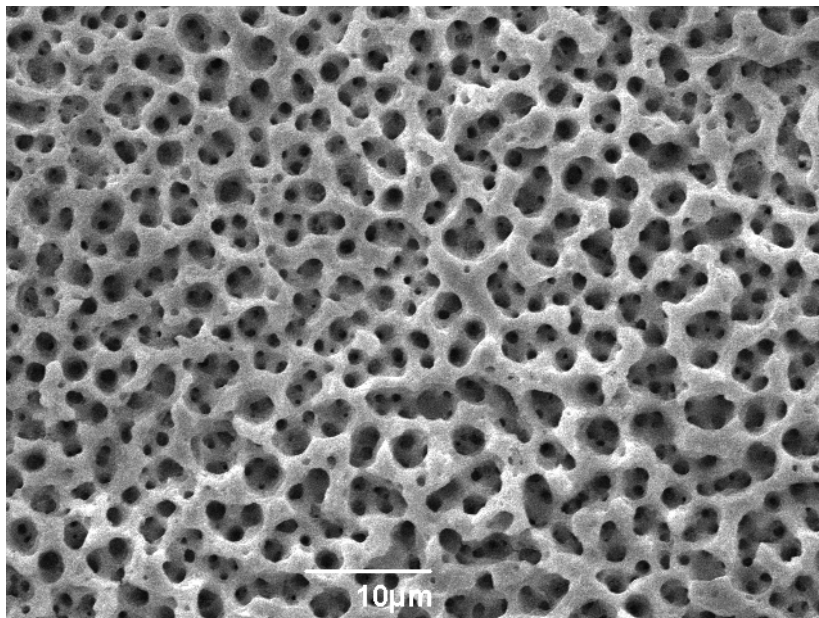
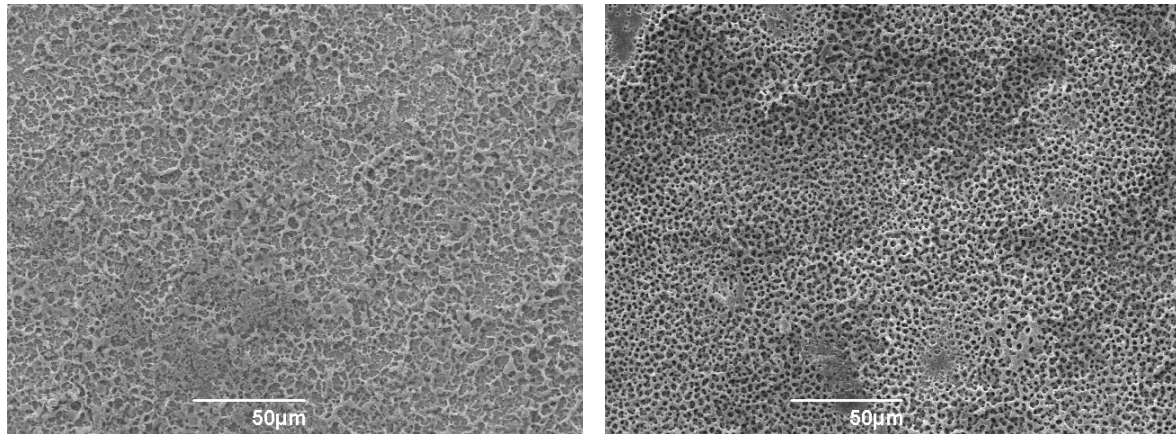


Abbildung 6.6: REM Aufnahme der HA Beschichtung

Die Beschichtungen werden durch Halten der Proben für zehn Sekunden unter der Plasmaflamme erzeugt. Da diese Art der Beschichtung für industrielle Prozesse und große Flächen ungeeignet ist, wurde eine Alternative dazu gesucht, siehe Abbildung 6.7.



Verfahrenene Probe

Gehaltene Probe

**Abbildung 6.7:** REM Aufnahmen der HA Beschichtung einmal verfahren und einmal gehalten

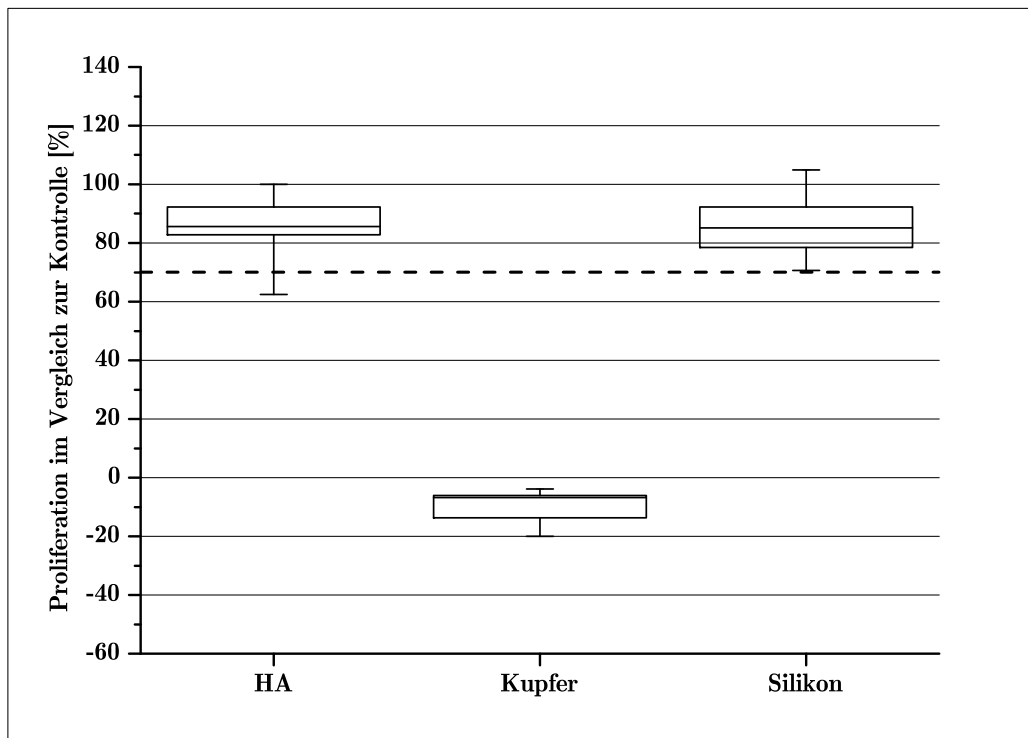
Bei der verfahrenen Probe wurde die Probe sechsmal bei einer Geschwindigkeit von 1,5 m/min durch den Plasmastrahl gefahren. Durch das Verfahren entsteht ebenfalls eine Porenstruktur jedoch mit größeren Porendurchmessern. Die durchgeführten Versuche wurden alle mit der gehaltenen Beschichtung durchgeführt, eine Ausnahme bilden hier die Zugversuche.

## 6.7 Biologische Untersuchung der HA Beschichtungen

Um eine Beschichtung auf Implantaten anzuwenden, sind *in vitro* Versuche unerlässlich. In der vorliegenden Arbeit wurden Zytotoxizitätsversuche und Versuche zum Anwachsverhalten von Zellen durchgeführt. Diese sollen erste Anhaltspunkte zu dem Verhalten der Beschichtungen in Kontakt mit dem Körper geben.

### 6.7.1 Evaluierung der Zytotoxizität der HA Beschichtung

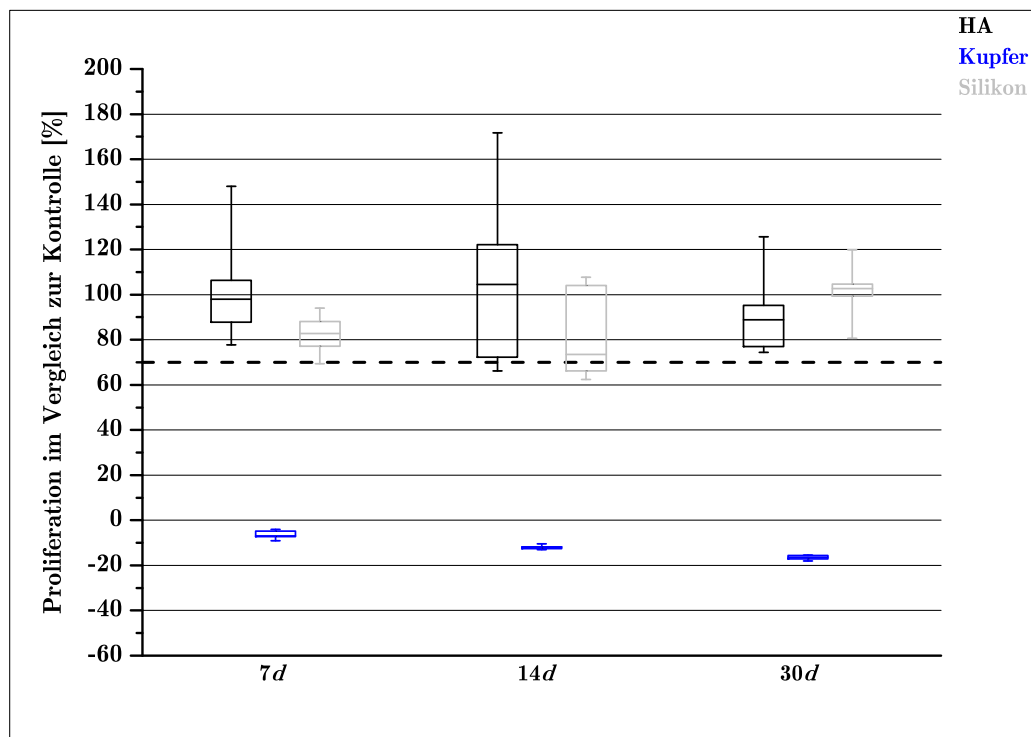
Die Bestimmung der Zytotoxizität erfolgte nach DIN EN ISO 10993-5 mit Zellen der Zelllinie Hs27. Die Ergebnisse für einen Eluattest über 72 Stunden sind in Abbildung 6.8 dargestellt.



**Abbildung 6.8:** Ermittlung der Zytotoxizität von HA mittels CCK-8 Test,  $i=3$ ,  $n=5$

Die Ergebnisse wurden auf eine Referenzprobe bezogen. Bei dieser handelt es sich um eine Wellplatte, welche für das Zellwachstum optimale Bedingungen aufweist. Des Weiteren wurde eine positiv Kontrolle, Kupfer, und eine negativ Kontrolle, Silikon, mitgeführt. Der Versuch wurde dreimal wiederholt ( $i=3$ ) mit jeweils fünf Proben ( $n=5$ ). Die Ergebnisse zeigen, dass die Werte für HA, bis auf einen Ausreißer, oberhalb der Zytotoxizitätsgrenze (70%) liegen. Dies zeigt, dass die Beschichtung, nach 72 Stunden Einlagerung, keine zytotoxischen Stoffe absondert.

Die Resultate sind als erste Indikation vielversprechend. Um jedoch die Beschichtung auf Langzeitimplantaten einsetzen zu können, dürfen diese für mindestens 30 Tage keine Zytotoxizität aufweisen. Um dies zu überprüfen, wurden die Proben eingelagert und nach 7, 14 und 30 Tagen auf Zytotoxizität getestet. Die Ergebnisse sind aus Abbildung 6.9 zu entnehmen.



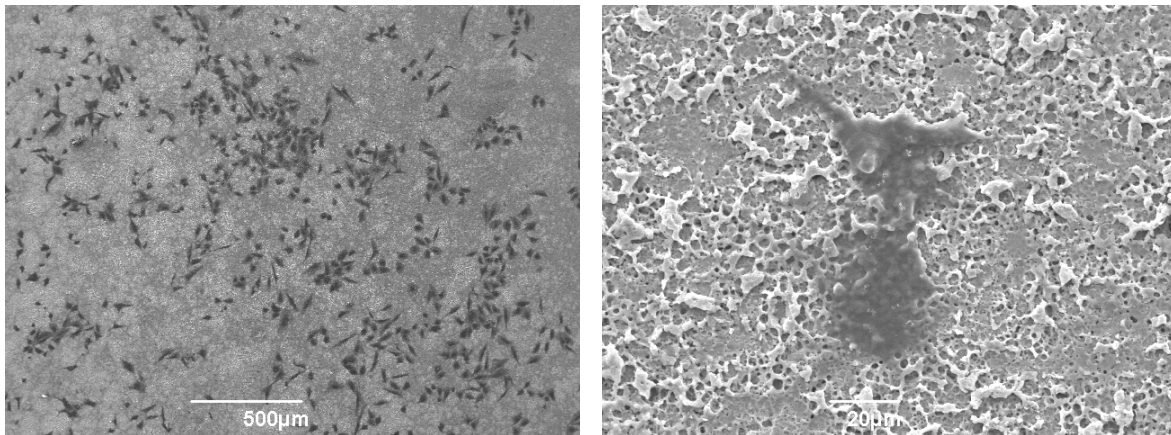
**Abbildung 6.9:** CCK-8 Test der Eluate der HA Beschichtung nach 7, 14 und 21 Tagen Einlagerung,  $i=3$ ,  $n=5$

Die HA Beschichtung weist auch nach 30 Tagen keine Zytotoxizität auf. An Tag 14 sind die Abweichungen und Streuungen sehr hoch. Ein Messpunkt liegt sogar unterhalb der Zytotoxizitätsgrenze. Da dies auch bei Silikon der Fall ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Gründe hierfür entweder aufgrund der Zellen entstanden sind, hohe Passage, schlechtes Wachstum oder durch Fehler bei der Versuchsdurchführung. Allgemein weist die Beschichtung hohe Schwankungen auf, was vermutlich auf die statische Beschichtung zurückzuführen ist. Die Proben werden für zehn Sekunden beschichtet. Dies führt zu einer Inhomogenität vor allem in den Randbereichen der Proben. Allgemein lässt sich jedoch sagen, dass die Beschichtung nicht zytotoxisch ist und damit vielversprechend für die Anwendung auf Implantaten ist.

### 6.7.2 Morphologie und Anwachsverhalten von Saos-2 Zellen auf HA Beschichtungen

Um einen Einsatz der HA Beschichtung im Körper zu beurteilen, muss das Anwachsverhalten von Zellen überprüft werden.

Hierzu werden Saos-2 Zellen verwendet. REM Aufnahmen mit fixierten Zellen auf der HA Beschichtung sind in Abbildung 6.10 dargestellt.



Saos-2 auf HA Beschichtung 50x

Saos-2 auf HA Beschichtung 800x

**Abbildung 6.10:** REM-Aufnahmen der fixierten Saos-2 Zellen auf der HA Beschichtung

Es ist zu erkennen, dass sich viele Zellen auf der Oberfläche anlagern. In höheren Vergrößerungen zeigt sich ein Spreiten der Zellen auf der Oberfläche. Dies ist ein positives Zeichen dafür, dass die Oberfläche für Zellen attraktiv ist. Um die Aktivität der Zellen auf der Oberfläche zu testen, wurden CCK-8 Tests auf der Oberfläche durchgeführt. Hierbei wurde eine Zellproliferation, im Vergleich zur Kontrolle, für die HA Beschichtung von  $74,85\% \pm 7,59\%$  festgestellt. Im Vergleich wurde die Proliferation auf unbeschichtetem Edelstahl 316L bestimmt. Hierbei ergibt sich ein Wert von  $75,13\% \pm 10,40\%$  ( $n=3$ ,  $i=5$ ). Dies zeigt, dass die Zellaktivität auf der Beschichtung und dem Edelstahl nahezu identisch ist, was auf eine sehr vielversprechende Oberfläche für Implantate hindeutet.

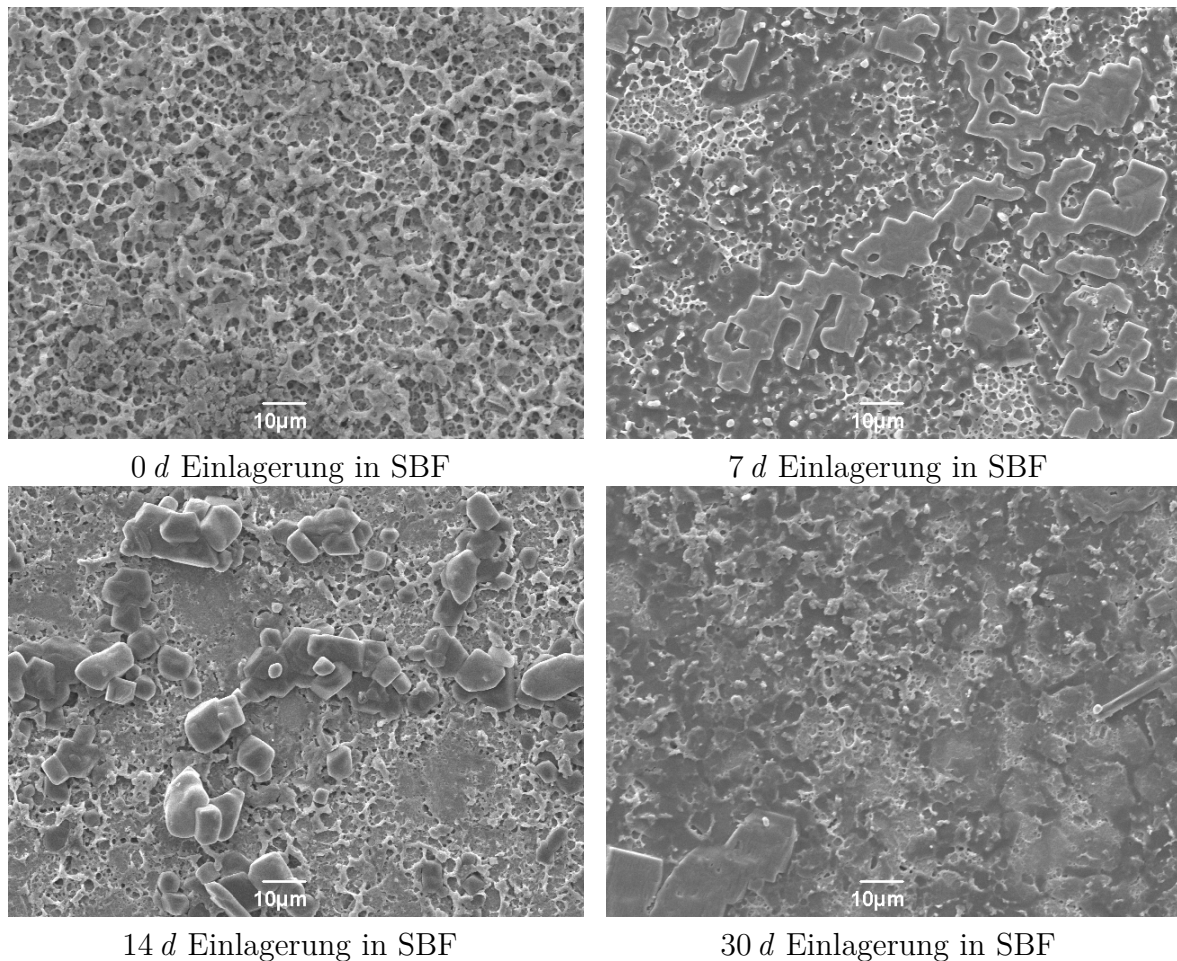
Laut der Literatur weisen HA Beschichtungen im Allgemeinen eine höhere Proliferation als Edelstahl auf. Ein Grund, warum dies nicht der Fall ist, könnte wie zuvor erwähnt die Inhomogenität der Oberfläche sein. Des Weiteren wird in der Literatur eine optimale Porengröße von  $300\text{-}400\ \mu\text{m}$  angegeben [177]. Die hier erzeugte HA Beschichtung besitzt eine Porengröße von ca  $1\ \mu\text{m}$ . Durch Optimierung der Parameter, zum Beispiel den Abstand zwischen Plasmadüse und Substrat oder der Erhöhung des Ionisationsflusses, kann die Morphologie beeinflusst und die Porengröße gesteuert werden.

## 6.8 Beständigkeitsuntersuchungen der HA Beschichtung

Durch den Einsatz von Implantaten im Körper kommen diese mit Körperflüssigkeiten in Kontakt. Die Wirkung dieser wurde anhand von Simulated Body Fluid (SBF) getestet. Die REM-Aufnahmen der für 0, 7, 14 und 30 Tage eingelagerten Beschichtungen sind in Abbildung 6.11 dargestellt.

Schon nach 7 Tagen sind Anlagerungen auf der Oberfläche zu erkennen. Diese bilden im Laufe der Zeit eine nahezu geschlossene Schicht. Nach 14 Tagen bilden sich kristallartige

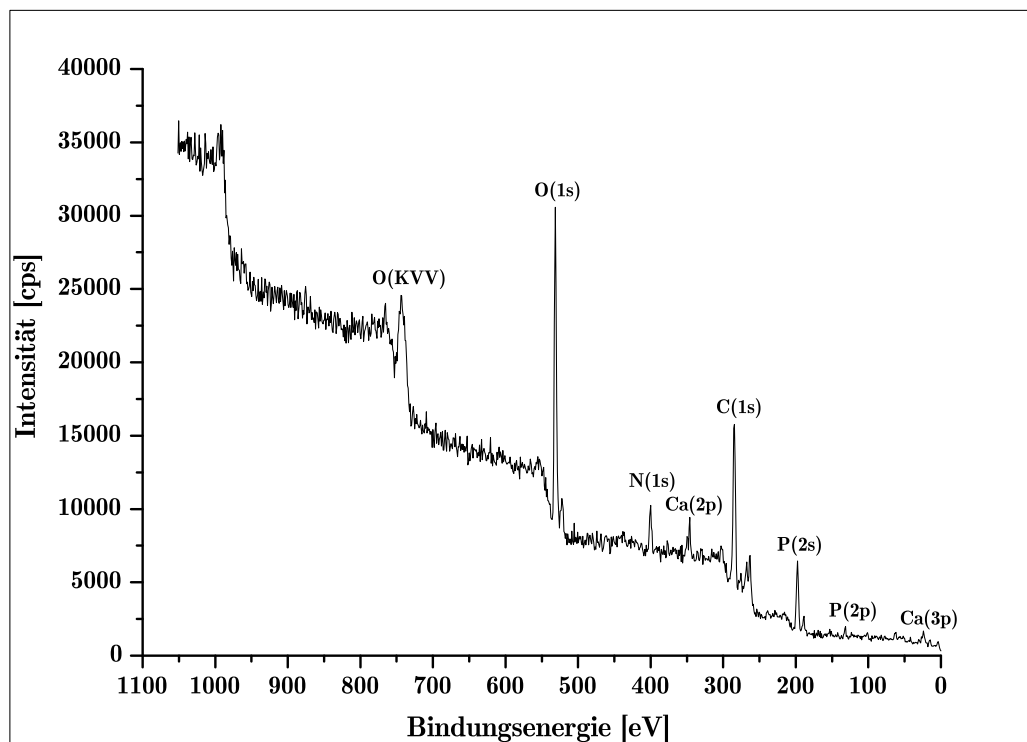




**Abbildung 6.11:** REM Aufnahmen der nach 0, 7, 14 und 30 Tagen eingelagerten Proben in SBF

Strukturen aus, welche jedoch nach 30 Tagen nicht mehr zu erkennen sind. Die Struktur der Beschichtung ist nach 30 Tagen nur noch zu erahnen und die Oberfläche scheint nahezu glatt zu sein.

Um die chemische Struktur der Anlagerung zu detektieren, wurden XPS Messungen durchgeführt, siehe Abbildung 6.12. Diese zeigen einen hohen Stickstoffanteil auf der Oberfläche. Die Massenanteile von Kalzium und Phosphor sind im Vergleich zur vorherigen Beschichtung deutlich niedriger. Dies könnte für ein Lösen der Beschichtung sprechen, da mittels XPS jedoch nur die Oberflächenchemie bestimmt wird, ist dies hiermit nicht zu determinieren. Eine weitere Möglichkeit ist, dass sich Anlagerungen auf der Oberfläche, wie z. B. Kohlenstoff aus der Umgebung, befinden.

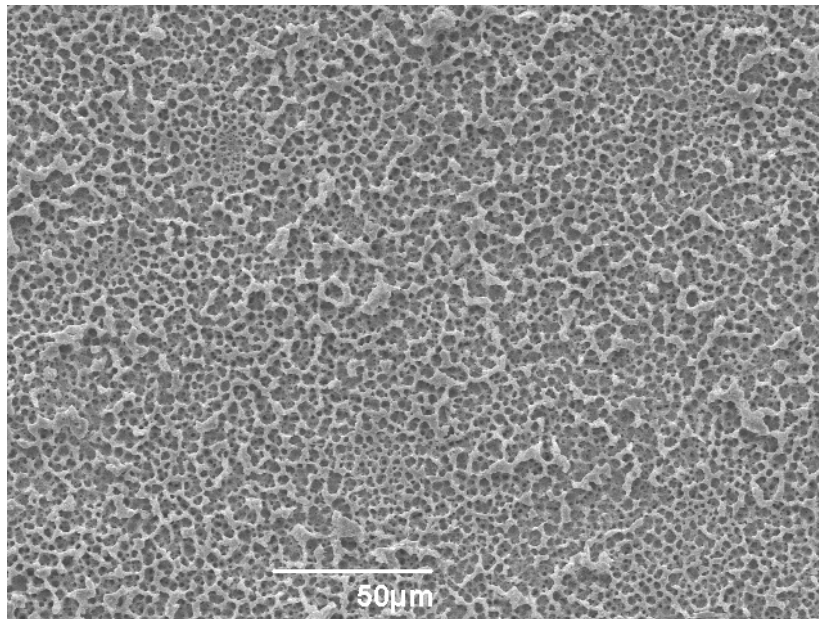


**Abbildung 6.12:** XPS Aufnahme der HA Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

HA ist in SBF nur sehr gering löslich, jedoch sind andere Kalziumphosphate, wie zum Beispiel TTCP und  $\beta$ -TCP gut löslich [174]. Da die XRD Messungen, siehe Abbildung 6.5, auf diese beiden Stoffe hindeuten, könnte es sein, dass sich diese lösen und dadurch Rückstände auf der Oberfläche entstehen. Der Stickstoff Peak ist vermutlich auf Anlagerungen aus dem SBF zurückzuführen.

Allgemein zeigen die Beschichtungen jedoch, vor allem nach 7 und 14 Tagen, viele Anlagerungen auf der Oberfläche, was ein erster Indikator für eine gute Osseointegration ist.

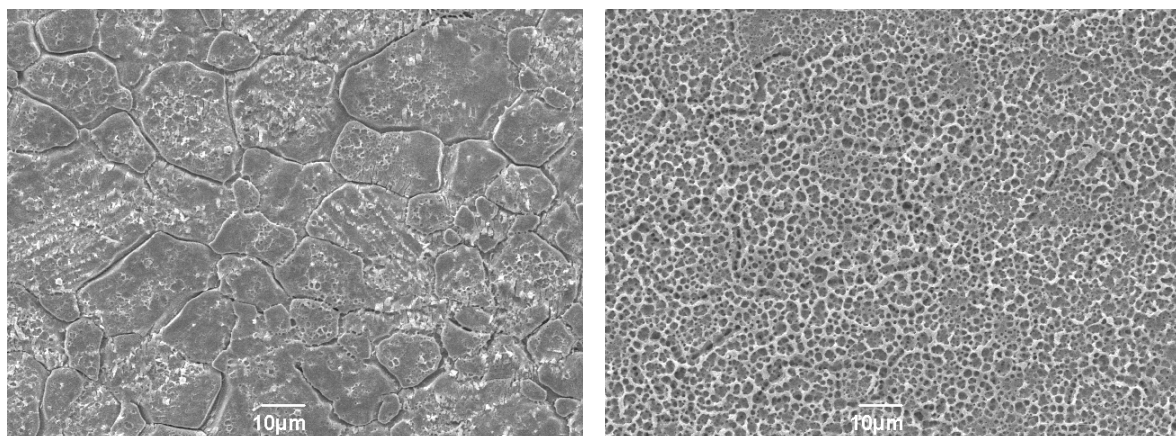
Um die Beständigkeit der Beschichtung gegen Desinfektionsmittel zu testen, wurde die HA Beschichtung für 7, 14 und 30 Tage in Isopropanol eingelegt. Exemplarisch ist in Abbildung 6.13 die REM Aufnahme der für 30 Tage eingelagerten Beschichtung dargestellt.



**Abbildung 6.13:** REM Aufnahmen der eingelagerten HA Beschichtung für 30 Tage in Isopropanol

Die Beschichtung ist nach der Einlagerung vollständig in Takt und weist keine Veränderungen oder ein Ablösen auf, zum Vergleich siehe Abbildung 6.6. Auf Grundlage dieser Ergebnisse scheint eine Desinfektion der Beschichtung mit Isopropanol und auf isopropanolbasierenden Lösungsmitteln möglich.

Um die Beständigkeit im Belastungsfall zu simulieren, wurden Zugversuche durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 6.14 ersichtlich.



Gezogene HA Beschichtung

Referenzprobe

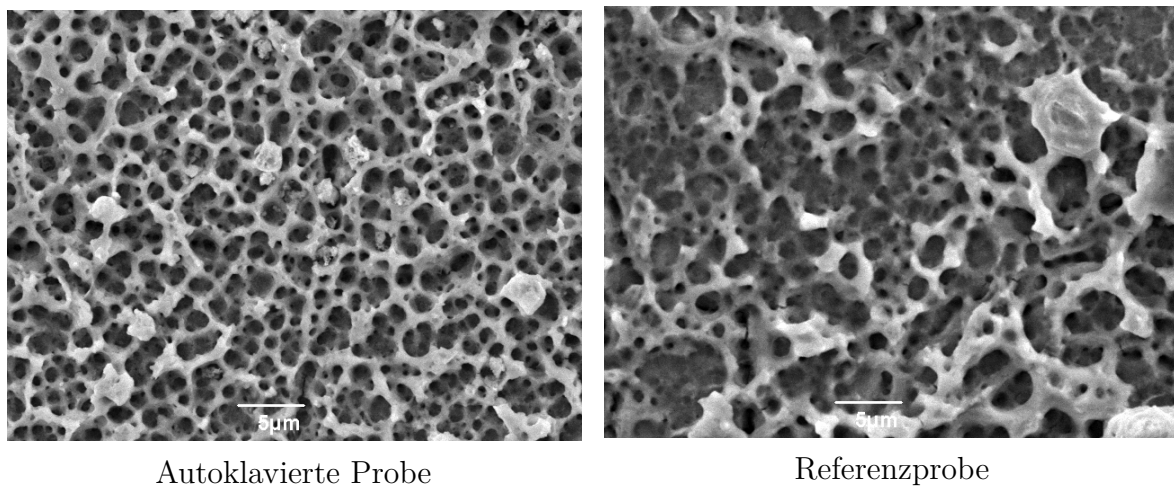
**Abbildung 6.14:** REM Aufnahmen einer gezogenen und einer nicht gezogenen HA Beschichtung

Durch das Ziehen der Probe geht die porenartige Struktur der Beschichtung verloren. Des Weiteren sind die Korngrenzen des Edelstahlsubstrats zu erkennen, was durch ein Ablösen der Beschichtung geschieht. Jedoch sind auf der Probe noch einzelne Rückstände

zu erkennen. Da die Beschichtung durchgehend porös ist, war dieses Ergebnis zu erwarten. Die Rückstände auf der Probe lassen jedoch darauf vermuten, dass sobald die Beschichtung ohne Porenstruktur auf der Oberfläche abgeschieden wird, die Haftung deutlich verbessert wird.

## 6.9 Sterilisierbarkeit der HA Beschichtungen

Da Implantate vor ihrem Einsatz im Körper sterilisiert werden müssen, sind in Abbildung 6.15 REM Aufnahmen vor und nach dem Autoklavierenprozess aufgezeigt.



**Abbildung 6.15:** REM Aufnahmen der HA Beschichtung nach und vor dem Autoklavieren

Die Beschichtung zeigt auch nach dem Autoklavieren noch die typische Porenstruktur auf. Optisch sind kaum Unterschiede festzustellen und auch die Kontaktwinkel sind vor und nach dem Autoklavieren nahezu identisch. Vor dem Autoklavieren beträgt der Kontaktwinkel  $36,1^\circ \pm 7,3^\circ$  ( $n=8$ ) und danach  $37,2^\circ \pm 6,1^\circ$  ( $n=10$ ). Der Autoklavierprozess ändert also weder die Morphologie noch die Benetzbarkeit der Beschichtung und stellt daher eine vielversprechende Sterilisationsmethode für die HA Beschichtung dar. Des Weiteren zeigt die Schicht keine Veränderung nach einer thermischen Sterilisation, welche vor jedem zellbiologischen Versuch durchgeführt wurde.

# 7 Kombinationsbeschichtungen

Die mittels Plasma erzeugten Schichten weisen ein großes Potenzial für die Anwendung in der Medizintechnik auf, jedoch hat jede Schicht Optimierungspotenzial. Durch die Kombination von verschiedenen Beschichtungsmaterialien können die einzelnen Schwachstellen ausgemerzt und neuartige Beschichtungen generiert werden.

## 7.1 Plasmabeschichtungen aus einem Siloxan/Titandioxidprecursor

Titandioxid ist eines der meist verwendeten Materialien für Knochenimplantate. Jedoch bilden sich beim Abscheiden mittels Openair Plasma häufig keine homogenen Schichten, sondern vielmehr einzelne Partikel auf der Oberfläche aus. Dies kann durch das Mischen mit einer zweiten Komponente, welche polymerartige Schichten ausbildet, optimiert werden. In dieser Arbeit wurde ein Siloxan verwendet, was dafür sorgt, dass die Partikel eingebettet und teilweise in die Siloxanstruktur integriert werden, was zu einer neuartigen Beschichtung führt. Des Weiteren kann die Mischung aus Titandioxid und Siliziumdioxid die Biokompatibilität bzw. die Zelladhäsion steigern.[178]

## 7.2 Herstellung des Precursorsols

Das Precursorsol wird in Anlehnung an die Veröffentlichung von Yang et al. [179] hergestellt. Zuerst werden 50 mL ultrareines Ethanol in ein Becherglas vorgelegt und mittels Magnetrührer gerührt. Als nächstes werden 3,9 mL Titantertiisopropyl (TTIP) hinzugegeben, was zu einer milchigen Verfärbung der Lösung führt. Durch tropfenweise Zugabe von 65%iger Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ), insgesamt 0,6 mL, wird die Lösung wieder entfärbt. Das Gemisch wird für 30 Minuten gerührt. Anschließend werden 14,9 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) hinzugegeben und das Sol wird für weitere 30 Minuten gerührt. Das fertige Sol wird verschlossen in einem Feuerschutzschrank bis zur Verwendung gelagert.

## 7.3 Plasmaparameter zur Abscheidung der SiTi Beschichtungen

Der Precursor wird gasförmig über einen Verdampfer in die Plasmadüse eingeleitet. Als Ionisationsgas wird Druckluft und als Trägergas Stickstoff verwendet. Die Parameter sind in Tabelle 7.1 gelistet.

**Tabelle 7.1:** Plasmaparameter zur Abscheidung von SiTi Beschichtungen

	PP	PCT	$U$	$d$	$\dot{V}_{Luft}$	$\dot{V}_N$	$\dot{M}_{Precursor}$	$T_{Verdampfer}$
	kHz	%	%	mm	L/h	L/h	g/h	°C
SiTi27	23	100	86	20	2000	300	40	240
SiTi28	19	35	80	20	2500	300	40	240

Hierbei steht PP für die Plasma Power, PCT für die Plasma Cycle Time,  $U$  für die Spannung,  $d$  für den Abstand zwischen Probe und Austritt der Plasmaflamme,  $\dot{V}_{Luft}$  für den Volumenstrom des Ionisationsgases,  $\dot{M}_{Precursor}$  für den Massenstrom des Precursors und  $T_{Verdampfer}$  für die Verdampfer Temperatur.

Die Proben wurden jeweils für drei Sekunden unter das Plasma gehalten, um eine dickere Schicht zu erzielen. Im Falle von größeren Proben wurde bei einer Verfahrgeschwindigkeit der Probe von 1,5 m/s viermal beschichtet. Es wurden zwei Parametereinstellungen gewählt, SiTi27 und SiTi28, die sich in der Plasmaenergie unterscheiden. Bei SiTi27 handelt es sich um ein höher energetisches Plasma und bei SiTi28 um ein niederenergetischeres Plasma.

## 7.4 Anwendungen der SiTi Beschichtungen

Kombinationsbeschichtungen sind eine gute Option um unterschiedlichste Eigenschaften in einem Material zu vereinigen.

Beschichtungen aus  $\text{SiO}_2$  und  $\text{TiO}_2$  können zum Erreichen verschiedenster Ziele verwendet werden. Beispiele hierfür sind die Steigerung der Korrosionsbeständigkeit, die Verbesserung der Biokompatibilität von Implantaten und die Reduktion von Reflektionseffekten [180, 181].

Aufgrund der photokatalytischen Eigenschaft dieser Beschichtungen finden sie im Bereich der Wasser- und Luftaufbereitung Anwendung [32, 182]. Die Beschichtungen können organische Substanzen zersetzen und damit Schadstoffe aus der Luft, dem Wasser oder von Oberflächen entfernen.

Die hervorragenden optischen Eigenschaften dieser Kombinationsschichten führen des weiteren zu einer Anwendung im Bereich der Lichtleiter, der photonischen Kristalle und der Sensoren [179, 183, 184]

Zu den möglichen Herstellungsverfahren zählen die chemische Gasphasenabscheidung (CVD), die plasmagestützte CVD (PE-CVD), die physikalische Gasphasenabscheidung und das Sol-Gel Verfahren.

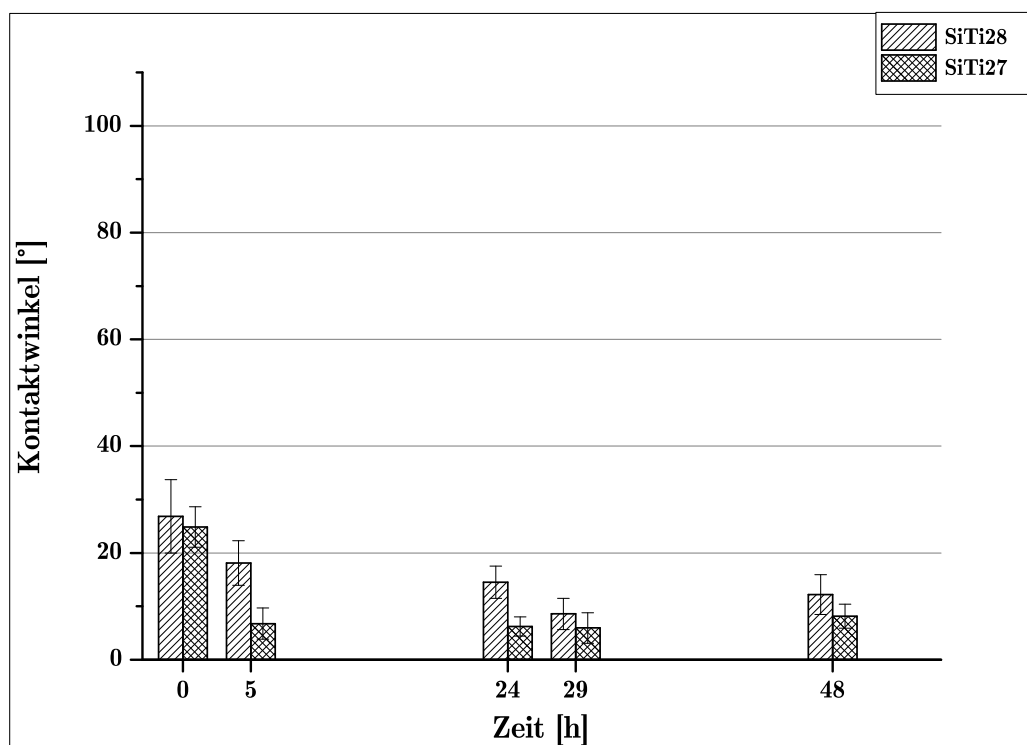
Bezüglich der Precursor gibt es viele verschiedene Herangehensweisen [185]. Denis et al. [186] und Dembele et al. [187] haben Titandioxidnanopartikel und Tetraethylorthosilicat (TEOS) als Precursor verwendet und die Beschichtung mittels PE-CVD

erzeugt. Zhao et al. [180] haben ebenfalls das PE-CVD Verfahren angewendet, jedoch Titandioxid und Siliziumdioxid in Form von Nanopartikeln eingebracht. Yang et al. [179] und Ääritalo et al. [188] hingegen verwenden das Sol-Gel Verfahren und hierfür die zwei flüssigen Precursor TEOS und Titaniumtertiisopropyl (TTIP).

Ein großer Vorteil in der Verwendung von zwei flüssigen Precursoren bietet die mögliche Reaktion zwischen Titan und Silizium, was zu Si-O-Ti Bindungen führen kann [188].

## 7.5 Chemische Charakterisierung der SiTi Beschichtungen

Die Beschichtungen wurden chemisch analysiert, um die entstehenden Bindungen zu detektieren und ein mögliches biologisches Verhalten zu erklären. Der Kontaktwinkel gibt Aufschluss über die Benetzbarkeit der Beschichtung, welche essenziell für das Anwachsen von Zellen ist. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7.1 für 48 Stunden dargestellt.



**Abbildung 7.1:** Kontaktwinkelmessung der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung über 48 Stunden,  $n=10$

Der Kontaktwinkel wird zehnmal ( $n=10$ ) direkt nach der Beschichtung, fünf Stunden danach, 24 Stunden danach, 28 Stunden danach und 48 Stunden danach gemessen.

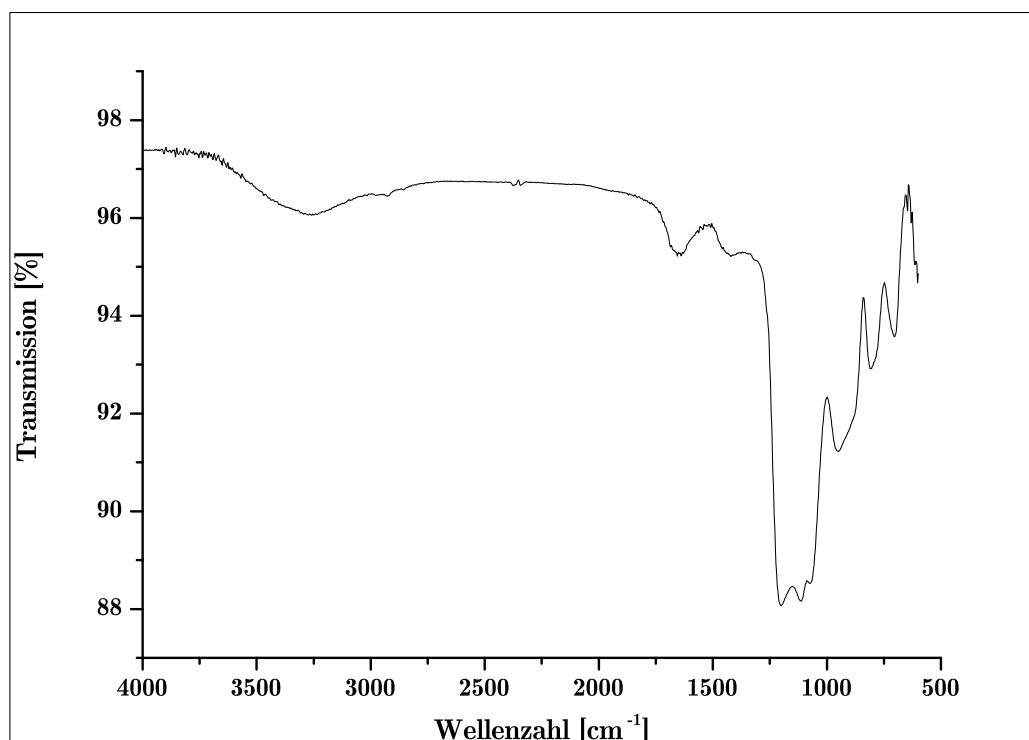
Sowohl SiTi27 wie auch SiTi28 zeigen über die Messzeit ein hydrophiles Verhalten (Kontaktwinkel unter  $90^\circ$ ). Zu Beginn weist SiTi27 einen Kontaktwinkel von  $24,88^\circ \pm 3,77^\circ$

auf, welcher nach fünf Stunden auf  $6,77^\circ \pm 2,92^\circ$  sinkt und auch nach 29 Stunden konstant bleibt. Nach 48 Stunden ist ein leichter Anstieg auf  $8,16^\circ \pm 2,23^\circ$  zu erkennen.

Im Falle von SiTi28 ist ein ähnliches Verhalten zu erkennen. Zu Beginn beträgt der Kontaktwinkel  $26,67^\circ \pm 6,85^\circ$ . Dieser fällt kontinuierlich ab auf einen Wert von  $8,60^\circ \pm 2,91^\circ$  nach 29 Stunden. Danach steigt der Kontaktwinkel auf einen Wert von  $12,19^\circ \pm 3,73^\circ$  nach 48 Stunden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass beide Beschichtungen bis 29 Stunden nach der Beschichtung hydrophiler werden. Danach steigt der Kontaktwinkel wieder leicht an. SiTi27 ist zu jedem Zeitpunkt hydrophiler, was durch die höhere Plasmaenergie bedingt sein kann, welche im Allgemeinen zu einer höheren Aktivierung und weniger Kohlenstoff in der Beschichtung führen kann.

Die chemische Zusammensetzung wurde mittels FT-IR Messung und XPS Messung bestimmt. Bei der FT-IR Messung sind nur die Ergebnisse für SiTi28 dargestellt, da die Peaks für SiTi27 identisch sind. Der quantitative Unterschied zwischen den Beschichtungen wurde mittels XPS evaluiert, da diese Messmethode oberflächensensitiver ist. Das Spektrum der IR Messung ist in Abbildung 7.2 ersichtlich.



**Abbildung 7.2:** IR Spektrum der SiTi27 Beschichtung

Das IR-Spektrum weist einen breiten Peak im Bereich von  $3000\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$  auf, welcher den OH-Gruppen zugewiesen werden kann [186, 189].



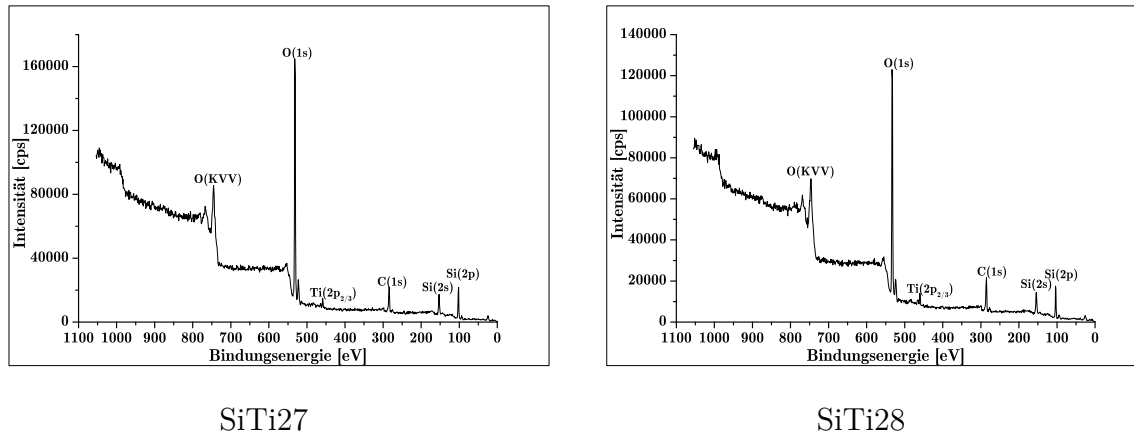
Der Peak im Bereich von ca.  $1000\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$  kann in drei Einzelschwingungen unterteilt werden. Erstens die O-Si-O und Si-O Schwingungen, welche im Bereich von ca.  $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  liegen, zweitens die Si-O-Si asymmetrischen Streckschwingungen, welche im Bereich von ca.  $1200\text{ cm}^{-1}$  liegen und drittens die C-C Schwingungen, welche im Bereich von ca.  $1170\text{ cm}^{-1}$  liegen [183, 186, 187, 189].

Der breite Peak im Bereich von  $840\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  beinhaltet den Peak bei ca.  $940\text{ cm}^{-1}$ , welcher für die Ti-O-Si Schwingung steht und den bei  $960\text{ cm}^{-1}$ , welcher für die Si-OH Streckschwingung steht [179, 183, 185, 189]

Der Peak bei  $1655\text{ cm}^{-1}$  kann absorbiertem Wasser zugeschrieben werden [179]. Die restlichen Peaks sind ebenfalls im TEOS vorhanden und können diesem oder dem Bulkmaterial (Siliziumwafer) zugeordnet werden.

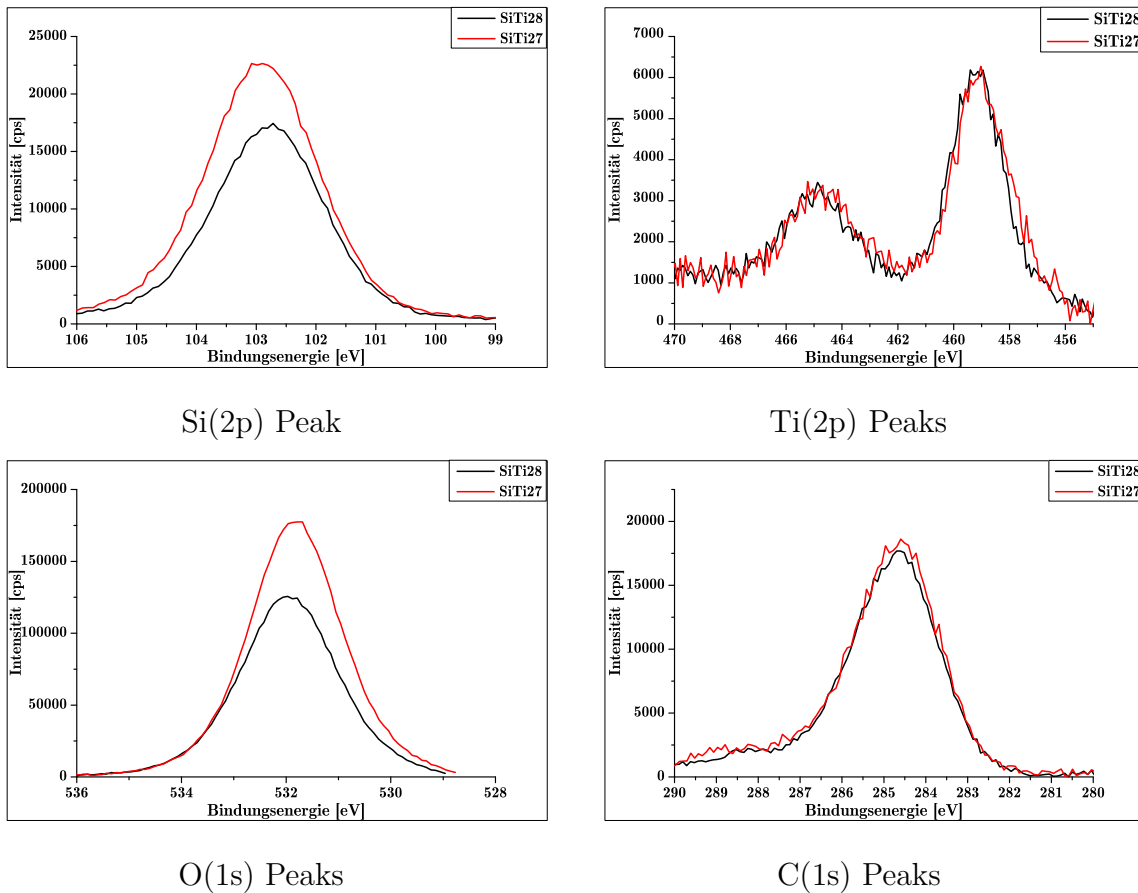
Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich neben Si-O und Ti-O Bindungen auch Si-O-Ti Bindungen ausbilden. Diese Tatsache lässt darauf schließen, dass sich eine Mischschicht aus beiden Oxiden und nicht aus zwei separaten Phasen bildet. Dieses Phänomen wurde in der Literatur ebenfalls beschrieben, bei der Abscheidung von einem Siliziumoxidprecursor und einem Titanprecursor, siehe [179, 185].

Der Einfluss der Beschichtungsparameter und die quantitative Beurteilung der Beschichtungskomponenten wurde mittels XPS durchgeführt. Die Übersichtsspektren der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung sind in Abbildung 7.3 dargestellt.



**Abbildung 7.3:** XPS Übersichtsspektren der SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen

Sowohl SiTi27 wie auch SiTi28 zeigen O(KVV) Peaks, O(1s) Peaks, C(1s) Peaks, Ti(2p) Peaks, Si(2p) Peaks und Si(2s) Peaks auf. Um eine genaue Analyse durchführen zu können, wurden Detailspektren aufgenommen und miteinander verglichen, siehe Abbildung 7.4.



**Abbildung 7.4:** XPS Detailspektren von SiTi27 und SiTi28 im Vergleich

Die C(1s) Peaks wurden auf 284,5 eV gesetzt um mögliche Aufladungen zu kompensieren [183].

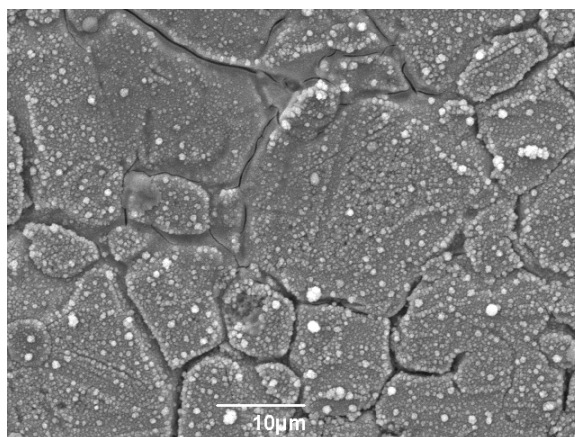
Der Ti(2p) Peak besitzt für SiTi27, wie auch für SiTi28 zwei Maxima, bei 459,1 eV und 464,8 eV. Das erste Maxima kann Ti(2p<sub>1/2</sub>) und das zweite Ti(2p<sub>3/2</sub>) zugewiesen werden. Die Peaks liegen genau 5,7 eV auseinander, was für Titandioxid spricht, siehe auch Abschnitt 5.5. Die Ti(2p) Peaks sind jedoch im Vergleich zu purem Titandioxid verschoben, was vermutlich der Anwesenheit von Si-O-Ti Bindungen geschuldet ist. Hierauf deuten auch die Verschiebungen der O(1s) Peaks und Si(2p) Peaks hin. [181, 183, 188]

Der O(1s) Peak liegt im Falle von SiTi27 bei 532,0 eV und für SiTi28 bei 531,8 eV. Beide Peaks sind relativ breit, was für eine Vielzahl von unterschiedlichen Sauerstoffbindungen spricht. Diese Verschiebungen, abhängig vom Verhältnis zwischen Ti und Si, wurden bereits von Ääritalo et al. [188] berichtet. Diese zeigen, dass der O(1s) Peak bei purem Titandioxid von 529,8 eV durch die Zugabe von Siliziumoxid zu höheren Werten verschoben wird. Li et al. [183] konnten den Peak bei 529,7 eV den Ti-O-Ti Bindungen zuweisen, den bei 531,7 eV O aus Karbonatgruppen und den bei 532,5 eV Si-O-Si Bindungen. Auch bei den hier erzeugten Beschichtungen kann davon ausgegangen werden, dass alle drei Bindungen auftreten. SiTi27 weist jedoch anteilig mehr Ti-O-Ti auf, als SiTi28.

Der Si(2p) Peak verfügt, für SiTi27, über ein Maximum bei 102,9 eV und für SiTi28 eins bei 102,8 eV. In der Literatur wird beschrieben, dass durch die Anwesenheit von Titan in der Beschichtung der Peak zu niedrigeren Werten verschoben wird (Ausgangswert 103,2 eV) [183].

Der Vergleich der Beschichtungen lässt darauf schließen, dass die Menge an Titanverbindungen und Kohlenstoffverbindungen nahezu identisch ist und die SiTi27 Beschichtung nur einen höheren Anteil an Siliziumverbindungen und Sauerstoffverbindungen aufweist. Am wahrscheinlichsten ist es jedoch, dass die vermessenen SiTi27 Beschichtung dicker war als die SiTi28 Beschichtung. Dies kann auf die statische Beschichtung und die unterschiedlichen Plasmaparameter zurückgeführt werden. SiTi28 wurde mittels niedriger energetischem Plasma abgeschieden, daher sollte hier mehr Kohlenstoff in der Beschichtung vorkommen, was durch Anpassung der Dicke, gleichsetzen der Si(2s) Peaks, auch der Fall ist. Dieses Phänomen wurde mittels HMDSO vielfach dokumentiert und in Abschnitt 4.4 beschrieben.

Die Morphologie der Beschichtungen wurde mittel REM untersucht und die Aufnahme der SiTi28 Beschichtung ist in Abbildung 7.5 dargestellt.



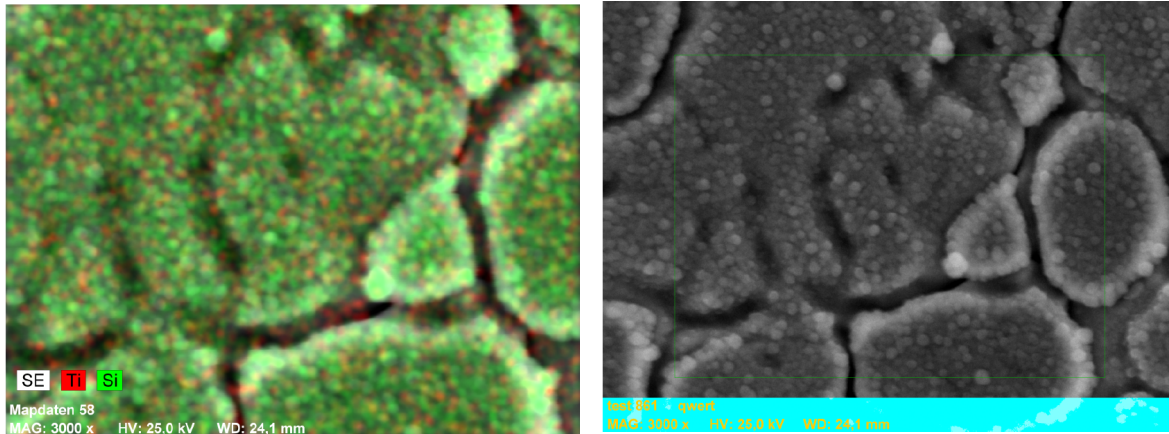
**Abbildung 7.5:** REM-Aufnahmen der SiTi27 Beschichtung

Die Beschichtung weist eine geschlossene Beschichtung mit vielen einzelnen Partikeln im Nanometerbereich auf. Diese Topographie entsteht nur durch sehr langsames Fahren oder halten der Probe unter der Plasmaflamme.

Es wurde sich für diese Art der Beschichtung entschieden, da die Oberflächentopographie eine bedeutende Rolle bei der Interaktion von biologischem Gewebe mit dem Implantat spielt. Durch die hohe Rauigkeit der Oberfläche ist diese größer und bietet mehr Fläche zur Verankerung im Knochen bzw. umliegenden Gewebe.

Eine nanostrukturierte Oberfläche kann die Benetzung steigern. In den vorliegenden Beschichtungen wurde dies mittels Kontaktwinkelmessungen bewiesen. Durch den erhöhten Kontaktwinkel ist die Proteinadsorption begünstigt, was das Anwachsen der Zellen verbessern kann.[180, 190]

Um die Verteilung der Elemente Silizium und Titan festzustellen, wurde von der SiTi27 Beschichtung zusätzlich zur REM Aufnahme auch ein EDX Mapping durchgeführt, siehe Abbildung 7.6.



REM Aufnahme SiTi27

EDX Mapping SiTi27

**Abbildung 7.6:** REM Aufnahme und EDX Mapping der SiTi27 Beschichtung

Die Morphologie der SiTi27 Beschichtung ist identisch zur SiTi28 Beschichtung. Das EDX Mapping zeigt eine homogene Verteilung der Si (grün) und Ti (rot) Atome auf der Oberfläche, wobei zu erkennen ist, dass deutlich weniger Ti sich auf der Oberfläche befindet als Si. Dies ist zu erwarten, da die Precursoren in einem Verhältnis von 5:1 (Si-Precursor:Ti-Precursor) gemischt wurden.

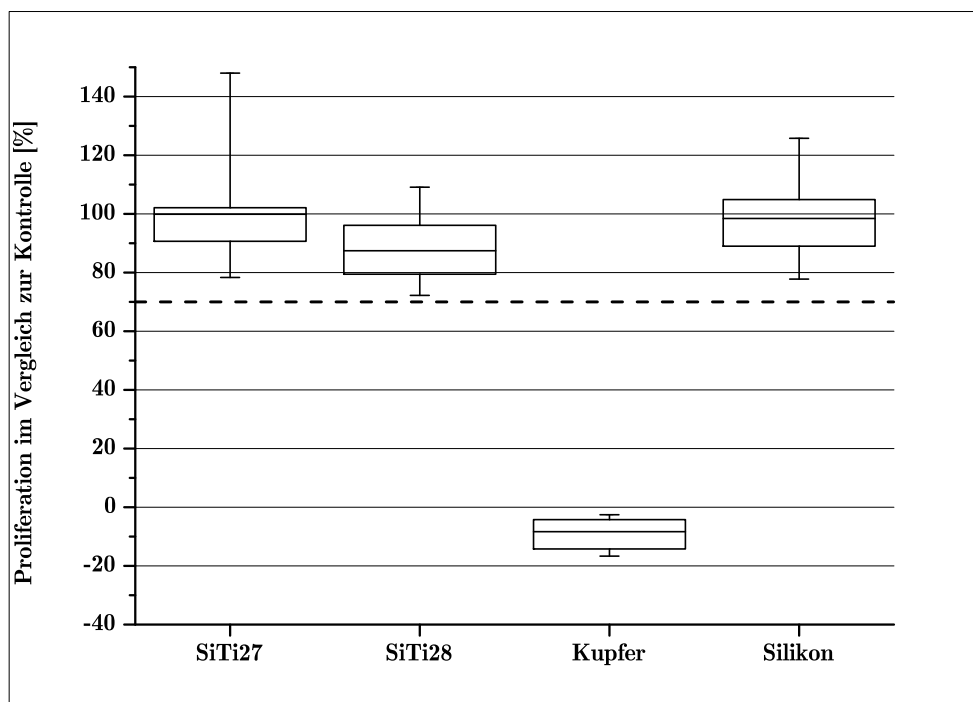
Des Weiteren wurden XRD Messungen angefertigt, in diesen konnte jedoch keine kristalline Struktur nachgewiesen werden. Yang et al. [179], welche SiTi Beschichtungen mittels Sol-Gel Verfahren hergestellt haben, konnten ebenfalls nur amorphe Strukturen nachweisen und erst durch ein Tempern bei 700°C kristalline Strukturen erreichen. Wang et al. [191] haben dasselbe Phänomen bei der Abscheidung mittels Helicon Plasmasputtern vorgefunden sowie Chen et al. [192], welche die Beschichtungen mittels Elektronenstrahlverdampfung erzeugt haben.

## 7.6 Biologische Evaluierung der SiTi Beschichtungen

Die Eignung einer Beschichtung für Implantate wird durch biologische in vitro und in vivo Versuche validiert. In der vorliegenden Arbeit wurde die Zytotoxizität bestimmt und das Anwachsverhalten von Zellen auf der Oberfläche. Diese beiden Versuche sind erste Indikatoren für die Eignung der Beschichtung auf Implantaten.

### 7.6.1 Zytotoxizitätsbestimmung der SiTi Beschichtungen

Die Beschichtungen wurden auf ihre Zytotoxizität mittels CCK-8 Test nach DIN EN ISO 10993-5 untersucht. Die Ergebnisse hierzu sind in Abbildung 7.7 ersichtlich.

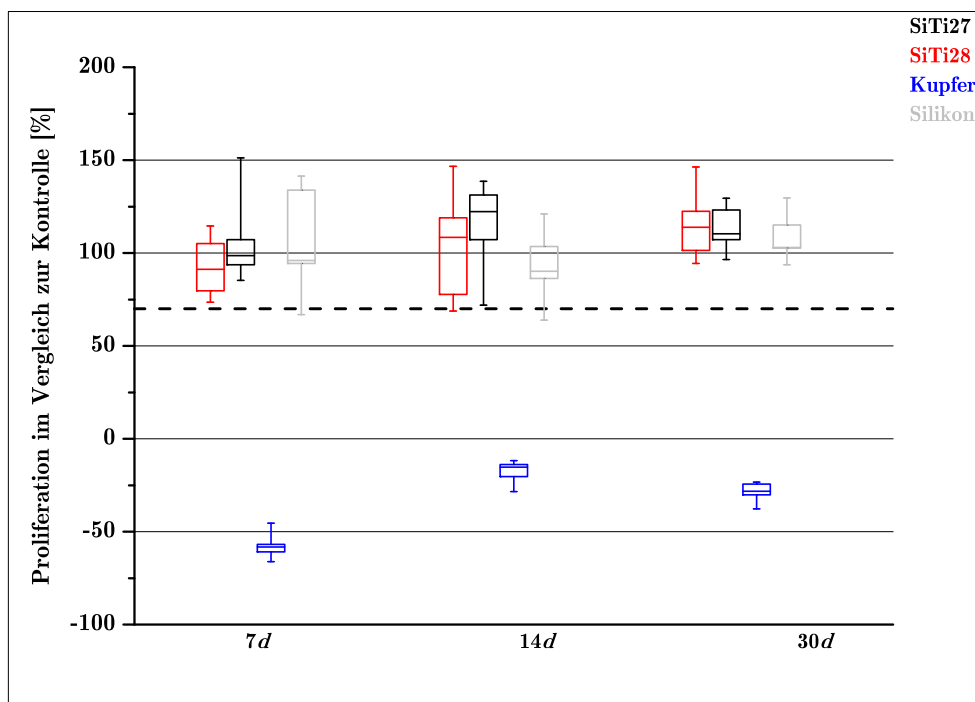


**Abbildung 7.7:** Ermittlung der Zytotoxizität der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung mittels CCK-8 Test,  $i=3$ ,  $n=5$

Die Ergebnisse wurden auf ein mit Zellen besiedeltes Well einer Wellplatte bezogen. Des Weiteren wurde zur Kontrolle eine positiv (Kupfer) und eine negativ (Silikon) Probe mitgeführt. Der Versuch wurde dreimal wiederholt ( $i=3$ ) mit jeweils fünf Proben ( $n=5$ ).

Die Ergebnisse zeigen, dass alle Werte oberhalb der Zytotoxizitätsgrenze (70%) liegen und damit keine Zytotoxizität aufweisen. Die SiTi27 Beschichtung zeigt große Schwankungen. Diese könnten aufgrund inhomogener Beschichtungen oder einem Ablösen der Beschichtungen entstehen, wobei ersteres wahrscheinlicher ist.

Da die Beschichtungen im Körper angewandt werden sollen, müssen diese für längere Zeit auf ihre Zytotoxizität getestet werden. Hierzu wurden die Proben für sieben, 14 und 30 Tage in DMEM eingelagert und nach Verstreichen der entsprechenden Zeit mittels CCK-8 Test auf ihre Zytotoxizität überprüft. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7.8 dargestellt.



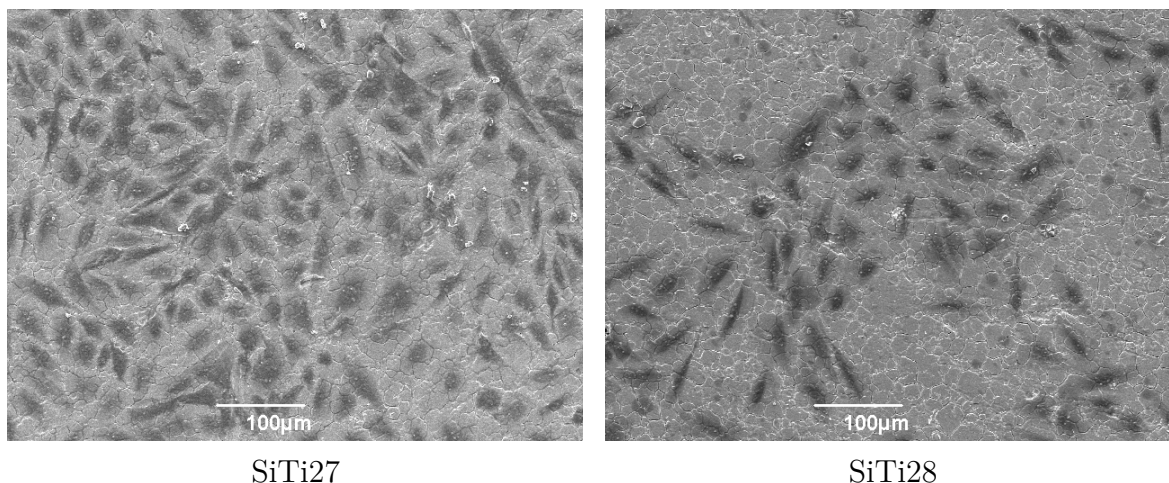
**Abbildung 7.8:** Ergebnisse des CCK-8 Tests der Eluate der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung nach 7, 14 und 30 Tagen Einlagerung,  $i=3$ ,  $n=5$

Sowohl die SiTi27, wie auch die SiTi28 Beschichtung zeigen zu keinem Zeitpunkt ein zytotoxisches Verhalten.

Jedoch sind nach sieben und 14 Tagen die Schwankungen der Werte recht hoch. Da dies bei beiden Beschichtungen und der positiv Kontrolle der Fall ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Schwankungen durch die Zellen bzw. die Versuchsdurchführung entstehen.

### 7.6.2 Adhäsionsuntersuchungen von Zellen auf den SiTi Beschichtungen

Das Anwachsverhalten der Zellen auf den Beschichtungen gibt einen Aufschluss über die spätere Integration des Implantates in den Körper. Da der Einsatz für Knochenimplantate geprüft werden soll, wurden Saos-2 Zellen verwendet. Die fixierten und getrockneten Zellen auf den Beschichtungen wurden mittels REM Aufnahmen dargestellt, siehe Abbildung 7.9.



**Abbildung 7.9:** REM Aufnahmen der Zelladhäsion von Saos-2 Zellen auf SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen

Die Zellen adhären sowohl bei SiTi27, wie auch bei SiTi28, und sind sehr voluminös. Auf der SiTi27 Beschichtung sind deutlich mehr Zellen zu erkennen, als auf der SiTi28 Beschichtung.

Um dieses Verhalten zu validieren, wurde die Zellproliferation auf den Beschichtungen mittels CCK-8 Test bestimmt ( $n=15$ ). Hierbei zeigte die SiTi27 Beschichtungen eine Proliferation, bezogen auf die Kontrolle, von  $70,48\% \pm 8,73\%$  und die SiTi28 einen von  $65,24\% \pm 10,54\%$ . Diese Werte unterstützen die Annahme, dass die Zellen die SiTi27 Beschichtung bevorzugen. Ein Grund hierfür könnte der niedrigere Kontaktwinkel sein, welcher die Zellproliferation positiv beeinflussen kann.

Ein Aspekt, welcher in der Literatur häufig aufgeführt wird, ist das Herauslösen von  $\text{SiO}_2$  [188, 193, 194]. Die herausgelösten  $\text{SiO}_2$  Nanopartikel regen das Wachstum von Knochenzellen an und sorgen daher für eine bessere und schnellere Integration des Implantates in den Knochen. Die SiTi27 Beschichtung weist anhand der XPS Ergebnisse einen höheren Anteil an  $\text{SiO}_2$  auf und dadurch ist eine größere Menge an herausgelösten  $\text{SiO}_2$  Partikeln wahrscheinlicher.

Areva et. al [193] haben SiTi Beschichtungen mittels Sol-Gel Verfahren hergestellt und dabei festgestellt, dass ein Verhältnis von 70:30 ( $\text{SiO}_2:\text{TiO}_2$ ) das Beste für Osteoblasten und ein Verhältnis von 30:70 für Fibroblasten ist. In der vorliegenden Arbeit wurde mit einem Verhältnis von 5:1 gearbeitet, dies lässt darauf schließen, dass durch Erhöhung des  $\text{TiO}_2$  Gehaltes die Ansiedlung der Zellen noch erhöht werden kann.

Im Vergleich zu reinen  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen kann in der Literatur eine deutlich bessere Adhäsion der Zellen durch Zugabe von  $\text{SiO}_2$  in die Beschichtung verzeichnet werden und auch eine Adhäsion an Weichgewebe konnte beobachtet werden [193]. Die besseren Ergebnisse im Vergleich zu reinem Titandioxid konnten auch für die hier erzeugten Beschichtungen festgestellt werden, siehe Abschnitt 5.6.2.

Eine weitere Möglichkeit die Zellproliferation zu steigern besteht in der Optimierung der Oberflächenstruktur. Zhao et al. [194] konnten durch Behandlung mittels Flusssäure eine poröse Struktur erzeugen, welche Kontaktwinkel im Bereich der Hydrophilie aufzeigten. Die Struktur könnte jedoch auch durch Variation der Plasmaparameter oder Verwendung von Schablonen optimiert werden.

Alles in allem zeigen die Beschichtungen eine gute Zelladhäsion und keine Zytotoxizität, was für den Einsatz auf Implantaten spricht.

### 7.6.3 Evaluierung der antibakteriellen Eigenschaften von SiTi Beschichtungen

Die Kombinationsbeschichtungen sollen sowohl die Integration des Implantates in den Knochen verbessern, wie auch eine antibakterielle Eigenschaft ausbilden, sodass das Infektionsrisiko bei der Implantation minimiert wird. Um diese Eigenschaft zu überprüfen, wurden Zersetzungsversuche mittels Rhodamin B durchgeführt und Besiedlungsversuche mit *E.coli*.

### 7.6.4 Zersetzungsversuche mit Rhodamin B auf den SiTi Beschichtungen

Die Zersetzungsversuche geben Auskunft über den photokatalytischen Effekt der Beschichtungen. Hierzu wurden Versuche im Dunkeln, mit UV-Licht und mit sichtbarem Licht durchgeführt. Die Ergebnisse für die Zersetzung im Dunkeln sind in Abbildung 7.10 und die für die Zersetzung unter UV-Licht in Abbildung 7.11 dargestellt.

Die Versuche wurden dreimal wiederholt ( $n=3$ ) mit jeweils drei Proben ( $i=3$ ) und zu jedem Zeitpunkt wurden dreimal  $100\mu\text{L}$  entnommen ( $j=3$ ) um die Extinktion zu bestimmen.

Die Versuche unter Ausschluss von Licht zeigen kaum Zersetzungseffekte, lediglich SiTi27 zeigt eine geringe Aktivität. Dadurch kann geschlossen werden, dass die Implantate, sobald sie im Körper sind keine photokatalytische Aktivität mehr aufweisen. Dieser Effekt ist wünschenswert, da die Implantate sobald sie im Körper sind einwachsen und nicht umliegende organische Substanzen abbauen sollen.

Der photokatalytische Effekt tritt im Allgemeinen bei  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen durch Bestrahlung mittels UV-Licht auf. Daher zeigen alle untersuchten Proben eine photokatalytische Aktivität auf.

Selbst Edelstahl weißt nach 48 Stunden Bestrahlung eine Reduktion der Extinktion von ca. 0,1 auf. SiTi28 ist stärker aktiv und reduziert die Extinktion um ca. 0,12. Den stärksten Effekt weißt SiTi27 mit einer Reduzierung um ca. 0,3 auf. Diese Ergebnisse indizieren, dass die generierten Beschichtungen einen photokatalytischen Effekt aufweisen.



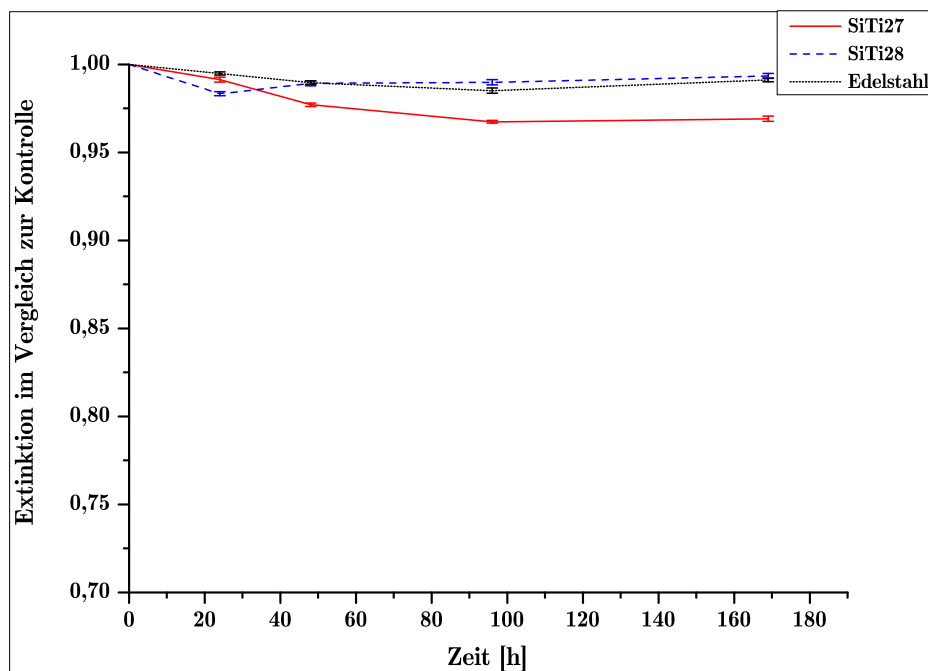


Abbildung 7.10: Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi im Dunkeln im Bezug auf die Kontrolle,  $n=3$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

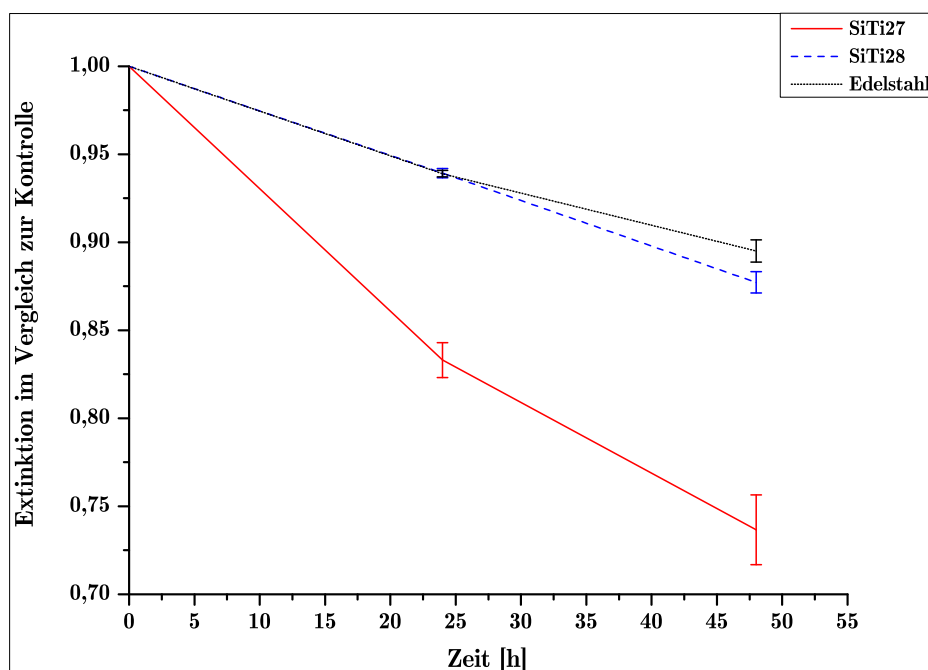
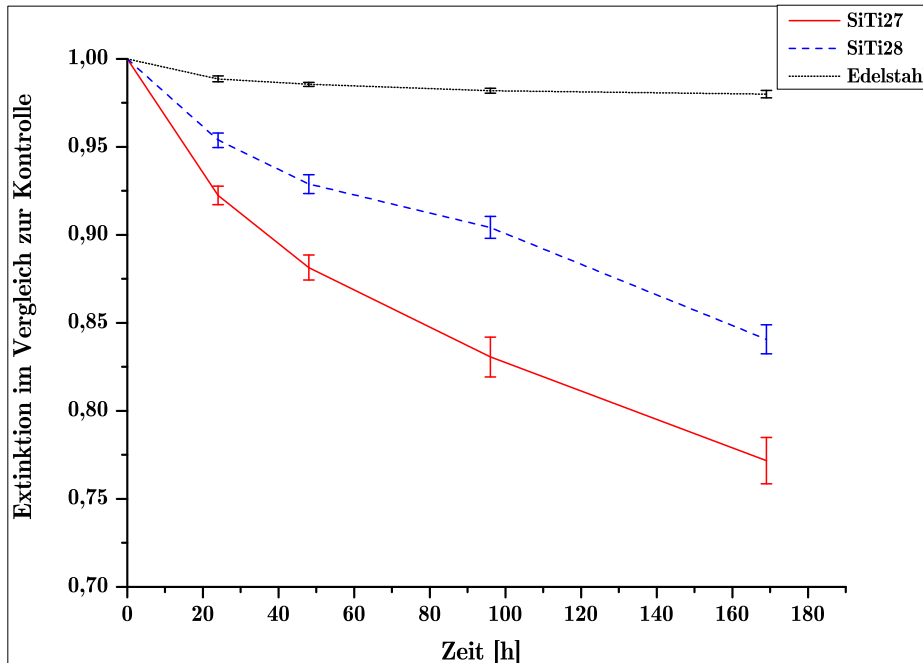


Abbildung 7.11: Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi unter UV-Licht im Bezug auf die Kontrolle,  $n=3$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

Die mittels Plasma erzeugten  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen zeigen eine Verschiebung der Aktivität ins sichtbare Licht, siehe Abschnitt 5.7.1. Dieses Phänomen wurde auch für die SiTi Beschichtungen untersucht, siehe Abbildung 7.12.



**Abbildung 7.12:** Prozentuale Zersetzung des Rhodamin B auf SiTi unter sichtbarem Licht im Bezug auf die Kontrolle,  $n=3$ ,  $i=3$ ,  $j=3$

Sowohl die SiTi27, wie auch die SiTi28 Beschichtung zeigen eine photokatalytische Aktivität bei Bestrahlung mittels sichtbarem Licht.

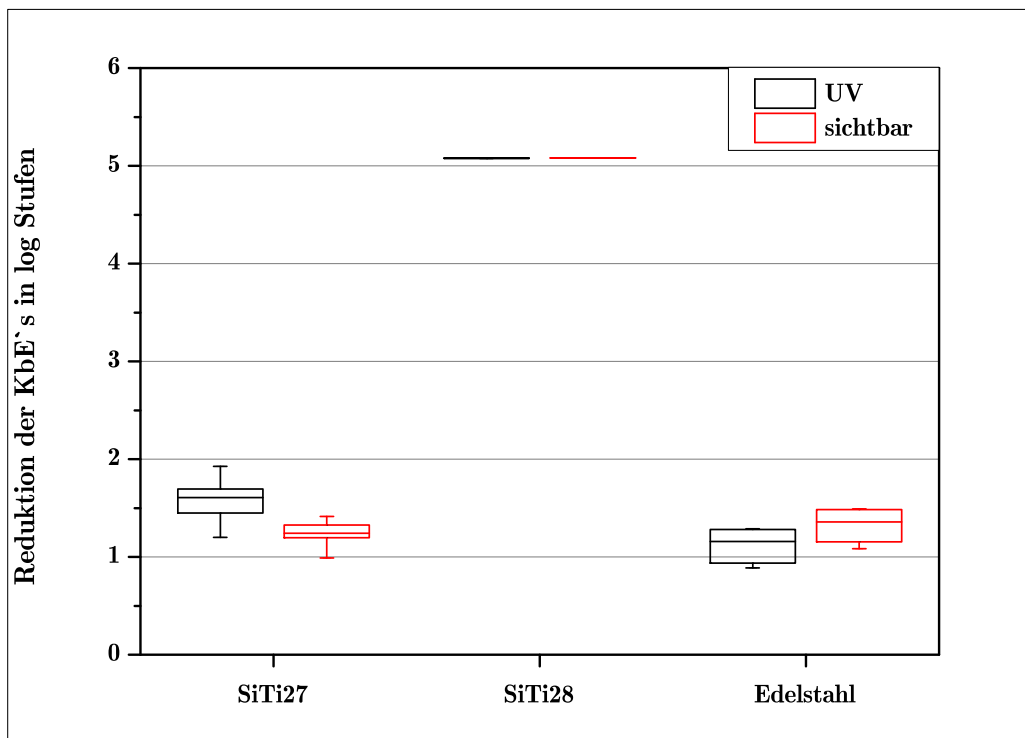
Bei SiTi27 wird die Extinktion nach 48 Stunden um ca. 0,12 reduziert und nach 196 Stunden um 0,23. Im Vergleich dazu reduziert die SiTi28 Beschichtung die Extinktion nach 48 Stunden nur um 0,07 und nach 196 Stunden um 0,16.

Die SiTi27 Beschichtung zeigt wie zuvor im UV-Licht eine deutlich stärkere Aktivität. Dies ist aufgrund des geringeren Kontaktwinkels zu erwarten. Die Dotierung lässt sich auch in diesem Fall, wie auch bei den  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen, nicht eindeutig auf Stickstoff zurückführen. Dieser konnte im XPS nicht detektiert werden, was zu der Vermutung führt, dass die Dotierung aufgrund des anwesenden Kohlenstoffs entsteht. [195]

Die Zersetzungsversuche von Rhodamin B zeigen eine photokatalytische Aktivität der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung. Vor allem die Aktivität im sichtbaren Licht ist bemerkenswert, da hiermit die Bestrahlung mittels UV-Licht wegfällt und eine Aktivierung bei Tageslicht möglich ist, was die Handhabung der beschichteten Materialien deutlich vereinfacht.

### 7.6.5 Mikrobiologische Versuche mit *E.coli* auf den SiTi Beschichtungen

Die photokatalytische Aktivität einer Beschichtung ist ein erster Indikator für eine mögliche antibakterielle Eigenschaft der Oberfläche. Um jedoch die tatsächliche antibakterielle Wirkung zu ermitteln, wurden Versuche mittels *E.coli* durchgeführt, siehe Abbildung 7.13.



**Abbildung 7.13:** Reduktion von *E.coli* auf SiTi Beschichtungen unter Bestrahlung mittels UV- und sichtbarem Licht,  $n=6$

Die schwarzen Plots zeigen die Reduktion der KbE's unter UV-Licht und die roten unter sichtbarem Licht. Hierbei ist festzustellen, dass SiTi27 bei sichtbarem Licht im Vergleich zu Edelstahl keine Reduktion aufweist und auch im UV-Licht ist nur eine minimale Reduktion zu vermerken.

Die SiTi28 Beschichtung hingegen weißt sowohl im UV-Licht wie auch im sichtbaren Licht eine starke Reduktion der Bakterien auf. Die Ergebnisse der Reduktion für SiTi28 sind nicht absolut zu betrachten, da auf den ausplattierten Agarplatten keine Bakterien nachgewiesen werden konnten. Um die tatsächliche Reduktion zu determinieren, müsste der Versuch mit einer geringeren Verdünnung wiederholt werden.

Die Ergebnisse sind wie auch bei den  $\text{TiO}_2$  Beschichtungen unerwartet, da die SiTi27 Beschichtung einen deutlich stärkeren photokatalytischen Effekt als SiTi28 aufzeigt. Bei der antibakteriellen Eigenschaft ist das Ergebnis hingegen invers. In der Literatur wird

dieses Phänomen häufiger detektiert und auf die unterschiedlichen Abbaumechanismen von Farbstoffen und Bakterien zurück geführt, siehe Abschnitt 5.7.2.

Belcarz et al. [196] konnten des Weiteren den Beschichtungen aus  $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$  eine hohe Resistenz gegenüber der Adhäsion von Bakterien nachweisen. Dies gilt jedoch hauptsächlich für die glatten Beschichtungen. Da in dem vorliegenden Fall strukturierte Beschichtungen verwendet wurden, konnte dieser Effekt nicht gezeigt werden.

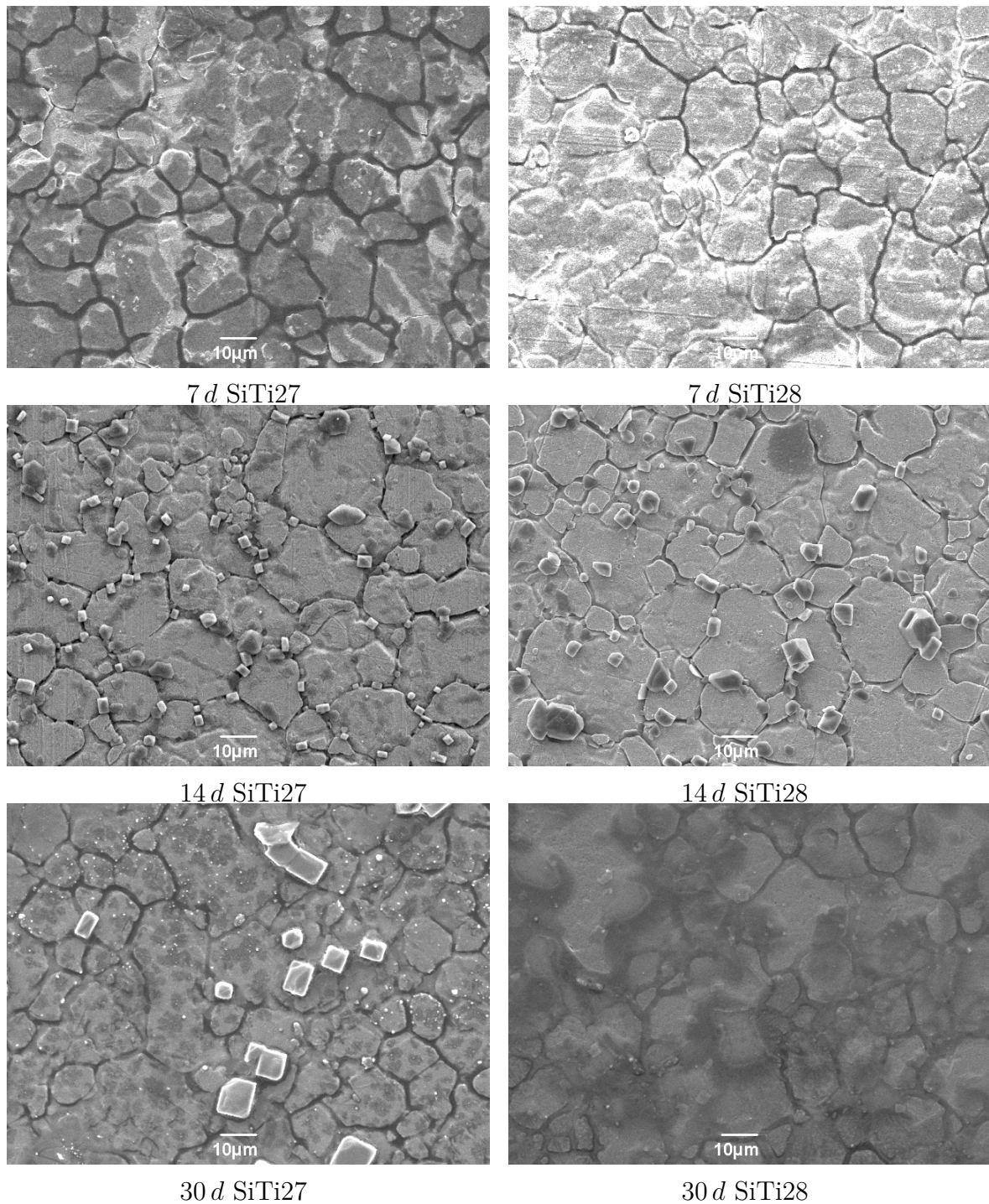
## 7.7 Beständigkeit der SiTi Beschichtungen

Die Beständigkeit der Beschichtungen im Körper ist essenziell, da abgelöste Partikel gravierende Folgen für den Patienten haben können. Um den Einfluss von Körpermedium zu testen, wurden die Implantate für sieben, 14 und 30 Tage in SBF eingelagert. Die Ergebnisse hierzu sind in Abbildung 7.14

Die SiTi27 Beschichtung zeigt nach sieben Tagen Einlagerung einen Film auf der Oberfläche. Dieser ist dünn über die gesamte Fläche verteilt. Nach 14 Tagen ist von diesem Film nichts mehr zusehen und es haben sich kristallförmige Partikel auf der Oberfläche gebildet, bevorzugt an und in den Korngrenzen. Die REM Aufnahme nach 30 Tagen zeigt sowohl einen Film auf der Oberfläche, wie auch große rechteckförmige Kristalle.

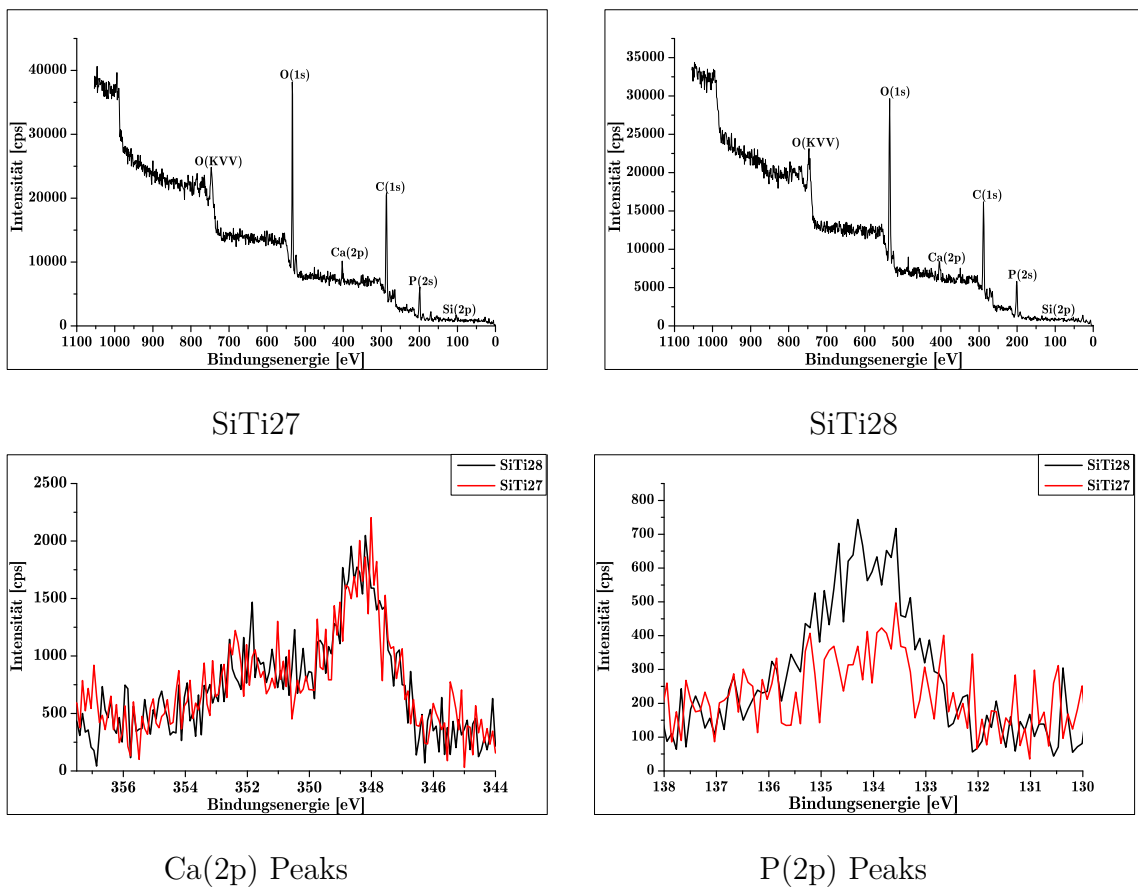
Im Falle von SiTi28 ist nach sieben Tagen ebenfalls ein Film auf der Oberfläche zu erkennen, welcher nach 14 Tagen nicht mehr vorliegt. Die REM Aufnahme der Einlagerung nach 14 Tagen zeigt große Kristalle auf der Oberfläche, welche sich wie zuvor bei SiTi27 hauptsächlich in und an den Korngrenzen anlagern. Nach 30 Tagen ist die Oberfläche vollständig mit einem Film benetzt und die Korngrenzen des Edelstahls sind nur schwer zu erkennen.

Die SiTi Beschichtungen weisen beide Anlagerungen aus dem SBF auf und keine Ablösung der Beschichtung. Die Anlagerungen bestehen vermutlich aus Kalziumphosphat [188, 193, 197]. Kawashita et al. [198] haben bei der Einlagerung der Proben nach acht Tagen eine netzwerkartige Struktur von Apatit auf der Oberfläche nachweisen können.



**Abbildung 7.14:** EM Aufnahmen der in SBF eingelagerten SiTi27 und SiTi28 Beschichtungen zu verschiedenen Zeitpunkten

Die chemische Analyse der Anlagerungen erfolgte mittels XPS Aufnahmen der 30 Tage eingelagerten Beschichtungen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7.15 dargestellt.



**Abbildung 7.15:** XPS Aufnahme der SiTi27 und SiTi28 Beschichtung nach 30-tägiger Einlagerung in SBF

Beide SiTi Beschichtungen zeigen nach der Einlagerung O(KVV), O(1s), Ca(2p), C(1s), P(2p) und Si(2p) Peaks auf. Die restlichen Peaks der Beschichtung sind nicht mehr zu erkennen, da XPS ein oberflächensensitives Verfahren ist und die Oberfläche, wie in den REM Aufnahmen zu sehen, größtenteils mit Anlagerungen aus dem SBF bedeckt ist.

Das Auftreten der Ca(2p) und P(2p) Peaks lässt auf eine Anlagerung aus Kalziumphosphat schließen. Da die Signale der Kalziumphasen sich kaum unterscheiden, ist es nicht möglich die vorliegende Verbindung zu bestimmen.

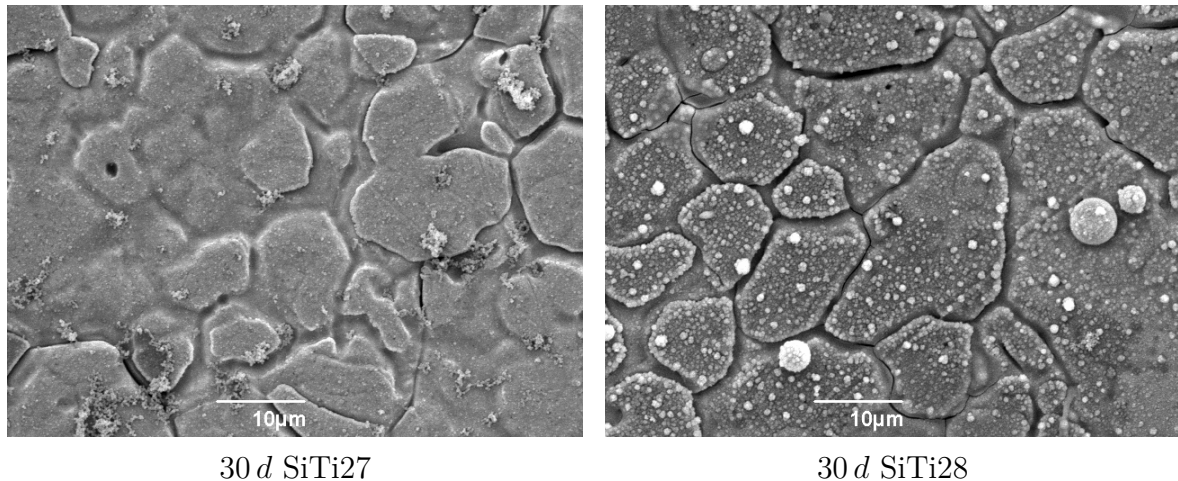
Durch Vergleich der Ca(2p) und P(2p) Peaks ist ersichtlich, dass die Menge an Kalzium bei beiden Beschichtungen identisch ist. Lediglich die Menge an Phosphor ist für SiTi28 höher.

Ääritalo et al. [188] konnten bei den von ihnen, mittels Sol-Gel Prozess, hergestellten SiTi Beschichtungen bereits nach zwei Tagen eine Anlagerung von Kalziumphosphat feststellen.

Da die Anlagerung von Kalziumphosphat aus SBF ein Indikator für eine gute Osseointegration ist, weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die Beschichtungen großes Potenzial für den Einsatz auf Knochenimplantaten aufweisen.

Die Beschichtungen können sowohl im REM, wie auch im XPS teilweise nachgewiesen werden, sodass davon ausgegangen werden kann, dass kein beziehungsweise kein sichtbares Ablösen der Beschichtungen stattfindet.

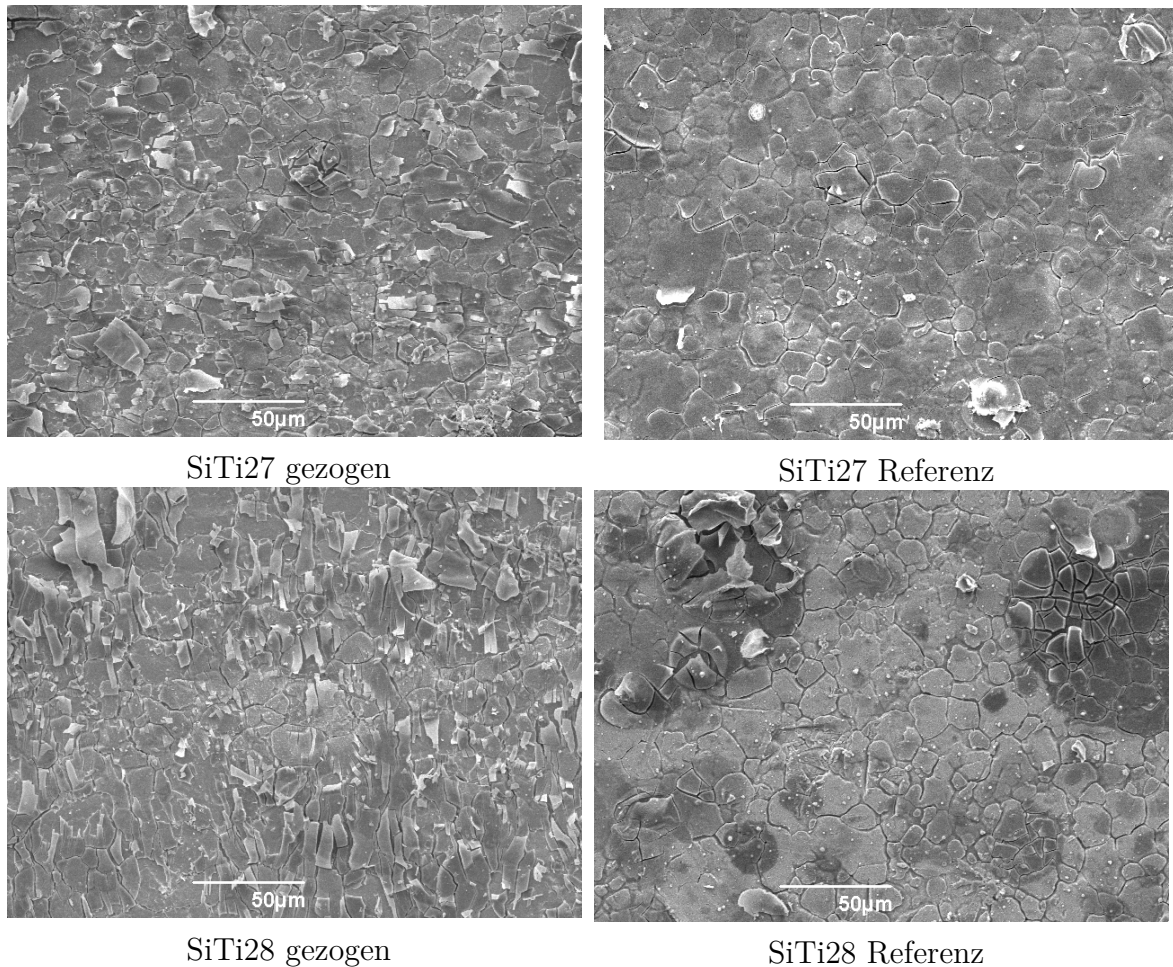
Da medizinische Werkstoffe häufig desinfiziert werden müssen, wurde die Beständigkeit gegen Desinfektionsmittel exemplarisch für 70%iges Isopropanol getestet. Hierzu wurden die Proben für sieben, 14 und 30 Tage bei 37° eingelagert. Die REM Aufnahmen der für 30 Tage eingelagerten Proben sind in Abbildung 7.16 ersichtlich.



**Abbildung 7.16:** Einlagerung der SiTi Beschichtungen für 30 Tage in 70%igem Isopropanol

Die SiTi27 Beschichtung weist Ablagerungen aus dem Isopropanol auf. Des Weiteren sieht man hier im Vergleich, dass die Partikel bei der SiTi27 Beschichtung deutlich kleiner sind als bei SiTi28. Dies ist jedoch auf den Beschichtungsprozess zurückzuführen. Beide Beschichtungen zeigen kein optisches Ablösen, was darauf schließen lässt, dass die Oberflächen mit Isopropanol desinfiziert werden können.

Neben der Beständigkeit im Körper und gegen Desinfektionsmittel ist es vor allem bei lasttragenden Implantaten wichtig, dass die Beschichtungen auch bei Belastung beständig sind. Dies wurde durch Zugversuche geprüft, siehe Abbildung 7.17.



**Abbildung 7.17:** REM Aufnahmen der mit SiTi27 und SiTi28 beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch

Beide Beschichtungen zeigen nach dem Zugversuch ein deutliches Ablösen der Beschichtung. Die Beschichtungen verhalten sich wie Farbe, welche abblättert. Jedoch kann durch genaueres Betrachten festgestellt werden, dass die SiTi27 Beschichtung besser haftet als die SiTi28 Beschichtung.

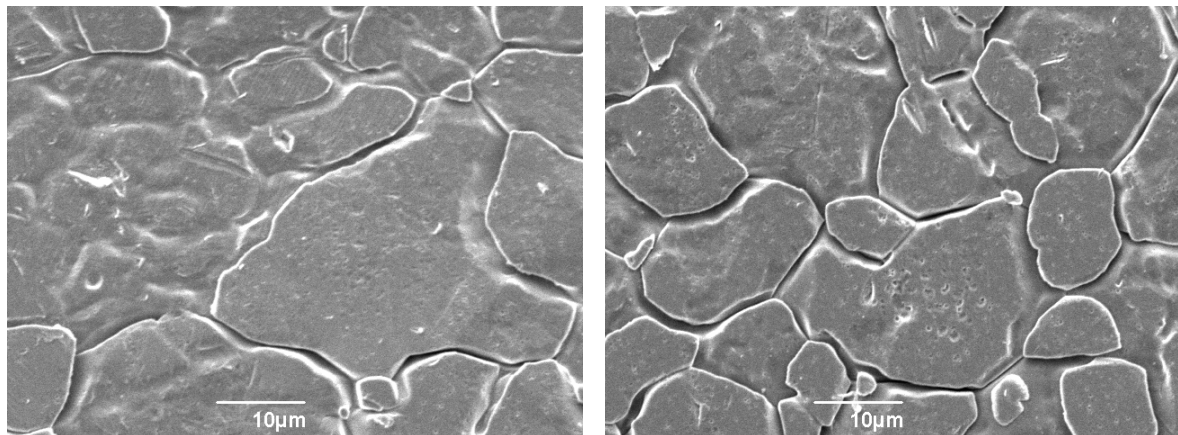
Die Beschichtungen zeigen vor dem ziehen Inhomogenitäten und bei SiTi28 sogar ein Aufplatzen der Schicht. Es kann davon ausgegangen werden, dass entweder die Substrattemperatur nicht optimal war oder die der Düse. Vermutlich gab es vor allem bei SiTi28 Verstopfungen in der Düse, was zu einem Tropfen geführt hat.

Das Ablösen der Beschichtung hat vermutlich mit der Dicke und Inhomogenität zu tun. Um dies zu überprüfen, wurde die SiTi28 Beschichtung dünner aufgetragen und erneut gezogen. Die Probe wurde hierzu einmal mit 10 m/min durch die Plasmaflamme gefahren. Die Ergebnisse hierzu sind in Abbildung 7.18 dargestellt.

Die einmal beschichtete SiTi28 Beschichtung zeigt kein Abplatzen der Beschichtung. Und die Oberfläche ist vor und nach der Zugbeanspruchung identisch. Daraus lässt sich schließen, dass die Schichten bis zu einer zu bestimmenden Dicke gut anhaften.



Die Haftung kann des Weiteren durch Vortemperierung des zu beschichteten Materials optimiert werden oder durch Temperschritte nach der Beschichtung.



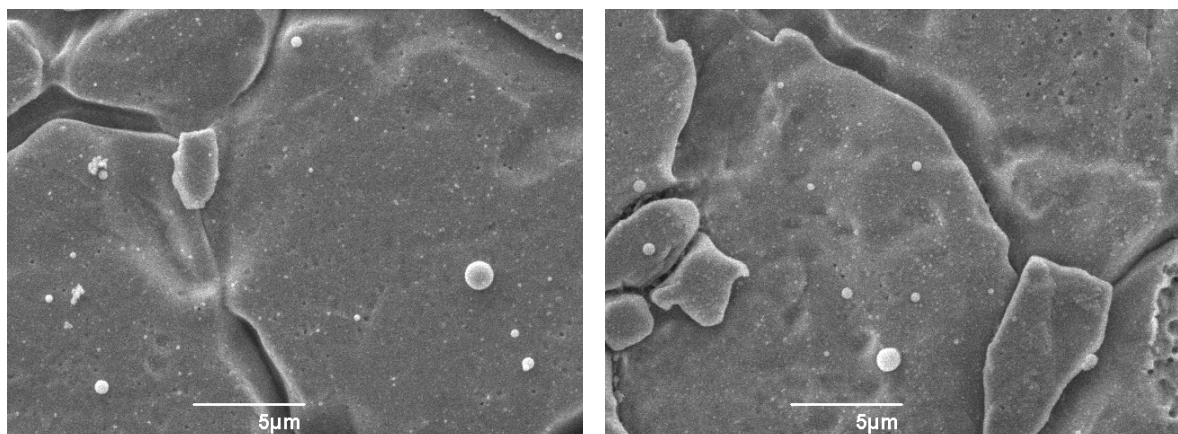
SiTi28 (1x beschichtet) gezogen

SiTi28 (1x beschichtet) Referenz

**Abbildung 7.18:** REM Aufnahmen der einmal mit SiTi28 beschichteten Zugstäbe nach und vor dem Zugversuch

## 7.8 Sterilisierbarkeit der Beschichtungen

Die Sterilisierbarkeit der Beschichtungen ist für die Anwendung als Implantat essenziell. Jedes Implantat muss vor dem Einsatz sterilisiert werden. Exemplarisch ist in Abbildung 7.19 eine einmal beschichtete SiTi28 Beschichtung vor und nach der Autoklavierung dargestellt. Die SiTi27 Beschichtungen haben dasselbe Verhalten gezeigt und auch die Dicke der Beschichtung hatte auf die Autoklavierbarkeit keinen Einfluss.



SiTi28 (1x beschichtet) autoklaviert

SiTi28 (1x beschichtet) Referenz

**Abbildung 7.19:** REM Aufnahmen einer autoklavierten SiTi28 Beschichtung und einer Referenzprobe

Die autoklavierte Beschichtung zeigt keinen optischen Unterschied zur Referenzprobe. Denselben Effekt konnte ebenfalls bei SiTi27 erkannt werden, wie auch bei der  $\gamma$ -Sterilisation und der trockenen Sterilisation.

Diese Ergebnisse sprechen für eine Sterilisierbarkeit der Beschichtungen, jedoch müsste zusätzlich noch geprüft werden, ob eventuelle chemische Veränderungen auftreten.

# 8 Evaluierung der Beschichtungen auf ihre Eignung als Implantatbeschichtungen

Das ideale orthopädische Implantat soll die Osseointegration optimieren, das Lösen des Implantates verhindern und Abstoßungsreaktionen des Körpers vermeiden [196].

Häufig werden um all diese Eigenschaften zu erfüllen metallische Implantate verwendet. Jedoch weisen diese oberflächeninduzierte Schwachstellen, wie zum Beispiel Korrosion, geringe Beständigkeit in biologischen Medien, mangelhafte Osseointegration und Implantatinfektionen aufgrund der guten Bakterienadhäsion, auf. Aus diesem Grund ist es ratsam, metallische Implantate zu beschichten, um die hervorragenden Bulkigenschaften der Metalle zu nutzen und gleichzeitig die Oberfläche zu verbessern. [199]

In der vorliegenden Arbeit wurden vier verschiedene Beschichtungen abgeschieden und auf ihre Eignung im Einsatz auf Medizinprodukten, beziehungsweise auf Implantaten getestet. Jedoch zeigt nicht jede Beschichtung dieselben Vor- bzw. Nachteile auf. Diese sowie die möglichen Anwendungen und Optimierungsmöglichkeiten werden im Folgenden diskutiert.

## 8.1 Beurteilung der Barriere- und Haftvermittlerbeschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik

Die mittels Luft und Stickstoff abgeschiedenen polymerartigen Barriere- und Haftvermittlerbeschichtungen aus HMDSO zeigen beide hydrophobe Eigenschaften auf, wobei EdSil83 an der Grenze zur Hydrophilie liegt und unter dem Wert von EdSil31. Die Beschichtungen sind selbst nach 30 Tagen Einlagerung nicht zytotoxisch. Bei der Besiedlung mittels Saos-2 Zellen hat sich für EdSil31 eine höher Proliferation ergeben als für EdSil83, jedoch lagen beide Werte unter 50%. Bei der Besiedlung mittels Hs27 Zellen konnte die gleiche Tendenz festgestellt werden, jedoch lag die Proliferation über 70%.

Die Einlagerung in SBF hat eine Anlagerung von Kalziumphosphat gezeigt, und das Einlagern in Isopropanol führte zu keiner Veränderung der Schicht. Die Proben waren des Weiteren sterilisierbar, und nur bei der Zugbeanspruchung hat sich ein Abplatzen der Beschichtung gezeigt.

Die erzeugten Beschichtungen sollen unter anderem als Haftvermittlerschicht dienen. Das Abplatzen während des Zugversuches spricht jedoch dagegen. Durch eine Optimierung der Beschichtung kann diese jedoch so verändert werden, dass sie besser

auf der Oberfläche haftet. Vaurin et al. [38] konnten durch eine vorherige Sauerstoff-Plasmabehandlung des Edelstahls die Haftung deutlich verbessern und sogar eine chemische Bindung zwischen der Beschichtung und der Edelstahloberfläche nachweisen. Eine weitere Haftungsoptimierung der Beschichtung kann durch das Vorheizen des Substrates erreicht werden [111].

Die Barriereigenschaften werden in der Literatur an vielen Stellen beschrieben [38, 32, 37]. Auch in der vorliegenden Arbeit konnte die Zytotoxizität eines kontaminierten Edelstahls durch eine Beschichtung aufgehoben werden und der Edelstahl zeigte wieder Proliferationen über 70%, siehe Anhang 10.4. Zhang et al. [32] haben ein Plasma mittels eines Stickstoff, Argon und Sauerstoff Gemisches erzeugt und in dieses Tetraethylorthosilicat eingeleitet. Das Ergebnis war eine Barrierschicht, welche unter anderem Sauerstoff zurückhalten konnte. Die optimale Distanz zwischen Plasmadüse und Substrat wurde von Zhang et al. [32] bei 11 mm befunden. In der vorliegenden Arbeit wurde der Abstand für EdSil31 auf 10 mm und für EdSil83 auf 20 mm festgelegt. Durch eine Variation des Abstandes ist es möglich die Performance der Barriereigenschaften zu optimieren und aus diesem Grund sollte der Abstand für die erzeugten Beschichtungen variiert werden, um das Optimum zu finden. Vautrin et al. [38] geben als optimale Schichtdicke 1-4 mm an. Die generierten Beschichtungen sind nur einige 100 nm dick und können eventuell durch die Erhöhung der Schichtdicke in ihren Barriereigenschaften verbessert werden.

Die Anwendung auf orthopädischen Implantaten zur Verbesserung der Osseointegration ist nicht vielversprechend. Die Zelladhäsion und -proliferation ist verhältnismäßig gering und auch die Anlagerung von Kalziumphosphat aus SBF findet nur langsam statt. Jedoch sind die Barriereigenschaften vorhanden und auch die Biokompatibilität sehr gut, sodass ein Einsatz im Körper möglich ist. Die Barriereigenschaft kann das Herausdiffundieren von Ionen verhindern und dient gleichzeitig als Korrosionsschutz. Dadurch kann das Bulkmaterial von der Umgebung abgeschirmt werden. Durch Aufbringen einer solchen Barrierschicht ist es möglich nahezu jedes Bulkmaterial zu verwenden, da die Biokompatibilität nicht berücksichtigt werden muss.

Vor allem im Bereich der orthopädischen Implantate, wo häufig große Kräfte auf das Implantat wirken, ist eine gute Anhaftung der Beschichtung von essenzieller Bedeutung. Durch Haftvermittlerschichten, als welche Beschichtungen aus HMDSO verwendet werden können, kann die Beschichtung mit dem Implantat chemisch verbunden werden, was die Beständigkeit und Resistenz steigert.

Ein weiterer möglicher Einsatz für die Beschichtungen aus HMDSO ist der auf kardiovaskulären Implantaten. Die verringerte Zellproliferation und -adhäsion ist für die Anwendung bei zum Beispiel Stents erwünschenswert, da eine erhöhte Proliferation zu einem Verschluss führen kann. Des Weiteren haben Hsiao et al. [117] nachgewiesen, dass Plasmabeschichtungen aus HMDSO antithrombogen wirken. Dies konnte auch für die beiden generierten EdSil Beschichtungen nachgewiesen werden, siehe Anhang 10.3. Der Korrosionsschutz ist ein weiterer Vorteil, welcher auch bei kardiovaskulären Implantaten eine bedeutende Rolle spielt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Plasmabeschichtungen aus HMDSO auch im medizinischen Bereich ein hohes Potenzial besitzen und vor allem bei Haftungs- oder Korrosionsproblemen Abhilfe schaffen können.

## 8.2 Beurteilung der antibakteriellen Beschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik

Die antibakteriellen Beschichtungen sind im Bereich der Implantattechnik sehr gefragt, da durch Bakterien auf der Oberfläche schwerwiegende Komplikationen nach der Implantation auftreten können, welche im schlimmsten Fall zu einem Implantatversagen führen können. Titandioxid ist ein häufig gewähltes Beschichtungsmaterial, welches antibakteriell wirkt und biokompatibel ist.

Titandioxidbeschichtungen wurden in der vorliegenden Arbeit durch zwei Verfahren, Verdampfer und Sprühdüse, und zwei Precursor, TTIP und TTIB, hergestellt. Alle Beschichtungen sind hydrophil, wobei sich der Kontaktwinkel über die Zeit erhöht. Die Sprühbeschichtungen weisen jedoch von Beginn an einen deutlich höheren Kontaktwinkel als die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen auf, welche nahe dem Bereich der Superhydrophilie liegen. Die Beschichtungen sind nur teilkristallin, wobei im Falle von TTIP nur Rutil detektiert werden konnte und im Falle von TTIB Rutil wie auch Anatas. Die Kristallstruktur kann durch verschiedene Parameter beeinflusst werden und es konnte gezeigt werden, dass durch Reduktion des Abstandes zwischen Plasmadüse und Substrat die Kristallmodifikation Anatas neben Rutil ebenfalls auftritt. Durch Erhöhung der Plasmadichte, Verringerung des Abstandes zwischen Düse und Substrat und Vorheizen des Substrates kann die Kristallinität gesteigert werden [152, 200]. Jedoch haben diese Beschichtungen oft eine schlechte Haftung und sind sehr porös. Maurau et al. [200] konnten nachweisen, dass eine Vergrößerung des Abstandes zwischen Düse und Substrat die Haftung hingegen verbessert und auch die photokatalytische Aktivität steigert. Eine Methode um die Kristallinität zu steigern und die Haftung nicht negativ zu beeinflussen ist das anschließende Tempern der Beschichtungen [153].

Alle erzeugten Beschichtungen sind zu keinem Zeitpunkt zytotoxisch, jedoch zeigen nur die mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen eine gute Zellproliferation und -adhäsion auf der Oberfläche auf. Die Sprühbeschichtungen lösen sich teilweise in dem Zellkulturmedium und auch die sehr raue Oberflächenstruktur bietet keinen Anreiz zur Adhäsion von Zellen. Um dies zu ändern, müssen die Adhäsion und die Morphologie der Sprühbeschichtungen optimiert werden.

Die photokatalytischen Untersuchungen haben eine Aktivität im sichtbaren und im UV-Licht gezeigt. Hierbei war die TTIP Beschichtung im sichtbaren deutlich aktiver als die TTIB Beschichtung. Bei der Bestrahlung mittels UV-Licht haben die Beschichtungen ein sehr ähnliches Verhalten gezeigt. Dass der photokatalytische Effekt im UV Bereich bei mittels atmosphärischem Plasma abgeschiedenen Titandioxidbeschichtungen vorhanden ist, ist in der Literatur häufig erwähnt [133, 154, 141, 201]. Der photokatalytische

Effekt im sichtbaren ist hingegen bei der bloßen Verwendung von Luft als Träger- und Ionisationsgas und keiner Nachbehandlung in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal dokumentiert worden.

In der Literatur sind einige weitere Verfahren genannt, um eine Verschiebung der Aktivität ins sichtbare Licht zu erzielen. Chappuis et al. [143] postulieren, dass das Einbringen von Stickstoff oder Edelmetallclustern ebenfalls zu einer Dotierung führen kann. Bei Edelmetallclustern ist der Effekt auf die Schottky Barriere an der Metal-Titandioxid Grenzfläche zurückzuführen [157]. Der Stickstoff hingegen sorgt für einen Zwischenzustand, welcher die zu überwindende Bandlücke verkleinert [155]. Eine weitere Methode um den photokatalytischen Effekt ins sichtbare Licht zu verschieben, ist die Behandlung von Titandioxidpartikeln mittels Niedertemperaturwasserstoffplasma [202].

Der photokatalytische Effekt kann durch Variation der Parameter erhöht werden. Eine Methode ist zum Beispiel das Tempern bei 300°C [154]. Des Weiteren ist erwiesen, dass durch eine Nachbehandlung mittels Plasma der photokatalytische Effekt gesteigert werden kann [150].

Die antibakterielle Eigenschaft der Beschichtungen konnte durch Eliminierung von *E.coli* Bakterien nachgewiesen werden. Hier zeigte die TTIB Beschichtung die größte Wirkung sowohl unter sichtbarem wie auch unter UV-Licht. Die antibakterielle Eigenschaft von Titandioxid wurde bereits für Gram-positive wie -negative Bakterien, Pilze und Bakteriophage nachgewiesen [144].

Die Einlagerungs-, Zug und Sterilisationsversuche zeigten eine hohe Beständigkeit bei den mittels Verdampfer erzeugten Beschichtungen und ein Ablösen bei den Sprühbeschichtungen. Die TTIP\_V wie die TTIB\_V Beschichtungen zeigten eine Anlagerung von Kalziumphosphat bei Einlagerung in SBF, was ein Indikator für eine gute Osseointegration ist.

Alles in allem zeigen die erzeugten Titandioxid Beschichtungen eine antibakterielle und photokatalytische Wirkung sowie eine gute Biokompatibilität. Eine mögliche Anwendung der Verdampferbeschichtungen wäre als antibakterielle Komponente auf Implantatoberflächen. Da die Beschichtungen nicht deckend sind, muss ein biokompatibles Bulkmaterial gewählt oder eine Barrierschicht aufgebracht werden.

Eine weitere Anwendung ist die antibakterielle Beschichtung von Oberflächen in Krankenhäusern. Da hier ein erhöhtes Risiko von multiresistenten Keimen herrscht, welches durch antibakterielle Beschichtungen reduziert werden kann [143].

Des Weiteren kann Titandioxid bei der Behandlung von Metastasen im Knochen eingesetzt werden. Lungen-, Brust- und Prostatakrebs führen häufig zur Bildung von Metastasen am Knochen. Diese Tumore werden durch Wegschneiden der betroffenen Stelle und anschließendem Auffüllen mittels zum Beispiel Polymethylmethakrylat (PMMA) Zementen behandelt. Bei der Verwendung von PMMA Zement kommt es jedoch häufig zu einer Einkapselung mit fibrösem Gewebe, was den direkten Verbund zwischen Knochen und Zement verhindert. Durch Beschichtung von PMMA Zement

mit Titandioxid kann dies verhindert werden und es kommt zu einer Osseointegration des Zements.[198]

## 8.3 Beurteilung der knochenkompatiblen Beschichtung für den Einsatz in der Medizintechnik

In der vorliegenden Arbeit wurden Hydroxylapatit Beschichtungen mittels atmosphärischem Plasma erzeugt. Die Beschichtungen zeigen einen hydrophilen Charakter mit Kontaktwinkeln von  $36,1^\circ \pm 7,3^\circ$ . Durch chemische Analysen konnte festgestellt werden, dass neben Hydroxylapatit auch weitere Kristallmodifikationen des Kalziumphosphates auftreten. Durch gezielte Parametereinstellungen konnte eine porige Struktur erzeugt werden mit einem mittleren Porendurchmesser von  $1,06 \mu\text{m}$ .

Die Beschichtung zeigt zu keinem Zeitpunkt ein zytotoxisches Verhalten und eine Proliferation im Bereich von chirurgischem Edelstahl. Die Osseointegration kann durch Optimierung der Oberflächenstruktur verbessert werden [56]. Vorgehen sind hier zum Beispiel die Optimierung der Oberflächenrauigkeit und das Anpassen der Porendurchmesser an die tatsächlichen Porengrößen der Spongiosa, um eine möglichst ideale Zellanlagerung zu erreichen [164].

Die beschleunigte Anlagerung von Kalziumphosphat aus SBF ist ein Indikator für die guten osseointegrativen Eigenschaften des HA. Jedoch konnte auch ein Herauslösen der anderen Kalziumphosphatstrukturen in SBF erkannt werden.

In Isopropanol sind die Proben beständig und auch die Sterilisation mittels feuchter Hitze ist ohne sichtbar negative Effekte möglich. Lediglich die Zugversuche zeigten ein Ablösen der Beschichtung. Dies wird auch in der Literatur beim konventionellen Plasmaspraying beschrieben [56, 193]. Die Haftung zwischen dem Bulkmaterial und der Beschichtung kann durch zum Beispiel eine Vortemperierung des Bulkmaterials oder Aufbringen einer Haftvermittlerschicht optimiert werden. Der verwendete Plasmajet bietet jedoch auch die Möglichkeit dünne Beschichtungen abzuschneiden, welche ein deutlich besseres Adhäsionsverhalten aufweisen. Lu et al. [162] haben gezeigt, dass die dünnen Schichten die fibröse Einkapselung der Metallimplantate verhindern und die Osseointegration verbessern.

Aufgrund der Tatsache, dass das Plasmaspraying das einzige von der FDA anerkannte Verfahren zur Beschichtung von Implantaten mittels HA ist, hat das atmosphärische Plasmaspraying gute Chancen auf eine Zulassung [193]. Da ähnliche, jedoch materialschonendere Prozesse stattfinden und dünne Beschichtungen erzeugt werden können.

Die generierten Plasmabeschichtungen sind vor allem für den Einsatz auf orthopädischen Implantaten geeignet. Hierfür sprechen die gute Zellproliferation und -adhäsion auf der Beschichtung und die große Anlagerung von Kalziumphosphat aus SBF. Von Dentalimplantaten, bis Hüftprothesen kann jedes Implantat, welches in Kontakt mit Knochen kommt durch die Beschichtung optimiert werden.

## 8.4 Beurteilung der Kombinationsbeschichtungen für den Einsatz in der Medizintechnik

Kombinationsbeschichtungen bieten den Vorteil, dass sie mehrere positive Eigenschaften kombinieren können.

Die generierten SiTi Beschichtungen sind hydrophil, wobei SiTi27 geringfügig hydrophiler ist als SiTi28. Keine der Beschichtungen ist zytotoxisch und die Zellproliferation auf der Oberfläche liegt für SiTi27 bei ca. 70% und für SiTi28 bei 65%. Des Weiteren zeigen beide Beschichtungen eine Anlagerung von Kalziumphosphat aus SBF, was ein positiver Indikator für die im Körper erfolgende Osseointegration ist. Diese kann zusätzlich, laut Zhao et al. [180] durch ein Anätzen der Beschichtung mittels Flusssäure verbessert werden, da hierbei eine strukturierte Oberfläche entsteht, welche von Osteoblasten bevorzugt wird.

Der photokatalytische Effekt ist bei beiden Beschichtungen vorhanden, jedoch zeigt die SiTi27 Beschichtung eine höhere Aktivität unter UV und sichtbarem Licht. Im Gegensatz dazu ist die antibakterielle Eigenschaft bei SiTi28 stärker vorhanden.

Die Beständigkeit in Medien und die Sterilisierbarkeit sind als sehr gut zu beurteilen. Die Zugbelastung hingegen zeigte ein Ablösen der Beschichtungen, dies konnte jedoch durch das Auftragen einer dünneren Beschichtung verhindert werden.

Die generierten Beschichtungen weisen ein hohes Potenzial für die Anwendung auf orthopädischen Implantaten auf. Hierfür spricht die gute Zelladhäsion und -proliferation, wie auch die Ausbildung des Kalziumphosphat Filmes bei Einlagerung in SBF. Ein Grund hierfür ist das Herauslösen von  $\text{SiO}_2$ , was Osteoblasten stimuliert und dadurch das Zellwachstum anregt [193]. Mögliche Implantate wären, wie bei Titandioxid, vom Dentalimplantat bis zum Kniegelenk alle Implantate, welche in den Knochen implantiert werden und dort eine stabile Bindung eingehen sollen.

Belcarz et al. [196] haben die Beschichtungen als Haftvermittlerbeschichtung zwischen Titanium und Hydroxylapatit verwendet und sehr positive Ergebnisse verzeichnen können. Des Weiteren konnten sie nachweisen, dass die Biofilmbildung auf den Beschichtungen nur sehr eingeschränkt stattfindet. Eine Haftvermittlerbeschichtung, welche zusätzlich antibakterielle Eigenschaften aufweist, könnte vor allem bei porösen Beschichtungen eine große Bereicherung sein, da sich nicht nur Zellen, sondern auch Bakterien, bevorzugt an diese anlagern.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch Wahl der Plasmaparameter gezielt eine Eigenschaft hervorgehoben werden kann. Die SiTi27 Beschichtung zum Beispiel ist stärker photokatalytisch aktiv und zeigt eine höhere Zellproliferation auf der Oberfläche. Wohingegen die SiTi28 Beschichtung einen stärkeren antibakteriellen Effekt aufweist.

Die Beschichtungen weisen aufgrund der vielen positiven Eigenschaften ein großes Potenzial in der Medizintechnik auf und können neben dem Einsatz auf Implantaten auch auf Oberflächen oder medizinischen Geräten verwendet werden.



## 9 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass mittels atmosphärischem Plasma generierte Beschichtungen die Eigenschaften von Implantatoberflächen verbessern können und somit Faktoren wie Osseointegration, Biokompatibilität, Infektion und Haftung optimiert werden können.

Die Abscheidung mittels atmosphärischem Plasma bietet den Vorteil, dass kein Vakuumequipment im Vergleich zum Niederdruck benötigt wird. Es ist ein kostengünstig, gut integrierbares und flexibles Verfahren, mit welchem viele verschiedene Beschichtungen abgeschieden werden können. Die Reproduzierbarkeit dieser ist jedoch, je nach Umgebungsbedingungen, teilweise kritisch zu betrachten. Erhöhte Umgebungstemperaturen oder Luftfeuchte, genauso wie Substrattemperaturen und Luftkontaminationen haben einen großen Einfluss auf die Beschichtungen. Durch ein Einhausen des Prozesses können diese Effekte jedoch minimiert werden, was es in Folgestudien zu beweisen gilt.

Die Verwendung von Luft als Ionisationsgas macht den Prozess preiswert und unkritisch, da keine Druckbehälter angeschlossen werden müssen. Jedoch zeigt die Beschichtung mit Luft vor allem im Hinblick auf Kontaminationen auch Nachteile. Bei den Haftvermittler- bzw. Barrierschichten konnten durch die Variation von Prozessgasen funktionell verbesserte Beschichtungen erzielt werden. Dies gilt es zu untersuchen, um eine optimierte Grundlage für den Aufbau von mehrschichtigen Systemen zu erhalten.

Es wurde sich auf vier Beschichtungen fokussiert: Siloxanbeschichtungen, Titandioxidbeschichtungen, Hydroxylapatitbeschichtungen und Kombinationsbeschichtungen aus Siliziumdioxid und Titandioxid. Die Siloxanbeschichtungen sollen als Haftvermittler- und Barrierebeschichtungen angewandt werden, um die Beschichtung von jedem Bulkmaterial zu ermöglichen. Die generierten Beschichtungen zeigen Anzeichen einer guten Biokompatibilität und auch Beständigkeit. Jedoch haben einige Beschichtungen im Belastungsfall Mängel aufgezeigt, was es künftig zu optimieren gilt. Dies kann durch Variation der Prozessgase oder der Prozessparameter erzielt werden.

Bei den erzeugten Titandioxidbeschichtungen konnte neben keinem zytotoxischen Verhalten eine antibakterielle Aktivität festgestellt werden. Diese ist selbst in Anwesenheit von sichtbarem Licht vorhanden, was vermutlich auf eine Dotierung mittels Kohlenstoff zurückzuführen ist. Diese Dotierung gilt es durch weitere Versuche genau zu determinieren, ebenso den Einfluss der Parameter auf die antibakterielle Wirkung. Die mittels Verdampfer aufgetragenen Beschichtungen zeigten eine gute Beständigkeit gegen Medien, Sterilisationsmethoden und Zugbeanspruchung. Die Sprühbeschichtungen hingegen müssen optimiert werden, da diese sich unter Belastung lösen. Hier könnte eine Haftvermittlerschicht oder die Optimierung der Parameter Abhilfe schaffen.

Die Hydroxylapatitbeschichtungen sollen die Osseointegration steigern. Dies konnte mithilfe der durchgeführten Versuche bewiesen werden. Jedoch ist auch hier die Haftung unter Belastung als kritisch zu betrachten. Optionen um dies zu verbessern wären zum einen die Abscheidung von Dünnschichten, da diese deutlich besser adhären

oder das Aufbringen einer Haftvermittlerschicht, zwischen dem Bulkmaterial und der Beschichtung.

Die Kombinationsschichten zeigen neben einer guten Biokompatibilität und Indizien für eine gesteigerte Osseointegration auch einen antibakteriellen Effekt. Die Beschichtungen sind sehr beständig in Medien und gegen Sterilisationsverfahren. Wenn die Beschichtungen ausreichend dünn sind, ist auch die Zugbelastung als unkritisch zu betrachten. Des Weiteren kann auch hier der antibakterielle Effekt sowohl unter UV wie auch sichtbarem Licht nachgewiesen werden.

Allgemein zeigen alle Beschichtungen ein großes Potenzial für die Anwendung im medizinischen Bereich. Um dies jedoch zu verifizieren, sind neben weiteren *in vitro* Untersuchungen, wie der Genotoxizität und der Hämokompatibilität auch *in vivo* Untersuchungen nötig. Hierfür ist die Beschichtung eines Dentalimplantates und eine anschließende Implantation im Hasen denkbar, wodurch die tatsächliche Osseointegration festgestellt und auch Schwachstellen beim Einsatz erkannt werden könnten.

Des Weiteren sollten nach der Haftungsoptimierung der Plasmabeschichtungen zusätzliche Belastungstests wie zum Beispiel Scherversuche, Druckversuche, Salzsprühtests und Gitterschnitttests durchgeführt werden, um ein Ablösen der Beschichtungen auszuschließen und einen sicheren Einsatz im Körper zu gewährleisten.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Augenmerk gezielt auf Knochenimplantate gelegt, jedoch könnten vor allem die Siloxanbeschichtungen auch im kardiovaskulären Bereich Erfolg versprechend sein. Da sowohl die Stärke der Zelladhäsion und -proliferation auf der Oberfläche gesteuert werden kann wie auch die Antithrombogenität. Des Weiteren könnten die antibakteriellen Beschichtungen für jegliche Oberflächen im medizinischen Bereich vielversprechende Lösungen bieten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Abscheidung von medizinischen Beschichtungen mittels atmosphärischem Plasma eine erfolgsversprechende Alternative zu den bislang angewandten Beschichtungsverfahren darstellt.

# 10 Anhang

## 10.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

Im folgenden sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Geräte und Chemikalien aufgelistet.

**Tabelle 10.2:** Liste der verwendeten Geräte

Geräteart	Name	Hersteller
Autoklav	Hospiklav 25-Typ B	SHP Steriltechnik AG Detzel Schloss, Deutschland
Zentrifuge	Universal 320	Hettich Zentrifugen Tuttlingen, Deutschland
Temperofen	L9/12/S27	Nabertherm GmbH Lilienthal , Deutschland
Inkubator	Inkubator 1000	Heidolph Schwabach, Deutschland
Laminar Flow Bench	Safe 2020	Thermo Scientific Braunschweig, Deutschland
Auflichtmikroskop	Axiovert 40CFL	Carl Zeiss Oberkochen, Germany
Ultraschallbad	RK 510	Baudelin Tokyo, Japan
Vortexmischer	Duomax 1030	Heidolph Schwabach, Deutschland
Plasmagerät	PlasmaPlus	Plasmatreat GmbH Steinhagen, Deutschland
Kontaktwinkel- messgerät	OCA 15EC	Bruker Corporation Filderstadt, Deutschland
RAMAN Spektrometer	SENTERRA Raman Mikroskop	Bruker Corporation Billerica, USA
FT-IR	Vertex 70	Bruker Corporation

---

		Billerica, USA
Rasterelektronen- mikroskop	JSM-6390	Jeol Ltd. Tokyo, Japan
EDX	JSM-6060 LV	Jeol Ltd. Tokyo, Japan
Sputtergerät	Bal-Tec CEA 035 Bal-Tec SCD 005 BU	Leica Microsystems Wetzlar, Deutschland
XPS		Lehrstuhl für physikalische Chemie TU München
Ellipsometer	SE 800	SENTECH Instruments GmbH Berlin, Deutschland
XRD D8 ADVANCE	Bruker Axs	Bruker Corporation Billerica, USA

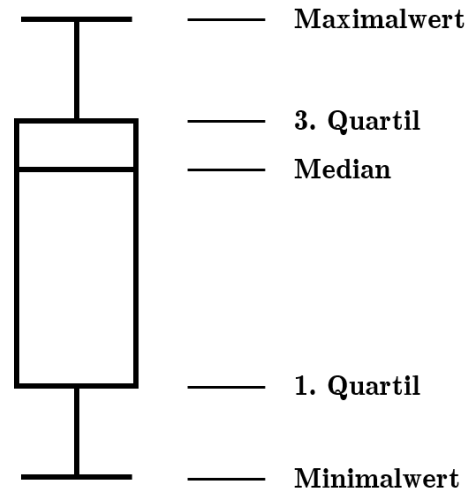
---

**Tabelle 10.1:** Liste der verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Reinheit	Hersteller
Kalziumhydroxid	$\geq 95\%$	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Calzium nitrate tetrahydrate	$\geq 99,0\%$	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Ethanol	99,9%	VWR Chemicals Radnor, Pennsylvania, USA
Ortho phosphoric acid	85,0%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Triethylphosphite	98,0%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Kalziumhydroxid	$\geq 95\%$	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Tetraisopropylthotitanat	97,0%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Titan(IV)butoxid	97,0%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Salzsäure	37,0%	neoLab Migge GmbH Heidelberg, Deutschland
1-Propanol	99,7%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Tetraethylorthosilicat	$\geq 99,0\%$	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Hexamethyldisiloxan	$\geq 98,0\%$	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Wasser	doppelt dest.	Carl-Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Salpetersäure	65,0%	Carl-Roth GmbH & Co. KG Karlsruhe, Deutschland
Rhodamin B	95,0%	Sigma-Aldrich St. Louis, Missouri, USA
Aceton	$\geq 99,3\%$	VWR Chemicals Radnor, Pennsylvania, USA

## 10.2 Statistische Auswertung

Die Zytotoxizitätsmessungen wurden mittels Boxplot-Diagramm dargestellt, siehe Abbildung 10.1.



**Abbildung 10.1:** Darstellung der Ergebnisse im Boxplot-Diagramm

Der Quartilsabstand (die Box) stellen 50% der Messwerte dar.

Zur Berechnung der Standardabweichung wurde die Funktion STAW.N verwendet.

$$STABW.N = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x}^2)}{n}} \quad (10.1)$$

Hierbei steht  $x$  für den Mittelwert der Messwerte und  $n$  für die Anzahl der Messwerte.

Die Extinktion wurde mit folgender Formel berechnet

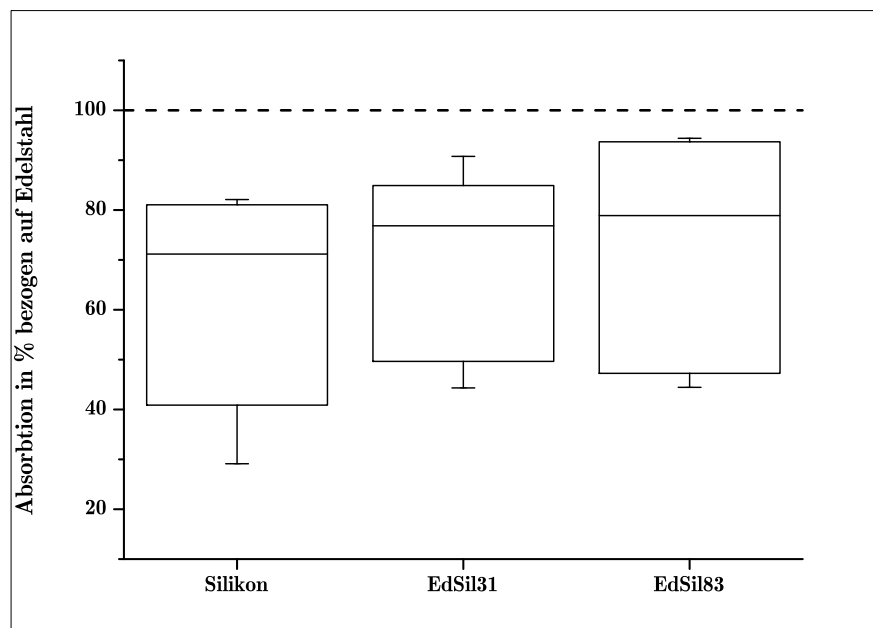
$$Extinktion = \frac{\bar{X}_{Probe}}{\bar{X}_{RhodaminB}} \quad (10.2)$$

$\bar{X}$  steht hierbei für den Mittelwert und der Index für die zu vermessende Probe oder das Rhodamin welches als Referenz mitgeführt wird.

## 10.3 Thrombogenität der EdSil Beschichtungen

In der Literatur wurde von Beschichtungen aus HMDSO berichtet, welche eine Antithrombogenität aufweisen. Daher wurden erste Vorversuche zur Thrombogenität

gemacht, welche als Indikator dienen sollen. Der Versuch konnte nur dreimal wiederholt werden und zeigte große Schwankungen auf.

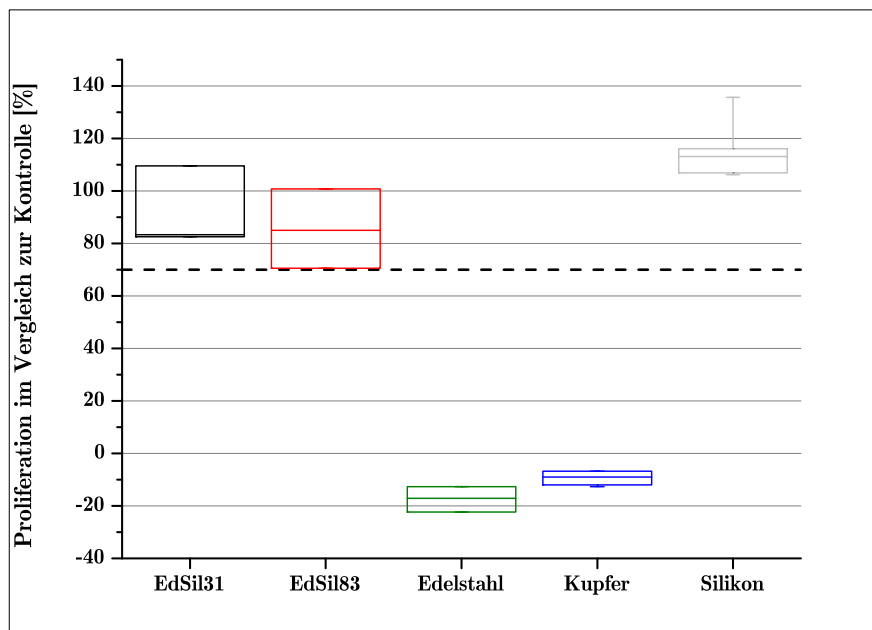


**Abbildung 10.2:** Absorption von Thrombozyten auf den EdSil Beschichtungen im Bezug auf Edelstahl

Die Absorption gibt einen Aufschluss über die Thrombozytenadhäsion. Edelstahl wurde hierfür auf 100% gesetzt und es konnte gezeigt werden, dass sowohl EdSil31 wie auch EdSil83 die Adhäsion von Thrombozyten reduzieren. Als Referenz wurde Silikon mitgeführt, welches als antithrombogen gilt.

## 10.4 Überprüfung der Barriereigenschaften der EdSil Beschichtungen

Der verwendete Edelstahl wurde zuvor in Laugen eingelegt und anschließend trocken gelassen. Die Rückstände auf der Oberfläche erzeugen den zytotoxischen Effekt bei unbeschichtetem Edelstahl.



**Abbildung 10.3:** CCK-8 Test eines verschmutzten Edelstahles zum Nachweis der Barriereigenschaften,  $n=5$

Die beschichteten Proben hingegen zeigen kein toxisches Verhalten.



# Literaturverzeichnis

- [1] S.-W. Ha and E. Wintermantel. *Medizintechnik Life Science Engineering*, chapter 13 Biokompatible Keramische Werkstoffe, pages 277–297. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- [2] E. Wintermantel, B. Shah-Derler, A. Bruinink, M. Petitmermet, J. Blum, and S.-W. Ha. *Medizintechnik Life Science Engineering*, chapter 3 Biokompatibilität, pages 67–104. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- [3] W. Tillmann and E. Vogli. *Moderne Beschichtungsverfahren*, chapter Auswahl von Oberflächenbehandlungsverfahren, pages 1–13. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004.
- [4] I. Al-Hamarneh, P. Pedrow, A. Eskhan, and N. Abu-Lail. Hydrophilic property of 316l stainless steel after treatment by atmospheric pressure corona streamer plasma using surface-sensitive analyses. *Applied Surface Science*, 259:424 – 432, 2012.
- [5] Y.-Y. Ji, Y.-C. Hong, S.-H. Lee, S.-D. Kim, and S.-S. Kim. Formation of superhydrophobic and water-repellency surface with hexamethyldisiloxane (HMDSO) coating on polyethyleneterephthalate fiber by atmospheric pressure plasma polymerization. *Surface and Coatings Technology*, 202(22–23):5663 – 5667, 2008.
- [6] M. Goujon, T. Belmonte, and G. Henrion. OES and FTIR diagnostics of HMDSO/O<sub>2</sub> gas mixtures for SiO<sub>x</sub> deposition assisted by RF plasma. *Surface and Coatings Technology*, 188–189:756 – 761, 2004. Proceedings of the 31st International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films.
- [7] K. Terabe, K. Kato, H. Miyazaki, S. Yamaguchi, A. Imai, and Y. Iguchi. Microstructure and crystallization behaviour of TiO<sub>2</sub> precursor prepared by the sol-gel method using metal alkoxide. *Journal of Materials Science*, 29(6):1617–1622, 1994.
- [8] P. Franz. Parameterstudie zur Beschichtung von Edelstahl mit HMDSO mittels Atmosphärendruckplasma. Bachelor’s Thesis, Technische Universität München, 2014.
- [9] S. Schmid. Untersuchung der Beständigkeit und Zytotoxizität von plasmabeschichteten Implantatwerkstoffen. Bachelor’s Thesis, Technische Universität München, 2015.
- [10] S. Mahnel. Herstellung von Titandioxid-Schichten mittels Open-air Plasma und deren chemisch analytische Charakterisierung. Master’s Thesis, Technische Universität München, 2014.
- [11] A. Baumgärtel. Antibakterielle Beschichtung von Edelstahl und Silikon mittels Openair Plasma. Master’s Thesis, Technische Universität München, 2015.

- [12] M. Klose. Untersuchung und Evaluierung der Biokompatibilität, sowie Sterilisation von, mit Openair Plasma erzeugten, HMDSO Beschichtungen auf Edelstahl. Master's Thesis, Technische Universität München, 2015.
- [13] F. Weber. Development of bone like coatings by means of open-air plasma and their chemical and analytical analysis. Forschungspraktikum, Technische Universität München, 2015.
- [14] J. Fitzenschaft. Photokatalytischer Effekt von mittels Plasma erzeugten Titandioxid-Schichten aus Solen. Bachelor's thesis, Technische Universität München, 2015.
- [15] J. van Betteraay. Untersuchung der Biokompatibilität von HMDSO Beschichtungen auf PEEK. Bachelors's Thesis, Technische Universität München, 2016.
- [16] S. Schmid. Erzeugung zellabweisender Beschichtungen mittels Openair Plasma. Forschungspraktikum, Technische Universität München, 2016.
- [17] D. Sidhu. Inbetriebnahme einer HPLC-MS und Entwicklung einer Methode zur Charakterisierung von gelösten HMDSO Schichten. Forschungspraktikum, Technische Universität München, 2015.
- [18] M. Schlippe. Photokatalytischer Effekt und beständigkeit einer plasmaerzeugten Schicht aus Titandioxid-Partikeln. Bachelor's Thesis, Technische Universität München, 2015.
- [19] L. Artmann. Haftungsoptimierung von  $\text{SiO}_x\text{TiO}_x$  Schichten auf Implantatoberflächen. Bachelor's Thesis, Technische Universität München, 2016.
- [20] A. Scherl. Abscheidung von strukturierten Titandioxid-Schichten mittels Plasma. Forschungspraktikum, Technische Universität München, 2016.
- [21] M. Pagenstecher. Preparation of antibacterial HA/ $\text{TiO}_2$  hybrid coatings on stainless steel via openair plasmaspraying of a sol. Master's Thesis, Technische Universität München, 2016.
- [22] T. Seel. Untersuchung der Zelladhäsion humaner osteoblasten-ähnlicher Zellen auf plasmabeschichtetem Edelstahl. Master's Thesis, Technische Universität München, 2016.
- [23] J. Schilling. Optimierung von plasmapolymerisierten HMDSO-Beschichtungen durch Variation der Prozessgase und Oberflächenstrukturen. Master's Thesis, Technische Universität München, 2016.
- [24] A. Beyersdorfer. Untersuchung des photokatalytischen Effekts der mittels Openair Plasma erzeugten Kompositschichten. Forschungspraktikum, Technische Universität München, 2016.
- [25] K.-H. Frosch. Perfekte Partner: Titan und Gewebe. *Georgia Augusta*, 4:120–126, 12 2005.
- [26] B. Amann, T. Appel, F. Aravopoulou, S. Fiedler, A. Forster, R. Frey, M. Kamer, G. Kirmse, S. Krüger, K. Roth, C. Schmid, E. Schmidt, R. Thomann, and

- U. Zimmermann. Implantate für die fachbereiche Orthopädie und Traumatologie. *Zentralsterilisation*, 3:211–213, 2015.
- [27] J. Wilson, A. Charlett, G. Leong, C. McDougall, and G. Duckworth. Rates of surgical site infection after hip replacement as a hospital performance indicator: Analysis of data from the english mandatory surveillance system. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(3):219–226, 2008.
- [28] W. H. Harris and C. B. Sledge. Total hip and total knee replacement. *New England Journal of Medicine*, 323(12):801–807, 1990. PMID: 2136367.
- [29] R. B. Heimann. Thermal spraying of biomaterials. *Surface and Coatings Technology*, 201(5):2012 – 2019, 2006. The 2nd International Meeting on Thermal Spraying2nd {RIPTThe} 2nd International Meeting on Thermal Spraying.
- [30] A.G. Gristina, P. Naylor, and Q. Myrvik. Infections from biomaterials and implants: A race for the surface. *Medical Progress Through Technology*, 14(3-4):205–224, 1988-1989.
- [31] E. F. Berbari, A. D. Hanssen, M. C. Duffy, J. M. Steckelberg, D. M. Ilstrup, W. S. Harmsen, and D. R. Osmon. Risk factors for prosthetic joint infection: Case-control study. *Clinical Infectious Diseases*, 27(5):1247–1254, 1998.
- [32] H. Zhang, Z. Guo, Q. Chen, X. Wang, Z. Wang, and Z. Liu. Deposition of silicon oxide coatings by atmospheric pressure plasma jet for oxygen diffusion barrier applications. *Thin Solid Films*, 615:63 – 68, 2016.
- [33] R. Morent, N. De Geyter, S. Van Vlierberghe, P. Dubruel, C. Leys, and E. Schacht. Organic-inorganic behaviour of HMDSO films plasma-polymerized at atmospheric pressure. *Surface and Coatings Technology*, 203(10-11):1366 – 1372, 2009.
- [34] H. Kakiuchi, K. Higashida, T. Shibata, H. Ohmi, T. Yamada, and K. Yasutake. High-rate HMDSO-based coatings in open air using atmospheric-pressure plasma jet. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 358(17):2462 – 2465, 2012. Proceedings of the 24th International Conference on Amorphous and Nanocrystalline Semiconductors (ICANS 24) Nara, Japan August 21-26, 2011.
- [35] J. Schäfer, R. Foest, A. Quade, A. Ohl, and K. D. Weltmann. Chemical composition of SiO<sub>x</sub> films deposited by an Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ). *Plasma Processes and Polymers*, 6(S1):S519–S524, 2009.
- [36] U. Lommatzsch and J. Ihde. Plasma polymerization of HMDSO with an atmospheric pressure plasma jet for corrosion protection of aluminum and low-adhesion surfaces. *Plasma Processes and Polymers*, 6(10):642–648, 2009.
- [37] B. Jacoby, W. Bock, M. Haupt, and H. Hilgers. Abscheidung, Charakterisierung und Anwendung von Plasma-Polymerschichten auf HMDSO-Basis. *Vakuum in Forschung und Praxis*, 18(4):12–18, 2006.
- [38] C. Vautrin-UI, C. Boisse-Laporte, N. Benissad, A. Chausse, P. Leprince, and R. Messina. Plasma-polymerized coatings using HMDSO precursor for iron protection. *Progress in Organic Coatings*, 38(1):9 – 15, 2000.

- [39] L. G. Donaruma. Definitions in biomaterials. *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Letters*, 26(9):414–414, 1988.
- [40] Glasmacher. *Empfehlungen zum Einsatz und zur Verwendung der Herz-Lungen-Maschine*, chapter Materialkunde — Biokompatibilität, pages 109–126. Steinkopff, Darmstadt, 2006.
- [41] R. Kramme. *Medizintechnik*, chapter Biomaterialien, pages 839–852. Springer Verlag, 2007.
- [42] S.-W. Ha, E. Wintermantel, and G. Maier. *Medizintechnik Life Science Engineering*, chapter 12 Biokompatible Polymere, pages 219–276. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.
- [43] R.M. Pilliar. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, chapter Sol-gel surface modification of biomaterials, pages 185–217. Woodhead Publishing, 2015.
- [44] D.C. Watts. Concise encyclopedia of medical and dental materials. *Journal of Dentistry*, 21(5):317 –, 1993.
- [45] T. Hanawa. Research and development of metals for medical devices based on clinical needs. *Science and Technology of Advanced Materials*, 13(6):064102, 2012.
- [46] A. Nouri and C. Wen. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, chapter Introduction to surface coating and modification for metallic biomaterials, pages 3–60. Woodhead Publishing, 2015.
- [47] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, and A.K. Gogia. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants: A review. *Progress in Materials Science*, 54(3):397 – 425, 2009.
- [48] K.L. Wapner. Implications of metallic corrosion in total knee arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 271:12–20, 1991.
- [49] E. Eisenbarth, D. Velten, M. Müller, R. Thull, and J. Breme. Biocompatibility of I<sup>2</sup>-stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials*, 25(26):5705 – 5713, 2004.
- [50] J. Streicher and M. L. Pretterklieber. *Waldeyer Anatomie des Menschen*, chapter 4 Bewegungsapparat, pages 95–114. De Gruyter, 2012.
- [51] M. Schünke. *Funktionelle Anatomie - Topographie und Funktion des Bewegungssystems*, chapter Binde- und Stützgewebe, pages 17–22. Thieme Verlag, 2000.
- [52] Waldeyer. *Anatomie des Menschen*, chapter Bewegungsapparat, pages 22–49. De Gruyter, 2009.
- [53] Dr-Gumpert. Abbildung Knochenaufbau. Internet, 18.10.2016.
- [54] Di.Felsenberg. Struktur und Funktion des Knochens. *Pharmazie in unserer Zeit*, 30(6):488–494, 2001.
- [55] K. J. Quelch, R.A. Melick, P. J. Bingham, and S. M. Mercuri. Chemical composition of human bone. *Archives of Oral Biology*, 28(8):665 – 674, 1983.

- [56] R. Junker, A. Dimakis, M. Thoneick, and J. A. Jansen. Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review. *Clinical oral implants research*, 20(s4):185–206, 2009.
- [57] R.G. Flemming, C.J. Murphy, G.A. Abrams, S.L. Goodman, and P.F. Nealey. Effects of synthetic micro- and nano-structured surfaces on cell behavior. *Biomaterials*, 20(6):573 – 588, 1999.
- [58] B. Vagaska, L. Bacakova, E. Filova, and K. Balik. Osteogenic cells on bio-inspired materials for bone tissue engineering. *Physiological Research*, 59:309–322, 2010.
- [59] A. Wennerberg, C. Hallgren, C. Johansson, and S. Danelli. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. *Clinical Oral Implants Research*, 9(1):11–19, 1998.
- [60] P. M. Brett, J. Harle, V. Salih, R. Mihoc, I. Olsen, F. H. Jones, and M. Tonetti. Roughness response genes in osteoblasts. *Bone*, 35(1):124 – 133, 2004.
- [61] S. Bauer, P. Schmuki, K. von der Mark, and J. Park. Engineering biocompatible implant surfaces: Part I: Materials and surfaces. *Progress in Materials Science*, 58(3):261 – 326, 2013.
- [62] X. Liu, P. K. Chu, and C. Ding. Surface nano-functionalization of biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 70(3–6):275 – 302, 2010. 3rd {IEEE} International NanoElectronics Conference (INEC).
- [63] N. Hamamoto, Y. Hamamoto, T. Nakajima, and H. Ozawa. Histological, histochemical and ultrastructural study on the effects of surface charge on bone formation in the rabbit mandible. *Archives of Oral Biology*, 40(2):97 – 106, 1995.
- [64] P. Bongrand, C. Capo, and R. Depieds. Physics of cell adhesion. *Progress in Surface Science*, 12(3):217 – 285, 1982.
- [65] K. Anselme. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, 21(7):667 – 681, 2000.
- [66] A. Trommler, D. Gingell, and H. Wolf. Red blood cells experience electrostatic repulsion but make molecular adhesions with glass. *Biophysical Journal*, 48(5):835 – 841, 1985.
- [67] M. Krukowski, R. A. Shively, P. Osdoby, and B. L. Eppley. Stimulation of craniofacial and intramedullary bone formation by negatively charged beads. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(5):468 – 475, 1990.
- [68] J.C. Vickerman and I. S. Gilmore. *Surface Analysis - The Principal Techniques*, chapter Introduction, pages 1–8. John Wiley & Sons, Ltd, 2009.
- [69] M. Kursawe, V. Hilarius, and G. Pfaff. *Moderne Beschichtungsverfahren*, chapter Beschichtung über Sol-Gel Prozesse, pages 225–260. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004.
- [70] Z. Babiak and T. Wenz. *Moderne Beschichtungsverfahren*, chapter Grundlagen der thermischen Spritztechnik, Flamm- und Lichtbogenspritzen, pages 131–150.

- Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004.
- [71] M. Nicolaus and M. Schäpers. *Moderne Beschichtungsverfahren*, chapter Grundlagen der Dünnschichttechnologie, pages 35–56. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004.
- [72] I. Langmuir. Oscillations in ionized gases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 14(8):627–637, 1928.
- [73] W. H. Kegel. *Plasmaphysik*. Springer, 2012.
- [74] C. Tendero, C. Tixier, P. Tristant, J. Desmason, and P. Leprince. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 61(1):2 – 30, 2006.
- [75] J.A. Gan and C.C. Berndt. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, chapter Plasma surface modification of metallic biomaterials, pages 103–157. Woodhead Publishing, 2015.
- [76] W. Siemens. Über die elektrostatische Induction und die Verzögerung des Stroms in Flaschendröhren. *Annalen der Physik*, 178(9):66–122, 1857.
- [77] D. Merche, N. Vandencastele, and F. Reniers. Atmospheric plasmas for thin film deposition: A critical review. *Thin Solid Films*, 520(13):4219 – 4236, 2012.
- [78] S.L. Kaplan and P.W. Rose. *Coatings Technology Handbook*, chapter 39. CRC Press, 2005.
- [79] Ondrej Kylian, Artem Shelemin, Pavel Solar, Andrei Choukourov, Jan Hanus, Mykhailo Vaidulych, Anna Kuzminova, and Hynek Biederman. Plasma polymers: From thin films to nanocolumnar coatings. *Thin Solid Films*, 630:86 – 91, 2017. Symposium on Carbon-, Nitrogen-Containing Nanostructured Thin Films at {EMRS} Spring Meeting 2016.
- [80] A. Fujishima and K. Honda. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature*, 238:37–38, 1972.
- [81] M. R. Hoffmann, S. T. Martin, W. Choi, and D. W. Bahnemann. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. *Chemical Reviews*, 95(1):69–96, 1995.
- [82] K. Ishibashi, A. Fujishima, T. Watanabe, and K. Hashimoto. Quantum yields of active oxidative species formed on TiO<sub>2</sub> photocatalyst. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 134:139–142, 200.
- [83] G. Liu, J. Zhao, and H. Hidaka. ESR spin-trapping detection of radical intermediates in the TiO<sub>2</sub>-assisted photo-oxidation of sulforhodamine b under visible irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 133:83–88, 2000.
- [84] T. Beer, A. Knospe, and C. Buske. *Medizintechnik Life Science Engineering*, chapter 35 Atmosphärisches Plasma in der Medizintechnik, pages 839–862. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009.

- [85] A. P. Napartovich. Overview of atmospheric pressure discharges producing nonthermal plasma. *Plasmas and Polymers*, 6(1):1–14, 2001.
- [86] D. Hegemann, H. Brunner, and C. Oehr. Plasma treatment of polymers for surface and adhesion improvement. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 208:281 – 286, 2003. Ionizing Radiation and Polymers.
- [87] G. Mani. *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, chapter Surface properties and characterization of metallic biomaterials, pages 61–77. Woodhead Publishing, 2015.
- [88] B. Zambelli, V. N. Uversky, and S. Ciurli. Nickel impact on human health: An intrinsic disorder perspective. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1864(12):1714 – 1731, 2016.
- [89] Wacker. Wacker Silpuran Infoblatt Orthopädie de 04/2016. Internet, 8 2015.
- [90] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch. *Instrumentelle Analytik*, chapter 21 Charakterisierung von Oberflächen mit der Spektroskopie und der Mikroskopie, pages 575–610. Springer Spektrum, 2013.
- [91] H. P. Latscha, G. W. Linti, and H. Klein. *Analytische Chemie*, chapter Optische und spektroskopische Analysenverfahren, pages 381–443. Springer, 2004.
- [92] S. Svanberg. *Atomic and Molecular Spectroscopy*, chapter 5 Spectroscopy of Inner Electrons, pages 71–96. Springer-Verlag, 2004.
- [93] D. Shindo and T. Oikawa. *Energy-dispersive X-ray spectroscopy*, chapter Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, pages 81–102. Springer, 2002.
- [94] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch. *Instrumentelle Analytik*, chapter 16 Einführung in die Infrarotspektrometrie, pages 427–450. Springer Spektrum, 2013.
- [95] W. Gottwald and G. Wachter. *IR-Spektroskopie für Anwender*. WILEY-VCH, 1997.
- [96] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch. *Instrumentelle Analytik*, chapter 18 Raman-Spektroskopie, pages 475–490. Springer Spektrum, 2013.
- [97] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch. *Instrumentelle Analytik*, chapter 12 Röntgenspektroskopie, pages 303–333. Springer Spektrum, 2013.
- [98] R. F. Gould. Contact angle, wettability, and adhesion. In *The Kendall Award Symposium honoring William A. Zisman sponsored by the Division of Colloid and Surface Chemistry at the 144th Meeting of the American Chemical Society*, 1964.
- [99] Menges, Haberstroh, Michaeli, and Schmachtenberg. *Werkstoffkunde Kunststoffe 5*. Carl Hanser Verlag München Wien, 2002.
- [100] F.P. Altman. Tetrazolium salts and formazans. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 9(3):III – 51, 1976.

- [101] S. Schmitz. *Der Experimentator Zellkultur*, volume 3. Spektrum Akademischer Verlag, 2011.
- [102] R. W. Sabnis. *Handbook of Biological Dyes and Stains: Synthesis and Industrial Applications*, chapter C, pages 74–75. Wiley, 2010.
- [103] P. Decherchi, P. Cochard, and P. Gauthier. Dual staining assessment of schwann cell viability within whole peripheral nerves using calcein-am and ethidium homodimer. *Journal of Neuroscience Methods*, 71(2):205 – 213, 1997.
- [104] J. P. Mather and P. E. Roberst. *Introduction to Cell and Tissue Culture*. Plenum Press, 1998.
- [105] S. Schmitz. *Der Experimentator Zellkultur*, chapter 6 Steriltechnik und Subkultur, pages 87–101. Spektrum Akademischer Verlag, 2011.
- [106] F. Allaveisi, B. Hashemi, and S. M. J. Mortazavi. Effect of gamma sterilization on microhardness of the cortical bone tissue of bovine femur in presence of n-acetyl-l-cysteine free radical scavenger. *Physica Medica*, 30(3):314 – 319, 2014.
- [107] H.-M. Just and E. Roggenkamp. *Medizintechnik*, chapter Hygiene in der Medizintechnik, pages 15–36. Springer Verlag, 2007.
- [108] T. Kokubo and H. Takadama. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15):2907 – 2915, 2006.
- [109] H. Cypionka. *Grundlagen der Mikrobiologie*. Springer, 2010.
- [110] Nicole T. Perna, J. D. Glasner, V. Burland, and G. Plunkett. 1 - the genomes of escherichia coli K-12 and pathogenic e. coli. In Michael S. Donnenberg, editor, *Escherichia Coli*, pages 3 – 53. Academic Press, San Diego, 2002.
- [111] Y. Sawada, S. Ogawa, and M. Kogoma. Synthesis of plasma-polymerized tetraethoxysilane and hexamethyldisiloxane films prepared by atmospheric pressure glow discharge. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 28(8):1661, 1995.
- [112] Sigma-Aldrich. Sicherheitsdatenblatt Hexamethyldisiloxan. Internet, 8 2015.
- [113] C. Bourreau, Y. Catherine, and P. Garcia. Glow discharge deposition of silicon dioxide and aluminum oxide films: A kinetic model of the surface processes. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 10(2):247–260, 1990.
- [114] D. Hegemann, U. Vohrer, C. Oehr, and R. Riedel. Deposition of SiO<sub>x</sub> films from O<sub>2</sub>/HMDSO plasmas. *Surface and Coatings Technology*, 116–119:1033 – 1036, 1999.
- [115] R. Pinto Mota, D. Galvao, S. F. Durrant, M. A. Bica De Moraes, S. de Oliveira Dantas, and M. Cantao. HMDSO plasma polymerization and thin film optical properties. *Thin Solid Films*, 270(1):109 – 113, 1995.
- [116] A. Hogg, S. Uhl, F. Feuvrier, Y. Girardet, B. Graf, T. Aellen, H. Keppner, Y. Tardy, and J. Burger. Protective multilayer packaging for long-term implantable medical devices. *Surface and Coatings Technology*, 255:124 – 129, 2014. Protective Coatings and Thin Films’13 : {EMRS} 2013 Symposium S.



- [117] C.-R. Hsiao, C.-W. Lin, C.-M. Chou, C.-J. Chung, and J.-L. He. Surface modification of blood-contacting biomaterials by plasma-polymerized superhydrophobic films using hexamethyldisiloxane and tetrafluoromethane as precursors. *Applied Surface Science*, 346:50–56, 2015.
- [118] G. R. Prasada, S. Danielsa, D.C. Cameron, B.P. McNamarac, E. Tully, and R. O’Kennedyd. PECVD of biocompatible coatings on 316l stainless steel. *Surface and Coatings Technology*, 200(1-4):1031–1035, 2005.
- [119] T. Hayakawa, M. Yoshinari, and K. Nemoto. Characterization and protein-adsorption behavior of deposited organic thin film onto titanium by plasma polymerization with hexamethyldisiloxane. *Biomaterials*, 25(1):119 – 127, 2004.
- [120] M. Malmsten, D. Muller, and B. Lassen. Sequential adsorption of human serum albumin (HSA), immunoglobulin g (IgG), and fibrinogen (Fgn) at HMDSO plasma polymer surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 193(1):88 – 95, 1997.
- [121] C. Bayram, A. K. Mizrak, and S. Aktürk. In vitro biocompatibility of plasma-aided surface-modified 316l stainless steel for intracoronary stents. *Biomedical Materials*, 5(5):055007, 2010.
- [122] R. P. Gandhiraman, M. K. Muniyappa, and M. Dudek. Interaction of plasma deposited HMDSO-based coatings with fibrinogen and human blood plasma: The correlation between bulk plasma, surface characteristics and biomolecule interaction. *Gandhiraman*, 7(5):411–421, 2010.
- [123] M.R. Alexander, R.D. Short, F.R. Jones, W. Michaeli, and C.J. Blomfield. A study of HMDSO/O<sub>2</sub> plasma deposits using a high-sensitivity and -energy resolution XPS instrument: curve fitting of the Si 2p core level. *Applied Surface Science*, 137(1–4):179 – 183, 1999.
- [124] R. Wilken, J. Ihde, and J. Degenhardt. Lokaler Korrosionsschutz von Aluminiumbauteilen durch Atmosphärendruck- Plasmabeschichtungen. *Vakuum in Forschung und Praxis*, 21(5):3438, 2009.
- [125] J. Pulpytel, V. Kumar, P. Peng, V. Micheli, N. Laidani, and F. Arefi-Khonsari. Deposition of organosilicon coatings by a non-equilibrium atmospheric pressure plasma jet: Design, analysis and macroscopic scaling law of the process. *Plasma Processes and Polymers*, 8(7):664–675, 2011.
- [126] G. Gstraunthaler and T. Lindl. *Zell- und Gewebekultur*, chapter 5 Kulturgefäße und ihre Behandlung, pages 53–67. Springer, 2013.
- [127] D.M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, and P. Thomsen. *Titanium in Medicine*, chapter Titanium for Medical Applications, pages 13–24. Springer Verlag, 2001.
- [128] B. Janocha, D. Hegemann, C. Oehr, H. Brunner, F. Rupp, and J. Geis-Gerstorfer. Adsorption of protein on plasma-polysiloxane layers of different surface energies. *Surface and Coatings Technology*, 142–144:1051 – 1055, 2001. Proceedings of the 7th International Conference on Plasma Surface Engineering.

- [129] E. Lamers, X. F. Walboomers, M. Domanski, J. te Riet, F. C. M. J. M. van Delft, R. Luttge, L. A. J. A. Winnubst, H. J. G. E. Gardeniers, and J. A. Jansen. The influence of nanoscale grooved substrates on osteoblast behavior and extracellular matrix deposition. *Biomaterials*, 31(12):3307 – 3316, 2010.
- [130] J. Xing, Y. Ma, M. Lin, Y. Wang, H. Pan, C. Ruan, and Y. Luo. Stretching-induced nanostructures on shape memory polyurethane films and their regulation to osteoblasts morphology. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146:431 – 441, 2016.
- [131] L. Casarrubios, M. C. Matesanz, S. Sanchez-Salcedo, D. Arcos, M. Vallet-Regi, and M. T. Portoles. Nanocrystallinity effects on osteoblast and osteoclast response to silicon substituted hydroxyapatite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 482:112 – 120, 2016.
- [132] O. Andrukhov, R. Huber, B. Shi, S. Berner, X. Rausch-Fan, A. Moritz, N. D. Spencer, and A. Schedle. Proliferation, behavior, and differentiation of osteoblasts on surfaces of different microroughness. *Dental Materials*, 32(11):13741384, 2016.
- [133] J.-H. Lee, J.-S. Kwon, Y.-H. Kim, E.-H. Choi, K.-M. Kim, and K.-N. Kim. The effects of enhancing the surface energy of a polystyrene plate by air atmospheric pressure plasma jet on early attachment of fibroblast under moving incubation. *Thin Solid Films*, 547:99 – 105, 2013. Proceedings of the 4th International Conference on Microelectronics and Plasma Technology (ICMAP 2012), Jeju, Korea.
- [134] J. Winkler. *Titandioxid*, chapter 2 Physikalische, chemische und toxikologische Eigenschaften von Titandioxid, pages 13–30. Vincentz Network GmbH, 2003.
- [135] J. Winkler. *Titandioxid*, chapter 5 Photokatalytische Eigenschaften von Titandioxid, pages 71–79. Vincentz Network GmbH, 2003.
- [136] X. Chen and S. S. Mao. Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modification, and applications. *Chemical Reviews*, 107(7):2891–2959, 2007.
- [137] U. Gesenhues. Oberflächenaufbau und photochemische Aktivität verschieden stark calcinierter Rutilpigmente. *Farbe+Lack*, 100:244–248, 1994.
- [138] H. Kirsch. Halbleiterphotokatalyse mechanistische und präparative Aspekte. *Angewandte Chemie*, 125:842–879, 2013.
- [139] Sigma-Aldrich. Sicherheitsdatenblatt Titanium(iv) isopropoxide. online, 12 2015.
- [140] C. B. Özkal, D. Mantzavinos, and S. Meric. Photocatalytic activity based-optimization of TTIP thin films for e. coli inactivation: Effect of Mn and Cu dopants. *Catalysis Today*, 280, Part 1:86 – 92, 2017. Environmental Applications of Advanced Oxidation Processes {EAAOP4}.
- [141] Y. Ando, S. Y. Chen, and Y. Noda. Photocatalytic titanium oxide film deposition by atmospheric TPCVD using air as the working gas. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 41(8):1850–1855, 2013.

- [142] Sigma-Aldrich. Sicherheitsdatenblatt Titanium(iv) butoxide. online, 5 2016.
- [143] S. Chappuis, A. Campiche, D. Gillieron, E. M. Moser, J. Lausmaa, and A. Reller. Photocatalytically active titania layers: Production at ambient temperature and characterisation of biological properties. *Plasma Processes and Polymers*, 6:440–445, 2009.
- [144] H. A. Foster, I. B. Ditta, S. Varghese, and A. Steele. Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: spectrum and mechanism of antimicrobial activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90:1847–1868, 2011.
- [145] M.C. Bordes, M. Vicent, A. Moreno, R. Moreno, A. Borrell, M.D. Salvador, and E. Sanchez. Microstructure and photocatalytic activity of {APS} coatings obtained from different TiO<sub>2</sub> nanopowders. *Surface and Coatings Technology*, 220:179 – 186, 2013. Proceedings of the fifth workshop {RIPT} (Les Rencontres Internationales sur la Projection Thermique).
- [146] L. Visai, L. De Nardo, C. Punta, L. Melone, A. Cigada, M. Imbriani, and C. R. Arciola. Titanium oxide antibacterial surfaces in biomedical devices. *The International journal of Artificial Organs*, 34(9):929–946, 2011.
- [147] I. Nieto Pozo, D. Olmos, B. Orgaz, D. K. Bozanic, and J. Gonzalez-Benito. Titania nanoparticles prevent development of pseudomonas fluorescens biofilms on polystyrene surfaces. *Materials Letters*, 127:1 – 3, 2014.
- [148] F. Lapostolle, A. Billard, and J. von Stebut. Structure/mechanical properties relationship of titanium-oxygen coatings reactively sputter-deposited. *Surface and Coatings Technology*, 135(1):1 – 7, 2000.
- [149] C. Chen, H. Bai, S.-M. Chang, C. Chang, and W. Den. Preparation of n-doped TiO<sub>2</sub> photocatalyst by atmospheric pressure plasma process for VOCs decomposition under UV and visible light sources. *Journal of Nanoparticle Research*, 9:365–375, 2007.
- [150] C.-K. Jung, I.-S. Bae, Y.-H. Song, and J.-H. Boo. Plasma surface modification of TiO<sub>2</sub> photocatalysts for improvement of catalytic efficiency. *Surface and Coatings Technology*, 200(5–6):1320 – 1324, 2005. {ICMCTF} 2005Proceedings of the 32nd International Conference on Metallurgical Coatings and Thin Films.
- [151] U. Balachandran and N.G. Eror. Raman spectra of titanium dioxide. *Journal of Solid State Chemistry*, 42(3):276 – 282, 1982.
- [152] N. D. Boscher, S. Olivier, R. Maurau, S. Bulou, T. Sindzingre, T. Belmonte, and P. Choquet. Photocatalytic anatase titanium dioxide thin films deposition by an atmospheric pressure blown arc discharge. *Applied Surface Science*, 311:721 – 728, 2014.
- [153] H. Fakhouri, D. Ben Salem, O. Carton, J. Pulpytel, and F. Arefi-Khonsari. Highly efficient photocatalytic TiO<sub>2</sub> coatings deposited by open air atmospheric pressure plasma jet with aerosolized TTIP precursor. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47:1–11, 2014.

- [154] J. L. Hodgkinson, H. M. Yates, and D. W. Sheel. Low temperature growth of photoactive titania by atmospheric pressure plasma. *Plasma Processes and Polymers*, 6:575–582, 2009.
- [155] R. Trejo-Tzab, J.J. Alvarado-Gil, P. Quintana, and P. Bartolo-Perez. N-doped TiO<sub>2</sub> P25/Cu powder obtained using nitrogen (N<sub>2</sub>) gas plasma. *Catalysis Today*, 193(1):179 – 185, 2012. Proceedings of the 10th International Conference on Catalysis in Membrane Reactors.
- [156] K. N. Pandiyaraj, R.R. Deshmukh, R. Mahendiran, P.-G. Su, E. Yassitepe, I. Shah, S. Perni, P. Prokopovich, and M. N. Nadagouda. Influence of operating parameters on surface properties of RF glow discharge oxygen plasma treated TiO<sub>2</sub>/PET film for biomedical application. *Materials Science and Engineering: C*, 36:309 – 319, 2014.
- [157] P. Hajkova, P. Spatenka, J. Krumeich, P. Exnar, A. Kolouch, and J. Matousek. The influence of surface treatment on photocatalytic activity of PE CVD TiO<sub>2</sub> thin films. *Plasma Processes and Polymers*, 6:735–740, 2009.
- [158] N. Rangavittal, A. R. Landa-Canovas, J. M. Gonzalez-Calbet, and M. Vallet-Regi. Structural study and stability of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate: Two important bioceramics. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(4):660–668, 2000.
- [159] J. M. Hughes, M. Cameron, and K. D. Crowley. Structural variations in natural F, OH, and Cl apatites. In *American Mineralogist*, volume 74, pages 870–876. Mineralogical Society of America, 1989.
- [160] M. Roy, A. Bandyopadhyay, and S. Bose. Induction plasma sprayed Sr and Mg doped nano hydroxyapatite coatings on Ti for bone implant. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 99(2):258–265, 2011.
- [161] D.-M. Liu, T. Troczynski, and W. J. Tseng. Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development. *Biomaterials*, 22(13):1721–1730, 2001.
- [162] H. B. Lu, C. T. Campbell, D. J. Graham, and B. D. Ratner. Surface characterization of hydroxyapatite and related calcium phosphates by XPS and TOF-SIMS. *Analytical Chemistry*, 72(13):2886–2894, 2000.
- [163] C. R. Rambo, F. A. Müller, L. Müller, H. Sieber, I. Hofmann, and P. Greil. Biomimetic apatite coating on biomorphous alumina scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 26(1):92–99, 2006.
- [164] J. A. F. Gamelas and A. G. Martins. Surface properties of carbonated and non-carbonated hydroxyapatites obtained after bone calcination at different temperatures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 478:62 – 70, 2015.
- [165] S. Kaciulis, G. Mattogno, L. Pandolfi, M. Cavalli, G. Gnappi, and A. Montenero. XPS study of apatite-based coatings prepared by solgel technique. *Applied Surface Science*, 151(1-2):1–5, 1999.

- [166] M.-F. Hsieh, L.-H. Perng, and T.-S. Chin. Hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy using a so-gel derived precursor. *Materials Chemistry and Physics*, 74:245–250, 2002.
- [167] D.-M. Liu, Q. Yang, and T. Troczynski. Sol-gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates. *Biomaterials*, 23(3):691 – 698, 2002.
- [168] H. Zeng and W. R. Lacefield. XPS, EDX and FTIR analysis of pulsed laser deposited calcium phosphate bioceramic coatings: the effects of various process parameters. *Biomaterials*, 21(1):23 – 30, 2000.
- [169] K. McLeod, S. Kumar, R. St. C. Smart, N. Dutta, N. H. Voelcker, G. I. Anderson, and R. Sekel. XPS and bioactivity study of the bisphosphonate pamidronate adsorbed onto plasma sprayed hydroxyapatite coatings. *Applied Surface Science*, 253(5):2644 – 2651, 2006.
- [170] C.C. Silva and A.S.B. Sombra. Raman spectroscopy measurements of hydroxyapatite obtained by mechanical alloying. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 65(5):1031 – 1033, 2004.
- [171] D.G. Nelson and J. D. Featherstone. Preparation, analysis, and characterization of carbonated apatites. *Calcified Tissue International*, 34(2):69–81, 1982.
- [172] H. Li, B. S. Ng, K. A. Khor, P. Cheang, and T. W. Clyne. Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination. *Acta Materialia*, 52(2):445 – 453, 2004.
- [173] L. Yan, Y. Leng, and L.-T. Weng. Characterization of chemical inhomogeneity in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings. *Biomaterials*, 24(15):2585 – 2592, 2003.
- [174] L. Sun, C. C. Berndt, K. A. Gross, and A. Kucuk. Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: A review. *Journal of Biomedical Materials Research*, 58(5):570–592, 2001.
- [175] E. Garcia, Z. B. Zhang, and T. W. Coyle. *Advances in Bioceramics and Biocomposites II*, chapter Hydroxyapatite Coatings Produced by Plasma Spraying of Organic Based Solution Precursor, pages 103–110. A John Wiley & Sons, Inc., 2007.
- [176] M.T. Carayon and J.L. Lacout. Study of the Ca/pPatomic ratio of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings. *Journal of Solid State Chemistry*, 172(2):339 – 350, 2003.
- [177] E. Tsuruga, H. Takita, H. Itoh, Y. Wakisaka, and Y. Kuboki. Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis. *The Journal of Biochemistry*, 121(2):317–324, 1997.
- [178] A. A Campbell. Bioceramics for implant coatings. *Materials Today*, 6(11):26 – 30, 2003.

- [179] L.-L. Yang, Y.-S. Lai, J.S. Chen, P.H. Tsai, C.L. Chen, and C. J. Chang. Compositional tailored sol-gel  $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$  thin films: Crystallization, chemical bonding configuration, and optical properties. *Journal of Materials Research*, 20:3141–3149, 2005.
- [180] X. Zhao, J. You, Y. Xie, H. Cao, and X. Liu. Nanoporous  $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$  composite coating for orthopedic application. *Materials Letters*, 152:53 – 56, 2015.
- [181] M. Mazur, D. Wojcieszak, D. Kaczmarek, J. Domaradzki, S. Song, D. Gibson, F. Placido, P. Mazur, M. Kalisz, and A. Poniedzialek. Functional photocatalytically active and scratch resistant antireflective coating based on  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$ . *Applied Surface Science*, 380:165 – 171, 2016. Proceedings for International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT-10, Manchester, UK).
- [182] A. Suligoj, U. L. Stangar, A. Ristic, M. Mazaj, D. Verhovsek, and N. Novak Tusar.  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  films from organic-free colloidal  $\text{TiO}_2$  anatase nanoparticles as photocatalyst for removal of volatile organic compounds from indoor air. *Applied Catalysis B: Environmental*, 184:119 – 131, 2016.
- [183] D. Li, S. Elisabeth, A. Granier, M. Carette, A. Goulet, and J.-P. Landesman. Structural and optical properties of PECVD  $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$  mixed oxide films for optical applications. *Plasma Processes and Polymers*, 13(9):918–928, 2016.
- [184] P. Karasinski, C. Tyszkiewicz, R. Rogozinski, J. Jaglarz, and J. Mazur. Optical rib waveguides based on sol-gel derived silica-titania films. *Thin Solid Films*, 519(16):5544 – 5551, 2011.
- [185] F. Gracia, F. Yubero, J.P. Holgado, J.P. Espinos, A.R. Gonzalez-Elipe, and T. Girardeau.  $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$  thin films with variable refractive index prepared by ion beam induced and plasma enhanced chemical vapor deposition. *Thin Solid Films*, 500:19 – 26, 2006.
- [186] D. P. Dowling, B. Twomey, and G. Byrne. Effect of titanium oxide nanoparticle incorporation into nm thick coatings deposited using an atmospheric pressure plasma. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10:2746–2752, 2010.
- [187] A. Dembele, M. Rahman, I. Reid, B. Twomey, J. M. Don MacElroy, and D. P. Dowling. Deposition of hybrid organic/inorganic composite coatings using an atmospheric plasma jet system. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11:87308737, 2011.
- [188] V. Ääritalo, S. Areva, M. Jokinen, M. Lindén, and T. Peltola. Sol-gel-derived  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  implant coatings for direct tissue attachment. Part I: design, preparation and characterization. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(9):1863–1873, 2007.
- [189] J. C. Shearer, M. J. Fisher, D. Hoogeland, and E. R. Fisher. Composite  $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$  and amine polymer/ $\text{TiO}_2$  nanoparticles produced using plasma-enhanced chemical vapor deposition. *Applied Surface Science*, 256(7):2081 – 2091, 2010.

- [190] D. M. D. Ehrenfest, P. G. Coelho, B.-S. Kang, Y.-T. Sul, and T. Albrektsson. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends in Biotechnology*, 28:198–206, 2010.
- [191] X. Wang, H. Masumoto, Y. Someno, and T. Hirai. Microstructure and optical properties of amorphous TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> composite films synthesized by helicon plasma sputtering. *Thin Solid Films*, 338:105 – 109, 1999.
- [192] J.-S. Chen, S. Chao, J.-S. Kao, H. Niu, and C.-H. Chen. Mixed films of TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> deposited by double electron-beam coevaporation. *Appl. Opt.*, 35(1):90–96, Jan 1996.
- [193] S. Areva, A. Virpi, S. Tuusa, M. Jokinen, M. Linden, and T. Peltola. Sol-gel-derived TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> implant coatings for direct tissue attachment. Part ii: Evaluation of cell response. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(8):1633–1642, 2007.
- [194] X. Zhao, H. Cao, J. You, X. Cheng, Y. Xie, H. Cao, and X. Liu. Nanoporous SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> coating with enhanced interfacial compatibility for orthopedic applications. *Applied Surface Science*, 355:999 – 1006, 2015.
- [195] C. Rapp, A. Baumgärtel, L. Artmann, M. Eblenkamp, and S. S. Asad. Open air plasma deposited antimicrobial SiOx/TiOx composite films for biomedical applications. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 2(1):43–47, 2016.
- [196] A. Belcarz, J. Bienias, B. Surowska, and G. Ginalska. Studies of bacterial adhesion on TiN, SiO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub> and hydroxyapatite thin layers deposited on titanium and Ti6Al4V alloy for medical applications. *Thin Solid Films*, 519(2):797 – 803, 2010. Special Section: Romanian Conference on Advanced Materials 2009.
- [197] I. D. Xynos, A. J. Edgar, L. D.K. Buttery, L. L. Hench, and J. M. Polak. Gene-expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of bioglass 45s5 dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research*, 55(2):151–157, 2001.
- [198] M. Kawashita, Y. Tanaka, S. Ueno, G. Liu, Z. Li, and T. Miyazaki. In vitro apatite formation and drug loading/release of porous TiO<sub>2</sub> microspheres prepared by sol-gel processing with different SiO<sub>2</sub> nanoparticle contents. *Materials Science and Engineering: C*, 50:317 – 323, 2015.
- [199] G. Wang and H. Zreiqat. Functional coatings or films for hard-tissue applications. *Materials*, 3:3994–4050, 2010.
- [200] R. Maurau, N. D. Boscher, S. Olivier, S. Bulou, T. Belmonte, J. Dutroncy, T. Sindzingre, and P. Choquet. Atmospheric pressure, low temperature deposition of photocatalytic TiOx thin films with a blown arc discharge. *Surface and Coatings Technology*, 232:159 – 165, 2013.
- [201] M. Bozorgtabar, M. Rahimipour, M. Salehi, and M. Jafarpour. Structure and photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> coatings deposited by atmospheric plasma spraying. *Surface and Coatings Technology*, 205, Supplement 2:S229 – S231, 2011. {PSE}

- 2010 Special Issue Proceedings of the 12th International Conference on Plasma Surface Engineering.
- [202] T. Ihara, M. Miyoshi, M. Ando, S. Sugihara, and Y. Iriyama. Preparation of a visible-light-active  $\text{TiO}_2$  photocatalyst by RF plasma treatment. *Journal of Material Science*, 36(17):4201–4207, 2001.