

Maßgeschneiderte biokompatible Silber/Titandioxid- Nanokomposite für antimikrobielle Anwendungen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Ingenieurwissenschaften
(Dr.-Ing.)
der Technischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Tomislav Hrkać

Kiel
2011

1. Gutachter

Prof. Dr. Franz Faupel

2. Gutachter

Prof. Dr. Lorenz Kienle

Datum der mündlichen Prüfung

18. November 2011

Don't Panic!

Douglas Adams,
The Hitchhiker's Guide to the Galaxy (1979).

Inhalt

Einleitung	1
Kapitel 1 Grundlagen	5
1.1 Nanosilber	6
1.1.1 Antimikrobielle Wirkung	6
1.1.2 Medizinische Verwendung	7
1.1.3 Plasmonenresonanz	7
1.2 Matrix: Titandioxid	9
1.3 Formation	11
1.3.1 Clusterwachstum	11
1.3.2 Ostwald-Reifung	12
i) Leitfähigkeit	13
1.4 Silberfreisetzung	14
1.4.1 Grenzflächenladung bei Titandioxid	14
1.4.2 Silberfreisetzung an der Oberfläche des Ag/TiO ₂ -Komposits	15
1.4.3 Silbertransport an die Oberfläche	15
i) Elektrostatisches Potential	15
ii) Wasserdiffusion	16
1.4.4 Silberclusterzersetzung an Zellen	16
1.4.5 Aggregation von Silber aus der Lösung	16
Kapitel 2 Methoden	19
2.1 Präparationsmethoden	20
2.1.1 Magnetronsputtern	20
i) Grundlagen	20
ii) RF-Sputtern	20
iii) Co-Sputtern	21
iv) Reaktives Sputtern	21
v) Aufbau und Parameter	22
2.1.2 Thermisches Verdampfen	23
i) Grundlagen	23
ii) Aufbau und Parameter	24
2.2 Charakterisierungsmethoden	25
2.2.1 Quarzmikrowaage	25
2.2.2 Profilometer	25
2.2.3 Röntgendiffraktometrie (XRD)	26
2.2.4 UV-Vis-Spektroskopie	27
2.2.5 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)	28
2.2.6 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)	29
i) Bestimmung der Zusammensetzung der Oberfläche	30
ii) Sättigung	31
2.2.7 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	31

i) 3D Electron Tomography	32
2.2.8 Spurenelementnachweis in wässriger Lösung	32
2.2.9 Biologische Untersuchungen	33
Kapitel 3 Morphologie und optische Eigenschaften	35
3.1 Experimentelles	36
3.1.1 Probenherstellung	36
3.1.2 Barriere Präparation	37
3.2 Ergebnisse und Diskussion.....	38
3.2.1 Konzentrationsreihe	38
3.2.2 Bimodale Verteilung	38
i) In situ Barriere	39
ii) 3D-Tomographie.....	40
3.2.3 Verarmungszone	42
i) Vakuumprozess.....	42
ii) Atmosphärenprozess	43
3.2.4 Barrieregesteuerte quasi-zweidimensionale morphologische Modifikation.....	43
3.2.5 Heizreihenuntersuchung	44
i) Veränderung durch Heizen	44
ii) Anwachsen der Silbercluster.....	45
iii) Ausblick	46
3.2.6 Optische Charakterisierung.....	46
i) 3D-Komposite.....	47
ii) 2D-Komposite.....	49
3.2.7 Plasmonmodulation.....	52
i) Dielektrizitätsänderung	52
ii) Hybridisierung der Plasmonenresonanz	52
iii) Barrierewachstum	53
iv) Ausblick	54
3.3 Zusammenfassung.....	55
Kapitel 4 Silberfreisetzung	57
4.1 Experimentelles	58
4.1.1 Probenpräparation	58
i) Probengröße und Substrate	58
ii) Heizen	58
iii) Metallische Grundsicht	58
iv) Haftungstest	59
4.1.2 Probenaufbau	59
i) 2D-Schichttypen	59
ii) 3D Schichttypen.....	60
iii) Barrierschichten	60
4.1.3 Experimentelle Durchführung	61
i) Vorangehende Behandlung.....	61
ii) Bedingungen	61
iii) Messzeit	61
iv) Wasserentnahme	61

v)	Auswertung der Silberkonzentration	62
vi)	Trocknung und Nachbehandlung	63
4.1.4	Optische Charakterisierung der Plasmonenresonanz.....	63
i)	Auswertung.....	63
ii)	Anwendbarkeit der Methode.....	64
4.2	Methodenvergleich.....	65
4.2.1	Grundlegende Charakterisierung	65
i)	Morphologie.....	65
ii)	Optische Charakterisierung.....	66
iii)	Direkte Messung der Silberfreisetzung.....	67
4.2.2	Silberfreisetzung	68
i)	Genauigkeit der Einzelmessung.....	68
ii)	Wassermengenabhängigkeit	68
iii)	Alterung	69
4.2.3	Vergleichsexperimente	71
i)	Vergleich amorphe gegen kristalline Matrix	71
ii)	Vergleich Barriersysteme.....	74
4.2.4	Fazit.....	76
i)	Korrelation zwischen Plasmon und Silbermenge	76
ii)	Störung durch Konzentrationsentfernung.....	77
iii)	Wassermenge	77
4.3	Ergebnisse und Diskussion.....	78
4.3.1	Variation des Silberanteils	78
i)	Silberfreisetzung gegen Silberanteil	79
4.3.2	Barriersysteme.....	81
i)	Beobachtung	81
ii)	Barriere und Clusterauswirkungen	82
iii)	Ausblick: Transportprozess	83
4.3.3	Heizen	83
4.3.4	Schichtdickenabhängigkeit	84
4.3.5	Substrat	85
4.4	Zusammenfassung.....	87

Kapitel 5 Biologische Untersuchungen 89

5.1	Experimentelles	90
5.1.1	Probenpräparation	90
i)	Äußere Voraussetzungen der biologischen Untersuchungen	90
ii)	Probengröße und Substrate	90
iii)	Nährmedium	91
iv)	Oberflächencharakterisierung	91
5.1.2	Antibakterielle Untersuchungen	92
i)	Verwendete Stämme	92
ii)	Bakterielle Adhärenz und Biofilmbildung.....	92
iii)	Referenzmessungen mittels Silbernitrat	93
iv)	Grenzen und Probleme der Agar-Diffusionstests	94
5.1.3	Zytotoxische Untersuchungen	94
i)	Verwendete Zellen	94
ii)	Probenvorbereitung.....	94

iii) Zytotoxizität.....	95
iv) Referenzmessung mittels Silbernitrat	95
5.1.4 Vergleichbarkeit der biologischen Tests.....	96
i) Unterschiedliche Nährmedien.....	96
ii) Zelldichte	96
5.1.5 Fehlerbetrachtung biologischer Tests	96
5.2 Ergebnisse und Diskussion.....	97
5.2.1 Referenzmessungen	97
i) Mikrobielle Hemmung und Bakterizide durch Silbernitrat	97
ii) Zytotoxische Wirkung von Silbernitrat	98
iii) Bestimmung der Konzentrationsgrenzen.....	99
iv) Konzentrationsgesteuerter Prozess	100
5.2.2 Kompositauswirkungen	101
i) Bakterizide Aktivität von Ag/TiO ₂ Kompositen.....	101
ii) Zytotoxische Untersuchung der Komposite.....	102
iii) Oberflächengesteuerter Prozess	103
5.2.3 Oberflächen Silber	103
i) Nach Präparation.....	103
ii) Nach Sterilisation.....	104
iii) Wässerung.....	104
iv) Reservoir-Effekt.....	105
5.2.4 Unterschiedliches Verhalten von Bakterien und Fibroblasten.....	106
i) Anderer Stoffwechsel.....	106
ii) Säureauswirkungen auf Silbercluster.....	106
iii) Unterschiedlicher Umgang mit Silber	107
5.2.5 Therapeutisches Fenster.....	107
5.2.6 Ausblick	108
5.3 Zusammenfassung.....	109
 Kapitel 6 Zusammenfassung	 111
 Kapitel 7 Anhang	 I
Abbildungsverzeichnis.....	II
Tabellenverzeichnis.....	VII
Literatur.....	VIII
Danksagung	XV

Einleitung

Die moderne Medizin steht in der heutigen Zeit vor der großen Herausforderung, dass ihre wichtigste Waffe gegen Mikroben, die Antibiotika, immer mehr an Wirksamkeit verliert [Alt2004]. Verschiedene Studien beschreiben die zunehmenden Resistenzen gegenüber vielen Antibiotika und ein großer Teil der Forschung ist mit der Entwicklung immer neuer Wirkstoffe beschäftigt.

Seit wenigen Jahrzehnten werden alternative Wege erforscht, Infektionen zu versorgen oder präventiv Bakterienherde zu bekämpfen. Immer häufiger kommen dabei Silber-Nanomaterialien, allgemein als 'Nanosilber' bezeichnet, in die Diskussion [Chen2008]. Schon in der Antike war Silber für seine antimikrobielle Aktivität bekannt, und auch die Wirkung verschiedener Heilschlämme konnte auf den Gehalt von Silberpartikeln zurückgeführt werden [Williams2010, Chaloupa2010].

So konnte in den vergangenen Jahren eine regelrechte Euphorie festgestellt werden, im Zuge derer Nanosilber in immer mehr Gegenständen des täglichen Gebrauchs auftauchte [Rai2009]. Die prominentesten Beispiele sind dabei Textilien, Sportbekleidung und selbst Teppiche [Lee2003, Cieslak2009], Waschlotionen [Jain2009] oder Farben [Kumar2008]. Daneben findet sich auch eine wachsende Zahl medizinischer Produkte, die durch ihren Einsatz des Nanosilber prophylaktisch Infektionen vorbeugen und so den Gebrauch von Antibiotika verringern sollen. Sie reichen von Desinfektionsbeschichtungen medizinischer Instrumente [Chen2008] über silberhaltige Wundauflagen [Gravante2009], Katheter [Bayston2007] bis hin zur Beimischung in Implantate [Alt2004].

Auf der anderen Seite entstehen durch den starken Gebrauch von Nanosilber Fragen, inwieweit ihr Einsatz auch negative Auswirkungen auf den Menschen und die Umwelt nehmen kann [Biswas2005, Mudunkotuwa2011, Som2011], und wie sehr sich abgegebene Nanomaterialien in Organismen einlagern und so zu langfristigen Schäden führen [Müller2008].

Aus diesem Grund ist es von großem Interesse, die entscheidenden Mechanismen der antimikrobiellen Aktivität zu kennen, und so das Silber in Menge, Form und Verteilung bestmöglich an die jeweiligen Anwendungen anzupassen.

Während die Wirkmechanismen des Silbers bereits ausgiebig in der Literatur über verschiedene Ansätze diskutiert wurde (vgl. Kapitel 1.1.1), existieren bei den meisten biologisch ausgerichteten Arbeiten kaum systematische Untersuchungen des Freisetzungsmechanismus der Nanosilber-Materialien, sondern nur Untersuchungen am konkreten System [Agarwal2010, Valappil2007]. Auf der anderen Seite gibt es eine Reihe von Arbeiten, die sich mit der Modifikation von Nano-Silbermaterialien befassen (vgl. Kapitel 1.4), diese sind aber nicht auf reale Systeme angepasst, sodass sich auch hier keine Synergie ergibt.

Das Ziel dieser Arbeit ist zum einen die systematische Untersuchung des Silberionen-Freisetzungverhalten durch die Variation verschiedener Parameter, wie Silbermenge, Verteilung, Heizen, und auch der Aufbringung von Barrierschichten. Dabei steht Verständnis der Mechanismen der Silberfreisetzung im Vordergrund.

Und zum anderen sollte die Auswirkung dieser Modifikationen sowohl auf die antimikrobielle Aktivität als auch auf die Biokompatibilität zu menschlichen Zellen untersucht werden. Hierfür soll ein interdisziplinäres, anwendungsorientiertes Messverfahren entwickelt werden, das etablierte Methoden der einzelnen Bereiche erstmals gegenüberstellt, vergleicht und so verknüpft, dass die erzielten Ergebnisse allgemein verwertbar werden, um so maßgeschneiderte Schichten zu erhalten.

Für diesen Zweck eignen sich besonders Dünnschichtkomposite, bei denen das Nanosilber zusammen mit einem Trägermaterial (Matrix) aufgebracht und in ihr eingebettet wird [Faupel2007]. Neben der eigentlichen Beschaffenheit des Nanosilbers, also der Größe oder der Form der Cluster, hat auch die Matrix durch Wechselwirkungen einen entscheidenden Einfluss auf die gewünschten Eigenschaften des Komposits [Faupel2007, Zaporojtchenko2006].

Als Matrix für das Nanosilber wurde Titandioxid gewählt. Neben seiner chemischen Stabilität und Biokompatibilität zeichnet sich Titandioxid durch seine Halbleitereigenschaften aus. Es findet in vielen Bereichen wie der Photovoltaik, Katalyse oder auch für Antifouling- und antimikrobielle Applikationen seine Verwendung [Chen2007]. Es bietet sich daher als ideales Trägermaterial für Komposite an, welche in Hinblick auf die antimikrobiellen Eigenschaften für Anwendungen im medizinischen Bereich optimiert werden sollen [Chakravadhanula2011, Chen2007, Linsebigler1995].

Die Komposite wurden durch das Co-Sputter-Verfahren hergestellt. Dabei handelt es sich um ein Vakuum-Gasphasenabscheideverfahren, bei dem Silber und Titandioxid gleichzeitig aus zwei einzelnen Quellen auf ein Substrat aufgebracht werden können. Diese Methode ermöglicht eine flexible Variation von Parametern, wie der Clustergröße und dem Silberanteil im Komposit [Faupel2007, Zaporojtchenko2006]. Weiterhin zeichnen sich die erzeugten Schichten durch eine hohe Reinheit aus, da z.B. im Gegensatz zu Solgel vollkommen auf zusätzliche Prozessmaterialien, wie Precursor oder Lösungsmittel verzichtet werden kann. Durch die Möglichkeit die Deposition bei Zimmertemperatur durchführen zu können, können dadurch auch Materialien beschichtet werden, die wie medizinische Instrumente mit vielen Kunststoffteilen temperaturempfindlich sind.

Die Arbeit lässt sich in drei Hauptaufgabenfelder aufteilen.

Der erste Teil (Kapitel 3) diskutiert die optischen und morphologischen Eigenschaften der Nanokomposite. Dabei wird der Einfluss einer Barrierschicht auf die Verteilung der Silbercluster und die Auswirkung auf die optischen Eigenschaften des Komposits betrachtet. Auch die Auswirkung des Heizens der Komposite wird untersucht.

Hiernach (Kapitel 4) wird die Silberfreisetzung der Nanokomposite und der Effekt der zuvor untersuchten Modifikationen betrachtet. Für diesen Zweck wird ein Methodenvergleich diskutiert, der zeigen soll, ob neben der direkten Messung der Silberkonzentration in Wasser, auch eine indirekte und schnellere Methode möglich ist, bei der durch die Veränderung der optischen Eigenschaften des Komposits auf die Silberfreisetzung geschlossen werden kann.

Danach folgt die Messung der Auswirkung verschiedener Parameter wie Schichtdicke, Silberanteil und Barriereauswirkungen.

Der abschließende Teil (Kapitel 5) umfasst die antimikrobiellen und zytotoxischen Untersuchungen der Nanokomposite. Dabei werden etablierte medizinische Methoden

gegenübergestellt und Anpassungen diskutiert. Hierbei dient Silbernitrat als Referenzsystem [Chopra2007, Rai2009], auch um die Auswirkung der Nanokomposite später einordnen und vergleichen zu können.

Unterschiede in der Wirkung auf Bakterien und menschliche Zellen werden gezeigt und dienen zur Bestimmung eines 'Therapeutischen Fensters' für den Einsatz der Nanokomposite, bei dem sie antimikrobiell aber nicht zytotoxisch wirken.

Kapitel 1 Grundlagen

Groß ist die Aufgabe, die vor mir steht und bescheiden sind die Kenntnisse und Kräfte, die für ihre Bewältigung ausreichen sollen. Aber Aufgaben sind da, um gelöst zu werden, und welcher Schlachtruf wäre wohl besser geeignet, den Ermatteten mit neuem Mut zu erfüllen, als das Wort: Energie?

– Wilhelm Ostwald (1853 - 1932)

1.1 Nanosilber

Im Rahmen dieser Arbeit werden Nanokomposite hergestellt, bei denen kleinste Silberteilchen oder auch Silbercluster in der Größe von 1 nm - 50 nm in eine Titandioxid-Matrix eingebracht werden. Entsprechend der Verteilung der Teilchen in der Matrix wird von 2D-Kompositen gesprochen, wenn die Cluster in einer Ebene im Komposit verteilt sind, und von 3D-Kompositen, wenn die Cluster im Volumen der Matrix verteilt sind.

1.1.1 Antimikrobielle Wirkung

Wird von antimikrobiellen Silber oder Nanosilber gesprochen, sind es im Grunde genommen die Silberionen, die die Effekte erzeugen [Chaloupa2010]. Die Mechanismen der antimikrobiellen Aktivität lassen sich hauptsächlich durch drei Effekte erklären [Chaloupa2010, Marambio2010].

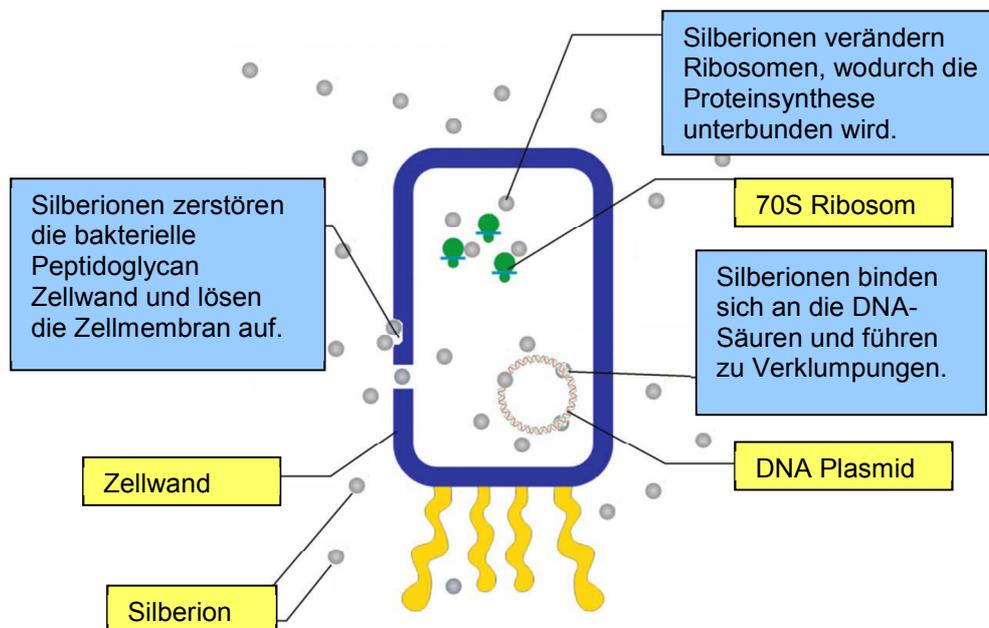


Abbildung 1.1 Auswirkung von Silberionen auf Bakterien [Chaloupa2010].

DNA-Schädigung

Im Gegensatz zu tierischen Zellen wird die DNA eines Bakteriums nicht durch einen Zellkern geschützt, sondern liegt frei im Zytoplasma, wodurch es besonders empfindlich ist. Silberionen können mit den Aminosäuren reagieren und so zur Auflösung der DNA-Stränge führen [Shrivastava2007, Yang2009].

Behinderung der Proteinsynthese

Silberionen können die Ribosomen der Zelle schädigen, sodass sie keine Proteinsynthese durchführen und sich nun auch nicht mehr teilen kann [Lansdown2002, Yamanaka2005].

Membranzerstörung

Silberionen, und in diesem Fall auch Silbercluster [Feng2000, Morones2005], können sich an die Proteine der Zellwände [Yamanaka2005] und an die Plasmamembrane [Jung2008] binden, wodurch sie strukturelle Schäden an der Zelle verursachen.

Die Effekte der DNA-Schädigung und der Behinderung der Proteinsynthese können sowohl auf Bakterien als auch auf menschliche Zellen angewendet werden, jedoch besitzen menschliche Zellen bessere Reparaturmechanismen als auch einen Zellkern, der die DNA schützt, sodass die Zellschädigungen wesentlich geringer ist oder gar nicht auftritt [Rai2009].

1.1.2 Medizinische Verwendung

Durch die guten antimikrobiellen Eigenschaften des Silbers findet es in den verschiedensten medizinischen Anwendungen seinen Einsatz:

Silbernitrat

Die Einführung von 'Crede's 1% Silbernitrat Augentropfen' im Jahre 1881 gilt als die erste medizinische Verwendung von Silberionen in der Medizin der Neuzeit. Auch heute noch ist sein Einsatz in Entwicklungsländern eine wichtige Behandlungsmethode gonokokkale Augeninfektionen.

Auch zur Behandlung von Nasenbluten wird Silbernitratlösung verwendet [Chaloupa2010].

Silbersulfadiazin

Das schlecht lösliche Silbersalz wird als Salbe zur Behandlung von schweren Verbrennungen verwendet [Ahuja2009, Chen2006].

Nanosilber

Der Gebrauch von Nanosilber gewinnt immer weiter an Bedeutung. Dabei reicht das Anwendungsgebiet von Desinfektionsbeschichtungen medizinischer Instrumente [Chen2008] über silberhaltige Wundauflagen [Gravante2009], Katheter [Bayston2007] bis hin zur Beimischung in Implantate, wo sie prophylaktisch Infektionen vorbeugen sollen [Alt2004].

Selbst im Alltag sind vermehrt Produkte mit Nanosilber erhältlich, wie z.B. Textilien [Lee2003], Seifen [Jain2009] oder Farben [Kumar2008].

1.1.3 Plasmonenresonanz

Kleine metallische Cluster, die freie Elektronen ausweisen, können durch einfallende elektromagnetische Strahlung angeregt werden. Dabei kommt es zu kollektiven Schwingungen der freien Elektronenwolken. Diese Schwingungen werden als Plasmonen bezeichnet, die Frequenz, bei der das Plasmon angeregt wird, entsprechend als Plasmonenresonanz und wird als entsprechende Absorption in der optischen Charakteristik gemessen. Dabei ist diese Frequenz abhängig vom Material der Cluster, ihrer Größe, Form und den dielektrischen Eigenschaften des umgebenden

Materials [Kreibig1995]. Auch muss unterschieden werden, ob die Cluster isoliert voneinander angeregt werden oder es zusätzliche Wechselwirkungen gibt, die sich zusätzlich auf das Resonanzverhalten auswirken können. Für eine Abschätzung der Plasmonenresonanz wird die Theorie von Gustav Mie [Mie1908] herangezogen, der die ersten Untersuchungen in diesem Gebiet durchführte.

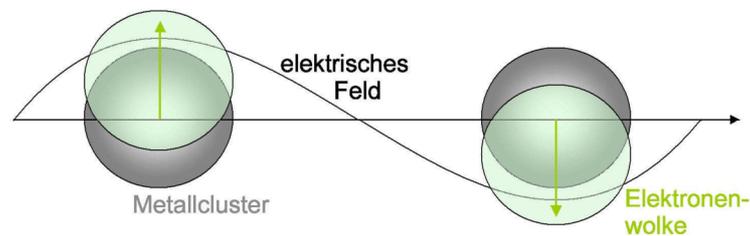


Abbildung 1.2 Modell der Elektronenschwingung in Metallclustern, die durch ein elektrisches Feld angeregt werden [Schürmann].

Für die Charakterisierung der optischen Eigenschaften und die Veränderung der Absorption wird die komplexe dielektrische Konstante $\tilde{\epsilon}$ und auch der komplexe Brechungsindex mit der Absorptionskonstante κ und dem Brechungsindex n betrachtet

$$\tilde{\epsilon} = \epsilon_1 + i\epsilon_2$$

$$\tilde{n} = n + i\kappa$$

Durch den Zusammenhang zwischen der komplexen dielektrischen Konstante und dem komplexen Brechungsindex

$$\tilde{\epsilon} = \tilde{n}^2$$

ergibt dann für die den Real- und Imaginärteil der komplexen dielektrischen Konstanten

$$\epsilon_1 = n^2 - \kappa^2$$

$$\epsilon_2 = 2n\kappa$$

Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass die dielektrische Konstante frequenzabhängig ist und so die komplexe dielektrische Funktion $\hat{\epsilon}(\nu)$ betrachtet wird.

Abhängig von der Form, Größe und Menge der Metallcluster können verschiedene Theorien zur Beschreibung der Änderung der optischen Eigenschaften angewendet werden [Heilmann2003]. Für kugelförmige Partikel, die einen Volumenanteil f von weniger als 30 % am Komposit haben, zeigt die Maxwell-Garnett-Theorie von 1906 in Abhängigkeit von den dielektrischen Funktionen der Metallpartikel $\hat{\epsilon}_{metall}$ und der Matrix $\hat{\epsilon}_{matrix}$ eine effektive dielektrische Funktion $\hat{\epsilon}_{eff}$ von

$$\frac{\hat{\epsilon}_{eff} - \hat{\epsilon}_{matrix}}{\hat{\epsilon}_{eff} + 2\hat{\epsilon}_{matrix}} = f \frac{\hat{\epsilon}_{metall} - \hat{\epsilon}_{matrix}}{\hat{\epsilon}_{metall} + 2\hat{\epsilon}_{matrix}}.$$

Als weiterer Parameter wird die Polarisierbarkeit α der Partikel mit dem Radius R betrachtet [Heilmann2003]. Dabei wird vorausgesetzt, dass die Partikel wesentlich kleiner sind als die Wellenlänge des Lichts, wodurch die Streuung vernachlässigt werden kann. Werden die Schwingungen als Dipolschwingungen angenommen (Abbildung 1.2), so folgt:

$$\alpha = 4\pi\epsilon_0 R^3 \frac{\hat{\epsilon}_{metall} - \hat{\epsilon}_{matrix}}{\hat{\epsilon}_{metall} + 2\hat{\epsilon}_{matrix}},$$

diese erreicht ihr Maximum, was der Position des Absorptionspeaks entspricht, bei

$$\hat{\epsilon}_{metall} + 2\hat{\epsilon}_{matrix} = 0.$$

Abhängig von der Frequenz lässt sich über diese Zusammenhänge die Position der Resonanzen bestimmen. In den hier getroffenen Überlegungen wurde angenommen, dass die Partikel homogen verteilt sind und nicht untereinander wechselwirken. Für Silbercluster ergibt sich daraus eine Absorption im sichtbaren Frequenzbereich [Kreibig1995].

Die in dieser Arbeit präparierten Proben weisen nur sphärische Partikel auf, für die Betrachtung erweiterter Theorien zu anders gearteten Partikeln und zu modifizierten Wechselwirkungen zwischen Matrix und Partikel sei auf weitere Arbeiten verwiesen [Elbahri2011, Heilmann2003].

1.2 Matrix: Titandioxid

Als Matrix für das Nanosilber wurde Titandioxid gewählt, da es sich durch seine chemische Stabilität und Biokompatibilität auszeichnet. Es findet unter anderem seine Verwendung bei Antifouling- und antimikrobiellen Applikationen [Chen2007]. Deshalb bietet sich daher als ideales Trägermaterial für Komposite an, welche für Anwendungen im medizinischen Bereich optimiert werden sollen [Chakravadhanula2011, Chen2007, Linsebigler1995].

Titandioxid tritt in der Natur in verschiedenen Formen auf, die sich hinsichtlich ihrer Kristallstruktur und ihrer Eigenschaften unterscheiden, wobei für Applikationen nur Anatas und Rutil interessant sind [Diebold2003]. Abbildung 1.3 zeigt die Kristallstruktur von Anatas und Rutil mit den jeweiligen Gitterkonstanten. Durch Heizen geht Anatas ab etwa 700°C irreversibel in Rutil über.

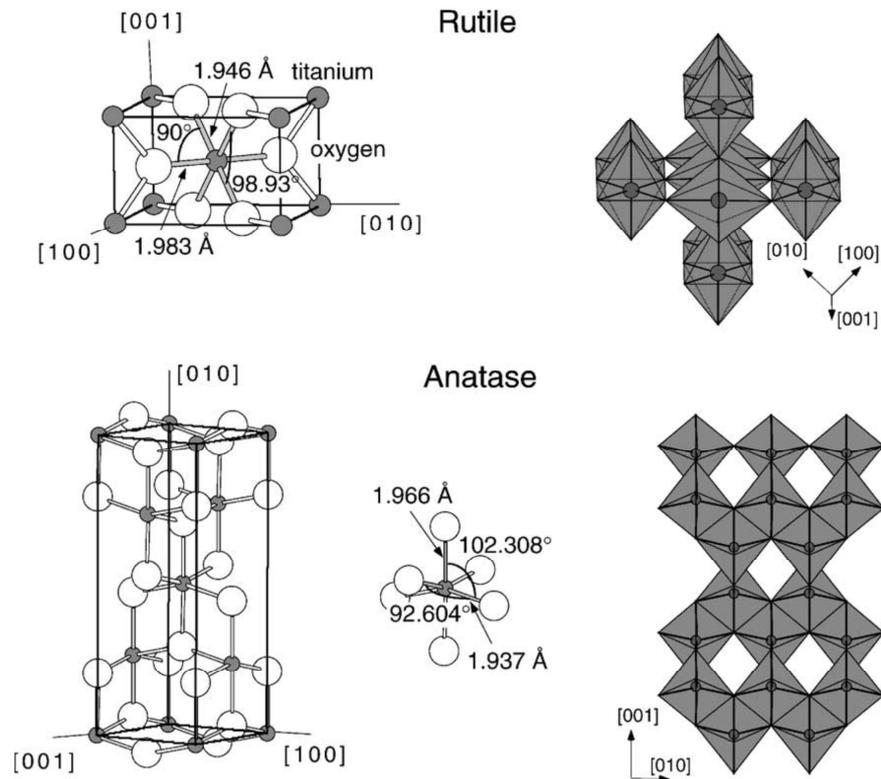


Abbildung 1.3 Kristallstruktur von Rutil und Anatas [Diebold2003].

Bei kommerziellem Titandioxid (Degussa P25), das hauptsächlich durch Solgel-Methoden hergestellt wird und dann als Pulver zur Verfügung steht, sind beide Phasen zu finden [Chen2007].

In dieser Arbeit wird das Titandioxid durch Magnetronspütern (Kapitel 2.1.1) aus der Gasphase abgeschieden, wodurch es amorph aufwächst (vgl. Abbildung 2.5). Amorphes Titandioxid unterscheidet sich in seinen optischen wie auch elektrischen Eigenschaften von kristallinem Titandioxid [Lee1994, Dakka1999].

Neben der höheren Defektrate in einem amorphen Material verglichen zu einem kristallinen, kann auch eine größere Bandlücke von etwa 3,54 eV [Dakka1999] im Gegensatz zu etwa 3,2 eV [Linsebigler1995] angegeben werden, was sich auf die optischen Eigenschaften auswirkt, da die Absorptionskante nun bei etwa 350 nm zu erwarten ist. Des Weiteren entstehen bei der Abscheidung durch das Magnetronspütern Sauerstoffleerstellen im Material [Dakka1999], die sich wie eine Dotierung auswirken [Linsebigler1995].

Das amorphe Titandioxid kann durch nachträgliches Ausheizen bei etwa 650 °C in eine polykristalline Anatas-Phase überführt werden (vgl. Abbildung 2.5).

1.3 Formation

In dieser Arbeit werden Abscheidemethoden verwendet, bei denen im Vakuum einzelne Moleküle bzw. Atome auf ein Substrat deponiert werden. Dabei kommt es während und nach der Deposition des Komposits zu Wechselwirkungen, die im Folgenden beschrieben werden.

1.3.1 Clusterwachstum

Bei der Abscheidung verschiedener Materialien kommt es zu unterschiedlichen Wachstumsformen. Diese stellen sich entsprechend der unterschiedlichen Grenzflächenenergien ein und führen zu unterschiedlichen Morphologien [Smith1995]. Für eine Oberflächenenergie des Substrats γ_s , der freien Filmoberfläche γ_f und der Grenzfläche γ_i zwischen beiden Materialien ergeben sich idealisiert für die verschiedenen Verhältnisse die in Abbildung 1.4 gezeigten Wachstumsarten.

Ist die Substratoberflächenenergie etwa gleich oder höher als die des Films, kann das System durch die Bildung einer Monolage Energie minimieren. Entstehen bei weiteren Lagen keine Spannungen im Film, kann ein Schicht-für-Schicht-Wachstum beobachtet werden (Frank van der Merwe-Wachstum). Entstehen innere Spannungen im Film, die z.B. durch unterschiedliche Gitterabstände im Substrat und Film hervorgerufen werden können, so bilden sich Inseln auf dem Film, um diese Spannungen abzubauen (Stranski-Kastranov-Wachstum).

Ist die Substratoberflächenenergie dagegen kleiner als die des Films, so versucht der Film seine Oberfläche zu minimieren und bildet Inseln aus (Volmer-Weber-Wachstum).

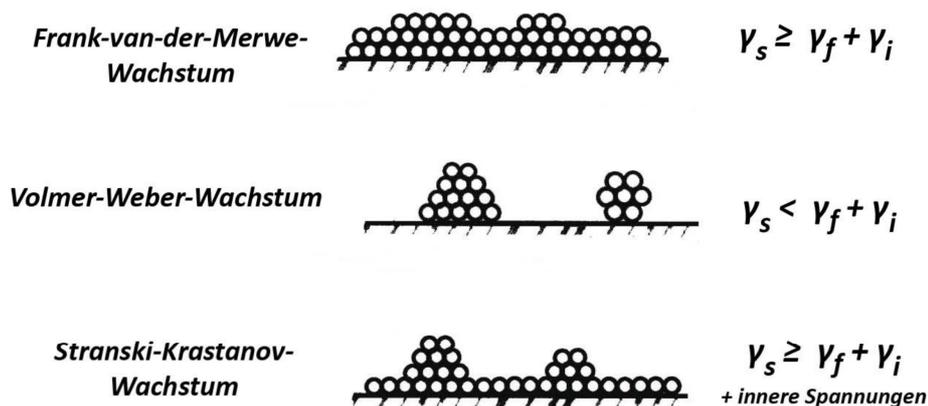


Abbildung 1.4 Wachstumsarten verschiedener Dünnschichten. [Smith1995]

Das beschriebene Wachstum ist ein vereinfachtes Modell, bei dem ein Material als Film auf ein anderes stationäres Material als Substrat abgeschieden wird. Bei der in dieser Arbeit verwendeten Methode werden hingegen die beiden Materialien Silber und Titandioxid gleichzeitig abgeschieden. Deshalb wird die Abscheidung in zwei getrennten Phasen betrachtet, bei der das Silber auf Titandioxid und Titandioxid auf Silber wächst:

Die Oberflächenenergie von Silber ist sehr viel größer als die von Titandioxid und so kommt es zum Volmer-Weber-Wachstum. Silber agglomeriert zu Clustern [Poppa1993, Venables1994].

Umgekehrt kommt es durch die wesentlich geringere Oberflächenenergie von Titandioxid zum Frank van der Merwe-Wachstum auf der Silberoberfläche, um so die Gesamtenergie zu minimieren. Bei diesem Vorgang werden die entstandenen Silbercluster schnell von Titandioxid eingehüllt und so in die Matrix eingebettet.

1.3.2 Ostwald-Reifung

Bereits im Jahre 1900 veröffentlichte Wilhelm Ostwald [Ostwald1900] eine Arbeit zu einem Effekt, bei dem in oder auf einer Matrix größere Partikel auf Kosten kleinerer heranwachsen. Diese Theorie wurde in den folgenden Jahrzehnten weiter verfeinert und ist auch heute noch von Interesse [Baldan2002].

Die Ostwald-Reifung tritt auf, wenn die Partikel eine unterschiedliche Oberflächenspannung aufweisen und der Materialaustausch zwischen den Partikeln möglich ist. Da das Verhältnis der Grenzflächenenergie zur Volumenenergie größenabhängig ist, versuchen die Partikel über die Reifung die Energie zu minimieren. Für eine Abschätzung, die sich aus dem Unterschied des chemischen Potentials ergibt, wird zuerst die freie Energie G sphärischer Partikel betrachtet. Sie ergibt sich aus dem Radius und der Oberflächenenergie γ

$$G = 4r_i^2\gamma.$$

Hieraus lässt sich nun das chemische Potential μ bestimmen

$$\mu_i = \frac{dG}{dn_i} = \frac{d(4\pi r_i^2\gamma)}{d(4r_i^3/3\Omega)} = \frac{8\pi r_i dr_i \gamma}{4\pi r_i^2 dr_i / \Omega} = \frac{2\Omega\gamma}{r_i}$$

dabei ist n die Zahl der Atome im Partikel, Ω sein Atomvolumen und r der Radius. Bei gleicher Oberflächenenergie folgt für zwei Partikel, für die gilt $r_1 > r_2$, dass $\mu_1 < \mu_2$ ist, wodurch das System das Anwachsen größerer Teilchen begünstigt.

Abbildung 1.5 zeigt schematisch den zeitlichen Verlauf der Reifung. Der Materialtransport funktioniert dabei nicht über Bewegung ganzer Partikel, sondern über den Austausch von Ionen bzw. Atomen.

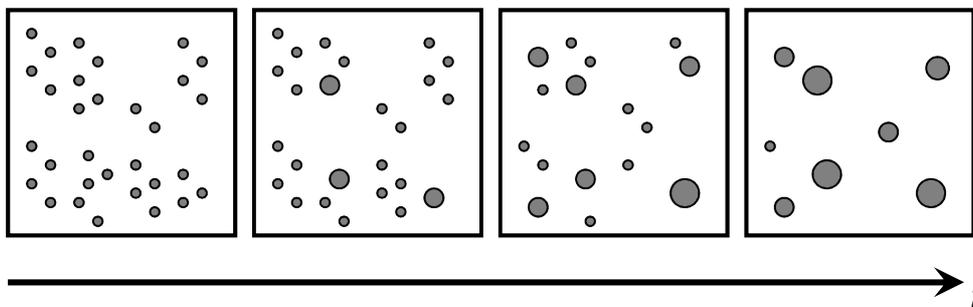


Abbildung 1.5 Schematische Darstellung der Ostwald-Reifung, bei der über die Zeit größere Partikel auf Kosten kleinerer heranwachsen.

Die Reifung kann durch die Temperatur, dem das Material ausgesetzt wird, oder auch durch Lösungsmittel an der Oberfläche beschleunigt werden [Yao1993].

Abhängig von den Parametern Oberflächenspannung, Grenzflächenenergie und Mobilität stellt sich im System ein Gleichgewicht ein, wodurch es zu einer maximalen Größe und Form der Partikel kommt [Gentry2011].

i) Leitfähigkeit

Bei dem hier verwendeten System funktioniert die Reifung der Silbercluster entsprechend über den Austausch von Silberionen. Damit es beim Verlassen und bei der Aufnahme der Ionen im Cluster nicht zu übermäßigen Ladungsüberschüssen kommt, müssen auch Elektronen ausgetauscht werden können. Somit ist bei einer leitfähigen Matrix ein beschleunigter Reifungsprozess zu erwarten.

1.4 Silberfreisetzung

Wird von der antimikrobiellen Aktivität von Silber gesprochen, so sind es in der Regel die in einem Medium gelösten Silberionen, die diese Effekte bestimmen [Marabio2010, Monteiro2009]. Somit sind das Verständnis und die Kontrolle der Silberfreisetzung die grundlegenden Aufgaben, um maßgeschneiderte Komposite für antimikrobielle Anwendungen zu entwickeln.

Für die Silberfreigabe aus einem Ag/TiO₂ 3D-Komposit sind zwei Mechanismen zu betrachten. Zum einen die Freisetzung des Silbers an der Oberfläche in Kontakt mit Wasser und zum anderen der Transport von Silber vom Probeninneren an die Oberfläche. Beide Mechanismen werden maßgeblich von der Grenzfläche zwischen Titandioxidoberfläche und Wasserfilm bestimmt, die sich in normaler Atmosphäre sofort bildet. Hierbei tritt der besonders wichtige Effekt der ‚dissoziativen Adsorption‘ auf, die zur Aufladung der Oberfläche des Titandioxids führt und maßgeblich zur Ionenfreisetzung an der Oberfläche führt. Im Folgenden wird die Entstehung der Grenzflächenladung beschrieben.

1.4.1 Grenzflächenladung bei Titandioxid

In Kontakt mit Wasser bildet Titandioxid als n-Typ-Halbleiter im Kontakt mit Wasser eine Bandverbiegung aus, die aus dem Angleichen der Fermi-Niveaus resultiert. Das führt zu einer Verschiebung des elektrostatischen Potentials und der negativen Aufladung der Oberfläche [Linsebigler1995].

Hierdurch kommt es zur ‚dissoziativen Adsorption‘ von Wassermolekülen entlang der Metallatome [Köhler1993, Mudunkotuwa2011], bei der die erste Monolage des adsorbierten Wassers dissoziiert, um die elektrostatische Ladung auszugleichen. Nach mindestens zwei weiteren Monolagen Wasser (Computermodellierungen nach [Tilocca2004]) wird die Aufladung der Oberfläche nach außen abgeschirmt.

Diese Grenzflächenladung wirkt sich direkt auf die Ladungsverteilung und damit auf die Ionenfreisetzung der auf der Oberfläche befindlichen Silbercluster aus, wie im Folgenden beschrieben wird.

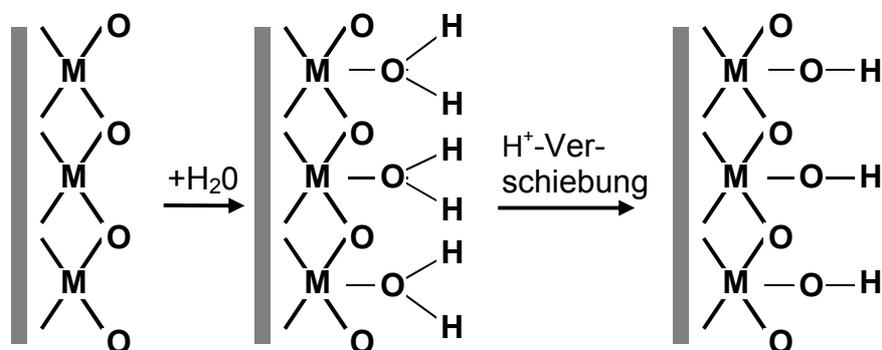


Abbildung 1.6 Schema der dissoziativen Adsorption von Wasser an einer Metalloxidoberfläche (Titandioxid) [Köhler1993].

1.4.2 Silberfreisetzung an der Oberfläche des Ag/TiO₂-Komposits

Im Falle eines Ag/TiO₂-Komposit kann angenommen werden, dass das generelle Verhalten dem der Matrix entspricht, sodass in Kontakt mit Wasser auch hier die beschriebene dissoziative Adsorption auftritt, bei der die entstehenden Radikale auch auf den Oberflächensilberclustern des Komposits adsorbieren..

Das führt zu Oxidationsprozessen [Coi2008], bei dem an der Silberoberfläche das Oxid AgO entsteht [Liu2010]. Dieses führt zur Verschiebung der Ladung im Cluster, bei dem ein Valenzelektron zum Sauerstoff wandert, wodurch sich ein Silberion an das Oxid anlagert, ohne jedoch zum vollständigen Ag₂O zu oxidieren. Diese Anlagerung führt dazu, dass dieses Silberion schwächer an den Cluster gebunden ist.

Das Peroxid kann mit einem zweiten Peroxid reagieren, wobei ein Sauerstoffmolekül O₂ entsteht und das Cluster positiv auflädt. Anders als Bulksilber kann der Cluster diese Ladung nur so kompensieren, indem schwächer gebundene Silberionen abgegeben werden [Schmidt2003].

Ein höherer Sauerstoffanteil im Medium führt zu einer stärkeren Oxidation und dies wiederum zu einer verstärkten Freisetzung [Choi2008]. Weitere Parameter, die Einfluss auf die Silberfreigabe nehmen, sind Temperatur und pH-Wert, da diese sich direkt auf die Reaktionsgleichgewichte auswirken. So lässt sich bei höherer Temperatur und saurerem Medium die Freisetzung verstärken [Liu2010] und bei höherem pH-Wert entsprechend verringern [Ho2011].

Die benötigte Oxidation des Silbers wird auch begünstigt, indem das Cluster mit UV-Licht bestrahlt wird, wodurch ein Elektron vom Valenzband in das Leitungsband gehoben wird. Kann das Elektron nun vom Cluster abfließen, wird ein Silberion freigegeben.

Abgesehen von diesen chemischen Prozessen beeinflusst auch die Größe der Cluster die Freisetzung. Durch das höhere chemische Potential werden kleinere Cluster instabiler [Cao2004], sodass sie im Vergleich zu größeren Clustern leichter Silberionen abgeben.

1.4.3 Silbertransport an die Oberfläche

Ein Mechanismus für den Transport von Silber aus dem Inneren eines Ag/TiO₂ 3D-Komposits an die Probenoberfläche ist in der Literatur noch nicht beschrieben worden. Insbesondere der Mechanismus der Abspaltung von Silberionen von Clustern im Inneren eines Komposits wurde bislang in der Literatur nicht ausreichend diskutiert. So soll nun ein Modell motiviert werden.

i) Elektrostatisches Potential

Die zuvor beschriebene Bandverbiegung [Linsebigler1995] setzt sich bis zu 1 µm in das Material fort. Da in dieser Arbeit jedoch Schichten mit 100 nm untersucht wurden, ist das ganze Komposit von der Verschiebung des elektrostatischen Potentials betroffen. Defekte in der Titandioxidmatrix führen zum Abfließen von

Elektronen von den Silberclustern, wodurch die Silbercluster insgesamt positiv geladen sind.

Je kleiner ein Silbercluster ist, desto größer sind die Auswirkungen einer positiven Ladung, sodass es für das Cluster, auf das ein äußeres elektrostatisches Feld wirkt, energetisch günstiger ist, ein Silberion abzugeben, um sich zu neutralisieren [Schmidt2003]. Das Silberion spürt das negative Potential an der Oberfläche des Komposits, von wo es dann in das Medium freigesetzt werden kann.

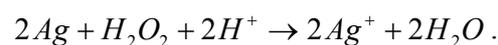
ii) Wasserdiffusion

Ein anderes Modell zur Silberfreigabe aus dem Inneren des Komposits lässt sich über Diffusion von Wasser in das Material motivieren. Dieses Verhalten ist bei 3D-Kompositen bekannt, bei dem Silbercluster in einer Polymermatrix eingebettet sind. Hier kann Wasser in das Material diffundieren [Mauritz2004] und so in direkten Kontakt zu den Silberclustern kommen, wodurch sich Ionen von den Silberclustern lösen und in Lösung gelangen können.

Ein vergleichbares Eindringen von Wassermolekülen in eine geschlossene Titandioxid-Schicht ist jedoch nur entlang von Rissen bekannt [Wei2011]. Dadurch ist dieser Ansatz, die Silberfreisetzung zu erklären, ungeeignet.

1.4.4 Silberclusterzersetzung an Zellen

Neben der vorgestellten Theorie zur Silberfreisetzung, werden in der Literatur auch weitere diskutiert, die jedoch andere Mechanismen als die Oberflächenaufladung der Oberfläche ausnutzen [Li2010]. So diskutiert Asharani et al. [Asharani2009] die Silberfreisetzung, die durch Abfallprodukte des Stoffwechsels von Zellen hervorgerufen wird:



Diese Reaktion wird als wichtiger Mechanismus zur Zersetzung von Silberclustern diskutiert, die sich in direktem Kontakt mit Zellen befinden. Dabei geschieht die Freisetzung nicht nur über die direkte Zersetzung, sondern kann auch über die temporäre Bildung von Silbersulfiden [Liu2011] erklärt werden.

1.4.5 Aggregation von Silber aus der Lösung

Neben der Auflösung von Silberpartikeln in Lösung ist auch der umgekehrte Fall der Aggregation von Silber zurück aus der Lösung in der Literatur bekannt. Sie wird allgemein für sphärische Metallpartikel und Metallionen in der Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeck (DLVO) Theorie beschrieben [Stebounova2011, Phenrat2008].

In der DLVO-Theorie wird die repulsive Kraft diskutiert, die durch die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Metalloxydoberflächen von Partikeln herrscht. Sie lässt sich dabei auch auf Metallionen anwenden.

Diese Kraft stabilisiert Metallpartikel und wirkt so dem Mechanismus der Ionenfreisetzung entgegen. Durch die Änderung verschiedener Parameter, wie der Ladung der Oberfläche, des pH-Werts oder der Ionenkonzentration nahe der Oberfläche, kann der Effekt der repulsiven Kraft stärker werden als der Mechanismus der Freisetzung, sodass es dann zur Aggregation kommt.

Stebounova et al. [Stebounova2011] zeigt die Veränderung der Silberfreisetzung an modifizierten Silberpartikeln in Lösung.

Wird angenommen, dass die DLVO-Theorie auf ausgedehnte Metalloxidoberflächen anwendbar ist, dann wirkt sie sich auch auf die in dieser Arbeit diskutierten Ag/TiO₂-Kompositoberflächen aus. Als Folge ist neben der Freisetzung auch der Rückfluss von Silberionen an die Oberfläche der Komposite möglich.

Kapitel 2 Methoden

A philosopher once said: 'It is necessary for the very existence of science that the same conditions always produce the same results'.
Well, they do not.

– Richard Feynman, *The Character of Physical Law* (1965)

In diesem Kapitel werden die Präparations- und Charakterisierungsmethoden der Silber/Titandioxid-Komposite vorgestellt. Weiterführende Modifikationen der Schichten und spezielle Untersuchungen zur Silberfreisetzung und der biologischen Eigenschaften werden getrennt in den Folgekapiteln vorgestellt und diskutiert.

2.1 Präparationsmethoden

2.1.1 Magnetronspütern

i) Grundlagen

Als Hauptverfahren zur Erzeugung von Schichten wurde das Magnetronspütern verwendet (auch als Kathodenzerstäubung bezeichnet). Sie gehört zu den physikalischen Gasphasenabscheideverfahren (PVD - Physical Vapor Deposition). Hierbei werden in einer Ultrahochvakuumkammer mittels beschleunigter Ionen aus einem Plasma einzelne Atome aus einer Festkörperquelle (Target) ausgeschlagen und auf einem Substrat deponiert [Smith1995].

Dieses Verfahren wird routinemäßig in der Arbeitsgruppe verwendet [Schürmann, Greve]; es folgt ein allgemeiner Überblick.

Die Beschleunigung der Ionen aus dem Plasma, üblicherweise wird das Edelgas Argon als Prozessgas verwendet, wird durch das Anlegen eines Potentials an die Kathode hervorgerufen. Je nach Target-Material wird dabei entweder eine Gleich- oder eine Wechselspannung angelegt. Um die Effizienz der Abscheidung zu erhöhen, sind Permanentmagnete in die Kathode eingebracht, die ein kreisförmiges Feld erzeugen, sodass die Ionen gezielt auf Bereiche des Targets abgelenkt werden. Zum einen wird die Abscheidung vom Target zielgerichteter und zum anderen wird die Rate der Kollisionen der Elektronen und Ionen im Prozessgas erhöht, was zur Erhöhung der Ionenausbeute führt.

ii) RF-Sputtern

Für die Abscheidung leitfähiger Materialien (in dieser Arbeit sind es Silber und Nickel), wird eine Gleichspannung (DC) verwendet. Um hingegen nichtleitfähige Materialien (Titandioxid) abscheiden zu können, ist diese Methode nicht verwendbar, da der Ionenbeschuss die Oberfläche des isolierenden Targets positiv auflädt. Diese Aufladung wirkt der Beschleunigungsspannung entgegen und der Prozess kommt so zum Erliegen.

Um dennoch isolierende Materialien abzuschneiden, wird eine hochfrequente (RF - Radio Frequency) Wechselspannung angelegt [Ohring2002]. Während die Elektronen im Plasma dem Wechselfeld folgen können, sind die Ionen zu träge. Die Elektronen treffen auf die Targetoberfläche und führen dort zu einer negativen Aufladung der Targetoberfläche, die als Biasspannung bezeichnet wird. Die Ionen sehen das resultierende Potential, das sie gleichförmig zur Targetoberfläche beschleunigt.

Der Sputterprozess ist von vielen Faktoren abhängig, wie Größe des Targets, Kammerdruck, Prozessgasfluss, Leitfähigkeit und Mobilität des Plasmas oder Stärke des Magnetfelds an der Kathode, sodass die Ankopplung der Hochfrequenzleistung an das Target nicht trivial ist. Hierfür wird ein Impedanz-Anpassungsnetzwerk benutzt, das feste als auch variable Kondensatoren sowie Induktoren enthält, um Schwankungen im Plasma zu stabilisieren und einen maximalen Leistungsübertrag zu ermöglichen.

iii) Co-Sputtern

Das Co-Sputtern beschreibt einen Prozess, bei dem gleichzeitig aus zwei oder mehr Magnetrons abgeschieden wird (Abbildung 2.1). Auf diese Weise können Mischmaterialien (Komposite) erzeugt werden. Im Allgemeinen wird das eine Material als 'Matrix' bezeichnet, in die das andere Material eingebettet wird [Smith1995].

In dieser Arbeit ist Titandioxid die Matrix, in die das Silber als Nanocluster eingebettet wird. Dabei wird die Menge des Silbers in Volumenprozent im Verhältnis zum Gesamtvolumen angegeben.

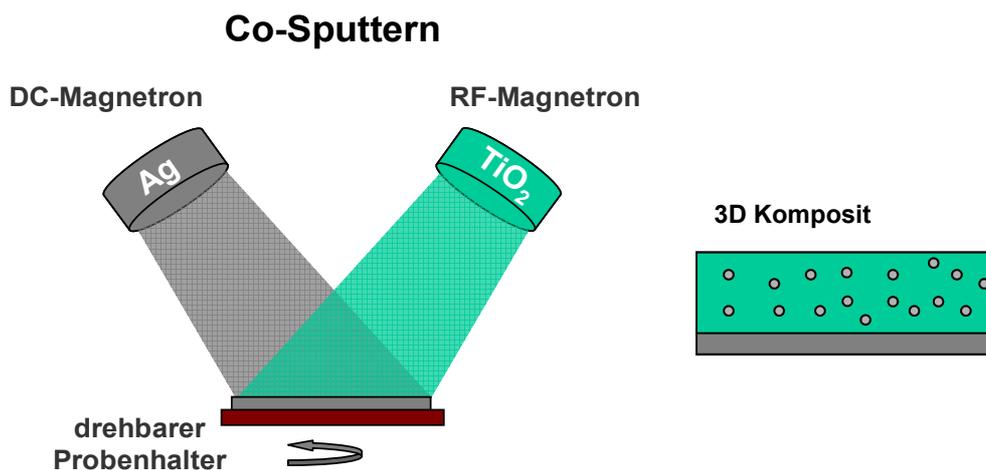


Abbildung 2.1 Co-Sputter-Prozess. Titandioxid und Silber werden gleichzeitig abgeschieden, wodurch ein 3D-Komposit entsteht, bei dem das Silber Nanocluster in der Titandioxid-Matrix bildet. Rechts: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits, bei dem das Silber (grau) Cluster im Titandioxid (grün) bildet.

iv) Reaktives Sputtern

Eine andere Möglichkeit der Abscheidung von Titandioxid besteht im reaktiven Sputtern von Titan. Bei dieser Methode wird Titan DC-gesputtert und eine angepasste Menge Sauerstoff in die Kammer geleitet, wodurch das abgeschiedene Titan auf seinem Weg zum Substrat und auch auf der Oberfläche oxidiert. Wird nun zusätzlich versucht, Silber abzuschneiden, so kann es zu Oxidationen oder auch zu Titan-Silber-Verbinden kommen. Somit ist diese Methode nicht für die Kompositherstellung geeignet.

v) Aufbau und Parameter

Für die Proben in der dieser Arbeit standen zwei Beschichtungskammern zur Verfügung. Zum einen ist dies eine Anlage, die sich durch eine hohe Variabilität auszeichnet. Es können Metalle, Keramiken, Polymere sowohl einzeln als auch im Co-Prozess abgeschieden werden. Die Grundform wurde in der Arbeitsgruppe als Vorlage für mehrere Kammern verwendet, sodass aus historischen Gründen die hier verwendete als 'Kammer 1' bezeichnet wird (Abbildung 2.2).

Zum anderen wurde eine kleine Kammer verwendet, die auf die Abscheidung von Metallen ausgelegt ist. Auch besitzt sie nur ein Magnetron. In erster Linie dient sie zur Beschichtung von REM-Proben, die für die Messung leitfähig gemacht werden müssen.

Kammer 1

Alle co-gesputterten und reinen Titandioxid-Beschichtungen wurden in einer speziellen Vakuumkammer (Eigenbau) durchgeführt. Vakuumpumpen, Magnetrons, elektronische Bauteile und andere Teile bestehen aus kommerziellen Standardkomponenten.

Die Methode und auch diese Kammer werden routinemäßig für Beschichtungen, auch für andere Materialien, in der Arbeitsgruppe verwendet. Für diese Arbeit wurden keine neuen Aufbauten oder substanzielle Veränderungen an den Komponenten durchgeführt. Neben den folgend aufgeführten Parametern sei für den detaillierten Aufbau und die Funktionsweise der einzelnen Komponenten auf die Dissertation von Dr. Ulrich Schürmann [Schürmann] verwiesen.

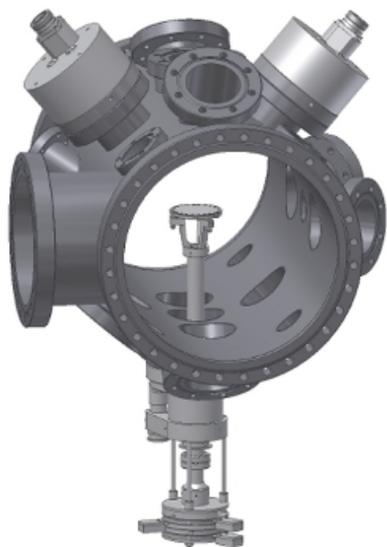


Abbildung 2.2 Schematische Darstellung der benutzten Vakuumkammer (Eigenbau) (Pumpstände, Messapparaturen, Elektronik-, Kühlwasser- und Gasanschlüsse sind nicht gezeigt).



Die Zeichnung zeigt die Orientierung der Magnetrons (oben), des Probenhalters (unten) und der Position des Probenhalters (mittig). Darstellung: Dipl.-Ing. Stefan Rehders, TF, Universität Kiel

Bild links: Verschiedene Anschlussmöglichkeiten sind durch zahlreiche Flansche gegeben.

Links: großer Anschluss für Vakuumpumpen.

Oben: Darstellung zweier Magnetrons.

Unten: Speziell gefertigter dreh- und heizbarer Probenhalter (Eigenbau).

Nicht benötigte Anschlüsse werden durch Blindflansche oder Fensterflansche verschlossen.

Bild rechts: Darstellung eines Magnetrons im passenden Maßstab.

In der gezeigten Konfiguration, werden die Proben auf den Probenhalter gelegt und die Magnetrons beschichten diese von oben. Je nach Aufgabenstellung können die

Proben kontinuierlich gedreht oder geheizt werden. Wenn nichts anderes angegeben wird, so wurden die Proben bei Raumtemperatur abgeschieden und rotiert, um eine homogene Beschichtung zu erzielen.

Der niedrigste Druck, der während des Betriebs der Kammer erreicht wurde, lag in der Größenordnung um 10^{-8} mbar. Der typische Basisdruck, bei dem der Prozess gestartet wurde, lag bei höchstens 10^{-6} mbar. Nach dem Erreichen diesen Drucks wurde das Prozessgas Argon eingeleitet. Hierfür wurde die Turbo-Molekular-Pumpe (Turbo HiPace 400, Pfeiffer) auf eine Pumpgeschwindigkeit von 200 l/s geregelt und über den Prozessgasfluss ein Kammerdruck von 3×10^{-3} mbar eingestellt.

Das RF-Magnetron zur Titanoxid-Abscheidung (TiO_2 , Reinheit 99,9%, Williams) wurde standardmäßig mit einer Leistung von 60 Watt betrieben, wodurch Abscheideraten von etwa 4 nm pro Minute erzielt werden konnten.

Das DC-Magnetron, das hauptsächlich für die Silber-Abscheidung verwendet wird (Ag, Reinheit 99,99 %, Williams), wurde im Bereich von 5 bis 30 Watt betrieben. Durch die Änderung der Abscheiderate wurde der Silberanteil im Komposit in einem Bereich von etwa 1 % - 40 % variiert.

Die verwendeten Schichtdicken variieren je nach Aufgabenstellung und werden in den Kapiteln einzeln angegeben. Auch werden die erzeugten Morphologien und Schichttypen gesondert vorgestellt.

Metallbeschichtungskammer

Im Gegensatz zu 'Kammer 1' ist diese Kammer (SCD050 Sputter Coater, Balzers) wesentlich einfacher konstruiert. Das Magnetron ist direkt über der Probe angebracht, die Probe kann nicht rotiert werden und es können ausschließlich Metalle abgeschieden werden.

Der erreichbare Basis- wie auch Prozessdruck liegt im Bereich von 10^{-2} mbar. Für den Prozess wird die Kammer mit Argon gespült, wodurch Restluft entfernt wird. Wird der Enddruck wieder erreicht, wird der Prozess mit dem noch enthaltenden Argon durchgeführt.

Die Kammer wurde hauptsächlich genutzt, um Substrate mit einer Gold- und Nickelschicht (Reinheit je 99,99 %, Plano) von 20 nm zu versehen.

2.1.2 Thermisches Verdampfen

Dieses Abscheideverfahren wird routinemäßig in der Arbeitsgruppe verwendet, es folgt ein allgemeiner Überblick. Für eine detaillierte Betrachtung, auch zu Aufbau und Funktionsweise der einzelnen Komponenten, sei auf die Dissertation von Dr. Christian Hanisch [Hanisch] verwiesen.

i) Grundlagen

Beim 'Thermischen Verdampfen' wird in einer Vakuumkammer ein Material (unter anderem Metalle und Polymere) so stark erhitzt, dass es verdampft, um daraufhin auf einer Probe zu kondensieren. Dabei wird die Abscheiderate über die angelegte Temperatur gesteuert.

Das abzuscheidende Material, im Rahmen dieser Arbeit Gold oder Silber (Reinheit je 99,99 %, Goodfellow), wird in einen Tiegel mit einer Heizspule eingebracht. Wie in Abbildung 2.3 gezeigt, wird dieser Aufbau von einem Hitzeschild ummantelt, der zum einen das Aufheizen anderer Komponenten verhindert und zum anderen Temperaturschwankungen am Tiegel vermeiden sollen.

ii) Aufbau und Parameter

Bei der Abscheidekammer (Eigenbau) handelt es sich um ein dreiteiliges System aus einer Bodenplatte, einem Glaszylinder und einem Deckel.

Im Deckel ist ein rotierbarer Probenhalter und im Boden sind Anschlüsse für die Vakuumpumpen und die Verdampfer enthalten. Ein Vorteil dieser Kammer besteht darin, dass mehrere Verdampfer getrennt voneinander gleichzeitig betrieben werden können. Der Basisdruck der Kammer liegt im Bereich von 10^{-6} mbar; da diese Methode keine Zugabe von Prozessgasen benötigt, ist dieses auch der verwendete Prozessdruck.

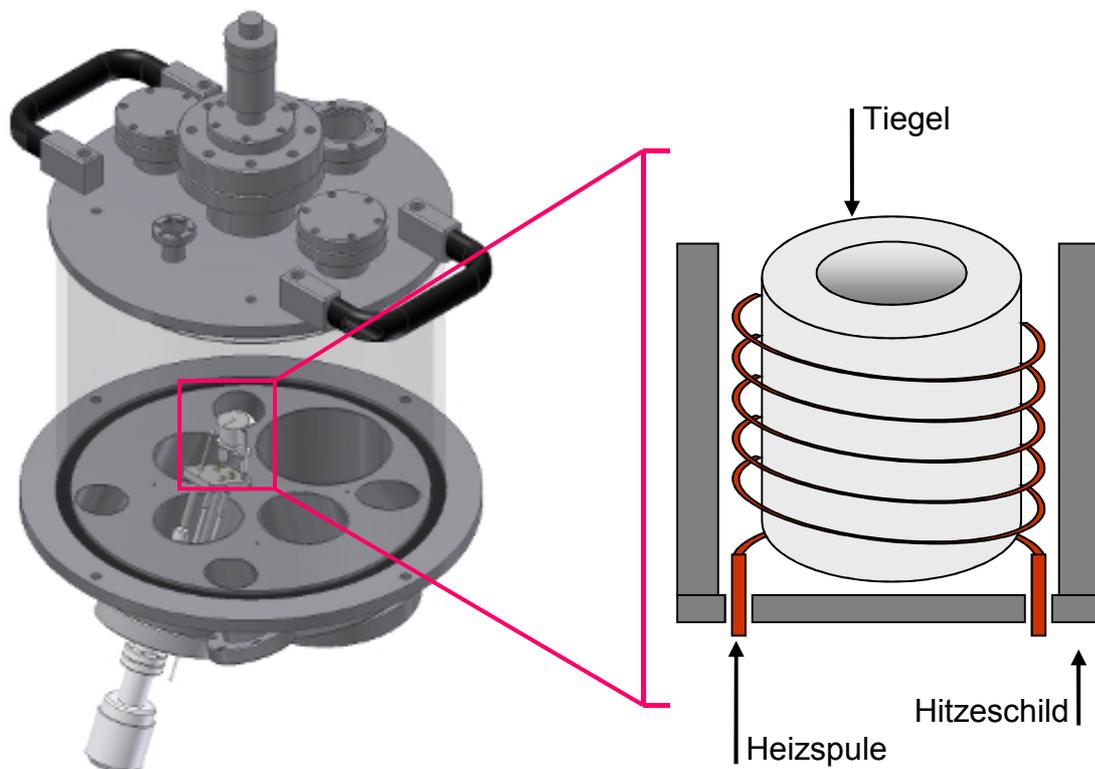


Abbildung 2.3 Schematischer Aufbau der Kammer in der das thermische Verdampfen durchgeführt wurde. Rechts: Schematischer Aufbau der Quelle. Darstellung: Dipl.-Ing. Stefan Rehders, TF, Universität Kiel

Das thermische Verdampfen wurde verwendet, um Silber- und Gold- Nanocluster für 2D-Komposite abzuscheiden. Die Abscheideraten werden über die angelegte Leistung an den Heizspulen geregelt.

Der Silberverdampfer wurde typischerweise auf 5,5 V und 2 A geregelt, wodurch eine Rate von 9 \AA pro 5 Minuten erzielt wurde; für den Goldverdampfer wurden typischerweise 19,5 V und 4 A angelegt und dadurch 2 \AA pro 5 Minuten erreicht.

2.2 Charakterisierungsmethoden

2.2.1 Quarzmikrowaage

Die Quarzmikrowaage ist eine Messmethode, die zur Bestimmung der Abscheiderate sowohl beim Sputtern als auch beim Verdampfen verwendet wurde. Ihr Grundprinzip beruht auf der Messung der Änderung der Eigenschwingung durch einen Masseeintrag.

Für die Messung wird ein piezoelektrischer Quarzkristall abseits der eigentlichen Probe in den Abscheidestrahl gesetzt, sodass er mitbeschichtet wird. Der Quarzkristall wird in Schwingung versetzt, die permanent gemessen wird. Durch die fortlaufende Beschichtung des Quarzkristalls ändern sich seine Masse und damit auch die Eigenfrequenz. Ist die Masse der Beschichtung klein gegen die Masse des Quarzes, so ist die Dämpfung der Eigenfrequenz linear mit dem Masseeintrag. Auf diese Weise lässt sich während der laufenden Abscheidung die Abscheiderate gleichzeitig und störungsfrei verfolgen.

Für die korrekte Messung ist zu berücksichtigen, dass der Quarzkristall räumlich versetzt zur Probe angebracht ist, so dass dieses durch den so genannten 'tooling factor' korrigiert werden muss. Da diese Methode nur eine Massenbestimmung durchführt, muss für die Bestimmung der abgeschiedenen Schichtdicke die Dichte des Materials bekannt sein. Dabei muss beachtet werden, dass allgemein die Dichten der Einzelmaterialien nicht der Dichte des Komposits entspricht.

2.2.2 Profilometer

Um die Schichtdicke zu bestimmen, werden Proben präpariert, bei denen ein Teil des Substrates abgeschattet wird, sodass eine Kante entsteht. Die Höhe der Kante entspricht dann der Schichtdicke des Films.

Zur Messung wird nun eine Diamantspitze mit einer definierten Kraft auf der Probe positioniert. Durch das Verfahren der Probe wird mittels der Auslenkung der Spitze dann ein Höhenprofil aufgenommen. Die Auflösung liegt dabei bei wenigen Nanometern, jedoch spielen noch weitere Faktoren, wie Radius der Messspitze, Rauigkeit des Substrats oder auch die Geschwindigkeit, mit der die Probe unter der Spitze bewegt wird, in die Messgenauigkeit hinein, sodass Kanten ab etwa 20 nm sinnvoll aufgelöst werden können.

Des Weiteren können Schwierigkeiten bei der Messung auftreten, wenn der Film eine zu große Oberflächenrauigkeit aufweist, die Messspitze durch eine zu hohe Kraft in den Film eindrückt bzw. den Film zerkratzt oder auch durch Stöße der Spitze auf die Probe oder an den Messtisch in Schwingung gerät.

Das verwendete Gerät (Dektak 8000) wurde auf einem schwingungsgedämpften Tisch aufgebaut. Es besitzt eine 12,5 μm Diamantspitze mit einem Auflagegewicht im Bereich von 1 - 100 mg. Die ausgewiesene Z-Achsenauflösung liegt bei 0,1 bis 4 nm.

2.2.3 Röntgendiffraktometrie (XRD)

Bei der Röntgendiffraktometrie (XRD) wird eine Probe mit einem fokussierten Röntgenstrahl bestrahlt, dabei kommt es abhängig vom Winkel θ und der Wellenlänge λ zur Beugung an den Netzebenen. Entsprechend der Bragg-Bedingung

$$n\lambda = 2d \sin(\theta)$$

lassen sich die gemessenen Reflexe in die Abstände der Netzebenen d umrechnen. Ist die Kristallstruktur bekannt, so lassen sich die Abstände den Netzebenen zuordnen. Anhand dieser Messmethode kann z.B. in der Titandioxid-Probe das Verhältnis der Phasen bestimmt werden. Abbildung 2.4 zeigt exemplarisch die jeweiligen Röntgenbeugungsbilder eines phasenreinen Mikro- und Nanopulvers [Thamaphat2008].

Röntgenbeugung

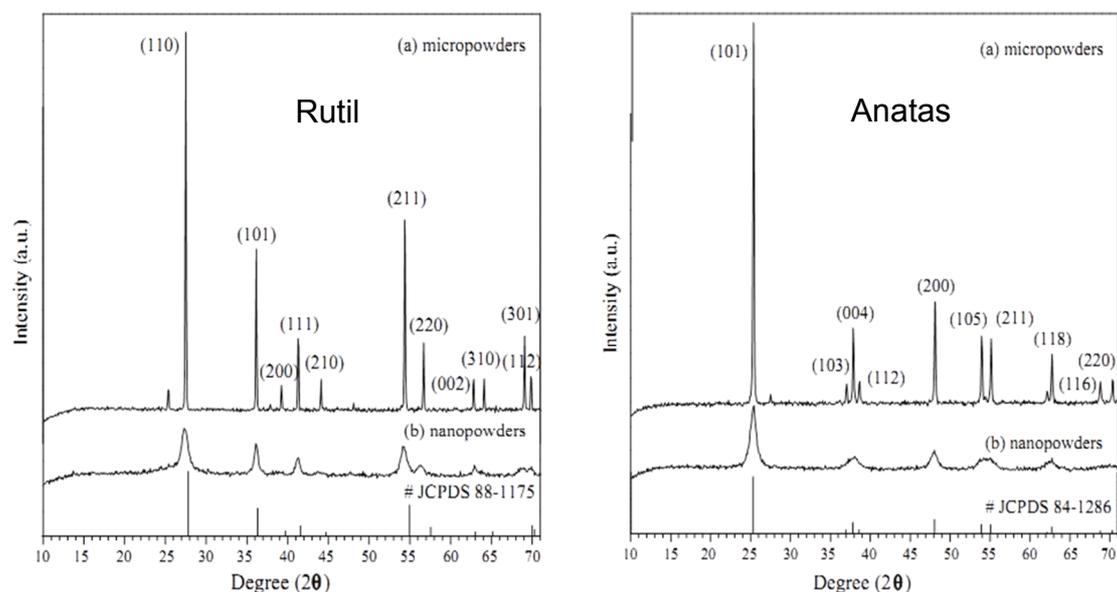


Abbildung 2.4 XRD Messung von Rutil- (links) und Anataspulvern (rechts). Das jeweils obere Spektrum zeigt je ein Pulver mit Mikrometer (a) großen Kristalliten und das jeweils untere mit Nanometer (b) großen Kristalliten [Thamaphat2008].

In dieser Arbeit wurde das Magnetronspütern für die Herstellung des Titandioxids verwendet. Durch Variation verschiedener Abscheideparameter wie der Temperatur der Probenoberfläche ist es möglich, gezielt eine bestimmte Phase zu erzeugen oder, wie es in Abbildung 2.5 (rot) gezeigt ist, Titandioxid amorph abzuscheiden, indem die Probe auf Raumtemperatur gehalten wird. Bei dieser Temperatur ist die Mobilität der auftreffenden Moleküle so gering, dass sie an Ort und Stelle verbleiben und nicht auskristallisieren können.

Durch anschließendes Ausheizen lässt sich die amorphe Schicht kristallisieren. Abbildung 2.5 (schwarz) zeigt eine exemplarische Schicht, die bei 650°C zu reinem Anatas kristallisiert ist. Falls nichts anderes im weiteren Text angegeben ist, ist das Titandioxid amorph.

Röntgenbeugung

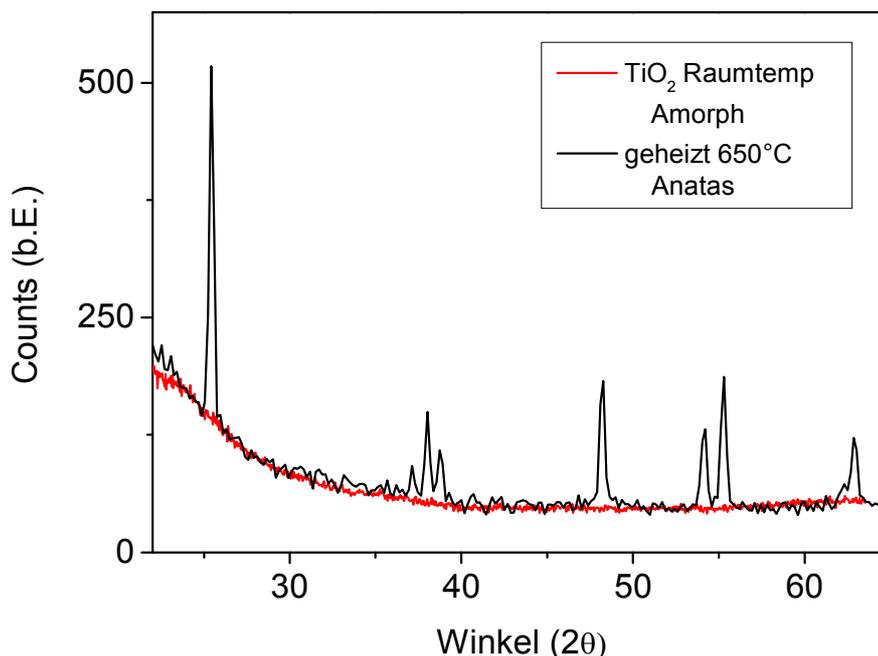


Abbildung 2.5 XRD. Amorphes Titandioxid (rot) mit einer Schichtdicke von 100 nm auf Quarzglas zeigt keinerlei Reflexe. Nach dem Ausheizen bei 650 °C (schwarz) ist eine reine Anatas-Phase zu sehen.

2.2.4 UV-Vis-Spektroskopie

Für die optische Charakterisierung wurde ein Aufbau verwendet, bei dem die Probe von einer speziellen Optik durchleuchtet und danach von einem Spektrometer vermessen wurde. Die Optik besteht aus einer Kombination zweier Lampen, wodurch sowohl der ultraviolette als auch der visuelle Bereich abgedeckt werden, wodurch sich auch die Bezeichnung 'UV-Vis' ableitet. Das Licht wird nach der Probe in das Beugungsgitter eines Spektrometers geleitet und das resultierende Spektrum mittels eines CCD-Sensors vermessen.

Es wurde das UV-Vis-Spektrometer STE-EPP 2000-c-200/1080 (Laser 2000) verwendet.

Kalibrierung

Für die Messung werden zuvor zwei Kalibrierschritte durchgeführt:

Als erstes wird das 'Darkfield' aufgenommen, bei dem das Dunkelrauschen und gegebenenfalls Defekte des CCD-Sensors erfasst werden. Hierfür wird der Sensor ohne Strahl ausgelesen. Das gemessene Signal wird später von den Spektren subtrahiert.

Als zweiter Schritt wird nun die 'Referenzmessung' durchgeführt. Hierfür wird ein Spektrum ohne Probe aufgenommen. Dieses Spektrum zeigt die Charakteristik der Optik und dient den eigentlichen Messungen als Nulllinie bzw. als 100 %-ige Intensität.

Modus

Im verwendeten Aufbau sind Messungen in 'Transmission' und 'Absorption' möglich, die mathematisch ineinander umgerechnet werden können:

- Bei der Transmission wird der prozentuale Anteil der detektierten Intensität verglichen zum Referenzspektrum angegeben.
- Die Absorption ist das Maß der optischen Abschwächung nach dem Durchqueren der Probe. Sie wird als negativer natürlicher Logarithmus der Transmission angegeben.

Die Wahl der Darstellung hängt davon ab, ob eher die Lichtdurchlässigkeit oder die Lichtabschwächung der Probe hervorgehoben werden soll. Für diese Arbeit werden ausschließlich Absorptionsspektren verwendet.

Schwankung der Einzelmessung

Apparativ können kleine Schwankungen bei der Herstellung der Komposite nicht vermieden werden. Abbildung 2.6 zeigt die UV-Vis-Spektren zweier Sets von Ag/TiO₂-Proben, die innerhalb einer Charge hergestellt wurden. Durch die hohe Empfindlichkeit dieser Messtechnik sind trotzdem Unterschiede in der optischen Charakteristik zu erkennen.

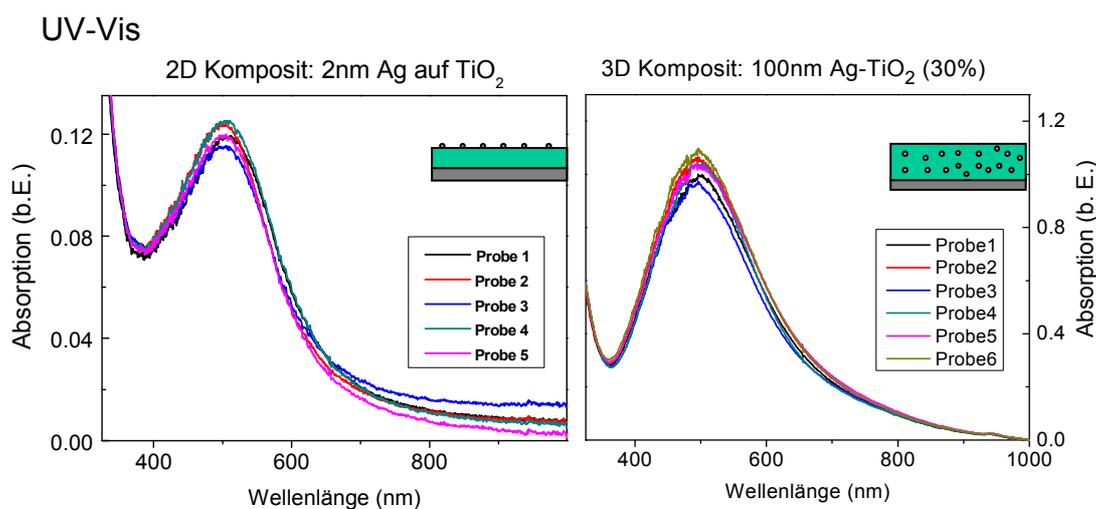


Abbildung 2.6 UV-Vis-Spektren zweier Probensets, die in einer Charge hergestellt wurden. Deutlich zu erkennen sind Schwankungen in der optischen Charakteristik.

2.2.5 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

Mit Hilfe der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDX) lässt sich in der Regel zerstörungsfrei die chemische Zusammensetzung der Beschichtung bestimmen. Dabei wird die Probe mit einem fokussierten Elektronenstrahl beleuchtet. Durch die inelastische Streuung der Elektronen mit dem Probenmaterial, bei der Elektronen aus einer der Atomschalen herausgestoßen werden, wird Röntgenstrahlung erzeugt, die gemessen wird. Da die Strahlung elementspezifisch ist, lässt sich über das aufgenommene Spektrum die Zusammensetzung der Probe bestimmen [Flegler1993].

Zu diesem Zweck muss zum einen betrachtet werden, aus welcher Schale die Elektronen herausgestoßen werden (von innen nach außen: K, L, M, ...) und zum anderen welche Elektronen auf diese Schale nachrutschen und so die Röntgenstrahlung erzeugen. Dabei wird der Übergang der nächstliegenden Schale, z.B. von L nach K, mit ' α ' bezeichnet, der Übergang der übernächsten Schale, z.B. von M nach K, mit ' β ' etc.. Üblicherweise werden die K_{α} -Linien untersucht.

Für die durchgeführten Messungen wurde das Rasterelektronenmikroskop Philips XL 30 mit angeschlossenem EDX benutzt.

Von allen in dieser Arbeit untersuchten Kompositen wurden zusätzlich Proben auf $5 \times 5 \text{ mm}^2$ großen Siliziumsubstraten hergestellt, die am EDX vermessen wurden, um so ihren Silberanteil zu bestimmen. Die eigentlichen Messungen und die Analyse der Daten wurden von Dr. Seid Jebri, TF, Universität Kiel, durchgeführt; Parameter und Durchführung sind detailliert in seiner Dissertation beschrieben [Jebri]. Falls nichts anderes angegeben ist, beruhen die in der Arbeit angeführten Silberanteile auf diesen Messungen.

Kalibrierung

Zur Überprüfung und Kalibrierung der Messungen wurden verschiedene Kalibrierproben hergestellt. Dabei handelt es sich zum einen um Proben mit gleichen Silberanteil, bei denen die Schichtdicke variiert wurde (30 nm - 100 nm), um zu prüfen, ob dieses einen Einfluss auf die Messung hat. Zum anderen sind es mehrere Schichten reinen Silbers und Titandioxids mit bekannter Schichtdicke. Einige dieser Proben werden bei Messdurchläufen immer mit gemessen, um Abweichungen zu erkennen. Die Ergebnisse der Kalibrierproben werden direkt am Gerät überprüft und werden nicht weiter vorgestellt.

2.2.6 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) ist eine weitere Methode, die chemische Zusammensetzung der Probe zu messen, jedoch ist diese ausschließlich oberflächensensitiv. In dieser Arbeit wird sie hauptsächlich genutzt, um die Veränderung des Silbers an der Oberfläche der Proben zu messen.

Bei dieser Methode wird die Probe mit einem Röntgenstrahl beschossen, wodurch Elektronen aus dem Probenmaterial herausgelöst werden. Durch elastische und inelastische Wechselwirkungen im Festkörper ist die mittlere freie Weglänge der Elektronen beschränkt, sodass nur der oberflächennahe Bereich typischerweise zwischen 1 und 4 nm erfasst wird.

Reicht ihre Energie aus, die Probe zu verlassen, werden sie in einem Detektor energieaufgelöst gemessen. Die Bindungsenergie der herausgelösten Elektronen ist elementspezifisch, jedoch führt eine chemische Bindung zu einer kleinen Veränderung des Signals. Hierdurch kann bei Detektoren mit ausreichender Auflösung sowohl neben der Analyse der elementaren Zusammensetzung auch die Bestimmung der chemischen Bindung zueinander durchgeführt werden.

Für die durchgeführten Messungen wurde das XPS FullLab von Omicron benutzt, die Röntgenstrahlung mit einer Aluminiumanode ($E_{K_{\alpha}} = 1486,6 \text{ eV}$) erzeugt.

i) Bestimmung der Zusammensetzung der Oberfläche

Abbildung 2.7 zeigt einen Ausschnitt eines typischen Spektrums eines Ag/TiO₂-Komposits mit einem Silberanteil von 20 %. Die Maxima der verschiedenen Bestandteile des Komposits sind deutlich zu erkennen. Abhängig davon welche Elektronen aus den Atomen herausgelöst werden, sind für jedes Elemente mehrere Signale zu messen; die jeweilige Elektronenschale ist zusätzlich mit angegeben. Das markierte Kohlenstoff-Signal entsteht durch organische Anlagerungen, die z.B. beim Transport an Luft unvermeidlich ist. Die Position dieses Peaks wird verwendet, um den Versatz des Spektrums zu bestimmen, der durch eine elektrische Aufladung der Oberfläche beim Messen hervorgerufen werden kann.

Wird angenommen, dass die Verteilung der Materialien homogen auf der Oberfläche ist, ist durch die Bestimmung der Fläche der einzelnen Signale, das Verhältnis der Elemente zueinander bestimmbar.

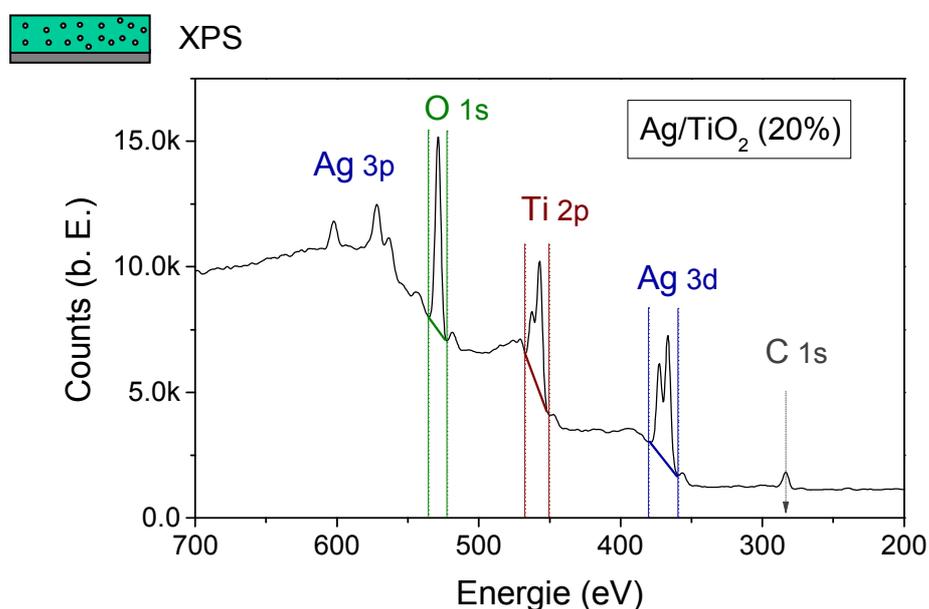


Abbildung 2.7 XPS-Spektrum eines typischen Ag/TiO₂-Komposits mit 20 % Silberanteil. Die relevanten Peaks sind bezeichnet und der zur Bestimmung der Elementhäufigkeit verwendete Bereich markiert.

Um ein möglichst gutes Ergebnis zu erhalten, werden hierfür die intensivsten Linien benutzt, es sind: Ti 2p, O 1s und Ag 3d. In Abbildung 2.8 ist eine detaillierte Messung des Ag 3d Signals dargestellt. Die Grenzen des Peaks sind markiert und die Untergrundlinie für diesen Bereich eingetragen. In einem weiteren Schritt wird nun die Fläche in diesem Bereich vermessen. Da die Intensität des Signals vom Element und der Schale des Elektrons abhängig ist, wird durch einen Sensitivitätsfaktor geteilt. Nun können die Elemente untereinander ins Verhältnis gesetzt werden.

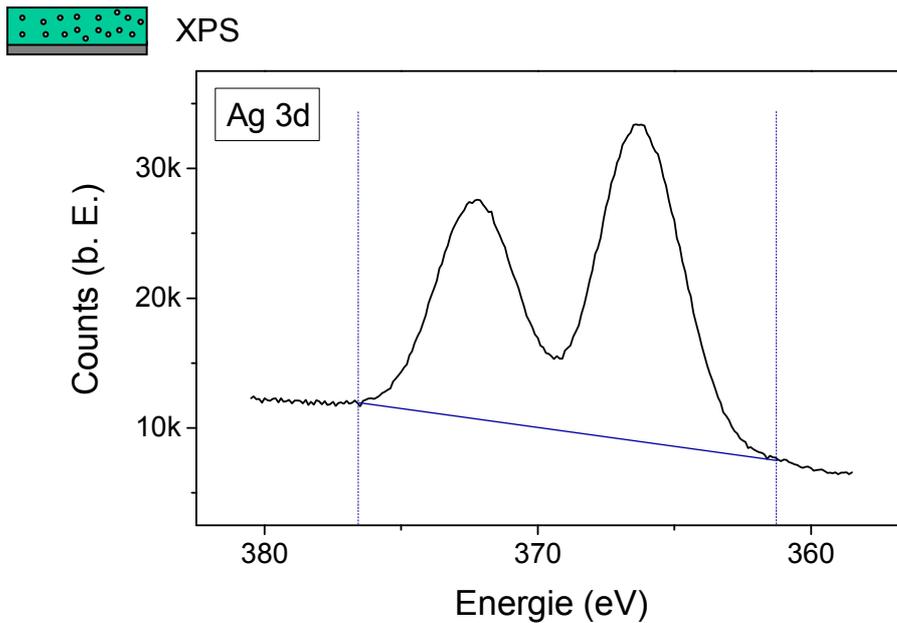


Abbildung 2.8 XPS-Spektrum. Detailausschnitt des Ag 3d Signals eines typischen Ag/TiO₂-Komposits mit 20 % Silberanteil. Die Grenzen des Peaks sind markiert und die Basislinie für diesen Bereich eingetragen.

ii) Sättigung

Durch die hohe Oberflächensensitivität dieser Methode werden nur Silbercluster korrekt gemessen, die dünner als etwa 4 nm sind. Bei dickeren Clustern werden die unteren Bereiche des Clusters nicht mehr erfasst, sodass das resultierende Signal geringer erscheint. Das hat zur Folge, dass bei einem steigenden Silberanteil der Oberfläche die Messungen scheinbar in eine Sättigung laufen.

2.2.7 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Zur Bestimmung der Verteilung und Größe der in der Titandioxid-Matrix eingebetteten Silbernanocluster wurde die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) verwendet. Bei diesem Verfahren wird die Probe mit einem fokussierten Elektronenstrahl durchleuchtet. Dabei haben Dichte, Atommasse und Kristallinität einen Einfluss auf den Streukontrast. Die Abbildung der Probe erfolgt entweder als Hellfeldaufnahme oder in Beugungsbilddarstellung [Flegler1993].

Bei der Hellfeldaufnahme wird ein monochromatisches Bild ähnlich einer visuellen Mikroskopie erzeugt, wodurch z.B. die Größe und projizierte Position von Clustern vermessen werden kann. Dabei ist der Streukontrast entscheidend. Am Beispiel eines Ag/TiO₂-Komposits ist der Unterschied im Kontrast so groß, dass die amorphe Matrix gegen die Silbercluster optisch nicht zu erkennen ist. Damit nicht zu viele Cluster übereinander liegen, müssen die Schichtdicken der Proben möglichst dünn, im Bereich etwa 30 nm, gewählt werden.

In der Beugungsbilddarstellung können die Kristallinität, die kristalline Ausrichtung und die Netzebenenabstände der Probe bestimmt werden.

Das verwendete Gerät ist ein Tecnai F30 G² und bietet auch die Möglichkeit, Proben während der Messung auf bis zu 1000 °C zu heizen. Für eine detaillierte Vorstellung der Geräts und seiner Funktionsweise sei auf die Dissertation von Dr. V. S. K. Chakravadhanula [Chakravadhanula] verwiesen, mit dessen Zusammenarbeit die im Weiteren vorgestellten TEM-Aufnahmen durchgeführt wurden.

i) 3D Electron Tomography

Die '3D Electron Tomography' beschreibt eine äußerst aufwendige Methode, bei der es durch eine Computerrekonstruktion möglich ist, aus mehreren TEM-Bildern derselben Probe, ein getreues dreidimensionales Modell zu erzeugen. In diesem ist es dann z.B. möglich die Position der Cluster zueinander zu erkennen. Angewendet wurde dieses Verfahren, um die Verteilung der Silbercluster im 3D-Komposit zu untersuchen und zerstörungsfreie Querschnittsansichten zu erzeugen.

Die später in Kapitel 3.2.2.ii) gezeigten Messungen wurden von Dr. V. S. K. Chakravadhanula durchgeführt. Die detaillierte Durchführung und verwendeten Parameter werden in der entsprechenden Dissertation [Chakravadhanula] ausführlich diskutiert. Es folgt eine Übersicht über das Verfahren.

Für die Modellierung wurden insgesamt 281 TEM-Hellfeldaufnahmen verwendet. Dabei wurde die Probe jeweils um 0.5 ° in einem Bereich von +70 ° bis -70 ° gekippt. Die Schwierigkeit besteht insbesondere darin, bei jeder Aufnahme dieselbe Stelle der Probe zu finden und über die gesamte Messzeit sowohl Kontrastverhältnis als auch Signalqualität gleich zu halten.

Die dann folgende Computermodellierung wird in zwei Schritten durchgeführt. Zuerst richtet eine Software alle Bilder zueinander aus und ermittelt einen zentralen Fixpunkt. Danach folgt die Rekonstruktion durch einen iterativen Algorithmus (SIRT - Simultaneous Iterative Reconstruction Technique), bei dem das 3D-Modell erzeugt wird.

2.2.8 Spurenelementnachweis in wässriger Lösung

Die Bestimmung des exakten Silbergehalts in Lösung wurde extern am Institut für Geowissenschaften / ICP-MS-Labor in Zusammenarbeit mit Dr. Dieter Garbe-Schönberg und Dipl.-Ing. Ulrike Westernströer durchgeführt. Es folgt ein allgemeiner Überblick über die Methode.

Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy (ICP-MS)

ICP-MS ist eine hochempfindliche Messmethode, mit der es möglich ist, Spurenelemente mit einer unteren Konzentrationsgrenze bis 'ppt' (Teile pro Billion) nachzuweisen. Es wurde eine Agilent 7500cs Anlage im Säureaufschluss-Modus verwendet, um gelöstes Silber bis 10 ng/l quantitativ zu messen.

Die Silberfreisetzungsuntersuchungen werden in verschließbaren kommerziellen HDPE (High Density Polyethylen) Fläschchen durchgeführt. Diese werden standardmäßig für den Spurenelementnachweis in wässriger Lösung verwendet und zeigen keinerlei Beeinflussung der Proben oder des gelösten Silbers. Für die

Messungen wurde ausschließlich Reinstwasser aus der institutseigenen ELGA-Wasseraufbereitungsanlage der Geowissenschaften genutzt.

Die wässrigen Proben wurden mit 2%-iger Salpetersäure im Verhältnis 1:10 versetzt, die dort hausintern doppelt destilliert wurde; dazu wurde eine Multielement-Standardlösung mit Indium und Rhenium mit bekannter Menge gegeben, die als interne Referenz dient (zertifiziert als NIST 1643e, IAEA W4). Die eigentliche Messung verläuft hiernach automatisiert.

Die Lösung wird in ein Plasma gesprüht und dabei ionisiert, danach durch einen Quadrupol in einen Massenspektrometer geleitet. Hier erfolgt die Auszählung der gesuchten Elemente aus der Lösung. Aus dem Verhältnis der gemessenen zur hinzugefügten Menge der Referenz wird ein Proportionalitätsfaktor ermittelt. Mit diesem lässt sich nun die exakte Konzentration der gesuchten Elemente bestimmen. Jede Messung wird dabei dreimal wiederholt und der Mittelwert in eine Datenbank geschrieben.

2.2.9 Biologische Untersuchungen

Die biologischen Untersuchungen an den Kompositen wurden extern am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein in Zusammenarbeit mit Prof. Rainer Podschun (Institut für Infektionsmedizin) und Dr. Claudia Röhl (Institut für Toxikologie Pharmakologie für Naturwissenschaftler) durchgeführt. Die Methoden werden getrennt in Kapitel 5 vorgestellt.

Kapitel 3 Morphologie und optische Eigenschaften

„Quippe mihi non multo minus admirandae videntur occasiones,
quibus homines in cognationem rerum coelestium deveniunt;
quam ipsa Natura rerum coelestium.“

– Johannes Kepler, *Argumenta singulorum capitum* (1609).

Die Silberfreisetzung hängt neben der Silbermenge entscheidend von der Verteilung der Silbernanocluster ab. Die Kenntnis über die Morphologie und ihrer Veränderbarkeit, ohne den Silbergehalt zu verändern, ist entscheidend für die Optimierung des Freisetzungsverhaltens der Komposite.

Insbesondere die Untersuchung der bimodalen Verteilung der Silbercluster in 3D-Kompositen ist von großem Interesse, da die unterschiedliche Größe der Cluster und damit ihr chemisches Potential eine direkte Auswirkung auf das Freisetzungsverhalten hat.

Im Folgenden wird die bimodale Clusterverteilung von 3D-Kompositen untersucht. Durch das Aufbringen verschiedener Barriersysteme und das Heizen der Komposite wird versucht, Einfluss auf die Verteilung zu nehmen, um so ein Modell für die Bildung der bimodalen Verteilung motivieren zu können.

Im Anschluss folgt die Betrachtung und Diskussion ihrer optischen Eigenschaften.

3.1 Experimentelles

3.1.1 Probenherstellung

3D-Komposite

Die verwendeten 3D-Komposite wurden durch Co-Sputtern hergestellt.

Für die Untersuchung der Morphologie der Silbernanocluster wurden die Komposite auf speziellen TEM-Probenträgern (Cu-Netzchen mit Kohlefilm, 300 mesh, Hersteller Plano) mit einem Durchmesser von 3,05 mm präpariert. Die Schichtdicke der 3D-Kompositfilme betrug 30 nm, hinzugefügte Barrierschichten hatten eine Dicke bis zu 30 nm.

Für die optische Charakterisierung wurden die Komposite auf 1 cm² großen Glassubstraten abgeschieden. Die Schichtdicke betrug hier 100 nm, da diese Proben auch für die Untersuchung der Silberfreisetzung und der biologischen Tests verwendet wurden.

2D-Komposite

Für die 2D-Komposite wurden 2 nm Silber auf 10 nm gesputterten Titandioxid aufgedampft. Diese Silbermenge wurde auf Grundlage der Ergebnisse aus den weiterführenden Silberfreisetzungsuntersuchungen gewählt.

Für die Untersuchung der Morphologie der Silbernanocluster wurden diese Komposite ebenso auf den oben erwähnten TEM-Probenträgern abgeschieden. Für die optische Charakterisierung wurden 1 cm² große Glassubstrate mit den Kompositen beschichtet.

3.1.2 Barriere Präparation

Als Barrierschicht wird eine zusätzliche Lage Titandioxid bezeichnet, die das eigentliche Komposit bedeckt. Die Bezeichnung bezieht sich auf die später in dieser Arbeit diskutierten Silberfreisetzungsversuche, bei denen diese zusätzliche Lage die Silberfreisetzung des Komposits vermindern soll und somit als Barriere wirkt.

Die Barrierschicht wird mittels Sputtern abgeschieden. Dabei gibt es im Falle der 3D-Komposite zwei Möglichkeiten, wie diese zusätzliche Beschichtung aufgebracht werden kann:

Barriere

Bei dieser Methode wurden das Komposit und die Barriere in getrennten Schritten präpariert. Die Proben wurden zwischen den Abscheidungen aus der Kammer entnommen.

In situ Barriere

Die in situ Barriere wird sofort mit dem Komposit abgeschieden. Für diesen Zweck wird nach dem Erreichen der gewünschten Kompositschichtdicke nur die Metall-Abscheidung gestoppt. Das Magnetron für das Titandioxid läuft weiter und scheidet so ohne Unterbrechung die Barriere ab.

3.2 Ergebnisse und Diskussion

3.2.1 Konzentrationsreihe

Für die bestmögliche Untersuchung der bimodalen Verteilung muss ein Silberanteil gewählt werden, bei dem eine gut ausgeprägte Clusterverteilung zu erkennen ist, ohne dass sich die enthaltenen Cluster optisch zu sehr überlagern und so eine Auswertung erschweren. Für diesen Zweck wurde eine Konzentrationsreihe zwischen 7 % und 30 % hergestellt, die mit dem TEM ausgewertet wurde. Abbildung 3.1 zeigt exemplarische Ergebnisse.

Für die weitere Untersuchung wird ein Silberanteil qualitativ gewählt, bei dem eine deutliche bimodale Verteilung zu erkennen ist, und die Clusterdichte noch nicht so hoch ist, dass sich die Cluster optisch zu stark überlagern.

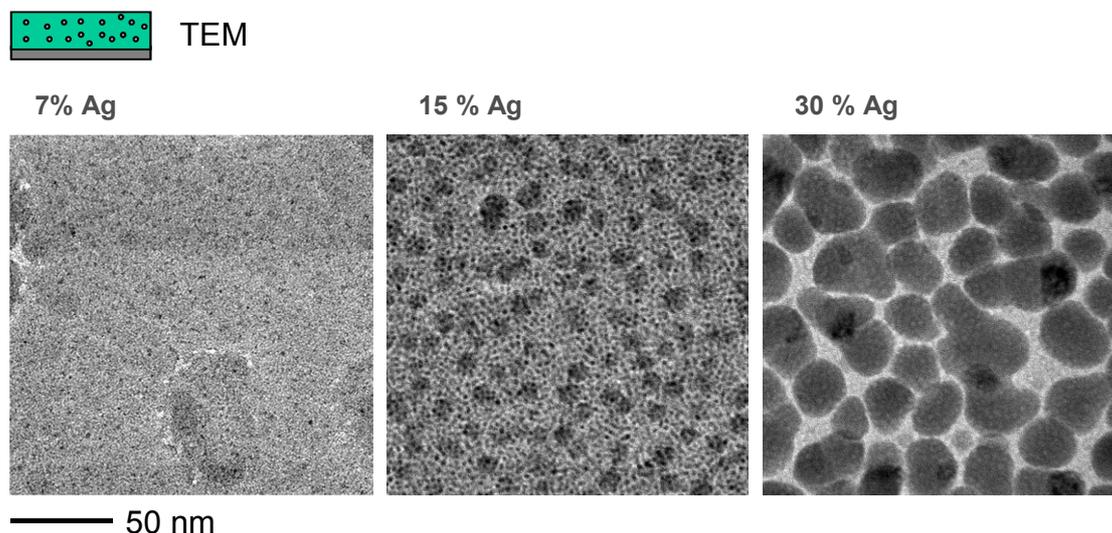


Abbildung 3.1 Typische TEM-Aufnahmen verschiedener 3D-Komposite mit variierendem Silberanteil.

Bei einem Silbergehalt von 15 % ist die bimodale Verteilung der Silbercluster deutlich zu erkennen. Im Vergleich ist bei 7 % Silberanteil die Zahl und Größe der Nanocluster sehr gering und die Cluster vergleichsweise weit entfernt voneinander. Bei 30 % Silberanteil ist bereits das Zusammenwachsen der Cluster zu erkennen, wodurch hier die Untersuchung der Verteilung mittels TEM erschwert ist.

Somit wurden für alle folgenden TEM-Untersuchungen 3D-Komposite mit einem Silberanteil von 15 % präpariert.

3.2.2 Bimodale Verteilung

Die gleichmäßigen Bedingungen der Abscheidung von Titandioxid und Silber sollten zu einer gleichförmigen Größenverteilung der Silbercluster in der Titandioxidmatrix führen und erklären nicht die ausgeprägte bimodale Verteilung wie sie in Abbildung 3.1 (mitte) deutlich zu erkennen ist. Daraus folgt die Annahme, dass sich die

beobachteten, größeren Cluster durch spätere Prozesse an der Oberfläche bilden müssen, und dass das Innere der Probe die erwartete Gleichverteilung der Cluster aufweist.

Eine indirekte Methode, die zeigt, dass sich die großen Cluster an der Oberfläche befinden, besteht im Aufbringen einer genügend dicken in situ Barriere. Hierdurch wird ein Komposit erzeugt, bei dem kein Silber an der Oberfläche oder im oberflächennahen Bereich vorhanden ist und somit spätere oberflächensensitive Prozesse unterbunden werden.

i) In situ Barriere

In der Abbildung 3.2 (links) ist eine TEM-Aufnahme eines Ag/TiO₂-Komposits mit einem Silberanteil von 15 % dargestellt. Durch den Massenkонтast erscheinen die Silbercluster sowohl als kleine dunkelgraue Flecken als auch als größere Schatten.

In der Abbildung rechts ist ein Komposit mit gleichem Silberanteil abgebildet, das aber zusätzlich mit einer in situ Barriere beschichtet wurde. Auffällig ist, dass hier nur noch kleine Cluster zu erkennen sind.

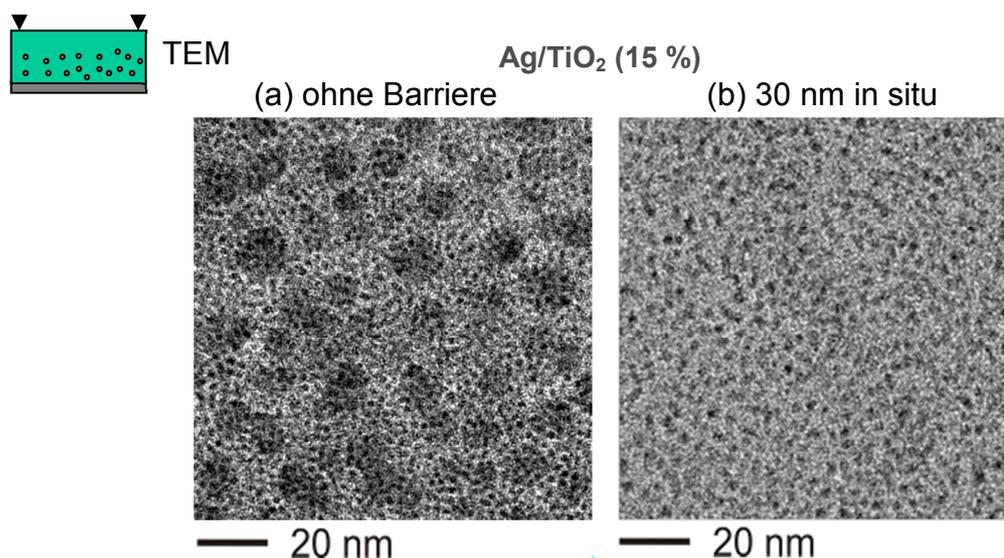


Abbildung 3.2 TEM-Aufnahme zweier 3D-Komposite Ag/TiO₂ (15 %), links 3D-Komposit ohne Barriere, rechts mit 30 nm in situ Barriere. Es ist deutlich zu erkennen, dass durch die Barrierschicht die großen Cluster verschwinden.

Eine Auswertung der Größenverteilung der Silbercluster (Abbildung 3.3) zeigt ebenfalls, dass die Bildung der großen Cluster unterdrückt wird, ohne dabei das Verteilungsmaximum bei etwa 2 nm zu beeinflussen.

Durch das Aufbringen der Barriere wird Silber, das sich bei üblichen Kompositen (ohne Barriere) im oberflächennahen Bereich befindet, sofort in der Matrix eingeschlossen, sodass keine Oberflächenprozesse stattfinden können. Dieses zeigt indirekt, dass sich die beobachteten großen Cluster an der Oberfläche befinden müssen. Jedoch kann nur eine direkte Messmethode diese Annahme zweifelsfrei bestätigen. Für diesen Zweck wurde die 3D Tomographie herangezogen.

Histogramm

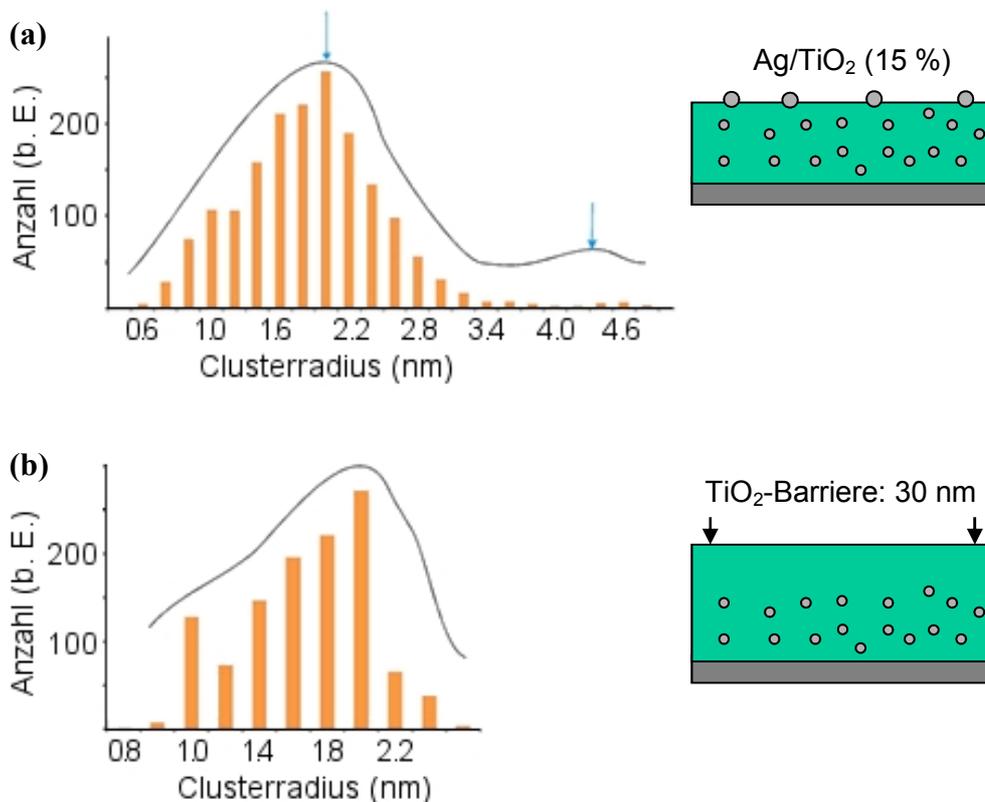


Abbildung 3.3 Histogramm der Clustergrößenverteilung eines Ag/TiO₂-Komposits mit 15 % Silberanteil ohne und mit in situ Barrierschicht. Ohne die Barriere (a) ist eine bimodale Verteilung zu sehen, die bei einer in situ Barriere (b) nicht auftritt. (bereits Veröffentlicht [Chakravadhanula2011]).

ii) 3D-Tomographie

Diese gezeigten 3D-Tomographie-Untersuchungen wurden von Dr. V. S. K. Chakravadhanula durchgeführt. Die detaillierte Durchführung und verwendeten Parameter werden in der entsprechenden Dissertation [Chakravadhanula] ausführlich diskutiert.

Die Abbildung 3.4 zeigt das 3D-Modell eines Ag/TiO₂-Komposits mit einem Silberanteil von 15 %, das aus mehreren graduell verkippten TEM-Einzelaufnahmen rekonstruiert wurde. Das Silber ist gelb eingefärbt, das Titandioxid hingegen wurde entfernt. Es sind verschiedene Ansichten dargestellt, bei denen auch der Schichtdickenausschnitt variiert wurde, um die Oberfläche genauer abzubilden.

Das Einzelbild (c) zeigt eine Draufsicht mit der gesamten Schichtdicke. Diese Ansicht entspricht der klassischen Hellfeldaufnahme, die durch ein TEM erzielt werden kann (vgl. Abbildung 3.2 links).

Wird das Modell gekippt, (d) und (e), oder wird die betrachtete Schichtdicke auf die Oberfläche reduziert, siehe (a), so wird deutlich, dass die großen Cluster nur auf der Oberfläche zu finden sind. Dieses ist der direkte Nachweis der zuvor gemachten Annahme über die Verteilung der Silbercluster.

 3D Electron Tomography

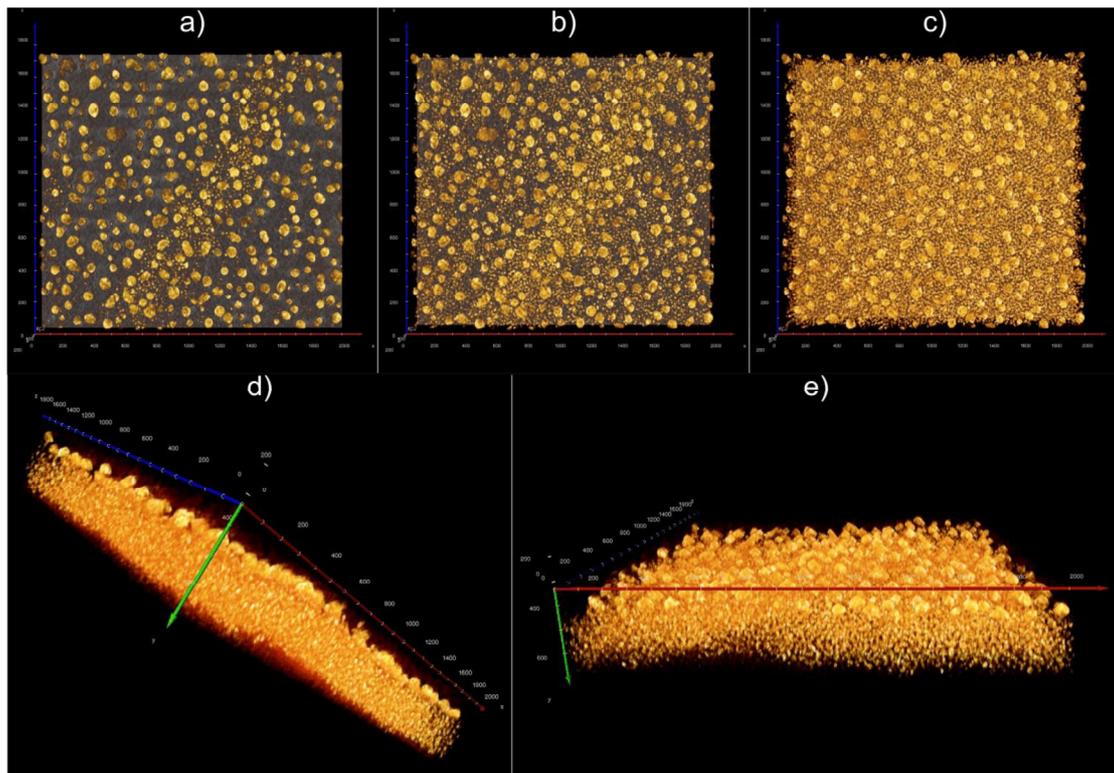


Abbildung 3.4 3D Electron Tomography: Rekonstruiertes Modell aus 281 TEM-Einzelaufnahmen eines 3D-Komposits Ag/TiO₂ (15 %) zur Untersuchung der bimodalen Verteilung der Silbercluster. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich die großen Cluster an der Oberfläche befinden. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].

Noch deutlicher wird diese Verteilung bei der Betrachtung einer Querschnittsdarstellung (Abbildung 3.5), die auch durch das Modell erstellt wurde. In dieser ist, ähnlich zu klassischen TEM-Aufnahmen (vgl. Abbildung 3.2), das Silber als dunkle Flecke zu erkennen, wohingegen Titanoxid durch den niedrigen Streukontrast nicht zu sehen ist [Chakravadhanula]. Bei dieser Darstellung ist auffällig, dass es einen Bereich um die großen Cluster herum gibt, in dem keine anderen Cluster vorhanden sind. Diese Beobachtung ist durch klassische Verfahren so nicht möglich und ermöglicht eine detaillierte Untersuchung des Entstehungsprozesses der bimodalen Verteilung.

 3D Electron Tomography

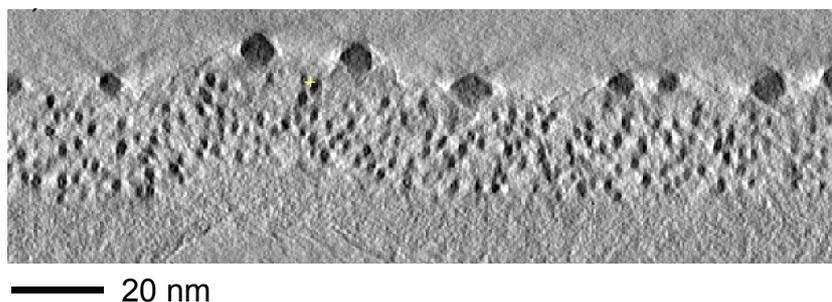


Abbildung 3.5 3D Electron Tomography: Querschnittsansicht rekonstruiert aus 281 TEM-Einzelaufnahmen eines 3D-Komposits Ag/TiO₂ (15%). Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].

3.2.3 Verarmungszone

Es ließ sich nicht feststellen, ob die Entstehung der bimodalen Verteilung direkt nach der Beschichtung im Vakuum passiert oder erst bei dem Kontakt mit der Atmosphäre, weshalb nun zwei Modelle aus den vorliegenden Daten motiviert werden sollen.

i) Vakuumprozess

Im Vakuum lässt sich für die Bildung der bimodalen Verteilung ein oberflächenabhängiger Prozess in zwei Schritten beschreiben:

Zuerst wächst nach der Abscheidung das Oberflächensilber durch Oberflächendiffusion zu größeren Clustern heran als es im Inneren der Probe möglich ist, da an der Oberfläche die Mobilität des Silbers höher ist als im Bulk, wo das Silber durch den Co-Abscheidungsprozess eingebettet wird.

Durch die direkte Wechselwirkung zwischen den größeren Oberflächenclustern und den kleineren eingebetteten kommt es nun im zweiten Schritt zur Ostwald-Reifung, bei dem in einem bestimmten Bereich Silber zur Oberfläche transportiert wird. Dieser Transport ist an silberclusterfreien, rund bis oval geformten Verarmungszonen zu erkennen, wie sie in Abbildung 3.6 markiert sind. Der mittlere Radius der ausgemessenen Zonen beträgt 8,3 nm.

TEM - Querschnittsmodellierung

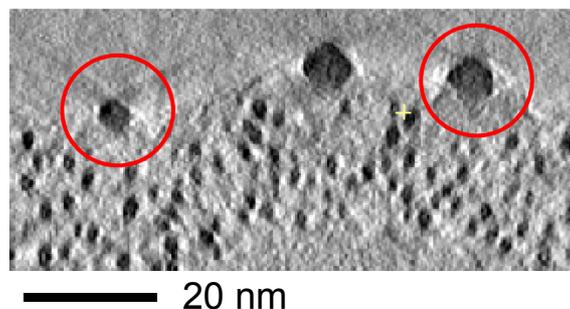
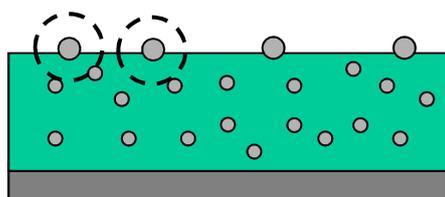


Abbildung 3.6 Links: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits, rechts: Querschnitt eines Ag/TiO₂ 3D-Komposits mit 15 % Silberanteil. Es ist eine Cluster-Verarmungszone zu sehen. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].

ii) Atmosphärenprozess

Gegen die vorherige Annahme spricht, dass auch innerhalb der vermeintlichen Verarmungszonen Cluster zu finden sind (Abbildung 3.7 rechts). Wobei aber nicht ausgeschlossen werden kann, dass dieses durch Darstellungsfehler erzeugt wurde.

Ein weiteres Modell zur Entstehung der bimodalen Verteilung lässt sich durch den entstehenden Wasserfilm auf der Oberfläche der Probe motivieren, der beim Kontakt mit der Atmosphäre entsteht. Hierdurch kommt es zur Aufladung der Oberfläche, wie in Kapitel 1.4.1 diskutiert wurde. Die resultierende Kraft führt dann zum Transport des Silbers aus dem oberflächennahen Bereich der Probe zur Oberfläche. Hier führt die Ostwald-Reifung nun zum Heranwachsen der Cluster.

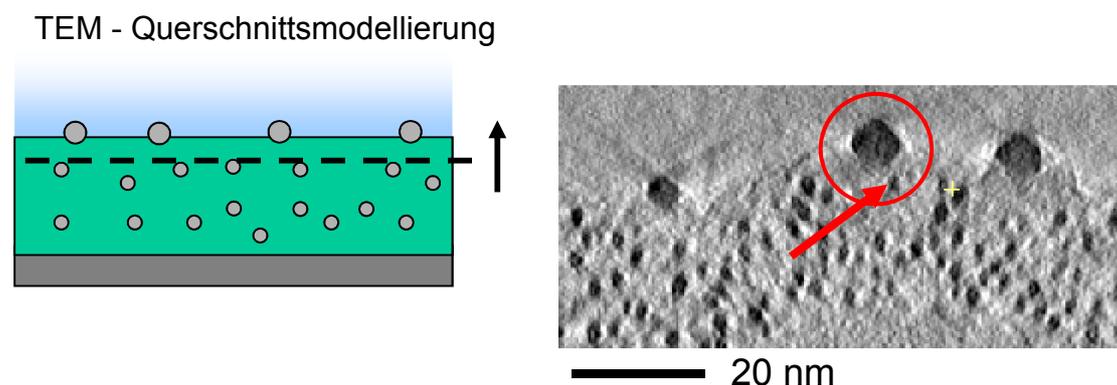


Abbildung 3.7 Links: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits in Kontakt mit der Atmosphäre. Es bildet sich sofort ein Wasserfilm. Rechts: Querschnitt eines Ag/TiO₂ 3D-Komposits mit 15 % Silberanteil. In der Nähe der großen Cluster sind auch kleinere zu sehen. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].

Gegen dieses Modell spricht, dass eine homogenere Verarmungszone zu erwarten ist (Abbildung 3.7 links) als im Querschnittsbild dargestellt ist. Eine Kombination aus beiden Modellen ist wahrscheinlich.

Um ein hinreichendes Modell zur Entstehung der Verarmungszonen zu entwickeln, werden weitere Experimente benötigt, die durch den großen Aufwand der 3D Electron Tomography im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich waren.

3.2.4 Barrieregesteuerte quasi-zweidimensionale morphologische Modifikation

Aus dem Beispiel der in situ Barriere folgt, dass es durch die unterschiedlichen Abscheidemethoden der Barrierschicht möglich ist, Komposite in der Grenzfläche mit unterschiedlicher Morphologie zu erzeugen (Abbildung 3.8).

Dabei hat die Veränderung der Größe der Cluster einen direkten Einfluss auf die Eigenschaften des Komposits, da sich mit der Größe der Cluster z.B. direkt das chemische Potential oder auch die optische Absorption ändert.

Diese Veränderungen werden im folgenden Abschnitt 3.2.6 (optische Charakterisierung) und Kapitel 4 (Silberfreisetzung) näher diskutiert.

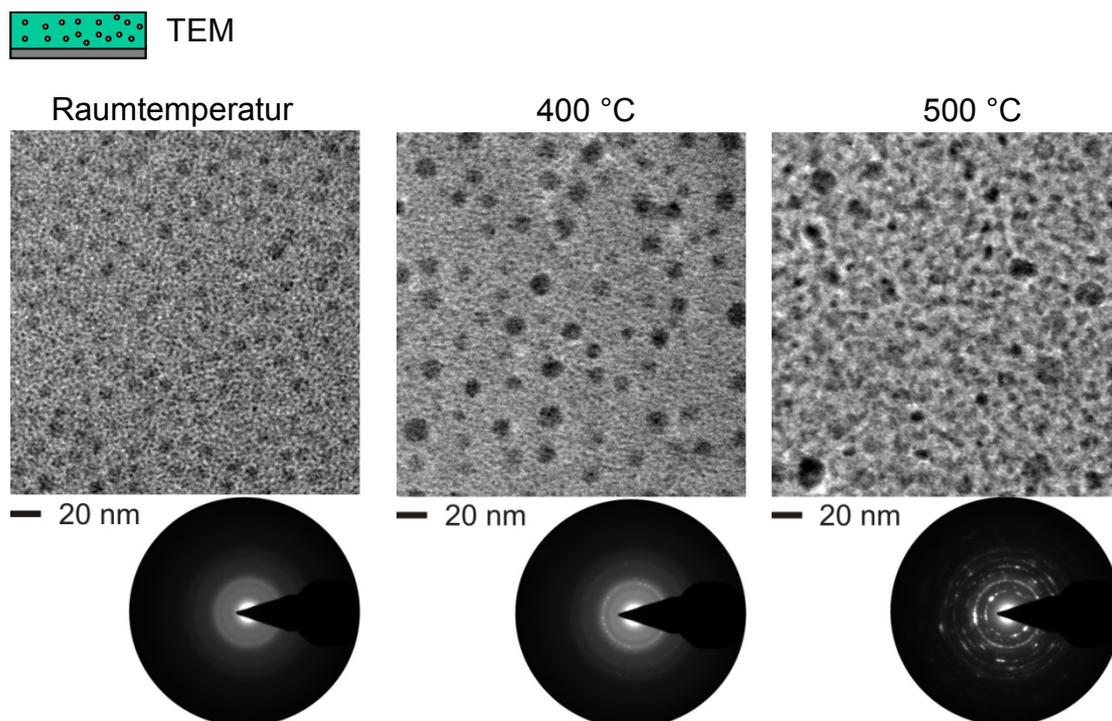


Abbildung 3.9 TEM Heizreihe. Ein Ag/TiO₂-Komposit mit 15 % Silberanteil wurde im TEM stufenweise erhitzt und gemessen. Zu erkennen ist das Anwachsen der Cluster (oben) und die Zunahme der Kristallinität (unten).

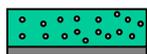
ii) Anwachsen der Silbercluster

Unterhalb von 500 °C bleibt die Matrix weitestgehend amorph, sodass sich im Vergleich zu den vorherigen Untersuchungen annehmen lässt, dass die durch das Heizen entstehenden großen Cluster an der Oberfläche wachsen.

Ab 500 °C ist die Bildung von Titandioxid-Kristalliten in der Matrix zu beobachten, sodass hier weitere Prozesse wie die Diffusion an Korngrenzen auf die Silbercluster wirken, wodurch diese Effekte nicht mehr mit den vorherigen zu vergleichen sind.

Im Vergleich zur ungeheizten Probe, bei der das Verteilungsmaximum der großen Cluster bei 4,4 nm liegt (vgl. Abbildung 3.3 oben), kann ein Maximum der 400 °C Probe bei 8,2 nm nachgewiesen werden (Abbildung 3.10). Da die Menge des Silbers auf der Oberfläche nicht ausreichen würde, um eine solche Verteilung zu erzeugen, muss Material aus dem Inneren der Probe zur Bildung dieser Cluster beteiligt gewesen sein.

Die veränderte Verteilung hat auch direkten Einfluss auf den Streukontrast der Probe, sodass kleine Cluster nicht mehr mit ausreichendem Kontrast dargestellt wurden. Dieses hat zur Folge, dass Silbercluster unterhalb von 3 nm nicht in der Verteilung erfasst sind. Da aber im untersuchten Bereich keine Cluster zwischen 3 nm und 4 nm gemessen wurden, kann trotzdem angenommen werden, dass sich auch die Verteilung der kleinen Cluster innerhalb der Probe entscheidend verändert hat.



Histogramm. 3D Komposit (15 %)

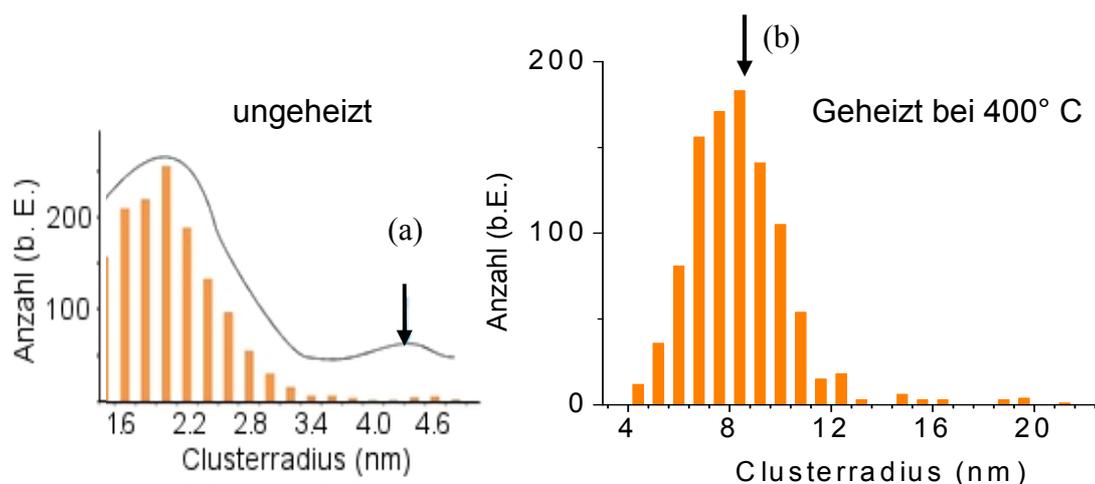


Abbildung 3.10 Histogramm der Clustergrößenverteilung eines bei 400 °C geheizten Ag/TiO₂-Komposits mit 15 % Silberanteil. Dabei liegt das Maximum nach dem Heizen (b) bei 8,2 nm. Vor dem Heizen (a) konnte es bei 4,4 nm nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 3.3).

iii) Ausblick

Die Heizreihe zeigt, dass durch die Erhöhung der Temperatur die Mobilität des Silbers erhöht wird. Dabei stellt sich nach einer Zeit ein Gleichgewicht ein, was bedeutet, dass die Cluster bei einer gegebenen Temperatur nur zu einer bestimmten Größe heran wachsen. In einem zukünftigen Experiment soll dieses ausgenutzt werden, um die Diffusionsprozesse in dem Komposit weiter zu studieren.

Zu diesem Zweck sollen verschiedene Komposite mit unterschiedlichen Barrierschichten schrittweise im TEM in situ geheizt und vermessen werden.

Da am Anfang die Cluster monodispers verteilt sein werden (vgl. Abbildung 3.2 rechts), kann die Silbermigration im Inneren der Probe genauer studiert werden.

Falls sich im Verlauf des Experimentes große Cluster an der Oberfläche bilden sollten, ließe sich selbst ohne ein 3D-Modell bestimmen, welche Menge Silber bei einer bestimmten Temperatur durch eine gegebene Dicke Titandioxid transportiert wird.

3.2.6 Optische Charakterisierung

Eine veränderte Morphologie hat einen direkten Einfluss auf die optischen Eigenschaften der Komposite, auch wenn der Silberanteil gleich gehalten wird. Im Folgenden wird sowohl der Einfluss der in situ Barriere als auch der einer dünnen Barrierschicht untersucht.

Für diesen Zweck wurden UV-Vis-Spektren der Komposite aufgenommen. Jedoch war es während der Arbeit nicht möglich die Proben mit weiteren optischen Methoden zu messen, sodass die Bewertung der Ergebnisse nur qualitativ vorgenommen werden kann und ihre genaue Untersuchung Bestandteil zukünftiger Arbeiten sein wird.

i) 3D-Komposite

Der Einfluss der in situ Barriere zeichnet sich durch die Unterbindung der bimodalen Verteilung aus, die bei der Herstellung von unmodifizierten 3D-Kompositen zu beobachten ist.

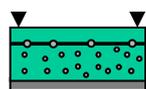
Parameter

Da die Intensität des Absorptionsspektrums direkt von der vorhandenen Menge Silber abhängt, wurden 3D-Komposite mit einem möglichst hohen Silberanteil von 30 % präpariert, bei dem noch eine bimodale Verteilung zu erkennen ist (vgl. Konzentrationsreihe Abbildung 3.1).

Genereller Barriereeffekt

Im Folgenden (Abbildung 3.11 und Abbildung 3.12) sind die optischen Charakterisierungen der beiden verschiedenen Barriersysteme (in situ und ex situ) bei 10 nm und 30 nm dargestellt. Bei beiden Proben sets sind ähnliche optische Verläufe zu beobachten. Das gemeinsame Verhalten zeigt zuerst einen Anstieg der Absorption bei einer Beschichtung mit einer 10 nm Barriere. Diese lässt sich damit erklären, dass die Zwischenräume der Oberflächencluster nicht mehr an Luft sondern nun vollständig mit Titandioxid aufgefüllt sind. Diese Dielektrizitätsveränderung führt zu einer erhöhten Absorption, da die Resonanzfrequenz jetzt über die gesamte Oberfläche einheitlich ist.

Bei der 30 nm Barriere kommt zu der eigentlichen Kompositschicht nun eine weitere ausgeprägte Schicht aus reinem Titandioxid hinzu. Die optische Charakteristik dieses Doppellagensystem kann somit nicht mehr mit dem des reinen Komposits verglichen werden, da nun Interferenzeffekte oder ein verändertes Reflexionsverhalten auftritt, das bei den hier durchgeführten optischen Messungen nicht erfasst werden kann.



UV-Vis Barrierschichten

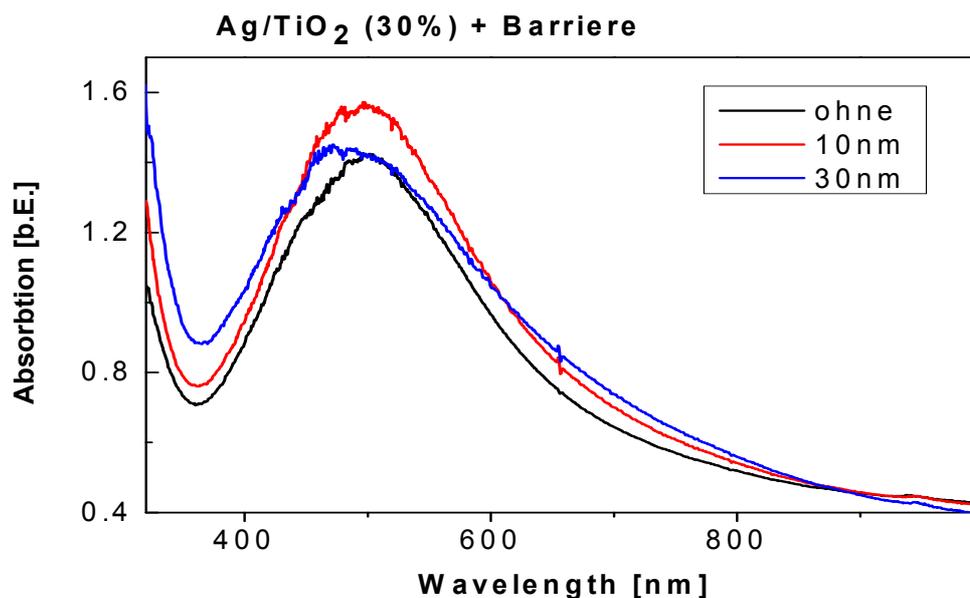
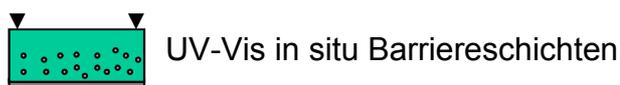


Abbildung 3.11 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO₂ 3D-Komposite mit 30 % Silberanteil ohne und mit zwei verschiedenen Barrierschichten (10 nm und 30 nm).



UV-Vis in situ Barrierschichten

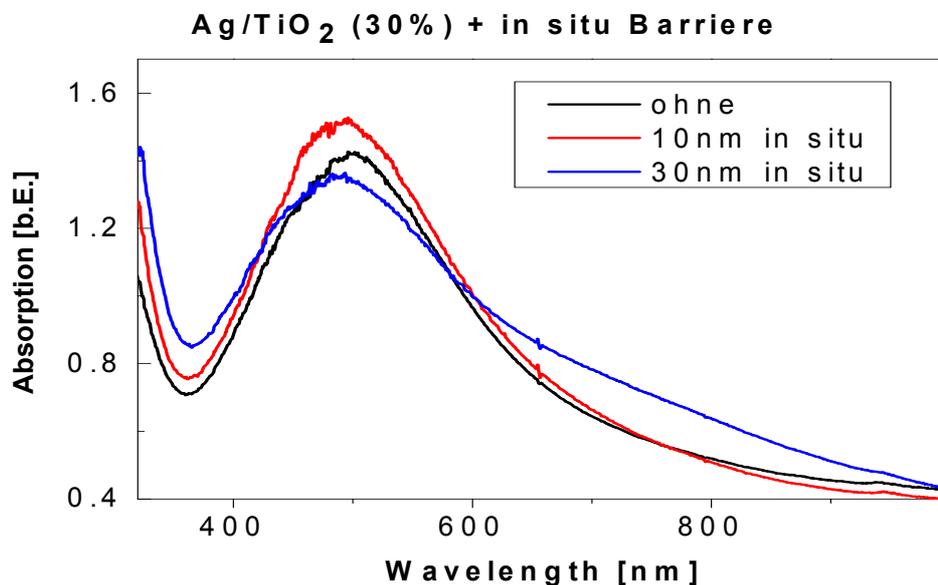


Abbildung 3.12 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO₂ 3D-Komposite mit 30 % Silberanteil ohne und mit zwei verschiedenen Barrierschichten, die in situ aufgebracht wurden (10 nm und 30 nm).

Unterschied in situ gegen ex situ Barriere

Die beiden 10 nm Barrierschichten (Abbildung 3.13 links) zeigen einen sehr vergleichbaren Verlauf, lediglich eine kleine Abschwächung der Absorption bei der in situ Probe ist zu erkennen. Dieser liegt jedoch innerhalb des erwarteten Fehlers (vgl. Kapitel 2.2.4.ii). Der fast gleiche optische Verlauf der beiden Proben weist darauf hin, dass ihre Morphologie ebenso vergleichbar ist. Die 10 nm in situ Barriere konnte folglich die bimodale Verteilung entweder gar nicht oder nur zu einem geringen Teil unterdrücken.

Bei der 30 nm in situ Barriere (Abbildung 3.13 rechts) ist eine geringere Absorption im Maximum zu messen. Diese Veränderung ist direkt auf das Fehlen der großen Cluster zurückzuführen. Bei gleich bleibendem Gesamtvolumen in der Matrix ist bei der Verteilung von größeren Clustern eine stärkere Absorptionsfähigkeit zu erwarten als bei kleineren Clustern [Kreibig1995], was durch die bessere Polarisierbarkeit von größeren Clustern zu erklären ist (vgl. Kapitel 1.1.3).

Das Fehlen der großen Cluster durch die in situ Barriere führt somit zu einem deutlichen Effekt, wie er auch beobachtet werden konnte. Und selbst wenn bei der 10 nm in situ Barriere die Schwächung der Absorption innerhalb des Fehlers liegt, zeigt sie dennoch die erwartete Tendenz der Unterdrückung der bimodalen Verteilung.

UV-Vis Barrierschichten

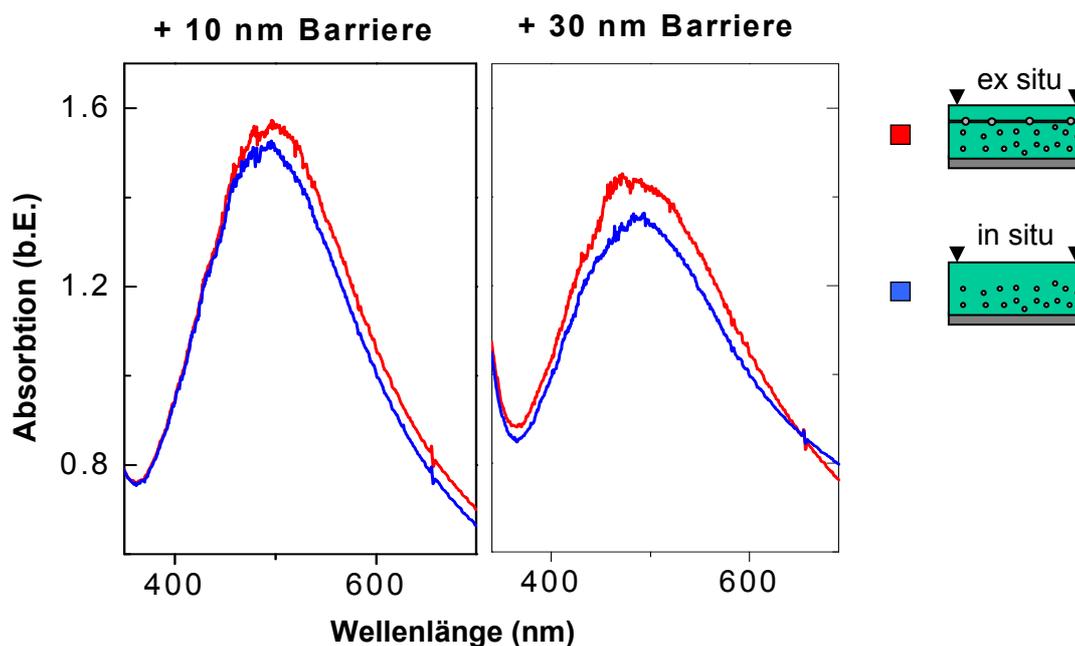


Abbildung 3.13 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO₂ 3D-Komposite mit 30 %. Vergleich der Plasmonenresonanz bei in situ und ex situ Barrieren bei einer 10 nm und 30 nm Schichtdicke. Auffällig ist die Abschwächung der Absorption der 30 nm in situ Barrieren.

ii) 2D-Komposite

Aus den Untersuchungen der 3D-Komposite wird ersichtlich, dass der oberflächennahe Bereich, selbst wenn er nur einen geringen Teil der Probe erfasst, einen erheblichen Einfluss auf die optischen Eigenschaften ausübt.

Um diesen Bereich genauer zu untersuchen und auch die Auswirkungen von sehr dünnen Barrieren zu erfassen, werden in diesem Teil 2D-Komposite präpariert. Hierdurch gibt es keine weiteren Signale durch im Inneren liegende Cluster und kleine Änderungen wirken sich deutlicher auf das Spektrum der Plasmonenresonanz aus.

Parameter

Verglichen wurde ein Set von 2D-Komposite mit 2 nm gedampften Silber auf 10 nm Titandioxid. Die TEM-Aufnahme (Abbildung 3.14 links) zeigt, dass diese Menge in erster Näherung auch der Verteilung der Oberflächencluster des 3D-Komposits entspricht (Abbildung 3.4 a).

Nach dem Bedampfen wurden verschiedene Mengen Titandioxid auf die Komposite gesputtert, um Barrieren zu erzeugen. Die nominellen Schichtdicken betragen 1 nm, 3 nm, 5 nm, 7 nm und 10 nm.

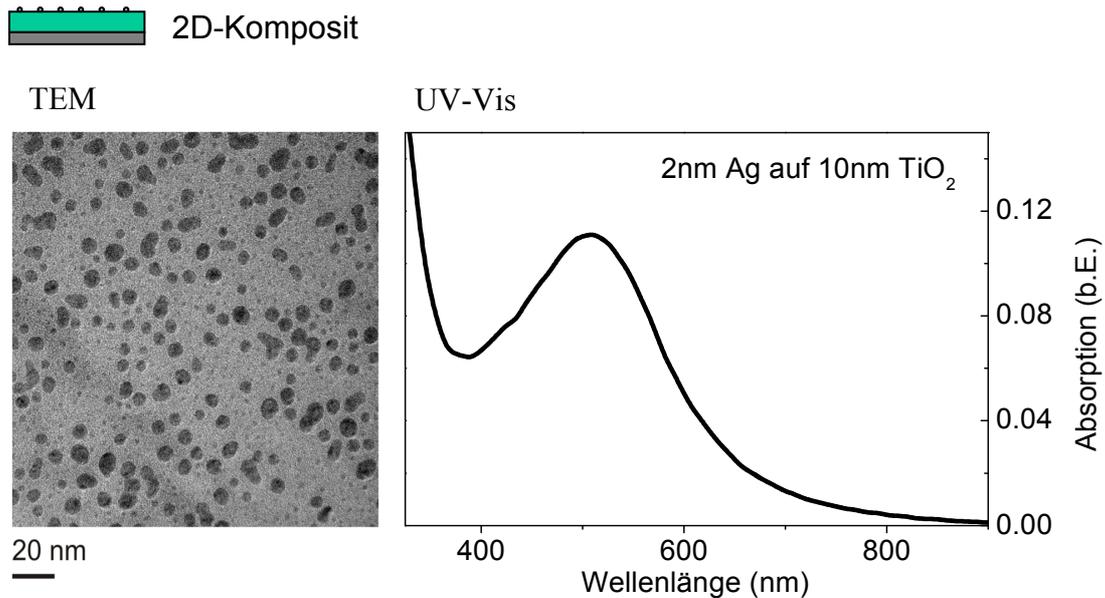


Abbildung 3.14 TEM und UV-Vis-Aufnahme eines typischen Ag/TiO₂ 2D-Komposits mit 2 nm Silber auf 10 nm Titandioxid.

Ergebnisse

Die Plasmonenresonanz hängt neben der Clustergröße und -verteilung auch entscheidend von der Matrix ab. Diese Matrixabhängigkeit wird besonders durch den Einsatz von Barrierebeschichtungen deutlich.

In Abbildung 3.15 ist der Einfluss einer wachsenden Barrierschicht auf die Plasmonenresonanz zu sehen. Für eine bessere Darstellung der Effekte sind in Abbildung 3.16 die Spektren auf das Maximum normiert worden. Dabei können hauptsächlich drei Effekte beobachtet werden:

- **Stärkere Intensität.** Mit wachsender Barrierschicht ist ab 1 nm bis 10 nm eine höher werdende Intensität der Absorption zu beobachten. Dieser Effekt ist auch bei den 3D-Kompositen (Abbildung 3.11 und Abbildung 3.12) zu beobachten.
Beim Schritt von Initial zu 1 nm ist eine geringere Intensität zu erkennen.
- **Peak Verschiebung.** Bei der normierten Darstellung der Spektren (Abbildung 3.16) wird deutlich, dass ab 1 nm die Spektren einen Rotversatz zeigen, und dass bei einer Barriere von 10 nm das Maximum einen Sprung in den blauen Bereich durchführt.
Beim Schritt von Initial zu 1 nm ist ein leichter Blauversatz des Maximums nachweisbar.
- **Schulterpeak.** Bei einer minimalen Barrierschicht von 1 nm ist eine deutliche Ausbildung eines Schulterpeaks zu erkennen. Dieser Peak verschwindet bei einer Barriere Dicke von 10 nm wieder vollständig.

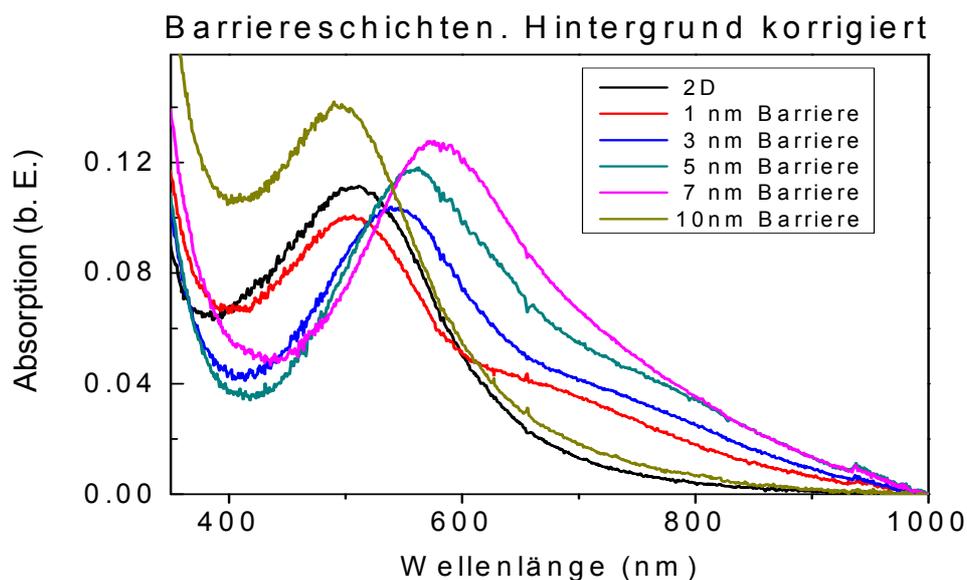


Abbildung 3.15 UV-VIS-Spektren verschiedener 2D-Komposite mit 2 nm Silber, die mit unterschiedlichen Barrierschichten versehen wurden. Es sind die hintergrundkorrigierten Spektren dargestellt. Auffällig ist neben der steigenden Intensität der sprunghafte Blauversatz des Absorptionspeaks bei einer Barriere von 10 nm.

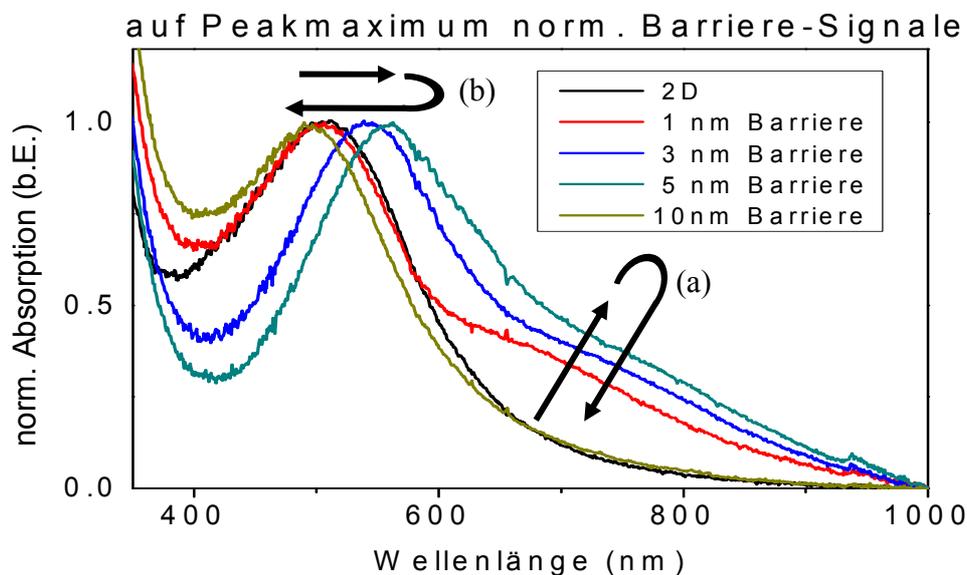


Abbildung 3.16 UV-VIS-Spektren verschiedener 2D-Komposite mit 2 nm Silber, die mit unterschiedlichen Barrierschichten versehen wurden. Die Spektren sind auf das Absorptionsmaximum normiert worden. Auffällig ist ein Schulterpeak (a) und der Rotversatz (b), der bei einer Barriere von 10 nm wieder verschwindet.

Barriere Dicke	Peakposition (nm)	Relative Intensität (hintergrundkorrigiert)
Initial (ohne Barriere)	507	0,111
1 nm	505	0,100
3 nm	547	0,104
5 nm	560	0,118
7 nm	579	0,127
10 nm	497	0,141

Tabelle 3.1 Peakpositionen und -intensitäten der in Abbildung 3.15 dargestellten Spektren. Auffällig ist der Blauversatz bei der 10 nm Barriere.

3.2.7 Plasmonmodulation

Die beobachteten Effekte, die durch das Hinzufügen der Barrieren entstehen, sind in der Literatur in dieser Weise noch nicht beschrieben worden, sodass hier eine Interpretation vorgestellt werden soll.

Die vorliegenden Daten motivieren vornehmlich zwei Modelle. Ihr jeweiliger Anteil an der Veränderung des Absorptionsspektrums während des Barrierewachstums wird später in der Abbildung 3.17 veranschaulicht.

i) Dielektrizitätsänderung

Durch die Abscheidung von Titandioxid werden die leeren Räume zwischen den Silberclustern aufgefüllt. Die Änderung von Luft hin zu Titandioxid erhöht die Dielektrizität zwischen den Clustern [Kreibig1995], was zur Erhöhung der Intensität der Absorption führt, wie sie in Tabelle 3.1 ab 1 nm abgelesen werden kann.

ii) Hybridisierung der Plasmonenresonanz

Die unterschiedlichen Oberflächenenergien führen bei der Abscheidung von Titandioxid auf Silber dazu, dass sich Titandioxid vornehmlich auf den Silberpartikeln ablagert, um die Oberflächenenergie zu minimieren (vgl. Kapitel 1.3.1). Hierdurch entsteht eine Titandioxid-Nanoschale, die die Silbercluster einhüllt. Schon diese 1 nm Schale wechselwirkt mit den Silberclustern und führt zur Herausbildung eines zweiten Resonanzpeaks, wie er deutlich in Abbildung 3.15 (rot) bei etwa 700 nm beobachtet werden kann [Prodan2003]. Diese Wechselwirkung lässt sich durch eine Kopplung des Silberclusters und der Schale erklären. Sie wird durch Oberflächenladungen erzeugt, bei der sich die Grenzfläche Titandioxid gegen Luft negativ und die Grenzfläche Silbercluster gegen Titandioxid positiv auflädt. Diese Oberflächenladungseffekte sind auch für die Silberfreisetzungsmechanismen wichtig (vgl. Kapitel 1.4.1) und unterstreichen an dieser Stelle noch einmal die Wichtigkeit des Effekts für die generellen Eigenschaften der Ag/TiO₂-Komposite.

Dieser auftauchende Peak führt zu einer Erniedrigung der Absorption und einer leichten Blauverschiebung des Hauptpeaks, da sich nun ein Teil der Elektronen in der anderen Mode befindet. Durch eine zunehmende Schalendicke wird diese Kopplung schwächer, was als Rotverschiebung der Plasmonenresonanz in Abbildung 3.16 beobachtet werden kann [Prodan2003].

Bei 10 nm gibt es einen Sprung der Peakposition in den blauen Bereich, da hier die Schale vollkommen in die Matrix übergegangen ist, wie es im folgenden Abschnitt verdeutlicht wird.

iii) Barrierewachstum

Die vorherig beschriebenen Modelle sollen nun Schrittweise auf die verschiedenen Barrierschichten angewendet werden.

Bei 1 nm Titandioxid wird die Dielektrizitätszahl zwischen den Clustern nur wenig verändert, sodass der Effekt der Hybridisierung der Plasmonenresonanz überwiegt. Das führt zu einer Erniedrigung des Hauptabsorptionspeaks und seiner leichten Blauverschiebung. Des Weiteren ist ein deutlicher Schulterpeak durch die Wechselwirkung der Cluster mit der Titandioxid-Nanoschale zu erkennen.

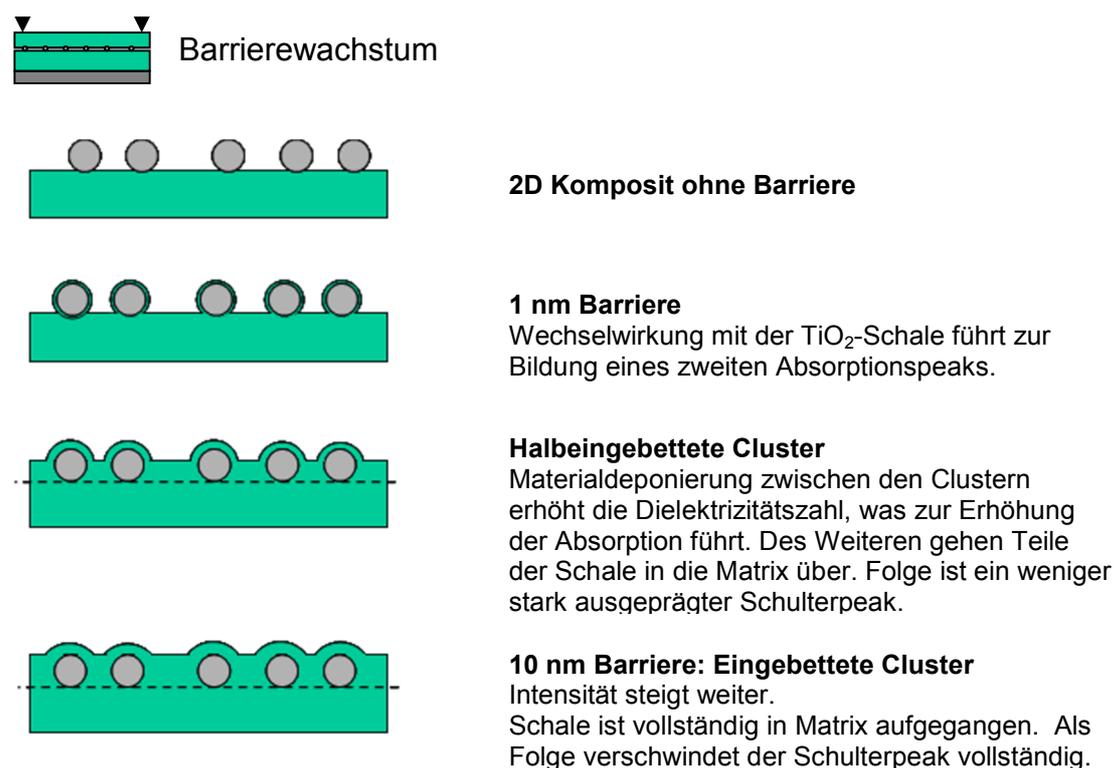


Abbildung 3.17 Modell des Barrierewachstums auf Oberflächen Silber am Beispiel eines 2D-Komposits.

Mit zunehmender Barrierendicke erhöht sich die Dielektrizitätszahl, wodurch die Absorption erhöht wird. Des Weiteren wird auch die Schale dicker, wodurch eine Rotverschiebung zu erkennen ist. Da aber Teile der Schale bereits in die Matrix übergehen, ist der Schulterpeak verglichen mit der 1 nm Barriere nicht mehr so deutlich ausgeprägt.

Bei einer 10 nm Barriere ist eine weitere Intensitätserhöhung zu beobachten. Auffällig ist das vollkommene Verschwinden des Schulterpeaks. Dieses weist darauf hin, dass die Cluster komplett eingebettet und somit die Schale gänzlich in die Matrix eingegangen ist. Ein weiterer Beweis für die Aufhebung der Hybridisierung ist der Sprung des Peaks in den blauen Bereich.

iv) Ausblick

Die weitere Untersuchung dieser Dünnschicht-Barriereeffekte, wird Bestandteil zukünftiger Arbeiten in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Mady Elbahri, Technische Fakultät, Universität Kiel, sein. Für die eingehende Charakterisierung sind unter anderem spezielle optische Methoden notwendig, wie die Ellipsometrie, die die Messung dielektrischer Eigenschaften des Komposits ermöglichen. Das Ziel wird sein, die Entwicklung des Schulterpeaks und die Veränderung des Maximums hinreichend zu erklären.

3.3 Zusammenfassung

Durch die unterschiedliche Abscheidemethoden der Barrierschichten ist es möglich, Komposite mit unterschiedlicher Morphologie zu erzeugen. Diese Veränderung befindet sich in der Grenzfläche zwischen Barriere und Komposit (Abbildung 3.18). Dabei hat die Veränderung der Größe der Cluster einen direkten Einfluss auf die Eigenschaften des Komposits, da sich mit der Größe der Cluster direkt das chemische Potential oder auch die optische Absorption ändert. Die Auswirkung der Veränderungen wird im folgenden Kapitel 4 diskutiert.

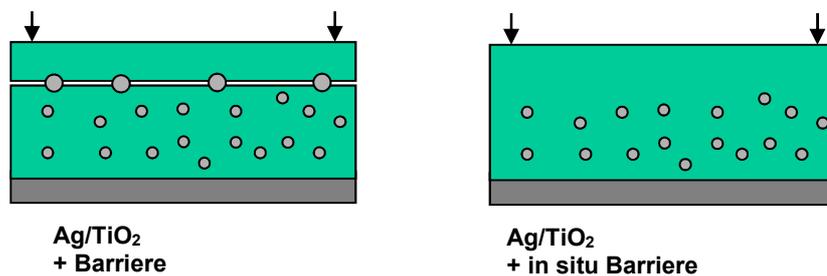


Abbildung 3.18 Schematische Darstellung der Auswirkung einer ex situ und einer in situ Barriere. Durch die Änderung des Barriersystems lassen sich bei selben Silberanteil gezielt unterschiedliche Morphologien in einem Komposit erzeugen.

Die Barrierschicht hat weiterhin große Auswirkung auf die optischen Eigenschaften des Komposits. Dabei können zwei Fälle unterschieden werden:

Wird durch eine in situ Barriere die Bildung der großen Cluster in der Grenzfläche unterbunden, so kann eine Verringerung der Absorption beobachtet werden. Die Veränderung der Plasmonenresonanz kann hier direkt durch die Morphologieänderung des Silbers erklärt werden.

Wird eine sehr dünne Barriere abgeschieden, so wird die Verteilung des Silbers nicht verändert. In diesem Fall wird die Veränderung der Plasmonenresonanz direkt durch die Barriere erzeugt. Dabei sind entstehende Oberflächenladungen des Titandioxids entscheidend für diese Veränderung.

Kapitel 4 Silberfreisetzung

Ein Fachmann ist ein Mann, der einige der größten Fehler kennt,
die man in dem betreffenden Fach machen kann,
und der sie deshalb zu vermeiden versteht.

– Werner Heisenberg, Der Teil und das Ganze (1969)

In diesem Kapitel wird die Silberfreisetzung der verschiedenen Komposite untersucht und die Auswirkung der veränderten Morphologien.

Hierfür soll insbesondere geprüft werden, ob statt dem direkten Nachweis des gelösten Silbers auch eine indirekte und vor allem schnellere Methode verwendbar ist, die die Menge des freigegebenen Silbers über die Änderung der optischen Charakteristik bestimmt. Als Testsystem werden hierfür 2D-Komposite verwendet.

Hiernach folgt die Untersuchung verschiedener Probensysteme insbesondere der Barriereproben, um den Effekt der morphologischen Änderung auf die Silberfreisetzung zu messen.

4.1 Experimentelles

4.1.1 Probenpräparation

i) Probengröße und Substrate

Alle Proben für die Messung des freigesetzten Silbers wurden auf 1x1 cm² großen Glassubstraten hergestellt. Aufgrund der Temperaturbeständigkeit der Glassubstrate von bis zu 500 °C (Angabe des Herstellers Duran), bei der keine Verformungen im Material auftauchen, wurden Heizexperimente entsprechend auf Quarzsubstraten (Transformationspunkt bei 1130 °C) durchgeführt, da hier Temperaturen von 650 °C verwendet wurden.

Für die hier durchgeführten TEM-Untersuchungen wurden die Proben auf Kupferträgern präpariert, die vor ihrem Einsatz mit einer Titandioxidschicht versehen wurden, damit das Aufwuchsverhalten der Komposite nicht durch den Wechsel auf ein metallisches Substrat verändert wird.

ii) Heizen

Für die Untersuchung der Auswirkung der Matrix auf die Silberfreisetzung wurde kristallines Titandioxid durch Heizen hergestellt, indem die amorph gesputterten Titandioxidschichten bei 650 °C für 30 Minuten an Luft ausgeheizt wurden (vgl. Abbildung 2.5).

iii) Metallische Grundschicht

Die hier durchgeführten Experimente dienen zum Teil als Vorstudien für photokatalytische Untersuchungen von Titandioxid-Kompositen. Für diesen Zweck werden die Auswirkungen insbesondere von Nickel auf die Kompositschichten untersucht, da sie später als Beschichtungen von Nickelblechen ihre Verwendung finden sollen.

Für diesen Zweck wurden die verwendeten Glassubstrate mit geschlossenen Nickel- und auch Goldschichten (je 20 nm) besputtert.

Im Gegensatz zu Nickel weist Gold eine schlechte Haftung auf Glas, Quarz und Silizium auf. Deshalb wurden die Substrate zuerst mit einer 10 nm Titandioxidschicht beschichtet. Diese Schicht wirkt als Haftvermittler, wodurch sich die

Goldschichten in Wasser nicht mehr ablösen. Dieses wurde durch in einem einfachen Haftungstest nachgeprüft.

iv) Haftungstest

Durch diesen Test wird die Haltbarkeit von Schichten in wässriger Lösung überprüft. Dafür werden beschichtete Proben in Ethanol und Wasser eingelegt, und in ein Ultraschallbad eingebracht. Bereits nach wenigen Minuten lösen sich Schichten mit einer schlechten Haftung vom Substrat.

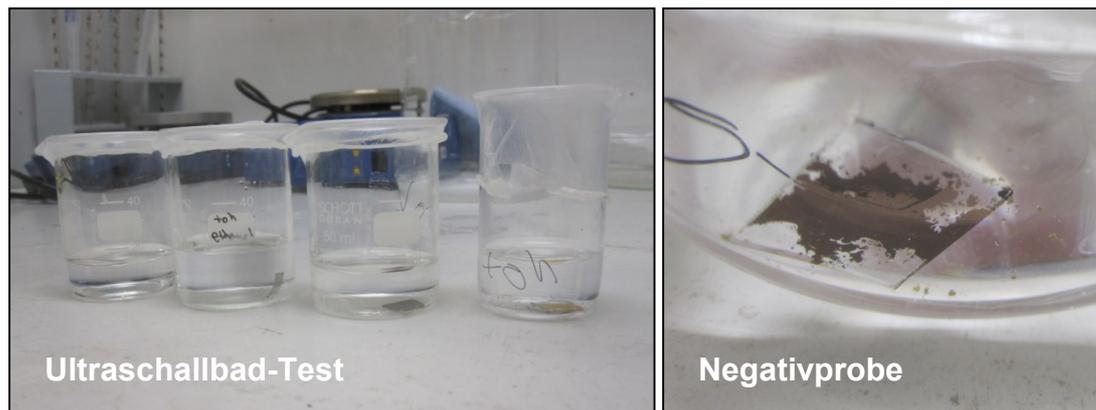


Abbildung 4.1 Haftungstest mittels Ultraschallbad. Links: Proben werden in verschiedene Lösungsmittel eingebracht. Rechts: Ergebnis einer nicht haftenden Schicht TiO_2 auf 20 nm Gold ohne Haftvermittler.

In der Abbildung 4.1 (rechts) ist eine 100 nm dicke Titandioxidschicht auf Gold (20 nm) dargestellt, die ohne Haftvermittler auf Glas präpariert wurde. Bereits nach einer Minute lösten sich große Stücke der Schicht.

Proben mit Haftvermittler zeigten nach einer halben Stunde im Ultraschallbad und zwei Monaten weiterer Lagerung keinerlei Ablösungserscheinungen.

4.1.2 Probenaufbau

Für die Untersuchung der Silberfreisetzung wurden verschiedene Morphologien und Schichtsysteme untersucht. Diese lassen sich in drei Typen einteilen.

i) 2D-Schichttypen



Abbildung 4.2 Schematische Darstellung der untersuchten 2D-Komposite.

Für die Ausgangs-2D-Probe (Abbildung 4.2 a) wurde zuerst eine Schicht Titandioxid durch Sputtern aufgebracht. Danach folgte die Bedampfung mit Silber. Als Variation dieses Standard-2D-Komposits wurde die gesputterte Titandioxid-Schicht geheizt, sodass sie kristallisiert (b). Danach wurde auch hier das Silber aufgedampft.

ii) 3D Schichttypen

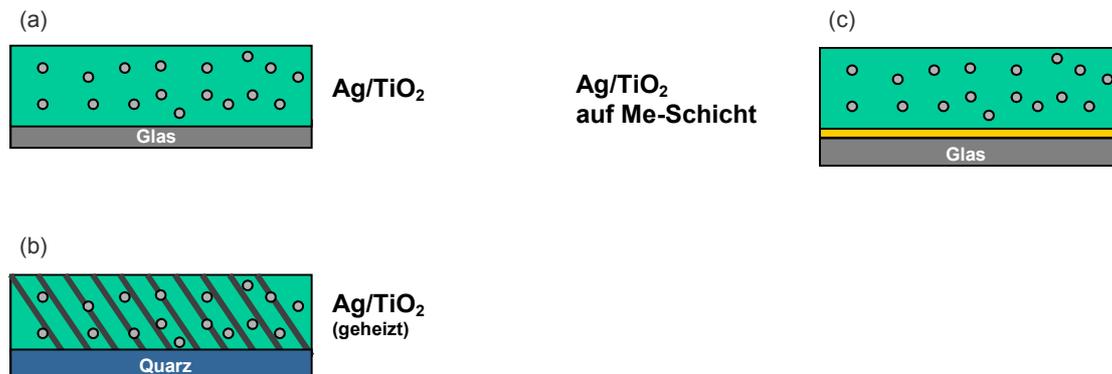


Abbildung 4.3 Schematische Darstellung der untersuchten 3D-Komposite

Die Ausgangs-3D-Probe (Abbildung 4.3 a) wurde durch Co-Sputtern hergestellt. Als Variation wurden folgende Schichten hergestellt:

- (b) Aufbau wie (a), danach ausheizen (450 °C in Vakuum).
- (c) Gesputterte geschlossene Metallschicht (Nickel), auf die dann das 3D-Komposit aufgebracht wurde.

iii) Barrierschichten

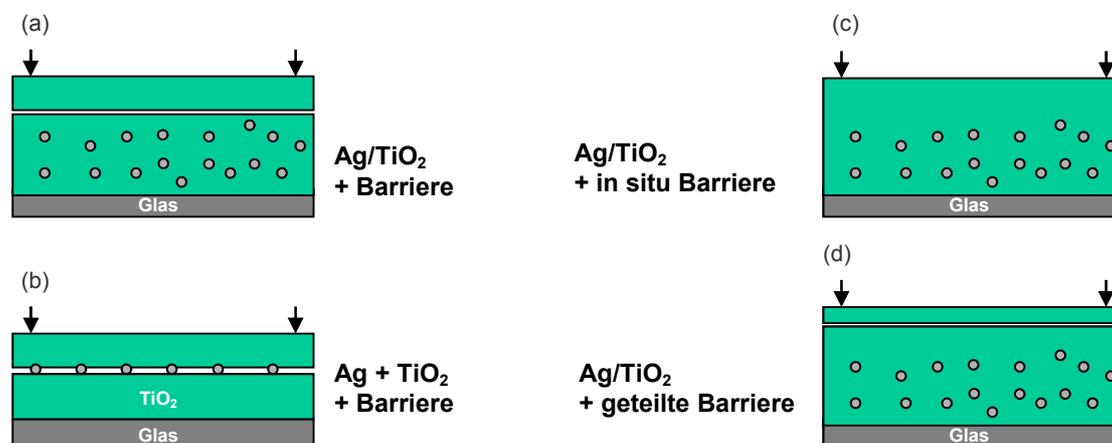


Abbildung 4.4 Schematische Darstellung der untersuchten Barrierschichtsysteme

Als Barrierschicht wird eine zusätzliche Lage Titandioxid bezeichnet, die das eigentliche Komposit bedeckt. Diese kann, wie in Kapitel 3.1.2 erläutert, auf verschiedene Arten aufgebracht werden.

Bei den Systemen (a) und (b) wurde getrennt von der Abscheidung der Komposite nachträglich eine Titandioxid-Schicht aufgebracht. Bei System (c) wurde die Barriere in situ mit der Abscheidung des Komposits aufgebracht. Schicht (d) zeigt eine Barriere, die zum Teil in situ und zum anderen Teil separat hergestellt wurde.

4.1.3 Experimentelle Durchführung

Die Untersuchungen der Silberfreisetzung folgen einer Abfolge von Charakterisierungen, die während dieser Arbeit entworfen und stetig weiterentwickelt wurden. Die Verwendung mehrerer Messtechniken vor und nach der Wässerung ist notwendig, da sich die Silberfreisetzung auf viele verschiedene Eigenschaften des Komposits auswirkt. So reicht es nicht aus, lediglich das freigesetzte Silber in Lösung zu messen.

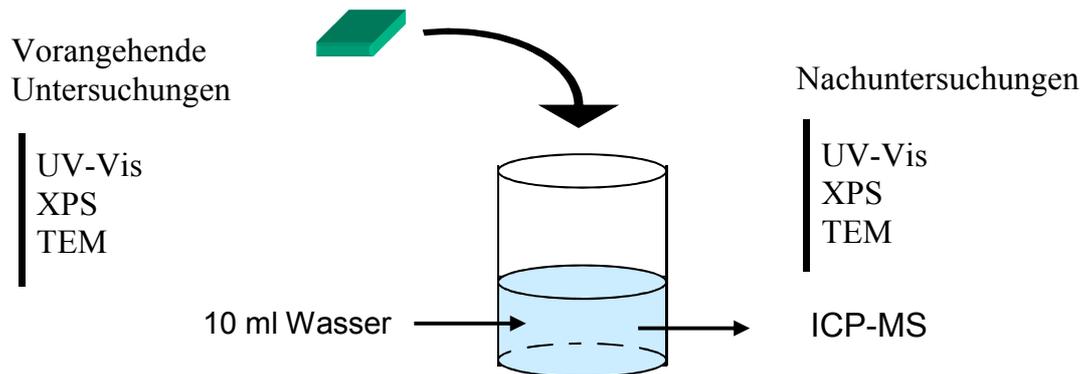


Abbildung 4.5 Schematische Durchführung der Wässerung mit den Routineuntersuchungen.

i) Vorangehende Behandlung

Bevor die Proben in Wasser gelegt werden, werden zuvor die optischen Eigenschaften und die chemische Zusammensetzung der Oberfläche charakterisiert. In Einzelfällen werden auch TEM-Untersuchungen durchgeführt.

Um den Fehler durch Schwankungen in den Einzelproben möglichst gering zu halten, werden von allen Proben vorangehende Untersuchungen durchgeführt.

ii) Bedingungen

Sobald die Proben mit 10 ml Wasser in die Fläschchen eingebracht worden sind, werden sie verschlossen und dunkel gelagert. Außerdem werden sie möglichst wenig bewegt.

iii) Messzeit

Die Messpunkte wurden nach 40 Minuten, zwei Stunden, einem Tag, drei Tagen und einer Woche gewählt. Diese Zeitpunkte orientieren sich zum einen an internen Vorstudien und zum anderen sind sie auf weitere Untersuchungen der Komposite angepasst, die später im Kapitel der biologischen Anwendungen diskutiert werden.

iv) Wasserentnahme

Die Methode, das Wasser zu den gewählten Messzeitpunkten zu entnehmen, kann einen großen Einfluss auf weitere Messpunkte haben. Die Art der Entnahme folgt den Bedingungen möglicher Applikationen, also ob die Komposite eher in einem

geschlossenen System eingebracht werden oder in einem offenen, bei dem das Medium häufig getauscht wird.

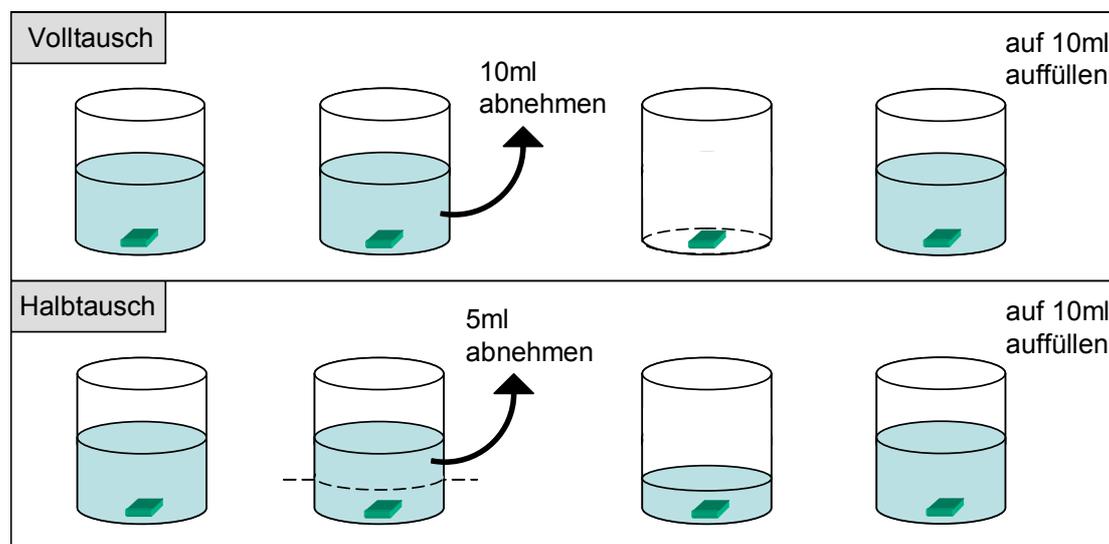


Abbildung 4.6 Schematische Darstellung zweier Methoden zur Wasserentnahme für ICP-MS Messungen. Beim 'Volltausch' wird das gesamte Wasser entfernt und beim 'Halbttausch' jeweils nur die Hälfte des Mediums. Anschließend wird bei beiden Methoden wieder auf die Ursprungsmenge mit frischem Medium aufgefüllt.

Bei einem 'Volltausch' wird bei jedem Messpunkt die Probe in neues reines Wasser gelegt. Bis dahin gelöstes Silber kann somit nicht mehr mit der Probe interagieren.

Bei einem 'Halbttausch' wird zu jedem Messpunkt die Hälfte des Wassers entnommen, sodass auch die Konzentration der Lösung halbiert wird. Dadurch wird das System weniger gestört. Ein entscheidender Nachteil der Halbttausch-Methode ist, dass die Proben zwischen den Messpunkten nicht charakterisiert werden können.

v) Auswertung der Silberkonzentration

Nachdem das Wasser entnommen und per ICP-MS vermessen wurde, folgt die Auswertung der Daten, um die Gesamtsilberfreisetzung bestimmen zu können. Dabei ergeben sich durch die Art der Wasserentnahme entscheidende Unterschiede.

Volltausch

Bei dieser Methode wird das Wasser komplett entnommen, sodass sich von einem Messpunkt zum nächsten jeweils nur neu freigesetztes Silber in Lösung befindet. Für eine Bestimmung der Gesamtfreisetzung werden die Messwerte der vorherigen Zeitpunkte summiert.

Halbtausch

Für die Auswertung der Halbtausch-Methode seien folgende Begriffe wie folgt definiert:

- Der 'Messwert' sei der Wert, der zu einer bestimmten Messzeit bestimmt wurde.
- Die 'Konzentration' sei die Menge Silber pro Medium, die während der Messung bis zu dem jeweiligen Zeitpunkt der Messung insgesamt an das Medium abgegeben wurde.

Dann ergibt sich für die Auswertung:

- Die erste Konzentration ist der erste Messwert.
- Die zweite Konzentration ist der zweite Messwert plus die Hälfte des ersten Messwertes
- Die dritte Konzentration ist der dritte Messwert plus die Hälfte der zweiten Konzentration

Insgesamt gilt also:

Die neue Konzentration ist die Summe aus neuem Messwert und der Hälfte der vorherigen Konzentration.

vi) Trocknung und Nachbehandlung

Die gründliche Trocknung der Proben ist entscheidend, um Artefakte oder fehlerhafte Daten zu vermeiden. Eintrocknete Tropfen können zu einem lokal erhöhten Silbersignal führen und so eine Nachcharakterisierung verfälschen. Zur Trocknung wurde in dieser Arbeit eine Luftdüse, angeschlossenen an eine Stickstoffflasche (Reinheit 5N, Linde) benutzt.

Nachdem die Proben aus der Lösung entfernt und getrocknet wurden, erfolgte wieder die Charakterisierung der Oberfläche und der optischen Eigenschaften.

4.1.4 Optische Charakterisierung der Plasmonenresonanz

Die Abbildung 4.7 zeigt ein typisches UV-Vis-Spektrum eines 2D-Komposits vor und nach Wässerung. Zwischen etwa 400 und 650 nm liegt das Absorptionsspektrum des Silberplasmons. Durch die Einlagerung in Wasser verringert sich der Silberanteil des Komposits, was einen direkten Einfluss auf die Plasmonenresonanz hat. Die zeitliche Abnahme der Intensität ist deutlich erkennbar, und auch eine Verschiebung des Maximums ist messbar.

i) Auswertung

Für die Auswertung und den Vergleich der Daten sind zwei Größen wichtig. Zum einen ist es die Fläche des Absorptionspeaks und zum anderen die Position des Maximums. Hierfür wird, wie in der Abbildung angedeutet, eine Basislinien-Korrektur vorgenommen; die gezogene Linie wird so verlegt, dass sie das Spektrum

am Beginn und am Ende der Absorption berührt. Es erfolgt danach eine Subtraktion des Spektrums.

Aus diesem korrigierten Spektrum lässt sich nun die Fläche des Plasmonenresonanzpeaks bestimmen. Zum Vergleich mit anderen Messreihen werden die Flächen abschließend auf den Anfangswert vor der Wässerung normiert und gegen die Zeit dargestellt.

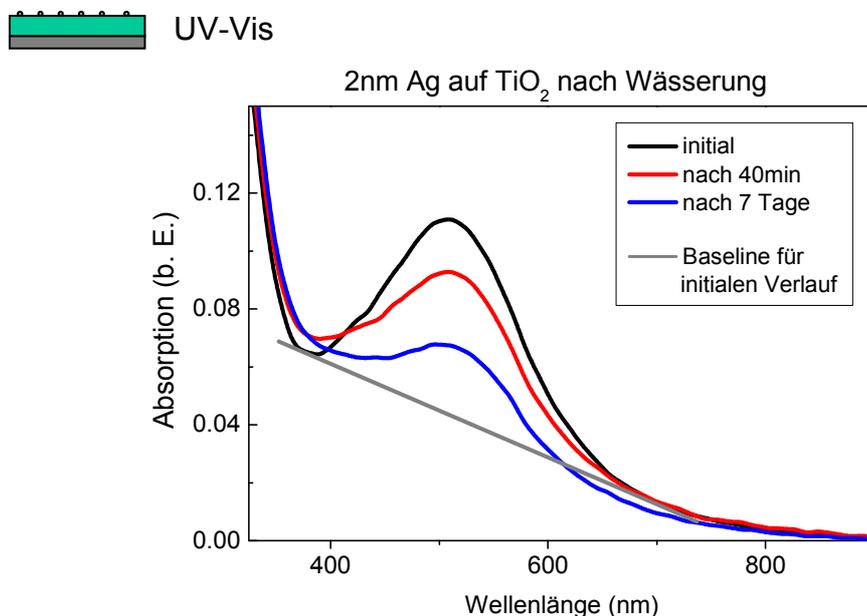


Abbildung 4.7 UV-Vis-Spektrum eines typischen 2D-Komposits mit 2 nm Silber an der Oberfläche. Dargestellt ist der Effekt der Wässerung (Volltausch) nach 40 Minuten und einer Woche. In Grau ist die Basislinie für das Initial-Spektrum angedeutet, die für die Auswertung vom Spektrum subtrahiert wird.

Die Peak-Position der Rohdaten stellt eine Überlagerung des Plasmons und der Absorption der Matrix dar, deshalb wird für die weitere Auswertung die Peak-Position nach der Korrektur herangezogen. Da in dieser Arbeit jedoch keine Modellierungen der Plasmonenresonanz vorgenommen werden, wird der Versatz der Plasmonen ausschließlich qualitativ verwendet.

ii) Anwendbarkeit der Methode

Da es eine direkte Wechselwirkung zwischen Silberclustern und der Matrix gibt, verändert sich bei einer Variation des Silberanteils das gesamte Spektrum. Es ist daher nicht möglich von den Kompositenspektren ein reines Titandioxidspektrum abzuziehen, um eine Hintergrundkorrektur durchzuführen.

Der Kompromiss, die beschriebene Basislinien-Korrektur durchzuführen, führt für einfache Systeme durchaus zu guten Ergebnissen, wie Vorarbeiten gezeigt haben. Ob sie auch für kompliziertere Systeme eine geeignete Vorgehensweise darstellen, ist Bestandteil der folgenden Untersuchungen.

4.2 Methodenvergleich

Zur Bestimmung der Silberfreisetzung stehen in dieser Arbeit zwei Methoden zur Verfügung. Die direkte Messung mittels ICP-MS und die indirekte über die optische Charakterisierung per UV-Vis.

Bei der direkten Messung der Silberkonzentration in Lösung, die sich während der Wässerung der Proben einstellt, lässt sich quantitativ bestimmen, wie viel Material freigesetzt wurde.

Bei der indirekten Methode über die optische Charakterisierung wird ausgenutzt, dass sich das Absorptionsspektrum durch den Silberverlust der Probe maßgeblich ändert. Auf den ersten Blick scheint sie der direkten Methode unterlegen, jedoch ist diese nicht so aufwendig und um ein vielfaches schneller.

Im Folgenden werden beide Methoden mit 2D-Kompositen miteinander verglichen, da hier im Gegensatz zu den 3D-Kompositen bereits kleine Silberverluste große Effekte im optischen Signal erzeugen.

Auch werden verschiedene Parameter (Wassermenge, Lagerung, Messmethode) ausgetestet, um ihre Auswirkungen auf die Komposite und ihre Silberfreisetzung einschätzen zu können.

Die Ergebnisse der folgenden Messreihen waren die ersten, die für diese Arbeit durchgeführt wurden und begründen sich auf der Bachelorarbeit von Natalie Wohner. Dadurch gibt es eine Abweichung in der Standardroutine. Die Wässerung der 2D-Komposite erfolgte in 2 ml Wasser.

Die Proben sind somit nur untereinander direkt vergleichbar, auch wenn ihr generelles Verhalten dem späterer Messreihen entspricht.

Alle hier folgenden Ergebnisse wurden in der 'Volltausch'-Methode durchgeführt.

4.2.1 Grundlegende Charakterisierung

i) Morphologie

Abbildung 4.8 zeigt TEM-Aufnahmen eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber auf 10 nm amorphen Titandioxid, das für jeweils 40 Minuten und 2 Stunden gewässert wurde. Die Abbildungen zeigen aus technischen Gründen zwar nicht dieselbe Stelle der Probe, sind aber dennoch stellvertretend für ihre Morphologie.

Zu erkennen ist, dass die Zahl der Cluster abgenommen hat. Neben dem Effekt, dass zuerst kleinere Cluster verschwinden, ist auch eine Ostwald-Reifung beobachtbar, bei der die großen Silbercluster größer werden.

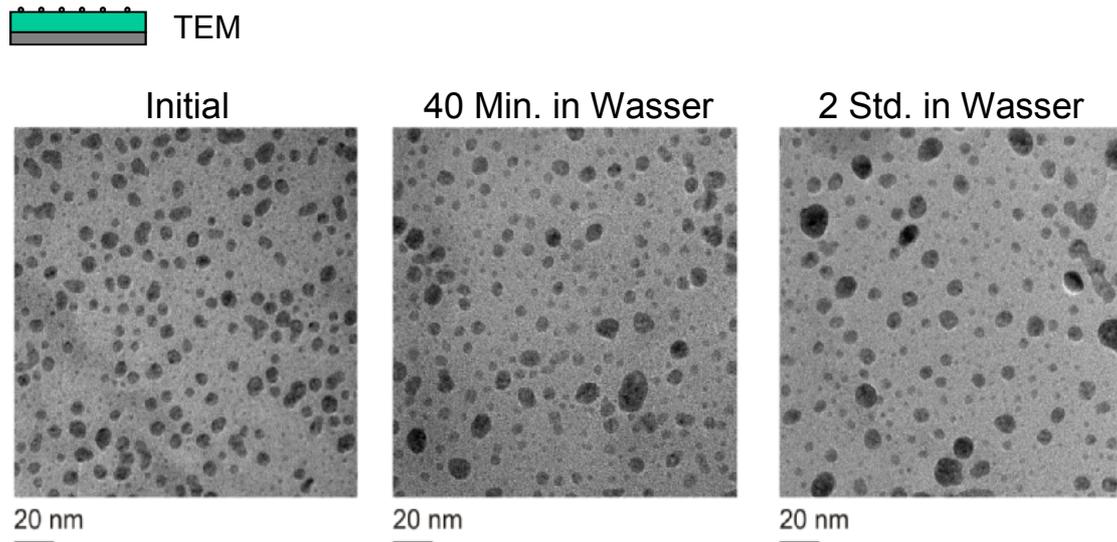


Abbildung 4.8 TEM-Aufnahme eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber nach Präparation, 40 Minuten und 2 Stunden in Wasser (gleiche Probe, ohne Wasserwechsel).

Die TEM-Aufnahmen werden hier nur qualitativ ausgewertet und nicht als alternative Methode verwendet, die Silberfreisetzung quantitativ zu verfolgen. Der Hauptgrund liegt darin, dass auch Proben auf verschiedenen Substraten und mit verschiedenen Schichtdicken untersucht werden sollen. Dieses lässt sich durch die Einschränkung in Schichtdicke und Substrat bei der TEM-Probenpräparation nicht ausreichend nachstellen.

ii) Optische Charakterisierung

In Abbildung 4.9 ist das passende Absorptionsspektrum vergleichbarer Proben abgebildet. Darunter (Abbildung 4.10) ist die auf den Anfangswert normierte Plasmonenfläche dargestellt.

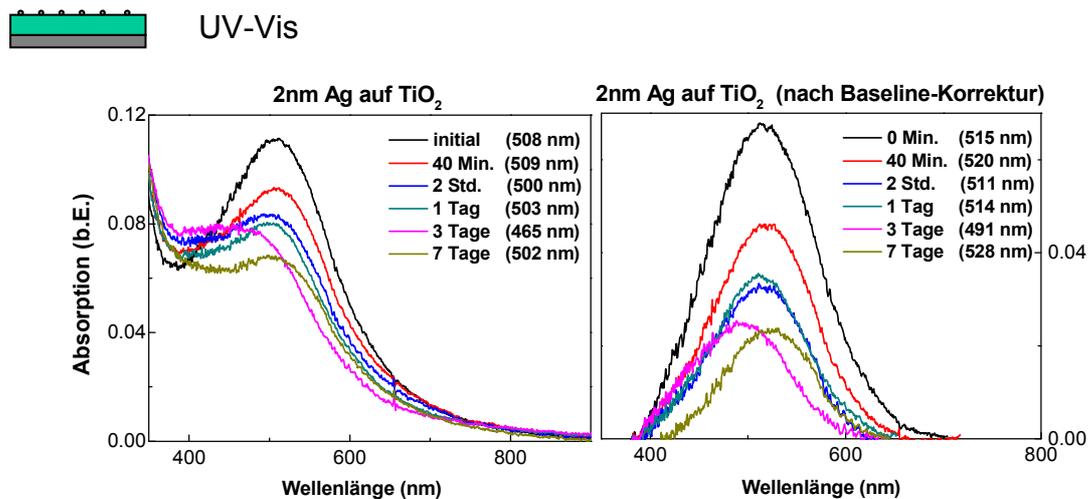


Abbildung 4.9 UV-Vis: Entwicklung des Silberplasmonenpeaks über die Zeit einer gewässerten 2D-Komposit-Probe. Deutliche Annahme der Plasmonenfläche und Verschiebung der Peak-Position. Rechts: Spektrum Basislinien-korrigiert.

 UV-Vis: Plasmonenresonanz

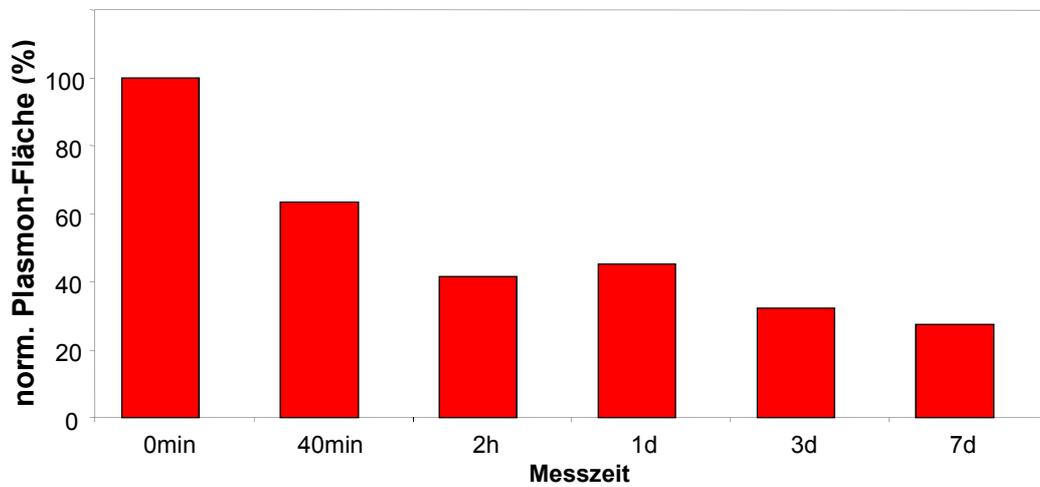


Abbildung 4.10 UV-Vis: normierte Plasmonenfläche eines 2D-Komposits gegen die Zeit.

iii) Direkte Messung der Silberfreisetzung

 ICP-MS

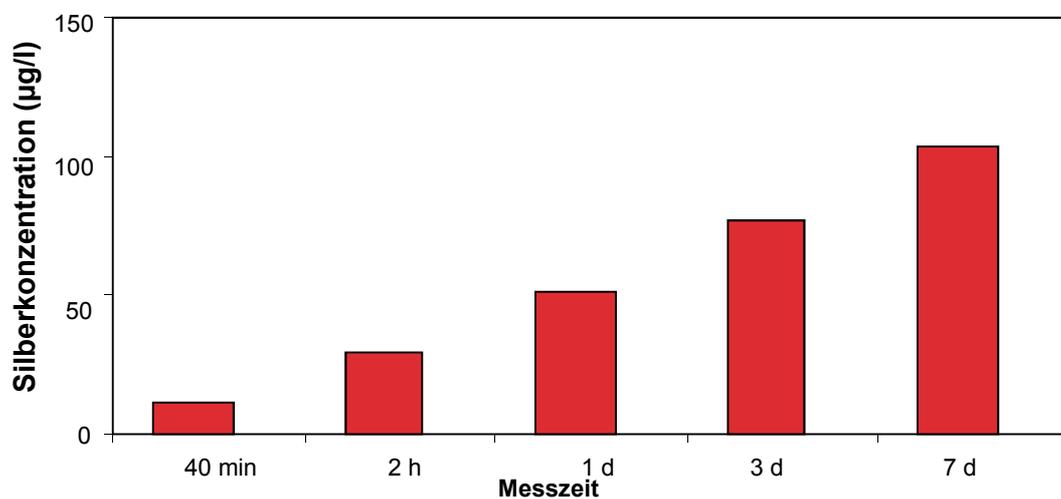


Abbildung 4.11 ICP-MS Messung der Silberkonzentration in Lösung durch ein 2D-Komposit mit 2 nm Silber über die Zeit während der Wässerung.

Abbildung 4.11 zeigt die direkte Messung des durch das 2D-Komposit an das Wasser abgegebenen Silbers. Es zeigt ein mit der optischen Methode in Abbildung 4.10 vergleichbares Verhalten. Dieses deutet darauf hin, dass die Silberfreisetzung einfacher Systeme auch durch die wesentlich einfachere optische Methode verfolgbar ist.

4.2.2 Silberfreisetzung

Das freigesetzte Silber in Lösung wurde mittels ICP-MS nachgewiesen. Im Gegensatz zur optischen Methode per UV-Vis handelt es sich um eine direkte Nachweismöglichkeit.

i) Genauigkeit der Einzelmessung

Zur Überprüfung der Genauigkeit der Messmethode wird während der ICP-MS Messung eine ausgewählte Probe mehrfach gemessen.

Tabelle 4.1 zeigt exemplarisch die Mehrfachmessreihe eines später diskutierten 3D-Komposits mit 20 % Silberanteil nach 40 Minuten Wässerung.

ICP-MS Mehrfachmessung Ag/TiO ₂ (20 %) nach 40min (Ag µg/l)						
16,07	16,34	16,60	16,78	16,24	16,35	16,35

Tabelle 4.1 Genauigkeit der ICP-MS-Einzelmessung getestet mit der Mehrfachmessung derselben Probe: Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 20 % nach 40min Wässerung.

Aus diesen Werten ergibt sich eine Standardabweichung für die Schwankung des Messgeräts vom Durchschnittswert: $16,4 \pm 0,2$ (1,4%)

ii) Wassermengenabhängigkeit

Um den Einfluss der Wassermenge auf das Freisetzungsverhalten zu prüfen, wurden drei gleiche 2D-Komposite mit 2 nm gedampften Silber auf 10 nm Titandioxid in verschiedenen Mengen gewässert: 2ml, 10ml und 20ml. In der Tabelle sind sowohl die Messwerte nach einer Woche eingetragen als auch die daraus errechneten normierten Konzentrationen, die das Material in einem Milliliter Wasser freigäbe. Es ist zu erkennen, dass die Wassermenge nur einen geringen Einfluss auf die Silberfreisetzung hat.

2D-Komposit: 2 nm auf TiO ₂ gewässert in	Gemessene Konzentration (Ag µg/l)	Normierte Konz. auf 1 ml (Ag µg/l)
20 ml	9,82	49,11
10 ml	17,66	44,15
2 ml	88,77	44,39

Tabelle 4.2 Wassermengenabhängigkeit der Silberfreisetzung getestet mit gleichen 2D-Kompositen mit 2 nm Silber, gemessen nach einer Woche.

Das bedeutet jedoch nicht, dass sie gänzlich davon unabhängig ist. Wahrscheinlicher ist, dass die vorkommenden Silberkonzentrationen unterhalb einer oberen Grenze geblieben und so keine weiteren Effekte aufgetreten sind. So zeigt das 3D-Komposit mit der in situ Barriere von 30 nm (Abbildung 4.26) mit einer gelösten Silberkonzentration von 398 µg/l eine fast fünfmal höhere Silber-Konzentration als die höchste auftretende Konzentration in der Tabelle.

Eine Verifikation einer solchen maximalen Grenze muss durch weitere Experimente geprüft werden, an dieser Stelle ist jedoch nur entscheidend, dass die 2D-Komposite nicht durch die Silber-Gesamtkonzentration beeinflusst wurden.

iii) Alterung

Bei Ag/TiO₂ handelt es sich um sehr empfindliche Komposite, die durch viele verschiedene äußere Bedingungen ihre Eigenschaften verändern können. Dazu gehört insbesondere die Lagerung dieser Materialien. In diesem Abschnitt werden die Auswirkungen einer Lagerung an Luft und an Licht auf die Silberfreigabe untersucht. Um einen möglichst großen Effekt zu erzielen, wurden 2D-Komposite mit 2 nm dickem, aufgedampftem Silber verwendet.

Lagerung

Es wurden zwei gleiche Probensets hergestellt, die zwei Wochen an Luft gelagert wurden, bevor ihre optische Veränderung und Silberfreisetzung untersucht wurde. Das eine Set wurde dunkel und bei konstanter Temperatur gelagert, und das andere wurde auf einer Fensterbank gelagert und war so der Sonneneinstrahlung und somit auch Temperaturschwankungen ausgesetzt. Alle Proben wurden in geeigneten Probenschachteln gelagert, um Veränderungen durch Verschmutzung auszuschließen.

Optische Veränderung

Abbildung 4.12 zeigt die Auswirkung der Alterung auf die Silberplasmonenresonanz. Dabei zeigt sich, dass bei der Lagerung im Dunkeln (rot) nur eine kleine Abweichung nachweisbar ist, die im Bereich der Schwankung der Einzelproben liegt (Abbildung 2.6). Bei der hell gelagerten Probe (blau) ist die Plasmonenresonanz fast komplett verschwunden. Dieses weist auf eine fast vollständige Oxidation der Silber-Cluster hin, da nur metallisches Silber Resonanzen bildet.

Somit führt die optische Anregung der Titandioxidmatrix zu einer beschleunigten Oxidation der Silbercluster, was Auswirkungen auf die Lagerung der Proben und die Rahmenbedingungen der Experimente hat.

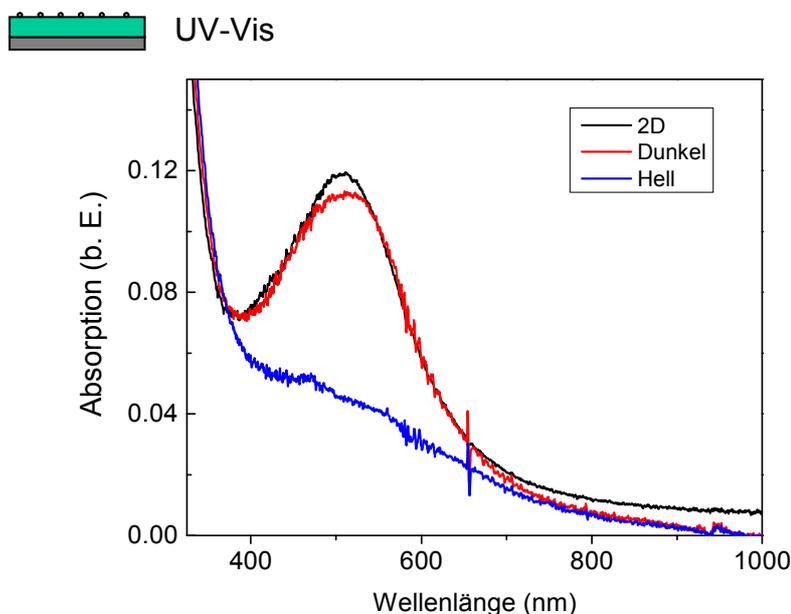


Abbildung 4.12 UV-Vis-Spektrum: Veränderung des Silberplasmonenresonanz eines 2D-Komposits mit 2 nm gedampftem Silber durch Alterung. Bei der Alterung im Dunkeln (rot) ist nur ein geringer Unterschied zur frischen Probe (schwarz) zu erkennen. Bei der Alterung im Hellen (blau) ist die Plasmonenresonanz fast ganz verschwunden.

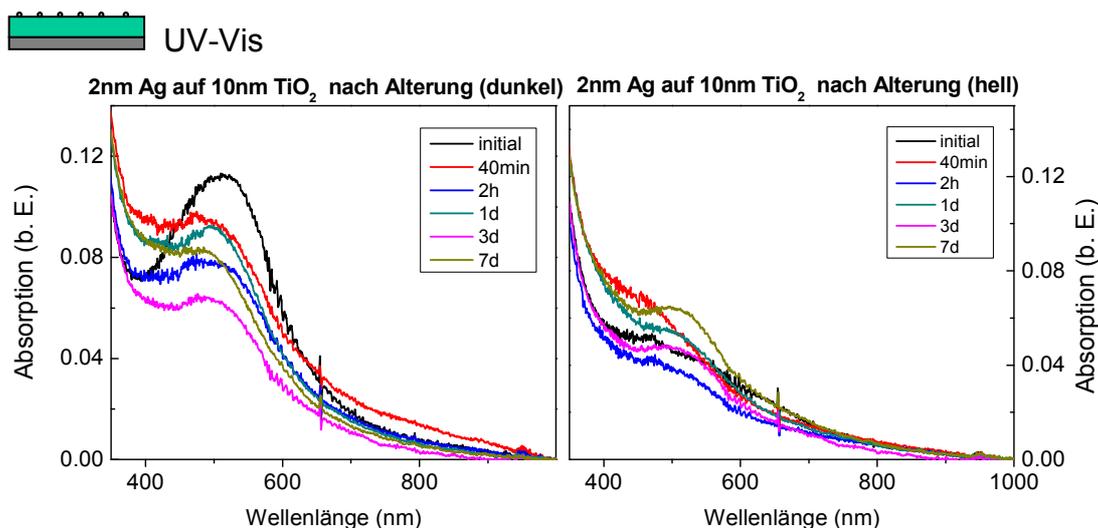


Abbildung 4.13 UV-Vis-Spektren von zwei Wochen gealterten 2D-Kompositen mit 2 nm Silber. Unterschied in der Änderung des Spektrums durch Wässerung über eine Woche.

Silberfreisetzung

Abbildung 4.14 zeigt die Silberfreisetzung der gealterten Proben im Vergleich zu frisch präparierten (rot). Die dunkel gelagerten Proben (dunkelgrau) zeigen nur eine leicht erhöhte Freisetzung, die dem Verlauf der frischen Proben folgt. Dagegen zeigt die hell gelagerte Probe (hellgrau) eine mehr als verdoppelte Freisetzung. Da die Oxidation des Silbers ein Schritt in der Freisetzungskinetik ist (vgl. Kapitel 1.4.2), ist dieses Verhalten der gealterten Proben zu erwarten.

Es zeigt aber auch, dass der chemische Zustand des Silbers vor der Wässerung wichtig ist, da dieses einen signifikanten Einfluss auf die Freisetzung hat.

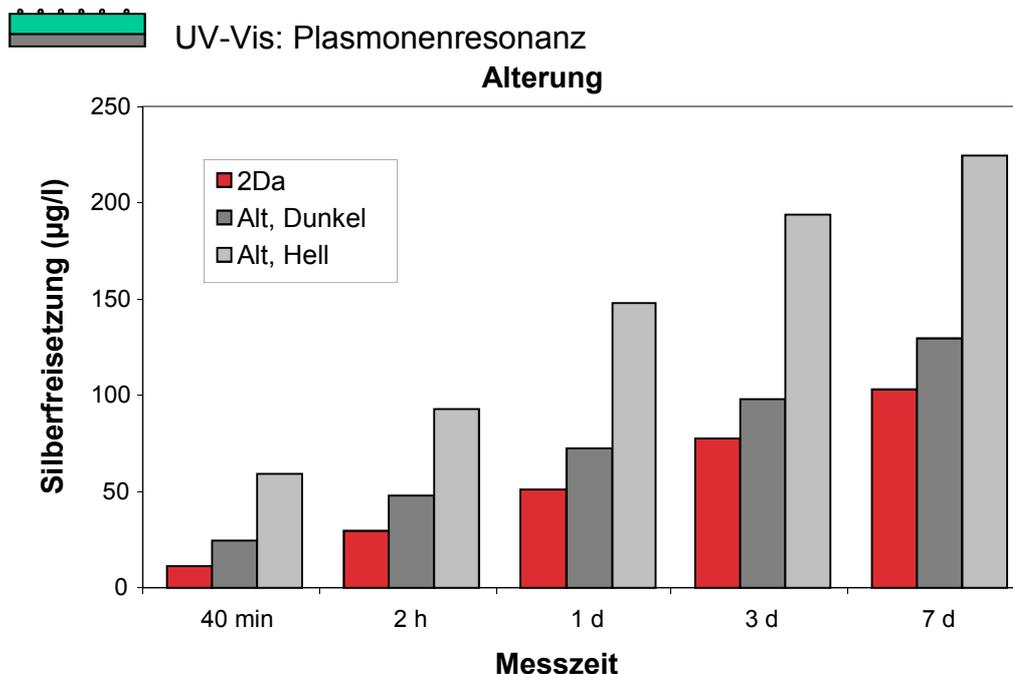


Abbildung 4.14 ICP-MS: Gemessene Silberkonzentration in Wasser von verschiedenen 2D-Kompositen mit 2 nm Silber. Gegenübergestellt ist eine frische (rot) Probe und zwei gealterte (hell- und dunkelgrau).

4.2.3 Vergleichsexperimente

Im Folgenden werden Vergleichsexperimente durchgeführt, bei denen eine bestimmte Auswahl von Parametern untersucht wird. Als wichtigster Parameter ist der Einfluss von Barrierschichten zu nennen.

Bei den Experimenten wurden 'dieselben Proben' verwendet. Das bedeutet, dass ein Komposit präpariert, es optisch vermessen und dann sein Wasser verwendet wurde. Somit können die gegenüber gestellten Daten direkt miteinander verglichen werden.

Alle hier folgenden Ergebnisse wurden weiterhin in der 'Volltausch'-Methode durchgeführt. Die angegebenen Silberkonzentrationen sind bereits korrigiert und entsprechen der Gesamtkonzentration im Medium.

i) Vergleich amorphe gegen kristalline Matrix

Parameter

Verglichen werden zwei Messreihen von 2D-Kompositen mit 2 nm aufgedampftem Silber auf 10 nm Titandioxid. Zum einen handelt es sich um amorphes Titanoxid, zum anderen um eine Schicht, die für 30 Minuten bei 650 °C in Luft geheizt wurde, wodurch das Titanoxid kristallisiert (vgl. Abbildung 2.5).

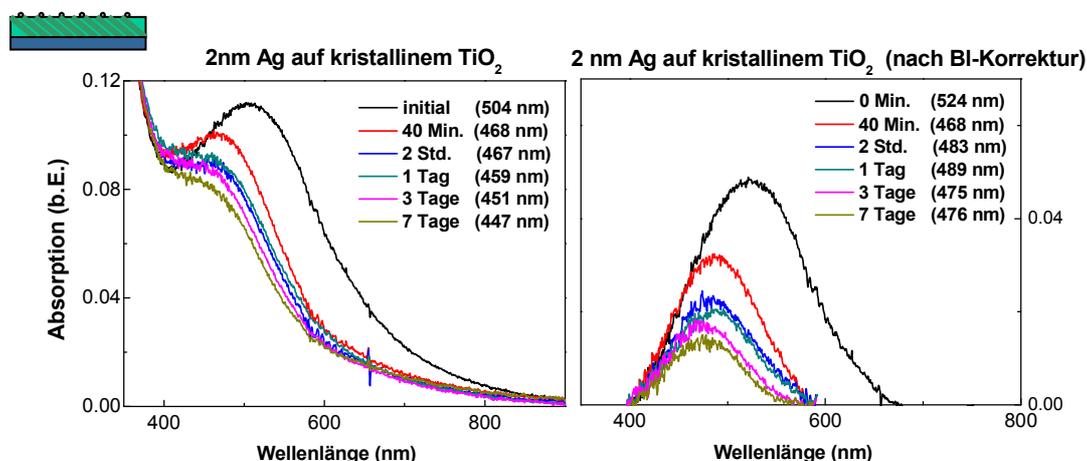


Abbildung 4.15 UV-Vis: Entwicklung der Silberplasmonenresonanz über die Zeit einer gewässerten kristallinen 2D-Komposit Probe. Deutliche Annahme der Plasmonenfläche und Verschiebung der Peak-Position. Rechts: Spektrum Baselinien-korrigiert.

Ergebnis der optischen Auswertung

In Tabelle 4.3 ist der Vergleich der Veränderung von Peakposition und -intensität der amorphen und kristallinen Proben (Abbildung 4.9 und Abbildung 4.15) dargestellt. Darunter ist eine Visualisierung dieser Daten gezeigt (Abbildung 4.16).

Es zeigen sich erhebliche Unterschiede im Verlauf. Die Subtraktion der relativen Intensitäten würde bei der amorphen Probe auf eine stärkere Freisetzung deuten, da die absolute Verminderung des Maximums deutlicher ist.

Hingegen zeigt die Auswertung der normierten Flächen der Plasmonenresonanz einen gleichmäßigen Verlauf (Abbildung 4.17), bei dem die Freisetzung des Silbers bei der kristallinen Matrix beschleunigt ist. Auch ist ein Anstieg der Plasmonenresonanzfläche nach einem Tag der amorphen Probe erkennbar. Diese ist auf die Veränderung der Verteilung und Größe der Cluster zurückzuführen, wie sie bereits zuvor an den TEM-Aufnahmen gezeigt wurde (vgl. Abbildung 4.8).

Messzeit	Peakposition (nm)		Relative Intensität (nach Korrektur)	
	amorph	kristallin	amorph	kristallin
Initial	515	524	0,0677	0,0484
40min	520	468	0,0462	0,0321
2h	511	483	0,0351	0,0233
1d	514	489	0,0326	0,0202
3d	491	475	0,0248	0,0174
7d	528	476	0,0236	0,0142

Tabelle 4.3 Peakpositionen und -intensitäten der in Abbildung 4.9 und Abbildung 4.15 dargestellten Spektren. Verglichen werden die Effekte der Wässerung von 2D-Kompositen auf amorpher und kristalliner Matrix.

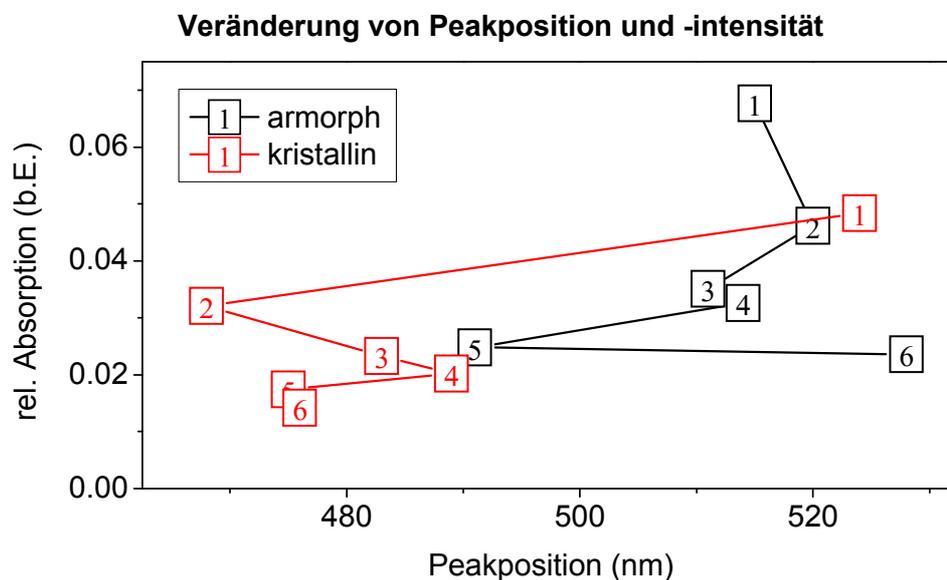


Abbildung 4.16 Visualisierung der in Tabelle 4.3 aufgeführten Peakpositionen und -intensitäten. Die angegebenen Zahlen repräsentieren die Reihenfolge der Messzeiten: 1 = 40 min, 2 = 2 h usw.

UV-Vis: Plasmonenresonanz

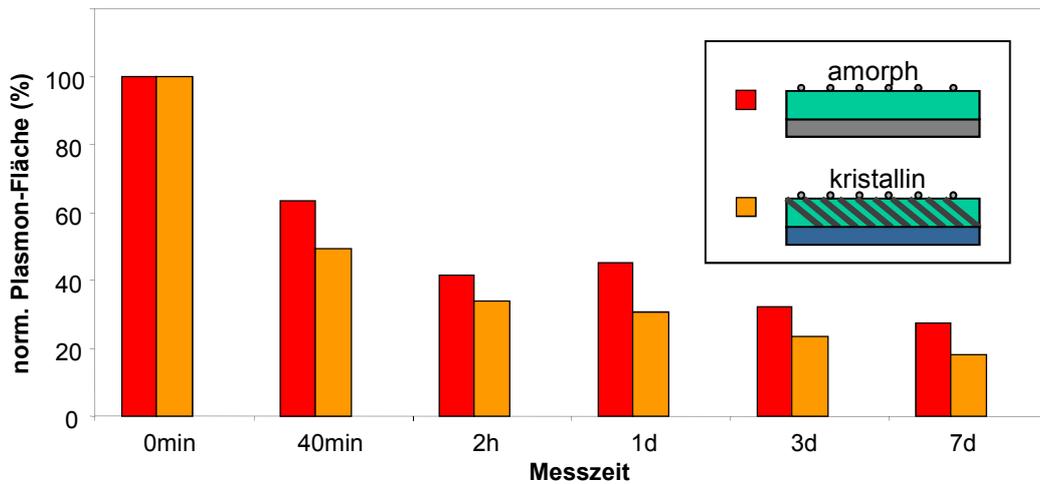


Abbildung 4.17 UV-Vis: normierte Plasmonenfläche gegen die Zeit. Im Vergleich zum 2D-Komposit gibt das kristalline 2D-Komposit das Silber verstärkt ab.

Ergebnis der Konzentrationsbestimmung

Abbildung 4.18 zeigt den Einfluss der kristallinen Matrix auf die Silberfreisetzung. Wie auch schon bei der optischen Charakterisierung zuvor ist auch hier eine erhöhte Silberfreisetzung bei der kristallinen Probe zu beobachten.

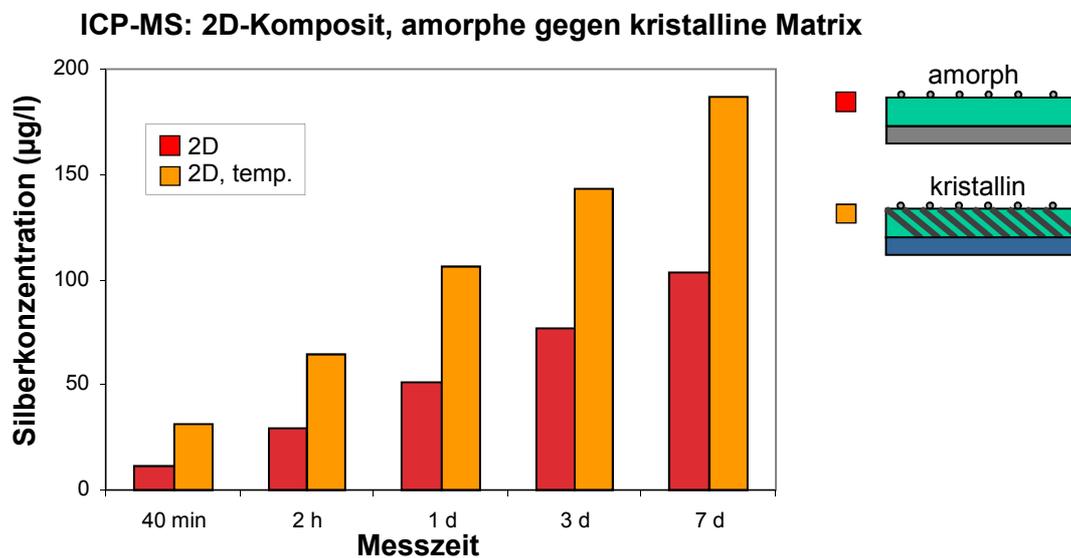


Abbildung 4.18 ICP-MS: Messung eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber im Vergleich zu einem entsprechenden Komposit auf kristallinem Titandioxid. Die Darstellung zeigt die Silberfreisetzung über die Zeit während der Wässerung.

ii) Vergleich Barriersysteme

Parameter

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, wurden 2D-Komposite mit 2 nm aufgedampften Silber auf 10 nm Titandioxid hergestellt. Nach dem Bedampfen wurden verschiedene Mengen Titandioxid gesputtert, um Barrieren zu erzeugen. Die nominellen Schichtdicken betragen dabei 1 nm, 3 nm, 5 nm, 7 nm und 10 nm.

Ergebnis der optischen Auswertung

Abbildung 4.19 (links) und Abbildung 4.20 (a)-(d) zeigen die Spektren der gewässerten 2D-Komposite, die mit verschiedenen Barriredicken präpariert wurden.

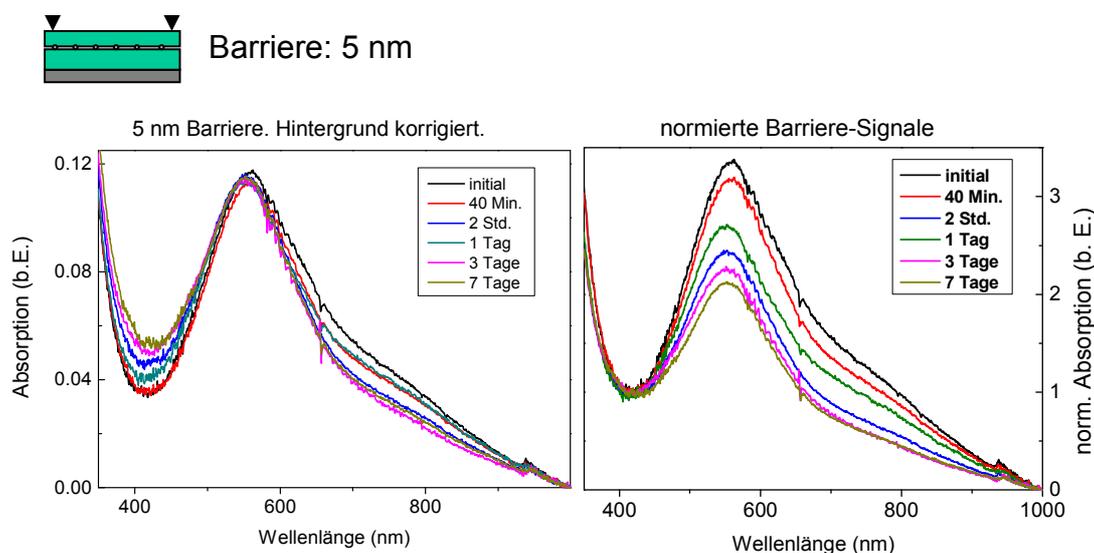


Abbildung 4.19 UV-Vis-Spektrum eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber und einer Barriere von 5 nm. Die Veränderung durch das Wässern mit der Zeit ist dargestellt. Rechts: auf das Minimum normierte Darstellung.

Durch den großen Einfluss der Barriredicke, wie er in Kapitel 3.2.6.ii) diskutiert wurde, sind die Peakformen so unterschiedlich, dass ein direkter Vergleich der Silberfreisetzung der verschiedenen Barriredicken untereinander unmöglich ist.

Diese Veränderung sorgt bei sämtlichen Barriereproben auch dafür, dass in den meisten Fällen die eigentliche Silberplasmonenresonanz nicht eindeutig eingegrenzt und bestimmt werden kann. Das in Kapitel 4.1.4 vorgestellte Verfahren konnte somit nicht angewendet werden, sodass eine quantitative Auswertung durch die optische Methode der Barriersysteme dadurch nicht möglich ist.

Einzig die Messreihe mit einer Barriere von 5 nm zeigt in einer auf das Minimum normierten Darstellung (Abbildung 4.19 rechts) eine monotone Abnahme der Intensität, die auch bei den Messreihen ohne Barrierschicht beobachtet werden konnte. Bei allen anderen Messreihen (Abbildung 4.20 a-d) ist kein klarer zeitabhängiger Verlauf beobachtbar; einige Messungen zeigen zwischenzeitlich unregelmäßig höhere Intensitäten.

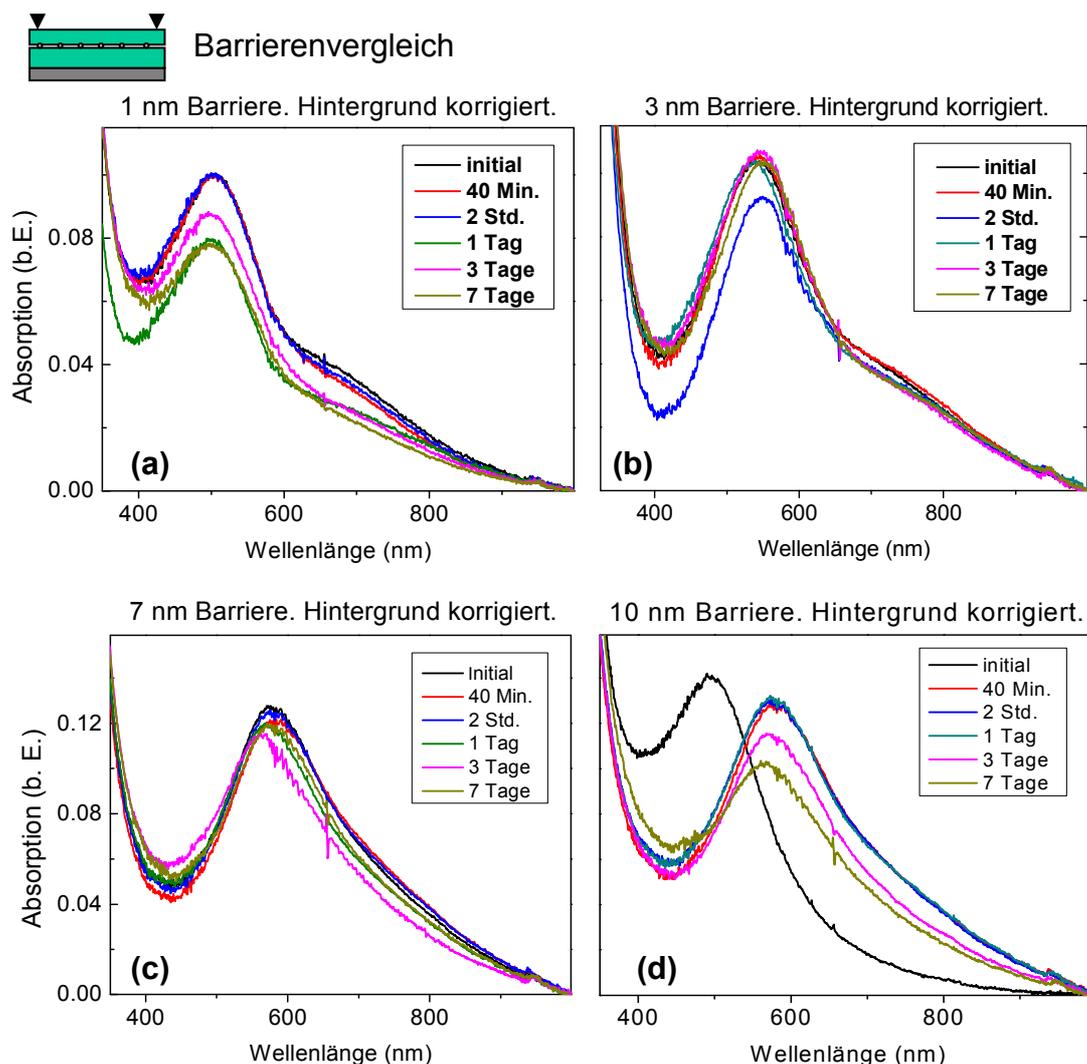


Abbildung 4.20 (a) - (d) UV-Vis-Spektren von 2D-Kompositen mit 2 nm Silber und Barrieren von je 1 - 10 nm. Die Veränderung durch das Wässern mit der Zeit ist dargestellt.

Ergebnis der direkten Konzentrationsbestimmung

Zum Vergleich zeigt die direkte Konzentrationsbestimmung des gelösten Silbers in Abbildung 4.21 einen klaren dämpfenden Zusammenhang von Barriere­dicke zu Silberfreisetzung.

Es zeigt sich deutlich, dass die optische Methode bei diesem Probensystem kein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der Silberfreisetzung ist.

Bei der Betrachtung der Silberfreisetzung ist auffällig, dass die Dämpfung bei sehr geringen Barriere­dicken sehr groß ist und sich hin zu 10 nm kaum ändert. Dieses Verhalten weist darauf hin, dass nicht nur der längere Weg der Ionen durch die Barrierschicht die Freisetzung beeinflusst. Bei dünnen Barrieren wurde zuvor die optische Kopplung diskutiert, die durch die Oberflächenladungen der Cluster und der Titandioxidschale entsteht (3.2.7.ii). Dieses offenbar einen stabilisierenden Effekt auf die Silberionen in den Clustern und dämpft so die Freisetzung. Bei dickeren Barrieren nimmt dieser Effekt zwar ab, wird dann aber durch die Barriere selbst wieder aufgefangen, sodass eine etwa gleich bleibende Freisetzung beobachtet werden kann.

ICP-MS: 2D-Komposit, Barriereauswirkungen

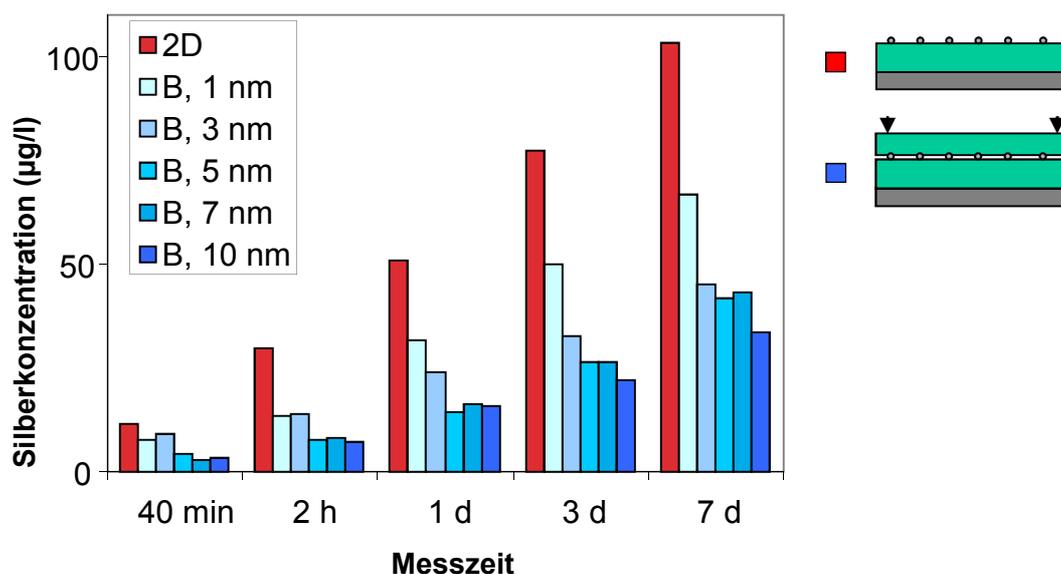


Abbildung 4.21 UV-Vis-Spektrum eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber im Vergleich zu entsprechenden Kompositen mit Barrierschichten. Die Darstellung zeigt die Veränderung der normierten Fläche des Silberplasmons über die Zeit während der Wässerung.

4.2.4 Fazit

i) Korrelation zwischen Plasmon und Silbermenge

Durch die Messung der optischen Charakteristik sollte eine einfache und schnelle indirekte Methode geprüft werden, um die Veränderung der Silbermenge im 2D-Komposit verfolgen zu können. Das Ziel war durch geeignete Vergleichsproben eine Verknüpfung zwischen Silberplasmonenresonanz zu Silbermenge und Morphologie herzustellen.

In den 2D-Komposit-Messreihen zeigt insbesondere die starke Beeinflussung der Plasmonenresonanz durch Barrierschichten jedoch, dass diese Methode für diesen Zweck ungeeignet ist, da sehr kleine Modifikationen große Änderungen hervorrufen. Dabei sind mehrere Effekte besonders zu nennen:

- Die zuvor diskutierte Entstehung des Schulterpeaks bei geringen Barriedicken führt zu starken Veränderungen des Absorptionsverhaltens.
- Die Silberfreisetzung, selbst durch geringe Barrieren, wird so stark gehemmt, dass Schwankungen der Einzelmessungen den eigentlichen Effekt überlagern.
- Da nach der Messung die Probe wieder gewässert wird, kann ein Messpunkt nicht erneut gemessen werden.

Durch diese Schwierigkeiten und die sehr guten Ergebnisse der direkten Messung des freigesetzten Silbers wurde für die weiteren Untersuchungen auf die optische Methode verzichtet und die ICP-MS Methode beibehalten.

ii) Störung durch Konzentrationsentfernung

Die 'Volltausch'-Methode zur Entnahme des Wassers zeigt einen deutlichen Einfluss. Die 2D-Kompoiste aus Tabelle 4.2, die eine Woche durchgängig gewässert waren, zeigen eine auf 1 ml normierte Silber-Gesamtfreisetzung von etwa 45 µg/l. Zum Vergleich liegt die Silber-Gesamtfreigabe des 2D-Komposits, das nach 40 min, 2 h, 1 d, 3 d und 7 d schrittweise gemessen wurde, bei etwa 54 µg/l (entsprechend umgerechnet auf 1 ml). Aus beiden Effekten kann das Modell des Silberrückflusses motiviert werden.

Die Annahme ist, dass neben der kontinuierlichen Silberfreigabe der Effekt existiert, dass sich gelöstes Silber wieder an die Oberfläche anlagert und so ein stetiger Austausch zwischen Oberfläche und Lösung besteht. So würde ein zwischenzeitlicher Austausch der Lösung mit reinem Wasser eine Störung dieses Effektes bedeuten. Im Vergleich zu einem ungestörten System würde dies nach einiger Zeit zu einer Erhöhung der gesamt nachweisbaren Konzentration führen, da zeitweise kein Rückfluss von Silber aus der Lösung zur Oberfläche stattfindet.

Da diese Erhöhung, wie zuvor beschrieben, nachweisbar ist, sind zwei Ansätze zur Erklärung dieses Effekts denkbar.

Ostwald-Reifung

Auf den TEM-Aufnahmen ist ein Anwachsen der großen Cluster mit der Zeit deutlich erkennbar. Dieses Anwachsen der Cluster ist in den UV-Vis-Spektren der 2D-Proben durch eine Blauverschiebung zu erkennen. Da der Silberverlust zu einer kontinuierlichen Abnahme der Clusterzahl und -größe führt, ist die Blauverschiebung nur temporär zu beobachten.

Dieses Anwachsen der großen Cluster auf Kosten der kleinen ist als Ostwald-Reifung bekannt und kann als Ursache für den Silberrückfluss herangezogen werden. Durch die vorliegenden Daten kann jedoch nicht geklärt werden, wie groß dieser Effekt ist.

Konzentrationsgradient

Während der Freisetzung bildet sich ein Konzentrationsgradient über der Oberfläche der Probe, da die Probe während der Messzeit nicht bewegt wird. Falls die Konzentration nahe der Oberfläche eine bestimmte Konzentration überschreitet, würde dies zur Aggregation von Silberionen und ihrer Anlagerung an die Oberfläche führen [Stebounova2011] (vgl. Kapitel 1.4.5).

Um den Einfluss eines Konzentrationsgradienten zu erfassen, müssen Folgeexperimente durchgeführt werden, bei denen Proben während der Freisetzung durchgängig gerührt werden.

iii) Wassermenge

Da die Wassermenge für die Silberfreisetzung nur eine untergeordnete Rolle spielt, wie aus dem Wassermengentest (Tabelle 4.2) ersichtlich wird, wird für die weiteren Untersuchungen die Flüssigkeitsmenge von 2 ml auf 10 ml erhöht.

Zum einen wird die Handhabung der Proben im Messbetrieb deutlich erleichtert, und zum anderen ist dadurch genügend Lösung vorhanden, um Messungen zu wiederholen.

4.3 Ergebnisse und Diskussion

Es wurden 3D-Komposite mit unterschiedlichen Silberanteilen co-gesputtert. Standardmäßig betragen die Schichtdicken 100 nm. Die Wässerung und Charakterisierung erfolgte nach der in Abschnitt 4.1.3 beschriebenen Routine.

Alle hier folgenden Ergebnisse wurden in der 'Halbtausch'-Methode durchgeführt. Die angegebenen Silberkonzentrationen sind bereits korrigiert und entsprechen der Gesamtkonzentration im Medium.

4.3.1 Variation des Silberanteils

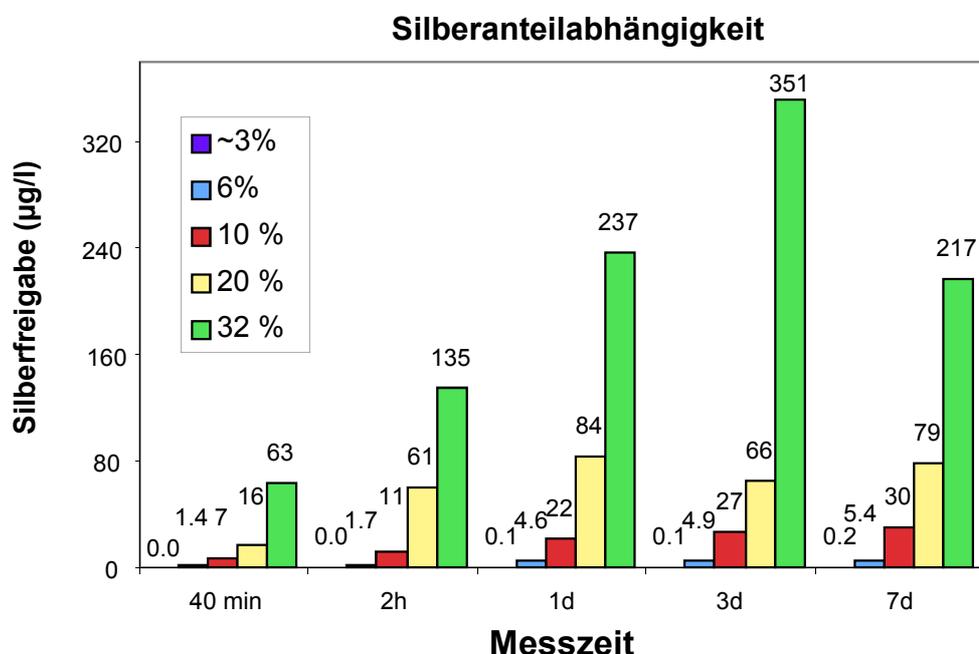


Abbildung 4.22 ICP-MS: Silberfreisetzung von Ag/TiO₂ 3D-Kompositen mit unterschiedlichem Silbergehalt bei gleicher Schichtdicke von 100 nm.

Abbildung 4.22 zeigt die Silberfreisetzung verschiedener 3D-Komposite mit unterschiedlichem Silberanteil. Eine überproportionale Abhängigkeit des Silberanteils zur Freisetzung ist beobachtbar, wobei bei einem Anteil von 3 % die Freisetzung kaum nachweisbar ist.

Ein Silberanteil von unter 6 % ist mit den für diese Arbeit vorhandenen technischen Mitteln nur sehr schwierig zu charakterisieren. Die Bestimmung des Silberanteils erfolgte bei der Probe mit 3 % deshalb über die Auswertung der Abscheideraten. Aus diesem Grund ist dieser Silberanteil mit einer Unsicherheit angegeben worden.

i) Silberfreisetzung gegen Silberanteil

Für die Bestimmung der Abhängigkeit der Silberfreisetzung vom Silberanteil wurde in Abbildung 4.23 die gemessene Konzentration im Medium gegen den Silberanteil dargestellt. Ein Datensatz in der Grafik beschreibt den Zusammenhang bei einem bestimmten Zeitpunkt.

Es ist zu erkennen, dass nach einem Tag ein quadratischer Zusammenhang zwischen Silberanteil und Freisetzung nachweisbar ist. Bei den anderen Zeitpunkten, die exemplarisch für 40 Minuten und 7 Tage gezeigt sind, ist kein eindeutiges Verhalten erkennbar.

Diese Veränderung kann durch das Auftauchen von weiteren Effekten erklärt werden, die das generelle Verhalten der Freisetzung überlagern. Dabei sind hauptsächlich Wechselwirkungen von gelöstem Silber und der Oberfläche zu nennen, bei dem sich gelöstes Silber wieder an die Oberfläche anlagert, oder auch Ostwald-Reifungsprozesse, bei dem Silber nicht in Lösung geht, sondern sich an Oberflächencluster anlagert.

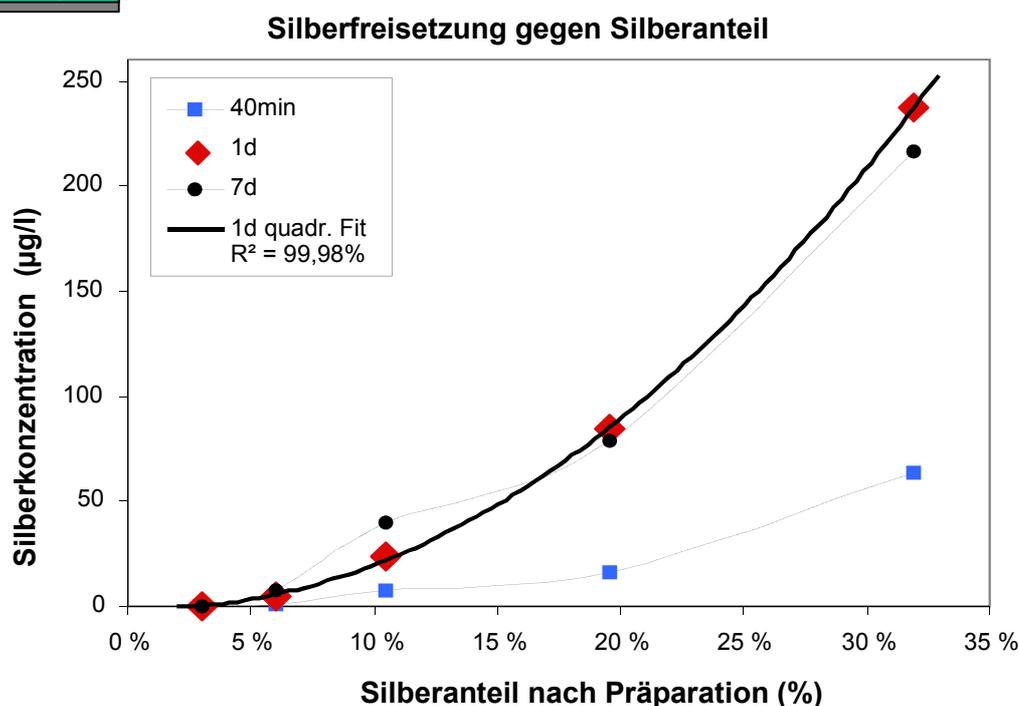
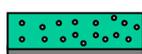


Abbildung 4.23 Gemessene Silberkonzentration in Wasser für verschiedene Ag/TiO₂ 3D-Komposite. Alle Proben haben die gleiche Schichtdicke. Dargestellte Messzeiten: 40 min, 1 d und 7 d. Nach einem Tag ist ein quadratischer Zusammenhang zu erkennen.

Für das vorliegende System gibt es bislang noch keine in der Literatur beschriebenen Modelle. Z.B. kann der Vergleich zu Kompositen mit einer Polymermatrix nicht herangezogen werden, da hier die Freisetzungsmechanismen anders sind (vgl. Kapitel 1.4.3.ii)).

Die Größenverteilung der Cluster abhängig vom Silberanteil (Abbildung 3.1) zeigt, dass mit größer werdendem Silberanteil auch die Clustergröße zunimmt. Da kleine Cluster vergleichsweise nicht so stabil sind wie große Cluster [Cao2004], wäre zu erwarten, dass Komposite mit niedrigerem Silberanteil eine vergleichsweise höhere Freisetzung aufweisen. Somit ist das vorliegende Ergebnis überraschend.

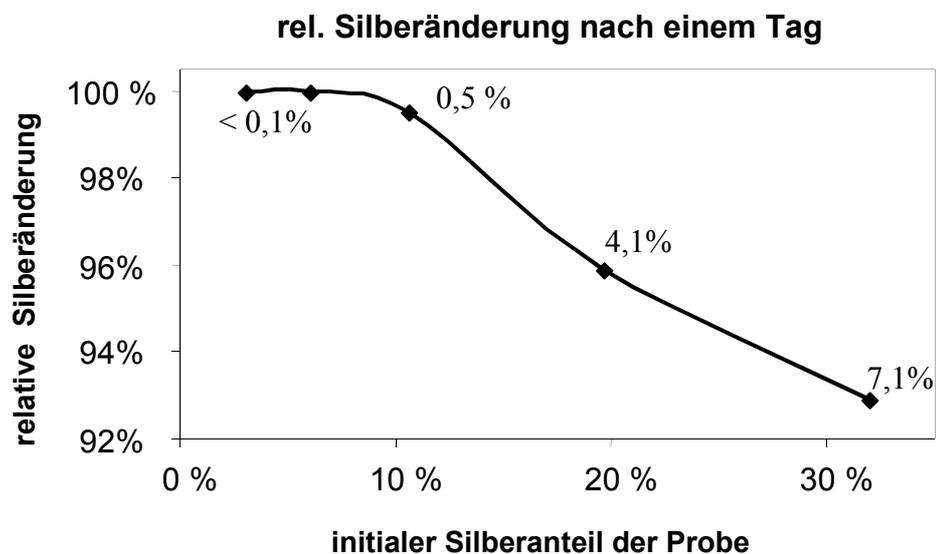
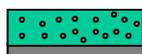


Abbildung 4.24 Relative Änderung des Gesamtsilbers in Kompositen mit unterschiedlichem Silberanteil nach einem Tag Wässerung. Vergleich Abbildung 4.23.

Abbildung 4.24 zeigt die relative Änderung des Silbers in den jeweiligen Kompositen. Während innerhalb des ersten Tages das 32 %-ige Komposite bereits 7 % seines Silbers freigesetzt hat, sind es bei dem 10 %-igen Komposite nur 0,5 %. Für Komposite um und unter 3% Silberanteil sind keine Silberverluste außerhalb der Fehlertoleranz zu messen.

Das deutet darauf hin, dass, obwohl kleinere Cluster durch ihre verhältnismäßig größere Oberfläche an der Probenoberfläche zwar schneller aufgelöst werden, es aber dennoch eine Mischbarkeit der Cluster in der Matrix gibt, die enthaltenes Silber bis zu einem bestimmten Prozentsatz stabil hält. Hierdurch können sich keine Silberionen vom Cluster trennen. Bei größeren Clustern dreht sich dieser Effekt um. Für eine weitere Interpretation der beteiligten Effekte sind weitere Untersuchungen nötig.

4.3.2 Barriersysteme

i) Beobachtung

Um einen möglichst großen Einfluss der Barrierschichten auf die Silberfreisetzung messen zu können, wurden für die Untersuchungen Komposite mit einem hohen Silberanteil gewählt.

Bei einer aufgetragenen Barrierschicht ist eine Verminderung der Silberfreisetzung zu erwarten, wie sie eindeutig in Abbildung 4.25 zu erkennen ist. Hier ist ein Komposit mit 20 % Silberanteil dargestellt, das mit einer 30 nm dicken ex situ Barriere beschichtet wurde. Durch Messschwierigkeiten konnte der Messwert für 40 Minuten nicht ermittelt werden. Auffällig ist, dass die Konzentration des gelösten Silbers nicht mit der Zeit zunimmt, sondern variiert.

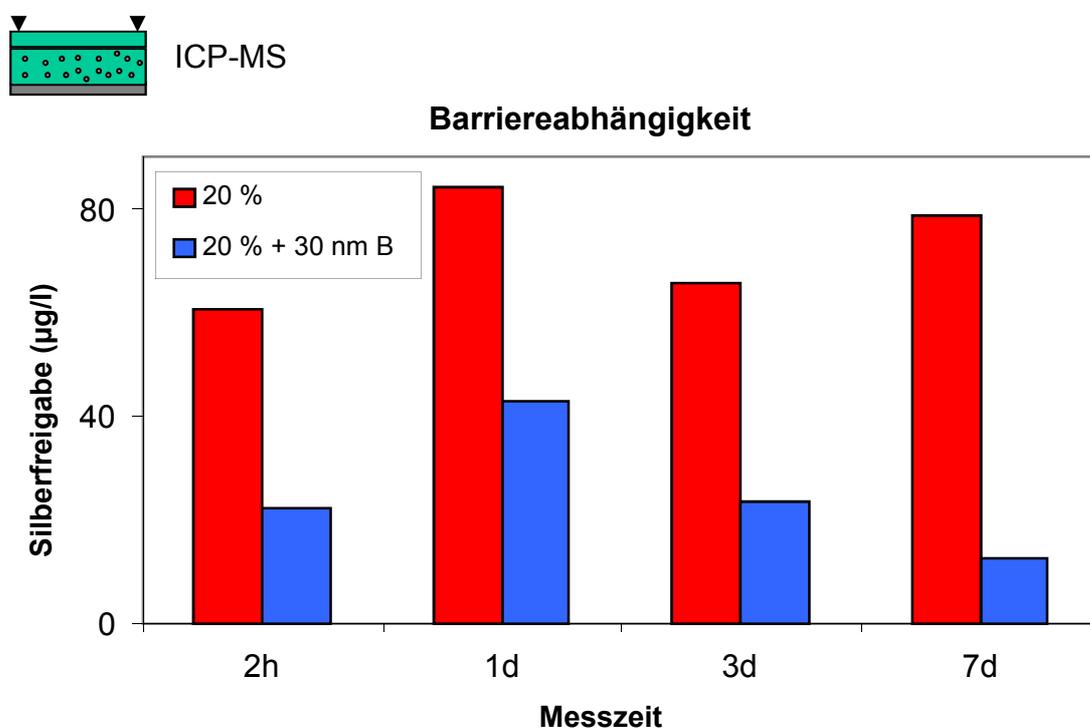


Abbildung 4.25 ICP-MS: Silberfreisetzung eines Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 20 % Silberanteil mit und ohne Barriere (30 nm).

Abbildung 4.26 zeigt den Einfluss verschiedener Barriersysteme auf ein Komposit mit 30 % Silberanteil. Die ex situ Barriere zeigt wie zuvor eine Verminderung der Freisetzung. Dagegen kann für die in situ Barriere und die Mischbarriere (10 nm in situ, danach 20 nm ex situ) sogar eine Erhöhung der Silberfreisetzung zu einigen Messpunkten nachgewiesen werden. Auch hier ist eine variierende Konzentration mit der Zeit beobachtbar.

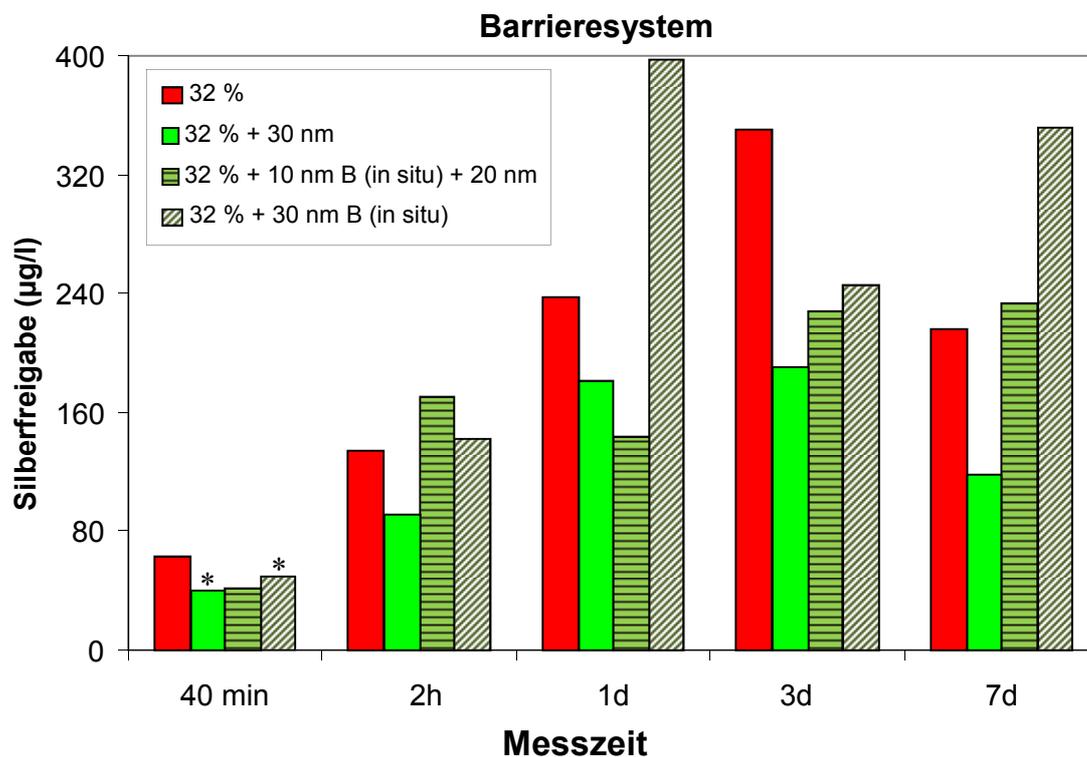
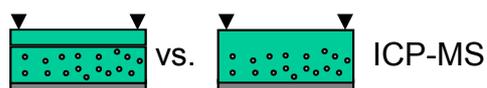


Abbildung 4.26 ICP-MS: Einfluss verschiedener Barrieresysteme auf die Silberfreigabe. Gemessen an Ag/TiO₂ 3D-Kompositen mit 32 % Silberanteil. Verglichen werden eine ex situ Barriere, ein Mischsystem und eine in situ Barriere. Markierte Werte bei 40 min zeigen eine große Messunsicherheit.

ii) Barriere und Clusterauswirkungen

Eine nachträglich aufgebrachte Barriere dämpft, wie erwartet, die Silberfreisetzung, sowohl bei 3D wie auch bei 2D-Kompositen, was durch den längeren Weg der Silberionen durch die Matrix zu erklären ist.

Bei in situ Barrieresystemen ist dagegen ein stark abweichendes Verhalten zu beobachten, bei dem die Freisetzung sogar die der barrierefreien Komposite deutlich übertrifft. Dieses Phänomen wurde in der Literatur noch nicht beschrieben, weshalb hier ein Modell motiviert werden soll.

Betrachtet wird zuerst das Freisetzungsverhalten von ex situ Barriereproben.

Der Unterschied zwischen den beiden Barriere-Kompositen besteht in der unterschiedlichen Morphologie in der Grenzfläche des Komposits. Die großen Cluster in der Grenzfläche haben ein niedrigeres chemisches Potential wodurch sie stabiler als die kleineren Cluster aus dem Bulk sind. Über die Ostwald-Reifung kommt es zu einem Fluss der freien Silberionen aus dem Bulk an die größeren Cluster in der Grenzfläche.

Die Silberfreisetzung, die nach außen gemessen werden kann, ist somit die, die durch die größeren Cluster hervorgerufen wird. Da die effektive Oberfläche der größeren

Cluster geringer ist, ist damit auch die Freisetzung geringer als sie ohne die großen Cluster wäre. Die diffundierenden Silberionen aus dem Bulk werden somit zunächst von den großen Clustern abgefangen, wodurch sie selbst eine zusätzliche Barriere darstellen.

Bei den in situ Barriereproben fehlen hingegen diese Silber-Barriere der größeren Cluster, sodass die freien Silberionen direkt freigesetzt werden können. Dadurch kann eine höhere Freisetzung beobachtet werden.

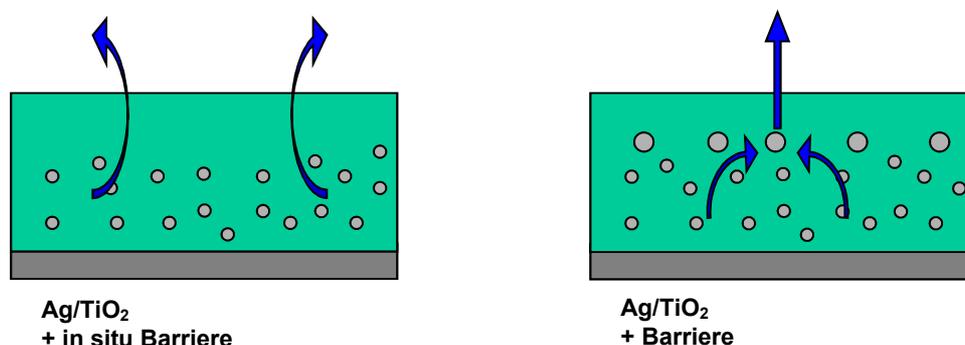


Abbildung 4.27 Unterschiedliches Freisetzungsverhalten für in situ und ex situ Barrieren. Ohne große Cluster wird das Silber direkt in das Medium abgegeben. Bei einer ex situ Barriere erfolgt ein Zwischenschritt über die großen Cluster.

Bei der Mischbarriere, bei der zuerst 10 nm in situ und danach 20 nm ex situ aufgetragen wurden, kann beobachtet werden, dass ihre Freisetzung zwischen der reinen in situ und ex situ Barriere liegt. Das deutet darauf hin, dass eine 10 nm in situ Barriere nicht ausreicht, um die bimodale Verteilung vollkommen zu unterdrücken, wodurch immer noch einige größere Cluster existieren, die als 'Silber-Barriere' die direkte Freisetzungen behindern.

iii) Ausblick: Transportprozess

Die bisherigen Experimente zeigen den Einfluss der veränderten Morphologie auf die Silberfreisetzung. Diese Ergebnisse reichen jedoch nicht aus, um zu klären, welche Prozesse in welcher Stärke am Transport beteiligt sind.

Um z. B. zu klären inwieweit ein diffusionsgesteuerter Prozess beteiligt wird, werden Proben benötigt, bei denen die Schichtdicke und der Silberanteil gleich sind, und auf die unterschiedlich dicke Barrierschichten aufgebracht werden. Bei einer folgenden Untersuchung der Silberfreisetzung ließe sich bestimmen, wie lange die Proben benötigen, um eine bestimmte Silberkonzentration im Medium zu erzeugen.

4.3.3 Heizen

Weder bestimmbare noch erneut aufgetretene technische Probleme bei einer ICP-MS Messdurchführung führten zu einem Verlust mehrerer Messreihen und Proben. Die einzigen erhaltenen zwei Probensets (Abbildung 4.28) zeigen zudem eine abweichende Silberkonzentration. Sie sind somit zwar untereinander direkt vergleichbar, jedoch nicht mit anderen Messreihen.

Abbildung 4.28 zeigt die Auswirkung des Heizens eines Komposits mit 12,5 % Silberanteil und einer Barriere (30 nm) bei einer Temperatur von 450 °C in Vakuum für 30 Minuten. Eine deutliche Verminderung der Silberfreisetzung durch das Heizen ist erkennbar.

Die Verminderung der Freisetzung durch das Heizen kann direkt durch die damit verbundene Vergrößerung der Cluster erklärt werden. Dabei verringert sich bei gleich bleibendem Volumen die Gesamtoberfläche der Cluster.

Für eine quantitative Auswertung der Cluster werden weitere Messungen benötigt.



ICP-MS

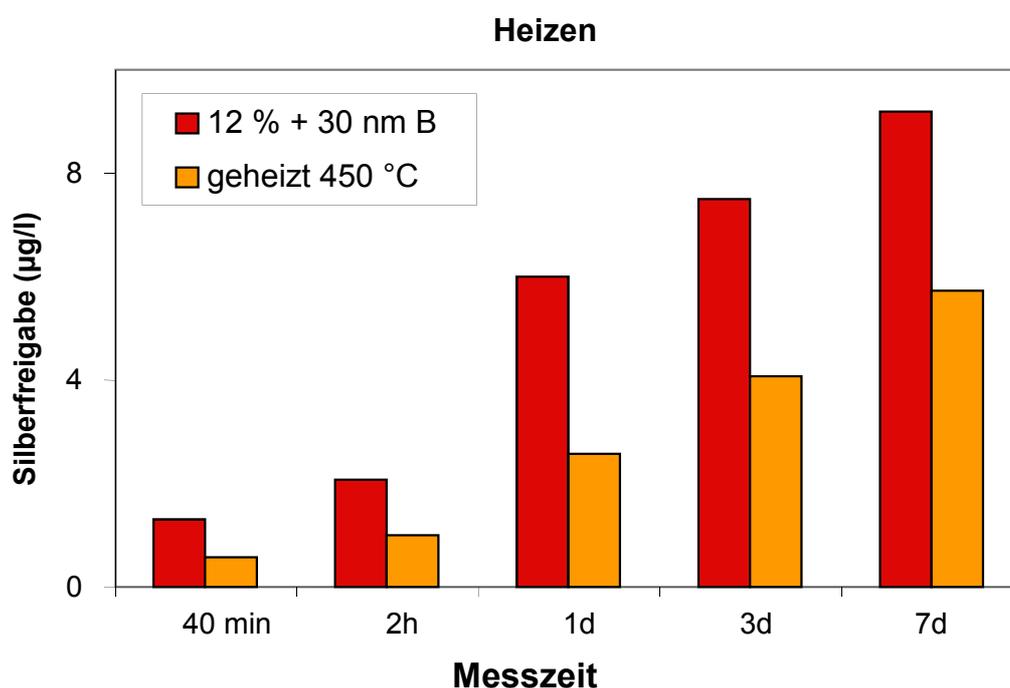
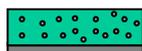


Abbildung 4.28 ICP-MS: Veränderung der Silberfreisetzung eines Ag/TiO₂ 3D-Komposits mit 12 % Silberanteil. Durch einen technischen Fehler sind die ermittelten Werte zwar untereinander jedoch nicht mit anderen Messreihen vergleichbar.

4.3.4 Schichtdickenabhängigkeit

Für die Untersuchung des Einflusses der Schichtdicke auf die Silberfreisetzung ist in Abbildung 4.29 ein 3D-Komposit mit 10 % Silberanteil dargestellt. Die Schichtdicke wurde mit 100 nm, 200 nm und 400 nm gewählt.

Es ist zu erkennen, dass nach 40 Minuten die Menge des gelösten Silbers etwa gleich ist. Bereits nach zwei Stunden bildet sich die Tendenz heraus, dass die Freisetzung bei dickeren Schichten höher ist. Für spätere Messzeiten ist dieses Verhalten eindeutig zu sehen.



ICP-MS

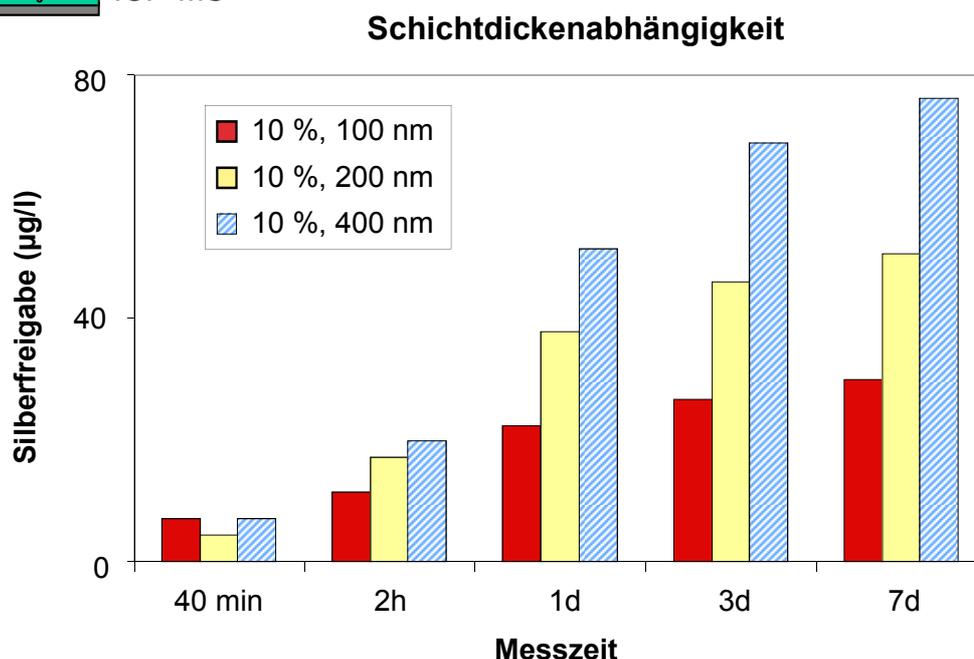


Abbildung 4.29 ICP-MS: Einfluss der Schichtdicke auf die Silberfreisetzung gezeigt bei einem Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 10 % Silberanteil. Verwendete Schichtdicken waren, 100 nm, 200 nm und 400 nm.

Es ist anzunehmen, dass in der frühen Phase der Freisetzung bei der Messzeit von 40 Minuten nur Oberflächensilber beteiligt ist, weshalb alle Proben etwa gleich reagieren. Nach 2 Stunden ist dann bereits Silber aus tieferen Schichten der Probe ab 100 nm an der Freisetzung beteiligt. Das zeigt, dass die Matrix für Silberionen deutlich durchlässig ist und die treibende Kraft auf die Silberionen auch bei 400 nm die gesamte Probe erfasst (vgl. Kapitel 1.4).

Um ein Modell zu motivieren sind Messungen an noch dickeren Schichten von Nöten, bei der die Silberfreisetzung abhängig von der Kompositdicke eine Sättigung aufweist. So ließen sich Aussagen über die Diffusionslängen des Silbers abschätzen.

4.3.5 Substrat

In zukünftigen Arbeiten sollen metallische Substrate mit den hier vorgestellten Kompositen beschichten werden.

Als Vorversuch dafür wurden Glassubstrate mit einer geschlossenen Nickelschicht (20 nm) besputtert, um den Einfluss auf ihr Freisetzungverhalten zu untersuchen. Abbildung 4.30 zeigt ein 3D-Komposit mit einem Silberanteil von 10,5 % mit (violett) und ohne (rot) Nickelbeschichtung.

Es ist eine stark gehemmte Silberfreisetzung messbar, die dazu führt, dass erst nach einer Woche Wässerung die nickelbeschichtete Probe eine Konzentration erreicht, die vergleichbare Proben ohne Nickel bereits nach 40 Minuten aufweisen. Auffällig ist auch eine erhebliche Nickelabgabe (Abbildung 4.31). Die Freisetzung des Nickels geht wahrscheinlich eher auf den Austritt aus den Seiten der Probe zurück als auf eine direkte Diffusion durch das Komposit.

Die Zersetzung des Nickels wird durch das unterschiedliche galvanische Potenzial des Silbers hervorgerufen. Bei der entstehenden Spannung werden Nickelionen abgegeben und die Silbercluster auf der anderen Seite stabilisiert. Die genaue Untersuchung dieses Effekts ist Bestand zukünftiger Arbeiten.

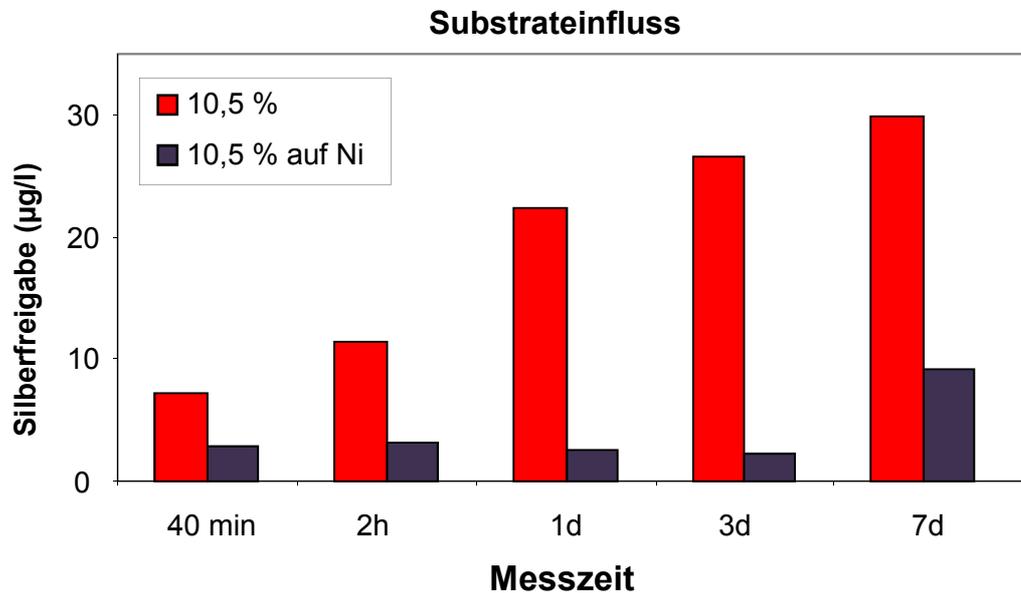


Abbildung 4.30 ICP-MS: Einfluss eines leitfähigen Substrats auf die Silberfreigabe. Gemessen an einem Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 10,5 % Silberanteil auf einer 20 nm dicken Nickelschicht.

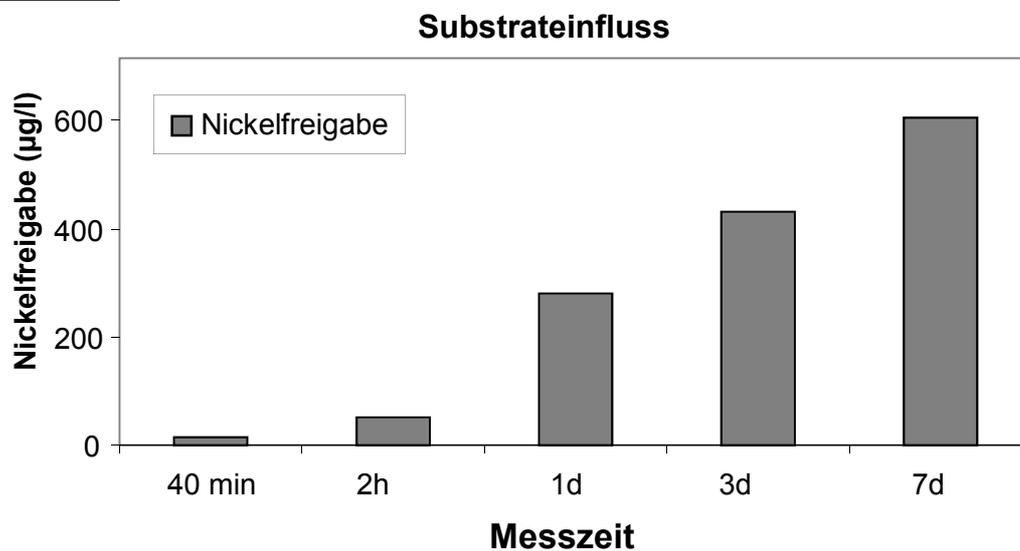


Abbildung 4.31 ICP-MS: Nickelabgabe eines Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 10,5 % Silberanteil auf einer 20 nm dicken Nickelschicht.

4.4 Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Silberfreisetzung direkt auf die Oberfläche des Komposits und damit auch auf die optischen Eigenschaften auswirkt. Somit ist eine indirekte Messung der Silberfreisetzung durch die Messung der optischen Charakteristik für dieses System der Ag/TiO₂-Komposite nicht möglich.

Als Mechanismen der Oberflächenänderung kann zum einen die Ostwald-Reifung genannt werden, durch die sich die Größenverteilung der Cluster an der Oberfläche verändert, und zum anderen der Rückfluss von Silber auf die Oberfläche.

Der Effekt des Silberrückflusses an die Oberfläche konnte allgemein bei den Freisetzungsforschungen beobachtet werden und war bei den Proben besonders deutlich, die eine vergleichbar hohe Freisetzungsrates aufwiesen. Es konnte beobachtet werden, dass dieser Effekt die eigentliche Silberfreisetzung überlagert, sodass die Untersuchung der Konzentrationsveränderung mit der Zeit häufig Schwankungen aufwies.

So konnte eine quadratische Abhängigkeit des Silberanteils bei Silberfreisetzung nur bei der Messung für einen Tag gezeigt werden. Auffällig ist, dass es eine Schwelle beim Silberanteil gibt, unter der keine Freisetzung mehr zustande kommt. Im Rahmen der durchgeführten Messungen liegt die Grenze bei etwa 3 % Silberanteil.

Dieses Ergebnis ist überraschend, da eigentlich davon ausgegangen werden kann, dass kleinere Cluster durch ihr chemisches Potential instabiler sind und sich deshalb schneller auflösen sollten.

Die aussichtsreichste Methode zur Variation der Silberfreisetzung liegt in der Barriereauftragung. Bei dieser Methode kann durch gezielte Abscheidung von in situ Barrieren die Morphologie der Komposite in der Grenzfläche verändert werden, was starke Änderungen der Silberfreisetzung hervorruft. Dabei ist entscheidend, dass nicht etwa das Mehr an Matrixmaterial die Freisetzung dämpft, sondern größere Silbercluster in der Grenzschicht selbst als Barriere fungieren. Diese Silberbarriere wirkt durch ihr verändertes chemisches Potential somit entscheidend auf die Freisetzung ein.

Weitere Untersuchungen durch die Variation der Schichtdicke zeigen, dass bereits nach einem Tag der Wässerung dickere Schichten eine stärkere Silberfreisetzung aufwiesen, was darauf hindeutet, dass auch Silbercluster, die in 400 nm Tiefe der Schicht liegen, sehr schnell an der Freisetzung beteiligt sind. Dieses Ergebnis war sehr überraschend, weshalb weitere Untersuchungen von dickeren Schichten ab 500 nm untersucht werden müssen, um ein hinreichendes Modell entwickeln zu können.

Untersuchungen zur Manipulation des Substrats zeigen, dass die Silberfreisetzung empfindlich auf diese Veränderungen reagiert. So führte die metallische Nickelbeschichtung des Substrats zu einer starken Verminderung der Freisetzung, was für den Einsatz der Beschichtung unterschiedlicher Untergründe entscheidend werden kann. Die Verminderung der Freisetzung weist in diesem Fall auf die Zersetzung des Nickels hin.

Kapitel 5 Biologische Untersuchungen

Ἐυρηκα!

- Archimedes (287 v.Chr. - 212 v.Chr.)

In diesem Kapitel werden die antimikrobiellen Eigenschaften der Komposite getestet. Dabei steht im Vordergrund, bislang bekannte und etablierte Methoden anzuwenden und sie für eine standardisierte, interdisziplinäre Vorgehensweise weiterzuentwickeln. Damit sollen allgemeinere und damit genauere Aussagen über die Wirksamkeit der Komposite erzielt werden. Insbesondere soll ein 'Therapeutisches Fenster' bestimmt werden, in dessen Grenzen die Komposite unter bestimmten Rahmenbedingungen antimikrobiell wirken, ohne zytotoxisch (zellschädigend) zu werden.

Für diesen Zweck werden die antimikrobiellen und zytotoxischen Methoden gegenübergestellt und entsprechend angepasst oder auch ausgeschlossen. Als Referenzsystem wird Silbernitrat verwendet, um so später auch die Wirksamkeit der Nanokomposite besser einordnen zu können. Abschließend werden Unterschiede zwischen Bakterien und Zellen und die Einsetzbarkeit der Komposite diskutiert.

5.1 Experimentelles

Die biologischen Untersuchungen wurden extern am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein in Zusammenarbeit mit Prof. Rainer Podschun vom Institut für Infektionsmedizin und Dr. Claudia Röhl vom Institut für Toxikologie, Pharmakologie für Naturwissenschaftler durchgeführt. Die angewendeten Methoden seien hier kurz vorgestellt.

Dabei teilen sich die Untersuchungen in zwei Blöcke auf, die unterschiedliche Vorgehensweisen sowohl in Durchführung als auch bei Referenzmessungen benötigen:

- Antimikrobielle Aktivität: Durchgeführt am Institut für Infektionsmedizin
- Zytotoxizität (Verträglichkeit für menschliche Zellen): Institut für Toxikologie

5.1.1 Probenpräparation

i) Äußere Voraussetzungen der biologischen Untersuchungen

In Hinblick auf die mögliche Anwendung der Komposite als Beschichtung für Zahnimplantate sind bestimmte Vorgaben zu beachten.

So sind klinische Implantate meist sehr empfindlich und können z.B. nicht mit großer Hitze ausgelagert werden, sodass die Auswirkungen von Silbernanokompositen in einer amorphen Matrix verfolgt werden. Auch werden die Komposite aufgrund ihres Einsatzortes im Dunkeln ohne Bestrahlung getestet.

ii) Probengröße und Substrate

Die Schichtdicken betragen passend zu den vorherigen Tests 100 nm. Bei allen hier untersuchten Proben handelt es sich um 3D-Komposite. Die Methoden haben unterschiedliche Anforderungen an Substratgröße und Form.

Für die Untersuchung der mikrobiellen Biofilmbildung werden Substrate aus Polyoxymethylen (POM) verwendet, die eine Oberfläche von etwa 2 cm² aufweisen. Sie wurden so gefertigt, dass sie senkrecht in handelsübliche 24-Well-Platten gestellt werden können. Dabei handelt es sich um medizinische Standardprobenplatten, auf denen 24 zylindrische Gefäße aufgebracht sind mit einer Grundfläche von etwa 2 cm² und einer Höhe von 1,5 cm.

Für die zytotoxischen Untersuchungen werden alle Versuche auf transparenten, runden Glasplättchen mit einer Oberfläche von 2 cm² durchgeführt. Sie sind so ausgelegt, dass sie den Boden eines Gefäßes einer 24-Well-Platte ausfüllen, in der die Zelltests durchgeführt werden.

iii) Nährmedium

Die unterschiedlichen biologischen Tests benötigen unterschiedliche angepasste Nährmedien, die ein bestmögliches Milieu für die verschiedenen Zellen gewährleistet. Es wurden folgende Nährlösungen verwendet, bei selbst hergestellten Medien ist die Rezeptur angegeben:

Müller-Hinton-Bouillon

Verwendet für die Fluoreszenz-Mikroskopie.

Enthält auf einem Liter destillierten Wasser:

Pankreatisch abgebautes Casein 17,0 g, peptisch abgebautes Sojabohnenmehl 3,0 g, Glucose 2,5 g, Natriumchlorid 5,0 g, Dikaliumhydrogenphosphat 2,5 g.

[CLSI2006]

PBS/10 % Nährmedium (Phosphate Buffered Saline)

Verwendet bei Verdünnungsreihen für MHK- und MBK-Untersuchungen.

Enthält auf einem Liter destillierten Wasser:

8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄ • 2 H₂O, 0,24 g KH₂PO₄

[CLSI2006]

Quantum333 Zellkultur Medium

Verwendet für Tests an Fibroblasten.

Hersteller, PAA Laboratories GmbH.

iv) Oberflächencharakterisierung

Neben dem absoluten Silberanteil des Komposits, ist auch die Menge des Silbers direkt an der Oberfläche von großer Bedeutung, da hier die Zellen in direkten Kontakt mit Silberclustern kommen.

Für die Untersuchung werden sowohl die freigesetzten Silbermengen in Lösung als auch die zeitliche Veränderung des Oberflächensilbers während der Wässerung betrachtet. Für diesen Zweck wird die oberflächensensitive XPS-Messmethode angewendet (vgl. Kapitel 2.2.6).

Für die Oberflächenuntersuchung wurden die Komposite auf 5 x 5 mm² großen Siliziumsubstraten abgeschieden.

5.1.2 Antibakterielle Untersuchungen

i) Verwendete Stämme

Für die Voruntersuchungen und Referenzmessungen wurden verschiedene Mikroben verwendet. So kann die Auswirkung von Silber an mehreren Systemen überprüft und ausgeschlossen werden, dass die später gemessenen Effekte nur zufällig bei einem bestimmten Stamm auftreten.

Bakterien lassen sich entsprechend ihres Zellwandtypus in zwei große Gruppen einteilen: 'gramnegativ' und 'grampositiv'. Der Begriff stammt von einer differenziellen Färbemethode, die auf H. C. Gram (1884) zurückgeht, bei der die Stämme unterschiedlich auf einen Färbeprozess reagieren.

Entscheidend ist, dass sich grampositive und gramnegative Bakterienstämme durch unterschiedliche Transportprozesse durch ihre Zellwand auszeichnen und mit unterschiedlichen Antibiotika behandelt werden müssen.

Neben grampositiven und -negativen Stämmen wurde auch ein Pilzstamm getestet. 'Candida albicans' ist den Hefepilzen zugeordnet und kann bei Warmblütern, somit auch bei Menschen, häufig in Schleimhäuten nachgewiesen werden.

Auflistung der getesteten Stämme:

- | | |
|-------------------------------------|------------------------|
| • Escherichia coli SAR 18 | Bakterium: gramnegativ |
| • Escherichia coli ATCC 11775 | Bakterium: gramnegativ |
| • Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145 | Bakterium: gramnegativ |
| • Staphylococcus aureus ATCC 12600 | Bakterium: grampositiv |
| • Candida albicans ATCC 24433 | Hefepilz |

ii) Bakterielle Adhärenz und Biofilmbildung

Die antimikrobielle Aktivität auf den Probenoberflächen wurde optisch durch die Fluoreszenz-Mikroskopie gemessen. Bei dieser Methode wird mit einem Auflichtmikroskop das Wachstum eines speziellen Bakterienstamms E. coli SAR 18 verfolgt, der das grün fluoreszierende Protein 'GFP' produziert.

Um einen möglichst guten Kontrast zu gewährleisten werden POM-Substrate verwendet, die schwarz sind und keine Eigenfluoreszenz aufweisen.

Die beschichteten Proben wurden für die Messung zuerst für eine Stunde in eine mit den Bakterien versetzte Lösung (Bouillon) gelegt. Danach wurden die Proben gespült, um nicht auf der Oberfläche anhaftende Bakterien abzuwaschen. Abschließend wurden sie für bestimmte Zeitlängen in 2 ml einer Nährlösung eingebracht, um ihr Wachstum auf den verschiedenen Beschichtungen zu messen.

Mit einem Zeiss Axioskop2 Fluorescence Microscope ausgestattet mit einer Canon EOS 300D Kamera wurden Aufnahmen gemacht, auf denen die Probenoberfläche schwarz und der bakterielle Biofilm als grüne Flecken erscheinen; je mehr grüne Bereiche vorhanden sind, desto stärker ist der bakterielle Bewuchs auf der Probe.

Die optimale bakterielle Dichte für die Bouillon liegt bei 1×10^7 Bakterien/ml, da nach dem Abspülen der Proben sichergestellt sein muss, dass genügend - aber nicht zu viele - Keime auf der Probenoberfläche für ein weiteres Wachstum vorhanden sind.

iii) Referenzmessungen mittels Silbernitrat

Um die mikrobielle Aktivität der Nanokomposite einschätzen zu können, wurde als Referenzmessung eine Mikro-Verdünnungsreihe mit Silbernitrat durchgeführt. Dieses Verfahren wird standardmäßig für die Prüfung der Wirksamkeit von Antibiotika angewendet und für diese Zwecke entsprechend angepasst [CLSI2006]. Die angegebenen Stämme wurden eingesetzt und jede Testreihe dreifach durchgeführt.

Das Nährmedium für die Bakterien wurde so mit einer Silbernitrat-Stammlösung versetzt, dass schrittweise Konzentrationen von 1 – 0,0005 mg Silbernitrat pro ml Nährlösung erzeugt wurden:

1/0,5/0,25/0,125/0,0625/0,03125/0,0156/0,0078/0,0039/0,002/0,001/0,0005 mg/ml

Diese wurden dann in Mikrotiterplatten mit Bakterien vermischt (5×10^5 Bakterien/ml Endkonzentration). Die Platten wurden über Nacht im Brutschrank gelassen, um dann durch die Trübung der Lösungen die Hemmung zu bestimmen. Zur Auswertung wurden zwei Standard-Verfahren und eine neuartige Methode benutzt.

MHK

Überschreitet die Silberkonzentration in Lösung einen bestimmten Wert, so wird das Wachstum der Bakterien gehemmt und sie bleibt klar. Dieses Verfahren, bei dem kein makroskopisches Bakterienwachstum mehr erkennbar ist, wird als Minimale Hemmkonzentration (MHK) bezeichnet [CLSI2006].

MBK

Um festzustellen, wie viele Bakterien überlebt haben, werden von den Lösungen Abstriche auf Agar-Platten angefertigt. Dabei handelt es sich um konventionelle, standardisierte Nährböden, die in der Medizin und Biologie verwendet werden, auf denen Bakterien wachsen können.

Überlebende Bakterien vermehren sich und bilden erkennbare Kolonien. Diese werden ausgezählt. Die Silberkonzentration wird dann als 'Minimale Bakterizidale Konzentration' (MBK) bezeichnet, wenn verglichen zur unbehandelten Probe ≥ 99.9 % abgetötet wurden [CLSI2006].

Fluoreszenz-Mikroskopie

Neben diesen Standard-Methoden für das Verhalten der Bakterien in Lösung wurde auch die Fluoreszenz-Mikroskopie für Referenzmessungen herangezogen [Zaporojtchenko2006]. Für diesen Zweck wurden unbeschichtete POM-Substrate zuerst für eine Stunde wie zuvor beschrieben in die Bouillon gelegt und anschließend gewaschen. Jedoch wurden diese Substrate danach in eine mit unterschiedlichen Silbernitratkonzentrationen versetzte Nährlösung gegeben.

Diese angepasste Methode wurde erstmals im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt und bildet eine Kombination aus bekannten Verfahren. Dieses ist somit als Referenzsystem für Oberflächenprozesse angepasst, da im Gegensatz zu den

vorherigen Methoden die Ionenquelle ausschließlich durch die Lösung gegeben ist und somit die Auswirkungen direkt an der Oberfläche betrachtet werden können.

iv) Grenzen und Probleme der Agar-Diffusionstests

Eine häufig verwendete Methode, die antimikrobielle Aktivität von Materialien zu messen, ist der Agar-Diffusionstest [Ramstedt2009]. Bei diesem wird die Probe mit der Oberfläche nach unten auf eine Agar-Nährplatte, die mit einem Bakterienstamm versetzt wird, gelegt. Das erwünschte Resultat ist, dass in einem Radius um die Probe kein Bakterienwachstum stattfindet. Die Größe dieses Hemmhofes ist dabei ein Maß für die antimikrobielle Aktivität des Materials.

Es handelt sich um ein einfach durchzuführendes Verfahren, das sehr erfolgreich in der Antibiotika-Forschung verwendet wird, jedoch hat es für die Bewertung von Silbernanokompositen zwei entscheidende Nachteile.

Zum einen kann durch diese Methode keine zeitaufgelöste Aktivität gemessen werden, da ein bereits ausgebildeter Biofilm nicht mehr beeinflusst wird, selbst wenn spätere Silberdosen bakterizid sein sollten.

Zum anderen muss das Silber aus dem Komposit heraus und durch den Agar-Nährboden diffundieren, wodurch keine Aussage über die Oberflächenaktivität getroffen werden kann. Diffusionsschwache Proben würden trotz einer hohen oberflächenbakteriziden Aktivität im Agar-Test keinerlei Aktivität zeigen, weshalb in dieser Arbeit vollkommen auf diese ansonsten häufig anzutreffende Methode bewusst verzichtet wurde.

5.1.3 Zytotoxische Untersuchungen

i) Verwendete Zellen

'Fibroblasten' sind Zellen des menschlichen Bindegewebes. Sie stellen in Hinblick auf die Anwendungsmöglichkeit der Nanokomposite bei Zahnimplantaten [Hentrick2006] ein hervorragendes Testsystem für die humane Verträglichkeit dar. Sie werden mit einer Dichte von 10.000 Zellen pro cm² Probenoberfläche ausgesät.

ii) Probenvorbereitung

Sterilisation

Der Umgang mit Fibroblasten ist sehr komplex und erfordert unter anderem, dass alle verwendeten Proben vor dem Auftragen der Zellen sterilisiert werden. Silber Nanocluster reagieren jedoch sehr empfindlich auf äußere Einflüsse insbesondere auf Lösungsmittel, wodurch klassische Verfahren mit Alkohol, aber auch die Flammensterilisation ausgeschlossen sind.

Die Proben wurden stattdessen bei 180 °C für 4 Stunden trocken ausgelagert. Durch diese vergleichsweise geringen Temperaturen sind nur geringfügige Veränderungen im 3D-Komposit zu erwarten, die im Vergleich zu den Schwankungen in den biologischen Tests zu vernachlässigen sind, wie später in Kapitel 5.2.3 gezeigt wird.

Wachstum

Nach der Sterilisation wurden die Proben in 24-Well-Platten mit der Nährlösung Quantum 333 gelegt. Hier wurden nun die Zellen eingesät und 72 Stunden im Brutschrank gelagert.

iii) Zytotoxizität

Die Beeinträchtigung von menschlichen Zellen wurde durch verschiedene Methoden bestimmt: das Maß der getöteten Zellen (Viabilität) und die Zellmorphologie, die die Beeinträchtigung in Haftung und Zellvermehrung (Proliferation) einschließt.

Viabilität

Nach Ablauf der Testzeit von 72 Stunden befinden sich sowohl lebende als auch tote Zellen in den Well-Platten. Das 'MTT-Verfahren' wurde benutzt, um das Maß an lebenden Zellen zu messen.

Bei 'MTT' handelt es sich um den gelben Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid. Dieser wird von Zellen in blauen Farbstoff umgewandelt. Durch die Auswertung der Färbung der verschiedenen Proben, lässt sich so die Menge der lebenden Zellen bestimmen.

Hierfür wurden 25 µl MTT in jeden Wells gefüllt. Nach anderthalb Stunden wurden 100 µl des Lösungsmittels (20 % (weight/volume) SDS, 2.5 % (w/v) 1 N HCl und 2.5 % (w/v) CH₃COOH (80 %) in 50 % (w/v) DMF, pH 2) hinzugefügt und weitere zwei Stunden im Brutschrank gehalten. Mit einem Photometer (550 nm, Photometer 340 ATTC, SLT Labinstruments) wurde abschließend die Absorption gemessen.

Zellmorphologie

Die Veränderung der Zellen und ihr Wachstum wurde mit einem Lichtmikroskop betrachtet (Inverted Axiovert 35 Microscope, OPTON).

iv) Referenzmessung mittels Silbernitrat

Um die Auswirkungen der Silberfreisetzung der Nanokomposite auf die Zellen vergleichen und einordnen zu können, wurden wie auch bei den antibakteriellen Tests Referenzmessungen mit Silbernitrat durchgeführt.

Für diesen Zweck wurden Zellen in 96-Well-Platten gesät. Nach einer einstündigen Anwachsphase wurden verschiedene Dosen Silbernitrat hinzugefügt (zwischen 1 und 4 µg/ml Silbernitrat Endkonzentration). Von einer Messstufe zur nächsten wird die Konzentration jeweils halbiert (ggf. wird auf ganze Werte gerundet). Nach insgesamt 72 Stunden wurden dann die zuvor beschriebenen Tests durchgeführt.

5.1.4 Vergleichbarkeit der biologischen Tests

i) Unterschiedliche Nährmedien

Zellen und Bakterien benötigen für ein optimales Wachstum ganz bestimmte Umgebungen, die durch die jeweiligen Nährmedien begünstigt werden.

Da generelle Effekte und Mechanismen beobachtet und beschrieben werden, kann davon ausgegangen werden, dass Effekte, die in optimaler Umgebung bestimmt werden, auch auf andere Umgebungen angewendet werden können.

In einem weiteren Schritt können dann andere Bedingungen, die näher an der Applikation sind, getestet werden.

ii) Zelldichte

Die größte Unsicherheit bei den Untersuchungen besteht in der richtigen Wahl der eingebrachten Menge an Zellen. Dabei gibt es keine durch die Literatur gestützte Vorgabe, so dass eine Optimierung Ziel zukünftiger Arbeiten sein wird. Allgemein kann erst bei der konkreten Betrachtung der Anforderungen einer Applikation (z.B. ein Implantat im Mundraum) eine genaue Abschätzung der vorhandenen Bakterien sowie des menschlichen Gewebes gegeben werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Zelldichten für Fibroblasten und Bakterien so gewählt, dass eine unbeschichtete Probe in den vorgestellten Testmethoden nach der üblichen Testzeit einen gut ausgebildeten geschlossenen Biofilm zeigt.

5.1.5 Fehlerbetrachtung biologischer Tests

Verdünnungs- und Referenzreihen

Biologische Systeme sind sehr empfindlich und selbst wenn alle Parameter so gut wie möglich reproduziert werden, sind Schwankungen nicht zu vermeiden. Aus diesem Grund werden möglichst viele Proben vermessen, um diese Unsicherheiten abdecken zu können. Und selbst dann sind die angegebenen Unsicherheiten vergleichsweise groß.

Für die antibakteriellen Verdünnungsreihen wird eine Schrittweite der Messung (vgl. Kapitel 5.1.2.iii)) als Unsicherheit angenommen. Bei den zytotoxischen Messungen sind die Schwankungen jeweils aus dem statistischen Mittel angegeben.

Komposittests

Tests mit je 3 Proben, wie sie hier durchgeführt wurden, sind bei der großen Empfindlichkeit der biologischen Systeme sehr gering, üblicherweise werden 10 und mehr Proben pro Durchgang verwendet. Jedoch können nur Proben als 'gleich' angesehen werden, die in derselben Charge hergestellt wurden, was die Zahl der Proben auf die hier verwendete Zahl beschränkt.

5.2 Ergebnisse und Diskussion

5.2.1 Referenzmessungen

Die Referenzmessungen sollen die Aktivität und die Toxizität von gelöstem Silber auf die verwendeten Systeme bestimmen. Durch diese Untersuchungen ist es dann im nächsten Schritt möglich, Komposite mit passendem Freisetungsverhalten gezielt auszuwählen und ihr Verhalten zu studieren.

Silbernitrat ist seit jeher eine bekannte und übliche Quelle für gelöstes Silber [Marambio2010], das auch in der Medizin seine Anwendung findet. Aus diesem Grund wird es auch in dieser Arbeit als Referenz für die Komposite verwendet.

i) Mikrobielle Hemmung und Bakterizide durch Silbernitrat

Im ersten Schritt werden die klassischen Methoden zur mikrobiellen Aktivität auf die ausgewählten Stämme angewendet, um festzustellen, ob die durch das Silbernitrat erzielten Effekte allgemein vergleichbar sind.

MHK & MBK

Tabelle 5.1 zeigt die 'Minimale Hemm-Konzentration' (MHK) und 'Minimale Bakterizide Konzentration' (MBK). Die Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit Literaturwerten und belegen dadurch auch eine gute Reproduzierbarkeit der hier durchgeführten Versuche. Auch der Pilz, der durch seinen hohen Wert heraus sticht, ist in Übereinstimmung mit Literaturwerten [Xu2009, Jain2009] und stört nicht die Aussage, dass die bakteriellen Stämme untereinander eine gute Vergleichbarkeit zeigen.

<i>Stämme</i>	<i>MHK</i> <i>(AgNO₃ µg /ml)</i>	<i>MBK</i> <i>(AgNO₃ µg /ml)</i>
Escherichia coli SAR 18	2	2
Escherichia coli ATCC 11775	1	1
Staphylococcus aureus ATCC 12600	2	2
Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145	1	1
Candida albicans ATCC 24433	1	>1000

Tabelle 5.1 Mikrobielle Hemmung und bakterizide Aktivität von Silbernitrat auf verschiedene Stämme.

Im Folgenden kann somit E. coli SAR18 als Modell-Bakterium verwendet werden. Das ermöglicht durch seine fluoreszierenden Eigenschaften weitere, genauere Untersuchungen des Einflusses des Silbernitrats auf die Biofilmbildung. Dies liegt daran, dass ein großer Nachteil dieser Methoden darin besteht, dass nur die Aktivität in Lösung und nicht die Biofilm-Formation an der Oberfläche betrachtet wird. Durch Verwendung von E. coli Sar18 kann nun auch die Fluoreszenz-Mikroskopie verwendet werden.

Fluoreszenz-Mikroskopie mit Silbernitrat

Abbildung 5.1 zeigt die Biofilmbildung auf unbeschichteten POM-Substraten, nachdem verschiedene Mengen Silbernitrat hinzugefügt wurden. Die angegebenen Konzentrationen beschreiben die Endkonzentration des Silbernitrats, die nach einer Stunde Adhärenz hinzugefügt wurde.

In der ersten Spalte ist die Kontrolle ohne Zugabe von Silbernitrat gezeigt. Nach 24 Stunden ist ein deutlicher Bewuchs durch *E. coli* SAR18 durch eine starke grüne Färbung zu erkennen. Dieser Zeitpunkt des vollständigen Bewuchses einer unbehandelten Probe wird herangezogen, um zu entscheiden, ob Proben antibakteriell wirken oder nicht.

Da erst nach einer Stunde Silbernitrat hinzugefügt wird, ist der Bewuchs für alle Proben nach einer Stunde gleich, daher ist das Ergebnis für eine Stunde nur einmal dargestellt worden.

Verglichen mit der Kontrollprobe zeigt erst eine Zugabe von 1 µg/ml und mehr Silbernitrat die gewünschte bakterizide Aktivität nach 24 Stunden. Dieses Ergebnis steht in einem guten Zusammenhang mit der MHK und lässt auf ein vergleichbares Verhalten von adhärenierten Bakterien und Bakterien in Lösung schließen.

Der scheinbar verstärkte Bewuchs bei 0,125 µg/ml Silbernitrat zeigt eine biologische Schwankung, die nie ausgeschlossen werden kann, und nicht etwa einen umgekehrten Effekt des Silbers.

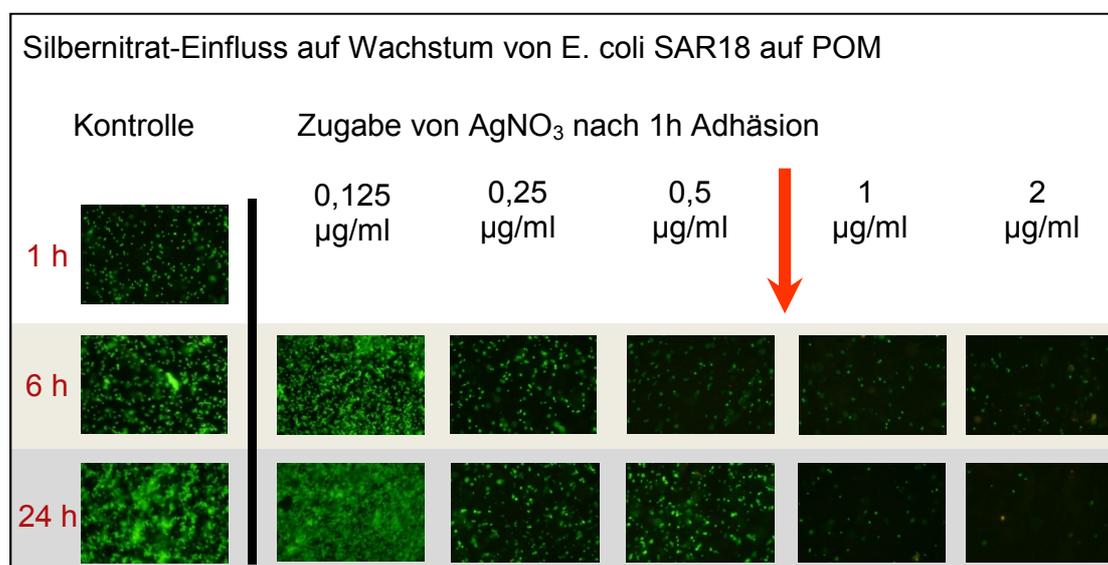


Abbildung 5.1 Alle Proben wurden zuerst für eine Stunde mit der *E. coli* SAR18 Bouillon versetzt. Danach wurden sie gespült und in die entsprechenden mit Silbernitrat angereicherten Nährmedien gelegt. Die angegebenen Konzentrationen sind Endkonzentrationen in Lösung.

ii) Zytotoxische Wirkung von Silbernitrat

Abbildung 5.2 zeigt die Auswirkung verschiedener Silberkonzentrationen auf die Überlebensfähigkeit der Fibroblasten nach 72 Stunden. Die angegebenen Silbernitratkonzentrationen sind Endkonzentrationen in Lösung und jeder dargestellte Messpunkt entspricht dem Mittelwert aus drei Proben.

Zytotoxizität

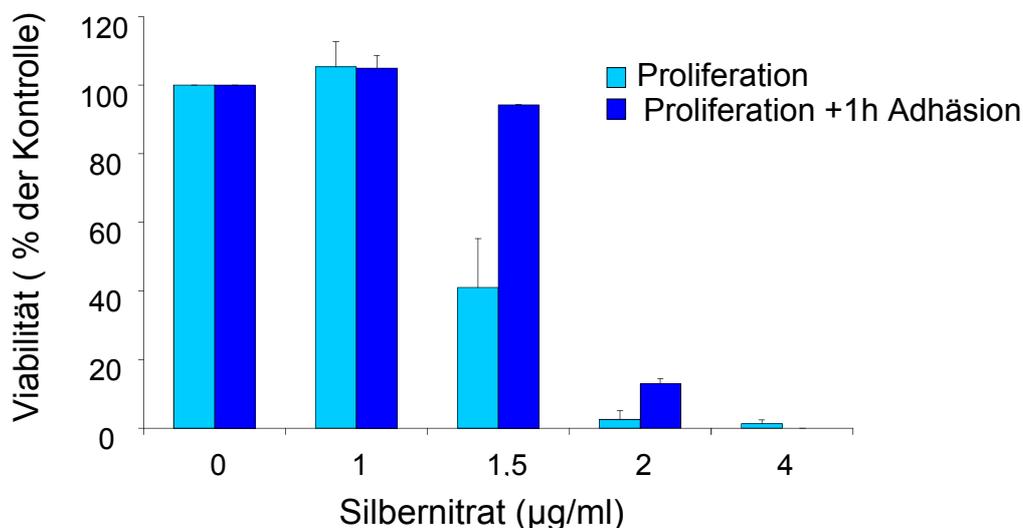


Abbildung 5.2 Effekt von Silbernitrat auf Fibroblasten, 10.000 Zellen pro cm², nach 72 Stunden. Die Zellen wurden entweder direkt in die mit Silbernitrat angereicherte Nährlösung gegeben (hell), oder zuerst in Nährlösung gegeben und nach einer Stunde Silbernitrat versetzt (dunkel). Die Überlebensfähigkeit ist relativ zu unbehandelten Proben angegeben. Jeder Messpunkt entspricht drei Proben.

Auffällig ist der Unterschied, ob die Zellen sofort Silbernitrat ausgesetzt werden, oder ob ihnen zuerst eine gewisse Zeit zum Anwachsen gegeben wird. Als toxisch wird die Konzentration angegeben, bei der eine 50 %-ige Beeinträchtigung zur Kontrollprobe nachgewiesen werden kann (EC₅₀ Wert).

Für Zellen, die sofort mit Silbernitrat versetzt wurden, lag die mittlere toxische Konzentration bei 1 µg/ml. Für Zellen, die eine Stunde adhären konnten, lag sie dagegen bei 1,5 µg/ml Silbernitrat. Um eine bessere Übereinstimmung mit den bakteriellen Untersuchungen zu bekommen, werden die Ergebnisse der adhären Proben verwendet.

Für eine Deutung des großen Unterschiedes zwischen adhären und nicht adhären Zellen werden weitere Experimente benötigt, die durch ihren großen Aufwand im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnten. Sie werden Bestandteil zukünftiger Arbeiten sein.

iii) Bestimmung der Konzentrationsgrenzen

Aus den Referenzmessungen, kann ein Konzentrationsbereich bestimmt werden, in dem das gelöste Silber antimikrobiell wirkt, ohne dabei zytotoxisch zu sein. Da dieses Verhalten ausschließlich durch gelöstes Silber und ohne das Zutun einer Oberfläche verursacht wird, wird dieser Prozess im Folgenden als 'konzentrationsgesteuert' bezeichnet.

Die untere Grenze, bei der eine ausreichende bakterizide Wirkung nachgewiesen werden konnte, lag bei 1 µg/ml Silbernitrat, die obere Grenze, ohne Beeinträchtigung der Fibroblasten, lag dagegen bei 1,5 µg/ml Silbernitrat. Silbernitrat dissoziiert zu 63,5 % zu Silberionen. Dadurch ergibt sich ein Konzentrationsbereich von

0,64 - 0,95 $\mu\text{g/ml}$ Silberionen, in dem die Konzentration antibakteriell aber nicht toxisch wirken sollte.

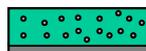
Im nächsten Schritt werden nun Nanokomposite auf ihre biologischen Eigenschaften getestet und dieses Verhalten mit diesem Bereich verglichen.

iv) Konzentrationsgesteuerter Prozess

Um ausschließlich konzentrationsgesteuert zu wirken, muss die Silberfreisetzung eines Komposits in der relevanten Zeit innerhalb der vorherig beschriebenen Grenzen gewählt werden. Das bedeutet, dass während der gesamten Zeit die Konzentration des freigesetzten Silbers unterhalb der zytotoxischen Grenze bleiben und für den Zeitraum von einem bis drei Tagen die Konzentration die untere Grenze überschreiten muss. Ein weiterer wichtiger Parameter, um das Komposit anzupassen, ist die Menge des Mediums, der das Komposit ausgesetzt wird, da die freigesetzte Menge Silber davon unabhängig ist.

Als Beispiel entspricht die Nomenklatur CCR(1 ml) dem 'konzentrationsgesteuerten Bereich' (Concentration Controlled Range) für 1 ml Medium. In Abbildung 5.3 ist der CCR für 1 ml markiert. Es wird deutlich, dass lediglich das 3D-Komposit mit 20 % die Kriterien erfüllt, während höhere Konzentrationen bereits nach zwei Stunden toxisch werden.

Wäre die bakterizide Aktivität eines Komposits ausschließlich konzentrationsgesteuert, so dürften Silberanteile unterhalb von 20 % keinerlei Effekte zeigen.

 Konzentrationsgesteuerter Bereich

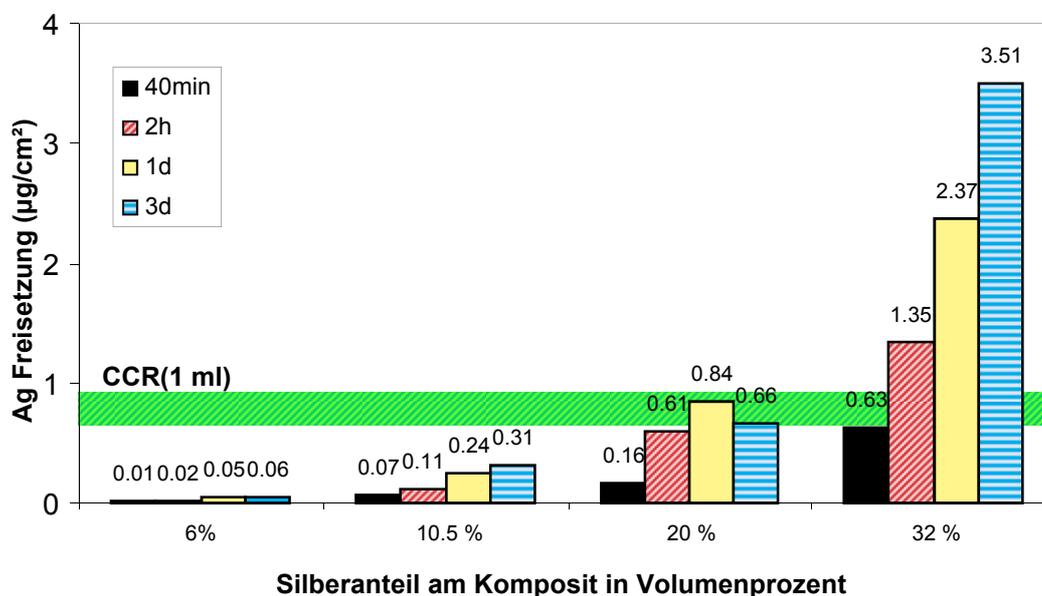


Abbildung 5.3 In der Abbildung ist die Silberfreisetzung verschiedener Proben über einen Zeitraum von 40 Minuten bis drei Tagen dargestellt. Der gefärbte horizontale Bereich stellt die zuvor ermittelten Konzentrationsgrenzen von 0,64 - 0,95 μg Silberionen in 1 ml Medium dar.

5.2.2 Kompositauswirkungen

i) Bakterizide Aktivität von Ag/TiO₂ Kompositen

Abbildung 5.4 zeigt einen Überblick über die Ergebnisse der Fluoreszenz-Mikroskopie. Für jeden Messpunkt wurden je drei Proben gemessen. Die Spalten zeigen Proben mit gleichen Parametern, die Zeilen wieder jeweils die Inkubationszeiten.

Die erste Spalte zeigt die Kontrollmessung mit unbeschichteten POM-Proben. Deutlich zu erkennen ist die Bildung des Biofilms, der sich durch eine stärkere Grünfärbung äußert. Dagegen zeigen die Kontrollproben aus der Referenzmessung, die genauso behandelt wurden, eine Schwankung in Verteilung und Aussehen, was innerhalb der Toleranz für biologische Systeme liegt und somit als gleiches Resultat zu werten ist.

Die zweite Spalte zeigt eine Probe mit reinem TiO₂. Diese und weiterführende Messungen zeigen, dass pures Titandioxid anfänglich das Wachstum hemmt, aber die Ausbildung des Biofilms nicht verhindern kann.

Im direkten Vergleich ist direkt nach der Adhärenz (1 Stunde) für einen geringen Silberanteil von 6 % eine Hemmung des Bakterienwachstums zu erkennen; und für die weiteren Inkubationszeiten ist sogar eine Abnahme der sichtbaren Keime zu beobachten. Weitere Untersuchungen zeigten auch für höhere Silberanteile das entsprechende Verhalten. Im direkten Vergleich nach 24 Stunden ist die bakterizide Oberflächenaktivität für Nanokomposite ab 6 % Silbergehalt deutlich nachgewiesen.

Dieses Ergebnis zeigt, dass für die mikrobielle Aktivität neben dem konzentrations-gesteuerten Prozess weitere Mechanismen beteiligt sein müssen.

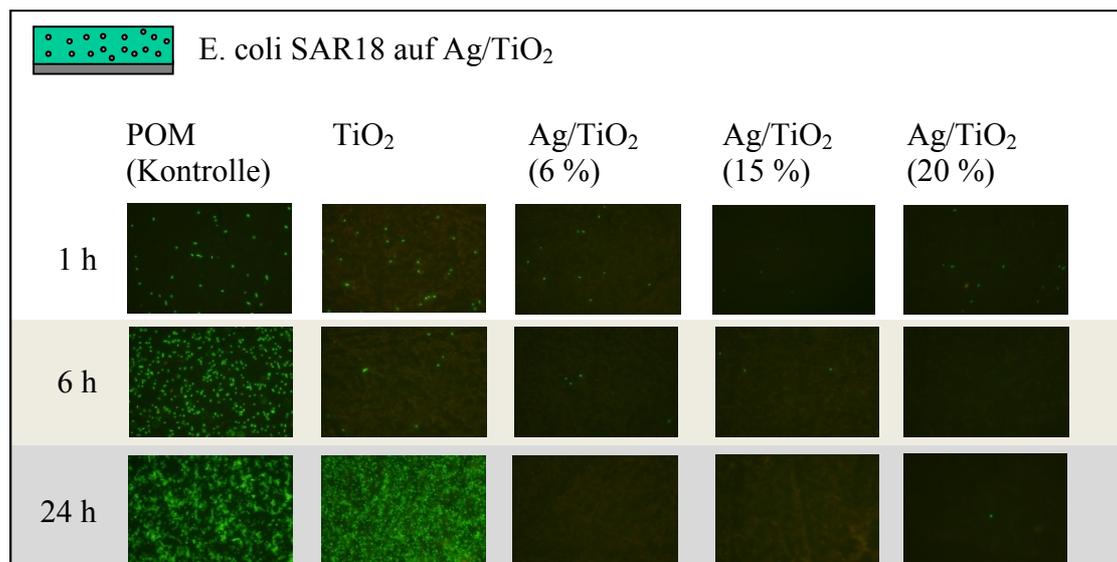
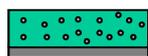


Abbildung 5.4 Fluoreszenz Messung verschiedener 3D-Komposite. Zu erkennen ist, dass bereits bei einem Silberanteil von 6% eine deutliche antimikrobielle Aktivität nachweisbar ist.

ii) Zytotoxische Untersuchung der Komposite



Mikroskopie

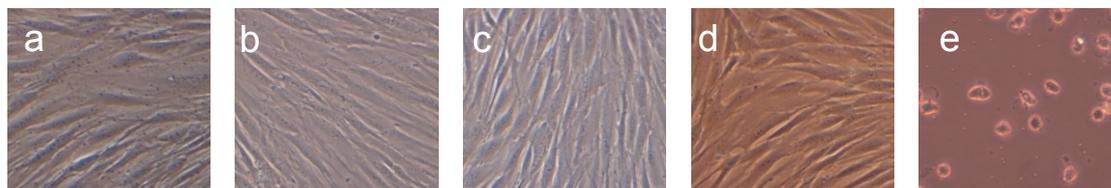


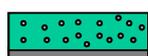
Abbildung 5.5 Effekt von Ag/TiO₂-Kompositen auf menschliche Fibroblasten, Zelldichte bei Aussaat 10.000 Zellen pro cm², im Phase Contrast Micrograph nach 72 Stunden. (a) direkt im Well, (b) auf purem Glassubstrat, (c) TiO₂-Beschichtung, (d) 20 % Ag/TiO₂, (e) 32 % Ag/TiO₂. Probe mit 32 % Silberanteil zeigt toxisches Verhalten.

In der oberen Abbildung 5.5 sind mikroskopische Aufnahmen menschlicher Fibroblasten gezeigt, nachdem sie für 72 Stunden auf verschiedenen Proben ausgesät worden sind.

Dabei zeigt 'a' Zellen, die ohne Substrat direkt in das Wells eingebracht wurden, und 'b' das Wachstum auf einem unbeschichteten Glassubstrat. Die Proben dienen als Kontrollproben. Probe 'c' zeigt eine pure Titandioxidprobe und 'd' und 'e' jeweils ein Komposit mit 20 % und 32 % Silberanteil.

Aus diesen Aufnahmen lassen sich qualitative Ergebnisse erkennen. So wachsen Zellen in größerer Zahl und somit besser auf dem Glassubstrat als auf der Well-Oberfläche. Des Weiteren zeigen die Proben 'b', 'c' und 'd' eine sehr ähnliche Zellverteilung, was darauf hinweist, dass ein Silberanteil von 20 % für die Zellen keine offensichtliche Beeinträchtigung bedeutet. Auffällig ist die deutlich reduzierte Zelldichte auf der Probe mit 32 % Silberanteil, bei der auch die Form der Zellen stark verändert ist, was eine toxische Konzentration von Silber bedeutet.

Eine quantitative Auswertung der Überlebensfähigkeit der Zellen unterstützt diese Aussage (Abbildung 5.6). Auch hier zeigen die Proben mit 32 %-igen Silberanteil eine deutliche Beeinträchtigung von mehr als 50 % und gelten somit als toxisch. Die restlichen Proben sind im Rahmen der biologischen Varianz als gleiche Resultate zu werten.



Zytotoxizität

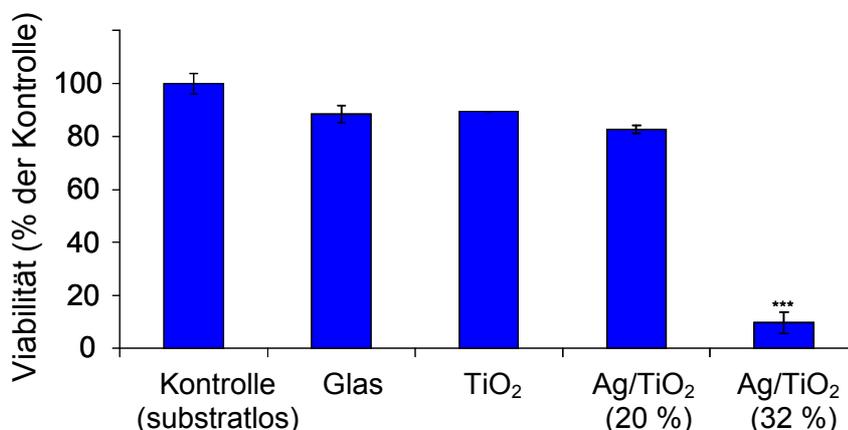


Abbildung 5.6 Effekt verschiedener Ag/TiO₂-Komposite auf menschliche Fibroblasten. Zelldichte bei Aussaat 10.000 Zellen pro cm², Messung nach 72 Stunden. Jeder Messpunkt entspricht drei Proben. Die Probe mit 32 % Silberanteil zeigt toxisches Verhalten durch eine Beeinträchtigung von mehr als 50 %.

iii) Oberflächengesteuerter Prozess

Die Fluoreszenzuntersuchungen an den Kompositen belegen, dass bereits ein Silberanteil mit 6 % bakterizid wirkt. Der Vergleich mit der kaum vorhandenen Silberfreisetzung dieses Komposits zeigt (Abbildung 5.3), dass diese Aktivität nicht durch einen konzentrationsgesteuerten Prozess erklärt werden kann. Demnach muss sie durch die Oberfläche bedingt sein.

Die zytotoxische Untersuchung zeigt dagegen die gleiche Toxizitätsgrenze wie bei den Referenztests. Dieses Verhalten ließe sich somit allein durch den Konzentrationsgesteuerten Prozess erklären. Anzumerken ist dabei, dass die Messschritte sehr weit sind, wodurch sich nicht ausschließen lässt, dass mehrere Effekte wirken.

Für eine Abschätzung des Einflusses der oberflächengesteuerten Prozesse folgt die Charakterisierung der Proben mittels XPS und die Veränderung des Silbers mit der Zeit. Des Weiteren muss bestimmt werden, inwieweit Bakterien und Fibroblasten unterschiedlich auf Silber reagieren.

5.2.3 Oberflächen Silber

i) Nach Präparation

3D-Komposite mit einem Silberanteil von 6 % bis 40 % wurden per XPS vermessen und sind in Abbildung 5.7 (blau) dargestellt. Bis zu einem Silberanteil von etwa 30 % ist ein annähernd linearer Verlauf zu beobachten. Bei höherem Silberanteil konnten Sättigungseffekte beobachtet werden, die auf die Messmethode zurückgehen, da die Cluster ab einer bestimmten Größe nur noch teilweise erfasst werden können.

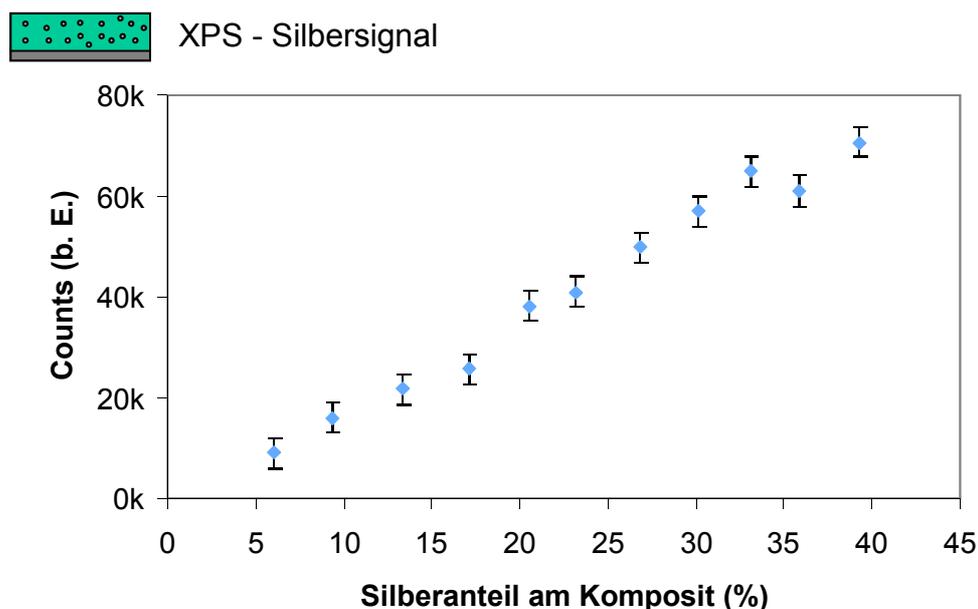


Abbildung 5.7 XPS: Silberanteil der Komposite gegen Silbersignal. Zu erkennen ist ein nahezu linearer Zusammenhang bis etwa 30 %.

ii) Nach Sterilisation

Für die Sterilisation, die für die zytotoxischen Untersuchungen unumgänglich sind, wurden die Proben bei 180 °C für vier Stunden trocken ausgelagert. Abbildung 5.8 zeigt, dass keine Zunahme des Oberflächensilbers nachgewiesen werden konnte. Somit werden Bakterien, die unsterilisierte Proben erhalten, und Fibroblasten bei den Untersuchungen der gleichen Menge Oberflächensilber ausgesetzt.

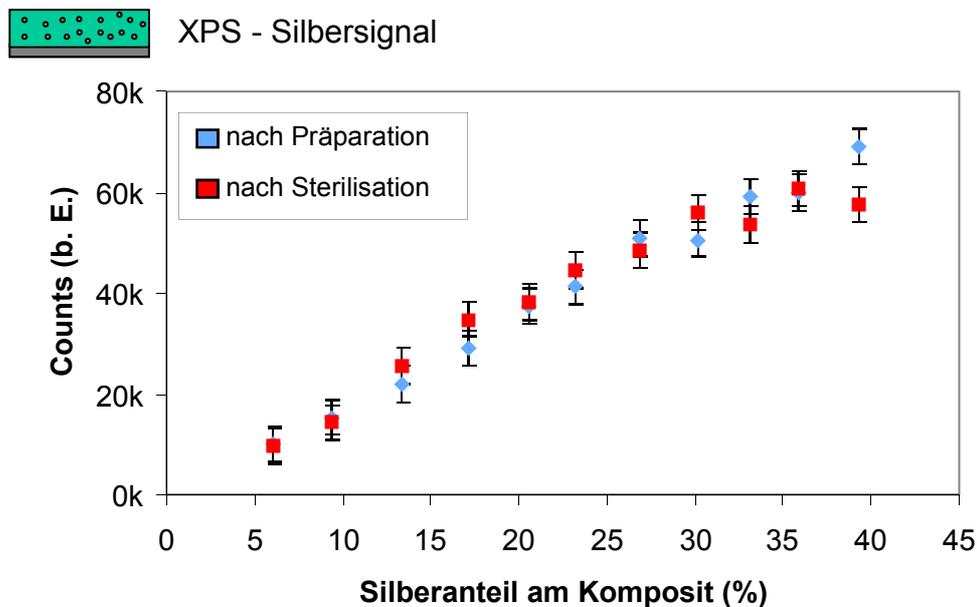


Abbildung 5.8 XPS: Silberanteil der Komposite gegen Silbersignal vor und nach der Sterilisation. Zu erkennen ist nur eine kleine Änderung des Oberflächensilbers.

iii) Wässerung

Die Kompositproben wurden entsprechend zu den Silberfreisetzungsexperimenten in 10 ml Reinstwasser in verschließbaren HDPE-Fläschchen gewässert. Bei bestimmten Zeiten wurden die Proben für die XPS-Untersuchungen aus dem Wasser geholt und vermessen: 40 Minuten, 2 Stunden, 1 Tag und 3 Tage. Danach wurden die Proben wieder in dasselbe Wasser zurückgelegt.

Die Messzeiten nach einem und drei Tagen sind an die biologischen Tests angepasst, da die Bakterien nach einem Tag und die Zellen nach drei Tagen einen ausgewachsenen Biofilm zeigen.

Eine Wässerung im entsprechenden biologischen Medium ist nicht möglich, da Ablagerungen aus dem Medium die oberflächensensitive Messung zu sehr stören. Zwar kann davon ausgegangen werden, dass die verschiedenen Bestandteile der Nährlösungen das Freisetzungverhalten beeinflussen können, jedoch bleibt der allgemeine Verlauf vergleichbar, sodass die hier gezeigten Daten qualitativ ihre Gültigkeit haben.

iv) Reservoir-Effekt

In Abbildung 5.9 sind die Änderungen der Silberkonzentration an der Probenoberfläche für ausgewählte Proben dargestellt. Es ist zu erkennen, dass nach einer starken Änderung in den ersten zwei Stunden, die Varianz des Oberflächensilbersignals über die restliche Messdauer gering ist und insgesamt als stabil beschrieben werden kann.

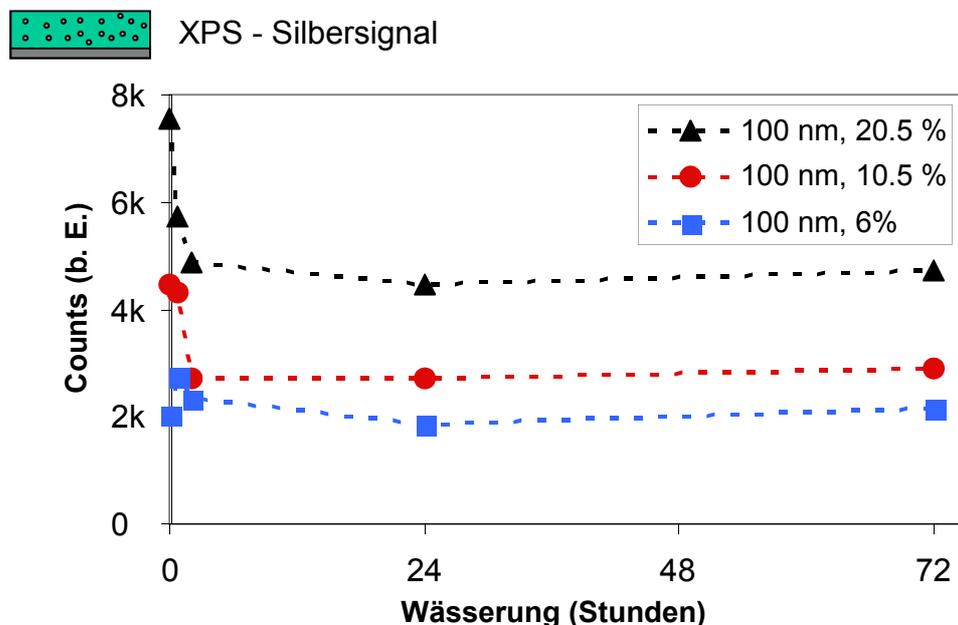


Abbildung 5.9 XPS: Änderung des Oberflächensilbers mit der Zeit. Nach zwei Stunden sind nur noch kleine Änderungen zu beobachten.

Innerhalb der ersten Stunden gibt es noch viele kleine Cluster, die schneller Silberionen in Lösung abgeben und dadurch eine große Änderung der Oberfläche verursachen (vgl. 4.2.1.i)). Danach wird die Freisetzung geringer, da es auch durch die Ostwald-Reifung weniger und größere Cluster auf der Oberfläche gibt. Diese großen Cluster (und damit die Menge des Silbers an der Oberfläche) werden durch den Silbertransport aus dem Inneren der Probe stabilisiert, da diese Silberionen sich zuerst an die größeren Oberflächencluster anlagern und nicht direkt in Lösung gehen. Dieser Prozess beruht auf dem unterschiedlichen chemischen Potential, wie er in Kapitel 4.3.2.ii) bereits diskutiert wurde.

Ostwald-Reifung und Silbernachführung aus dem Probeninneren führen dazu, dass sich die Oberflächensilberkonzentration über einen langen Zeitraum nur geringfügig ändert, auch wenn das Komposit über die gesamte Zeit Silber freisetzt. Bei geringen Silberanteilen wie 6 % zeigen die Daten, dass diese Oberflächencluster so stabil sind, dass sie gar nicht bis kaum in Lösung gehen, da ein deutliches XPS-Signal gemessen werden kann, obwohl die Freisetzung kaum nachweisbar ist (vgl. Abbildung 5.3).

Es könnte angenommen werden, dass der direkte Kontakt mit Silberclustern bakterizid wirkt als der Einfluss des gelösten Silbers [Choi2008, Lok2007] und dass dieses ausreicht, um die Beobachtung zu erklären. Jedoch würde dieses auch zu einer Absenkung der toxischen Grenze für Fibroblasten führen, was nicht zu beobachten ist. Der Unterschied zwischen Fibroblasten und Bakterien wird im Folgenden diskutiert.

5.2.4 Unterschiedliches Verhalten von Bakterien und Fibroblasten

i) Anderer Stoffwechsel

Der Hauptunterschied zwischen tierischen Zellen und Bakterien liegt im Stoffwechsel. Dieses wird insbesondere bei der Betrachtung der Teilungsraten ersichtlich, die bei Bakterien um ein Vielfaches höher sind.

Dieses ist z.B. in dieser Arbeit daran zu sehen, dass die Messzeiten für Bakterien bei einem Tag und für Fibroblasten bei drei Tagen liegen. Diese Zeiträume beschreiben die Zeit, die benötigt wird, um einen geschlossenen Biofilm zu erzeugen.

Der erhöhte Stoffwechsel wird ausgenutzt, um zu überprüfen, ob biologische Proben mit Bakterien kontaminiert sind. So enthält z.B. das für die toxikologischen Untersuchungen verwendete Nährmedium (Quantum333) einen roten pH-Indikator. Bei einer Kontamination mit Bakterien, wird das Medium gelb, was eine pH-Erniedrigung bedeutet. Diese Übersäuerung ist eine Folge der erhöhten Ausscheidungen der Bakterien.

ii) Säureauswirkungen auf Silbercluster

In der Masterarbeit von V. G. Kotnur [Kotnur], die in dieser Arbeitsgruppe angefertigt wurde, sind unter anderem die Auswirkungen von Säuren auf die Silberfreigabe von 2D-Kompositen untersucht worden.

Abbildung 5.10 zeigt die Silberfreisetzung von 2D-Kompositen von 2 nm Silber auf Glas zum einen in Reinstwasser und zum anderen in Essigsäure mit einem pH-Wert von 4. Da zu dieser Zeit die ICP-MS Methode zur Messung der Silberfreisetzung noch nicht zur Verfügung stand, ist die Änderung der Plasmonenresonanz gezeigt.

Erkennbar ist eine deutlich schnellere Verminderung der Plasmonenresonanz in Säure gegenüber Wasser. In der Säure ist nach 40 Minuten bereits eine Absenkung der Absorption zu erkennen, die in Wasser erst nach einem Tag erreicht wird.

Auch wenn das System sich von den untersuchten unterscheidet, zeigt es die qualitativen Auswirkungen einer Säure auf Oberflächencluster.

Im direkten Kontakt mit Clustern hat die höhere Säureausscheidung der Bakterien große Auswirkungen. Der erniedrigte pH-Wert führt zum schnelleren Auflösen der Cluster, wodurch die Bakterien lokal einer höheren Silberkonzentration ausgesetzt sind als Fibroblasten. Überschreitet diese Konzentration eine bestimmte Grenze, so wirkt die Oberfläche bakterizid.

Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob die lokale Konzentration, die bei den 6 %-igen Proben erreicht wird, die bei der Referenzmessung bestimmten 0,64 µg/ml Silberionen entspricht.

Im Vergleich dazu führt die erhöhte Säureausscheidung im Medium zu keiner Erhöhung der Silberkonzentration, da hier das Silber bereits in Lösung ist.

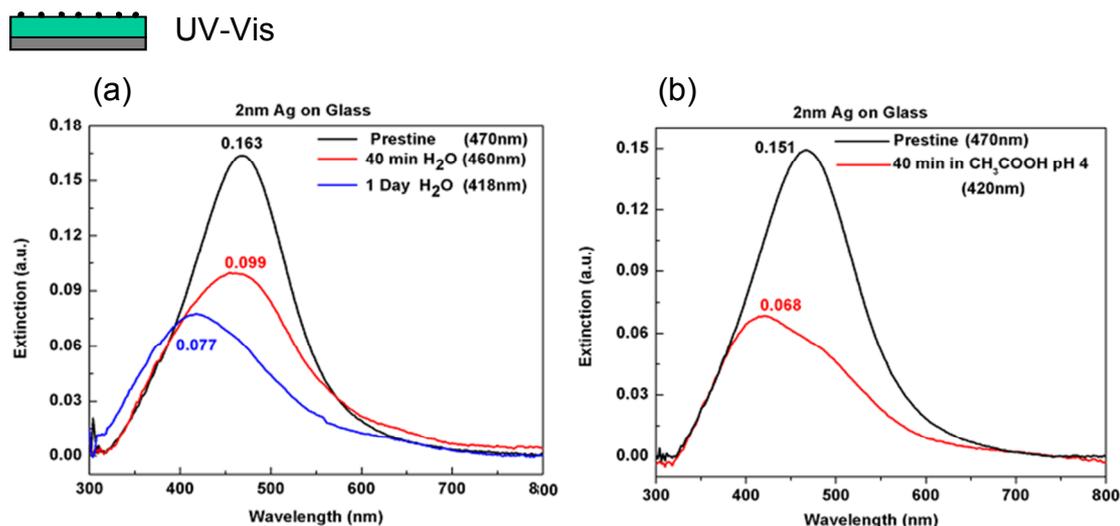


Abbildung 5.10 Aus der Master Thesis von V. G. Kotnur. UV-Vis Messungen eines 2D-Komposits von 2 nm Silber auf Glas. Links: Silberfreisetzung in Reinstwasser. Rechts: Silberfreisetzung in Essigsäure (pH4). Erkennbar ist eine deutlich schnellere Verminderung der Plasmonenresonanz in Säure gegenüber Wasser [Kotnur].

iii) Unterschiedlicher Umgang mit Silber

Ein weiterer Aspekt, der zum unterschiedlichen Verhalten führen kann, liegt in der vielfältigeren Fähigkeit der Zellen auf Schadstoffe zu reagieren.

Zellen sind durch ihren komplexeren Aufbau besser in der Lage Schädigungen an der DNA zu reparieren, und auch ihre Lage im Zellkern, der bei Bakterien fehlt, bietet einen besseren Schutz durch den in die Zelle eindringendes Silber.

Des Weiteren sind in der Hülle der Fibroblasten hohe Konzentrationen von Chloriden zu finden (etwa 110 mMol), die durch den Kontakt mit Silber zu schwer löslichen Salzen ausfallen können, die dann der Zelle nicht mehr schaden können.

Auch ist bekannt, dass Fibroblasten eine extrazelluläre Matrix absondern, um z.B. ihre Haftung an Oberflächen zu verbessern, die eine passivierende Wirkung auf die Kompositoberfläche bewirken könnte.

Diese Möglichkeiten sind als zusätzlicher Effekt anzusehen, deren Einfluss in weiteren Studien eingeschätzt werden muss.

5.2.5 Therapeutisches Fenster

Für die Bestimmung wie viel Silber eingebracht werden muss, um antimikrobiell aber nicht toxisch zu wirken, muss zuerst der Ort der Wirkung bestimmt werden. Dieses ist wichtig um abschätzen zu können, ob die Komposite konzentrations- oder oberflächengesteuert wirken sollen.

Für 'kleine geschlossene Systeme', bei denen nur ein geringes Volumen gegeben ist, und in dem es keinen Flüssigkeitsaustausch gibt, ist der konzentrationsgesteuerte Prozess primär, da hier eine antibakterielle aber auch die toxische Grenze schneller erreicht wird. Hier werden niedrige Silberfreisetzungen, z.B. durch kleine Oberflächencluster, oder eine geringere Menge an Silber benötigt.

Als Beispiel kann hier ein Zahnimplantat genannt werden, das in einer Zahnfleischtasche wirken soll.

Bei 'offenen Systemen', bei dem das Medium oft oder ständig getauscht wird, sind die Anforderungen entsprechend unterschiedlich, da hier die oberflächengesteuerten Prozesse dominant sind. Als Beispiel kann hier ein Katheter [Lawrence2005] oder generell medizinisches Equipment genannt werden.

Somit kann kein allgemeines therapeutisches Fenster für Nanosilber genannt werden, sondern immer nur eine an die Anwendung angepasste Abschätzung.

5.2.6 Ausblick

Durch Änderung von Silberanteil, Barriere Dicke und Morphologie kann die Silberfreisetzung modifiziert werden, um den jeweiligen Anforderungen zu genügen. Für diesen Zweck sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Grenzen und beteiligten Effekte besser eingrenzen zu können.

Das bedeutet, dass insbesondere die toxikologischen Untersuchungen in feineren Schritten aufgelöst werden müssen. Auch müssen langfristige Wiederholungen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zeigen.

Ein weiterer Punkt zur weiteren Optimierung der Testmethoden besteht darin, in Zukunft die Tests für Bakterien und Fibroblasten auf gleichen Substraten durchzuführen und auch die Vorbehandlungen anzupassen. Dabei muss auch geprüft werden, welchen Einfluss die anfänglichen Zelldichten haben, und ob sie zur besseren Vergleichbarkeit zwischen Bakterien und Fibroblasten angepasst werden müssen.

Für die Zukunft wird die Messung der langfristigen Aktivität ein wichtiges Ziel sein. Da jedoch die Bakterien z.B. bereits nach einem Tag einen ausgewachsenen Biofilm zeigen, ist es nicht möglich die Tests einfach länger laufen zu lassen.

Stattdessen sollten die Proben zuerst für eine gewisse Zeit (z.B. eine Woche) im Medium gelagert werden, um sie danach zu testen. Die Herausforderung dabei ist, dass in der Zeit der Lagerung das Medium absolut steril sein muss, da kleinste Kontaminationen zu einem Scheitern führen.

5.3 Zusammenfassung

Es konnte klar gezeigt werden, dass die zytotoxische und bakterielle Aktivität für gelöstes Silber und Silber auf der Oberfläche unterschiedlich ist. Deshalb wurden etablierte Methoden zur Bestimmung der bakteriziden Aktivität so angepasst, dass sie direkt die Auswirkung auf der Oberfläche der Probe darstellen. Die Vergleichbarkeit dieser mit den konventionellen Tests konnte durch das Referenzsystem Silbernitrat gezeigt werden, das in der Medizin standardmäßig als Silberionenquelle verwendet wird.

Auch konnte ein therapeutisches Fenster nachgewiesen werden, das auf der Oberfläche größer ist. Die Untersuchungen der unterschiedlichen Wirkung von Silberclustern auf Fibroblasten und Bakterien zeigen, dass insbesondere der höhere Stoffwechsel der Bakterien, bei dem es zu einer lokalen Übersäuerung kommt, verantwortlich für das unterschiedliche Verhalten ist. Die weitere Untersuchungen dieser Effekte wird ein Ziel zukünftiger Studien sein.

Das abweichende Verhalten von Oberfläche und Lösung und der damit entsprechende Unterschied im therapeutischen Fenster haben eine direkte Auswirkung auf mögliche Anwendungen, da immer unterschieden werden muss, ob eine Anwendung eher oberflächen- oder konzentrationsgesteuert funktionieren soll.

Zusammenfassung

In der modernen Medizin geht der Trend immer weiter zu alternativen Möglichkeiten, Infektionen zu behandeln und vorzubeugen, um dabei, soweit es geht, auf Antibiotika zu verzichten. Immer häufiger kommen dabei Silbernanokomposite zum Einsatz. Auf der anderen Seite entstehen durch den starken Gebrauch von Nanosilber vor allem in Gegenständen des täglichen Gebrauchs Befürchtungen, inwieweit ihr Einsatz auch negative Auswirkungen auf den Menschen und die Umwelt nehmen kann.

Aus diesem Grund ist es von großem Interesse, die entscheidenden Mechanismen der antimikrobiellen Aktivität zu kennen, und so das Silber ressourcensparend und bewusst an die jeweiligen Anwendungen anzupassen.

Ziel dieser Arbeit war es, die systematische Untersuchung des Silberfreisetzungsverhaltens durch die Variation verschiedener Parameter insbesondere durch das Aufbringen von Barrierschichten zu untersuchen. Zum anderen sollten die Auswirkungen dieser Modifikationen sowohl auf die antimikrobielle Aktivität als auch auf die menschliche Biokompatibilität hin getestet werden. Dabei stand im Vordergrund ein interdisziplinäres und anwendungsorientiertes Messverfahren zu entwickeln, das etablierte Methoden der einzelnen Bereiche erstmals gegenüberstellt, vergleicht und verknüpft, um so maßgeschneiderte Schichten zu erhalten.

Es konnte gezeigt werden, dass es durch das Co-Sputtern von Silber und Titandioxid möglich ist, Beschichtungen mit unterschiedlichem Silberanteil kontrolliert herzustellen. Dabei bildete sich eine bimodale Verteilung, bei der auf der Oberfläche größere Silbercluster als im Inneren der Probe entstehen. Als mögliche Ursache wurden zwei Mechanismen diskutiert: zum einen könnte das Silber an der Oberfläche durch die größere Mobilität verglichen zum Inneren der Probe zu größeren Clustern aggregieren; zum anderen bildet sich an der Atmosphäre ein Wasserfilm auf der Oberfläche der Probe. Durch dissoziative Adsorption von Wasser an dieser Grenzfläche und die Angleichung des chemischen Potentials des Komposits zum Wasser entsteht eine treibende Kraft auf Silberionen in der Probe, sodass nun vermehrt Silber an die Oberfläche tritt, das durch Ostwald-Reifung zu größeren Oberflächenclustern heranwächst.

Die entstandene Oberflächenladung wurde als Ursache für weitere hier untersuchte Effekte im Komposit diskutiert und spielt allgemein auch für andere Anwendungen des Titanoxids insbesondere der Photokatalyse eine entscheidende Rolle.

Die bimodale Verteilung konnte durch die Abscheidung einer unmittelbar aufgetragenen Barrierschicht (in situ Barriere) mit einer Schichtdicke von 30 nm unterbunden werden. Dabei hatte das Entfernen der großen Cluster einen deutlichen Effekt auf die optischen Eigenschaften des Komposits, die sich durch eine verminderte Absorption in der Silberplasmonenresonanz ausdrückte.

Jedoch hatte auch eine sehr dünne Barriere von unter 10 nm, die die Morphologie der Silbercluster nicht veränderte eine deutliche Auswirkung auf die optischen Eigenschaften des Materials. Es konnte eine Hybridisierung der Plasmonenresonanz beobachtet werden, bei der bei einer Barriere zwischen 1 nm und 7 nm ein zweiter Absorptionspeak auftaucht. Dieses konnte auf die Kopplung der Silbercluster- und Titandioxidbarrieren-Oberfläche zurückgeführt werden, die sich zusätzlich dämpfend auf die Silberfreisetzung ausgewirkt hat.

Es konnte gezeigt werden, dass die Silberfreisetzung bei Ag/TiO₂-Kompositen entscheidend von den elektrischen Eigenschaften des Komposits abhängt, wie der Oberflächenladung und vorhandenen galvanischen Spannungen. So konnte bei Experimenten, bei denen das Komposit auf eine metallische Nickelschicht abgeschieden wurde, die Silberfreisetzung gemindert werden; jedoch zersetzte sich im Gegenzug das unedlere Nickel. Auch spielt auch die Morphologie der Silbercluster eine große Rolle:

Bei Kompositen, die mit einer ex situ Barriere versehen wurden, gibt es durch die bimodale Verteilung große Cluster in der Grenzfläche. Diese wirkten selbst als Barriere, da Silberionen aus dem Bulk sich zuerst an die großen Cluster anlagerten. Als Folge konnte bei in situ Barriere-Systemen, bei denen keine bimodale Verteilung zu beobachten war, zeitweise sogar eine höhere Freisetzung als bei barrierefreien Systemen nachgewiesen werden. Dieser Mechanismus ist als eines der wichtigsten Ergebnisse der Arbeit zu werten, da er zeigt, wie wichtig die Wechselwirkung zwischen den Silberclustern untereinander ist, und wie stark die Eigenschaften des Komposits von der Morphologie abhängen, ohne dabei den Silberanteil zu variieren.

Weitere Experimente beschrieben die Abhängigkeit der Silberfreisetzung vom Silberanteil. Als überraschendes Ergebnis ergab sich, dass die Silberfreisetzung überproportional vom Silberanteil anhing. Andererseits konnte im Rahmen der durchgeführten Messungen bei etwa 3 % Silberanteil keine Silberfreisetzung mehr nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis ist überraschend, da der vorangehende Ansatz war, dass kleinere Cluster durch ihr chemisches Potenzial instabiler sind und sich deshalb schneller auflösen sollten.

Bei den silberreichen Kompositen kam es weiterhin zu Effekten, bei denen die Silberkonzentration in der Lösung mit der Zeit niedriger wurde oder deutlich schwankte. Eine Erklärung dieses Rückflusseffekts ist, dass die Proben während der Wässerung nicht bewegt wurden und sich dadurch ein Konzentrationsgradient bildete, wodurch es zu Aggregationseffekten gekommen ist. Eine Untersuchung dieses Effekts wird in zukünftigen Arbeiten durch den Vergleich mit durchgängig bewegten Proben durchgeführt werden.

Eine weitere wichtige Fragestellung für zukünftige Arbeiten besteht darin, aus welcher Tiefe des Komposits Silbercluster in welcher Zeit an der Freisetzung beteiligt ist. Es konnte gezeigt werden, dass bereits nach zwei Stunden Konzentrationsunterschiede von Proben festgestellt werden konnten, die 100 nm und 400 nm dick waren. Somit sind Untersuchungen von noch dickeren Schichten von Nöten, um die Transportmechanismen hinreichend zu erfassen. Da die hauptsächlich untersuchten Probensysteme, die auch für die biologischen Tests verwendet wurden, eine Schichtdicke von 100 nm hatten, war die Abhängigkeit der Kompositdicke jedoch nicht entscheidend.

Für die biologischen Tests stand im Vordergrund, die verschiedenen Messmethoden zu vergleichen und an die Komposite anzupassen. Dieses wurde in dieser Arbeit erstmalig durchgeführt.

Dabei konnte klar gezeigt werden, dass die zytotoxische und bakterielle Aktivität für gelöstes Silber und Silber auf der Oberfläche unterschiedlich ist. Deshalb wurden die Methoden zur Bestimmung der bakteriziden Aktivität so angepasst, dass sie direkt die Auswirkung auf der Oberfläche der Probe darstellten.

Dabei ist die Fluoreszenzmikroskopie als wichtigste Nachweismethode zu nennen, die das Wachstum der Bakterien direkt auf der Kompositoberfläche zeigte. Dagegen konnten die häufig eingesetzten Agar-Diffusions-Tests für die Nanokomposite als ungeeignet ausgeschlossen werden, da sie lediglich diffusionsstarke Proben sinnvoll messen und für ausschließlich oberflächenaktive Proben, die wie gezeigt wurde durchaus antimikrobiell wirken können, negative Resultate ergäben.

Als wichtigstes Ergebnis der Messungen konnte ein therapeutisches Fenster nachgewiesen werden, in dem die Komposite antimikrobiell aber nicht zytotoxisch wirken. Dieses verhielt sich unterschiedlich in Lösung und auf der Oberfläche, auf der es erheblich größer war. Die Untersuchungen der unterschiedlichen Wirkung von Silberclustern auf Fibroblasten und Bakterien zeigten, dass dieser Unterschied insbesondere auf den höheren Stoffwechsel der Bakterien zurückging. Bei diesem kam es zu einer lokalen Übersäuerung, die zu einer verstärkten Auflösung der Oberflächencluster und entsprechend zu einer erhöhten Silberkonzentration kam.

Als Konsequenz wurde diskutiert, dass das abweichende Verhalten von Oberfläche und Lösung, und der entsprechende Unterschied im therapeutischen Fenster, eine direkte Auswirkung auf mögliche Anwendungen hätte, da immer unterschieden werden muss, ob eine Anwendung eher oberflächen- oder konzentrationsgesteuert funktionieren soll.

Als Beispiele wurden Zahnimplantate genannt, bei denen durch den geringen Raum der Zahnfleischtasche, die Silberkonzentration schnell den toxischen Bereich erreichen kann, weshalb Komposite mit geringem Silberanteil gewählt werden sollten, bei denen das Silber nicht freigesetzt wird, sondern am Komposit bleibt und dadurch oberflächensensitiv antimikrobielle wird.

Durch die gewonnenen Kenntnisse über das Freisetzungverhalten von Ag/TiO₂-Kompositen und den angepassten Messmethoden der biologischen Tests lassen sich maßgeschneiderte Komposite erzeugen, die sich an die gegebenen Rahmenbedingungen verschiedenster medizinischer Applikationen orientieren können.

Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 Auswirkung von Silberionen auf Bakterien [Chaloupa2010].....	6
Abbildung 1.2 Modell der Elektronenschwingung in Metallclustern, die durch ein elektrisches Feld angeregt werden [Schürmann].....	8
Abbildung 1.3 Kristallstruktur von Rutil und Anatas [Diebold2003].....	10
Abbildung 1.4 Wachstumsarten verschiedener Dünnschichten. [Smith1995].....	11
Abbildung 1.5 Schematische Darstellung der Ostwald-Reifung, bei der über die Zeit größere Partikel auf Kosten kleinerer heranwachsen.....	12
Abbildung 1.6 Schema der dissoziativen Adsorption von Wasser an einer Metalloxydoberfläche (Titandioxid) [Köhler1993].....	14
Abbildung 2.1 Co-Sputter-Prozess. Titandioxid und Silber werden gleichzeitig abgeschieden, wodurch ein 3D-Komposit entsteht, bei dem das Silber Nanocluster in der Titandioxid-Matrix bildet. Rechts: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits, bei dem das Silber (grau) Cluster im Titandioxid (grün) bildet.	21
Abbildung 2.2 Schematische Darstellung der benutzten Vakuumkammer (Eigenbau)	22
Abbildung 2.3 Schematischer Aufbau der Kammer in der das thermische Verdampfen durchgeführt wurde. Rechts: Schematischer Aufbau der Quelle. Darstellung: Dipl.-Ing. Stefan Rehders, TF, Universität Kiel.....	24
Abbildung 2.4 XRD Messung von Rutil- (links) und Anataspulvern (rechts). Das jeweils obere Spektrum zeigt je ein Pulver mit Mikrometer (a) großen Kristalliten und das jeweils untere mit Nanometer (b) großen Kristalliten [Thamaphat2008].	26
Abbildung 2.5 XRD. Amorphes Titandioxid (rot) mit einer Schichtdicke von 100 nm auf Quarzglas zeigt keinerlei Reflexe. Nach dem Ausheizen bei 650 °C (schwarz) ist eine reine Anatas-Phase zu sehen.	27
Abbildung 2.6 UV-Vis-Spektren zweier Probensets, die in einer Charge hergestellt wurden. Deutlich zu erkennen sind Schwankungen in der optischen Charakteristik..	28
Abbildung 2.7 XPS-Spektrum eines typischen Ag/TiO ₂ -Komposits mit 20 % Silberanteil. Die relevanten Peaks sind bezeichnet und der zur Bestimmung der Elementhäufigkeit verwendete Bereich markiert.....	30
Abbildung 2.8 XPS-Spektrum. Detailausschnitt des Ag 3d Signals eines typischen Ag/TiO ₂ -Komposits mit 20 % Silberanteil. Die Grenzen des Peaks sind markiert und die Basislinie für diesen Bereich eingetragen.	31
Abbildung 3.1 Typische TEM-Aufnahmen verschiedener 3D-Komposite mit variierendem Silberanteil.....	38
Abbildung 3.2 TEM-Aufnahme zweier 3D-Komposite Ag/TiO ₂ (15 %), links 3D-Komposit ohne Barriere, rechts mit 30 nm in situ Barriere. Es ist deutlich zu erkennen, dass durch die Barrierschicht die großen Cluster verschwinden.....	39
Abbildung 3.3 Histogramm der Clustergrößenverteilung eines Ag/TiO ₂ -Komposits mit 15 % Silberanteil ohne und mit in situ Barrierschicht. Ohne die Barriere (a) ist	

eine bimodale Verteilung zu sehen, die bei einer in situ Barriere (b) nicht auftritt. (bereits Veröffentlicht [Chakravadhanula2011]).	40
Abbildung 3.4 3D Electron Tomography: Rekonstruiertes Modell aus 281 TEM-Einzelaufnahmen eines 3D-Komposits Ag/TiO ₂ (15 %) zur Untersuchung der bimodalen Verteilung der Silbercluster. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich die großen Cluster an der Oberfläche befinden. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].	41
Abbildung 3.5 3D Electron Tomography: Querschnittsansicht rekonstruiert aus 281 TEM-Einzelaufnahmen eines 3D-Komposits Ag/TiO ₂ (15 %). Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].	42
Abbildung 3.6 Links: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits, rechts: Querschnitt eines Ag/TiO ₂ 3D-Komposits mit 15 % Silberanteil. Es ist eine Cluster-Verarmungszone zu sehen. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].	42
Abbildung 3.7 Links: Schematische Darstellung eines 3D-Komposits in Kontakt mit der Atmosphäre. Es bildet sich sofort ein Wasserfilm. Rechts: Querschnitt eines Ag/TiO ₂ 3D-Komposits mit 15 % Silberanteil. In der Nähe der großen Cluster sind auch kleinere zu sehen. Messungen und Analyse angefertigt von V. Chakravadhanula [Chakravadhanula].	43
Abbildung 3.8 Schematische Darstellung der Auswirkung einer ex situ und einer in situ Barriere. Durch die Änderung des Barriersystems lassen sich bei selben Silberanteil gezielt unterschiedliche Morphologien in einem Komposit erzeugen.	44
Abbildung 3.9 TEM Heizreihe. Ein Ag/TiO ₂ -Komposit mit 15 % Silberanteil wurde im TEM stufenweise erhitzt und gemessen. Zu erkennen ist das Anwachsen der Cluster (oben) und die Zunahme der Kristallinität (unten).	45
Abbildung 3.10 Histogramm der Clustergrößenverteilung eines bei 400 °C geheizten Ag/TiO ₂ -Komposits mit 15 % Silberanteil. Dabei liegt das Maximum nach dem Heizen (b) bei 8,2 nm. Vor dem Heizen (a) konnte es bei 4,4 nm nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 3.3).	46
Abbildung 3.11 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO ₂ 3D-Komposite mit 30 % Silberanteil ohne und mit zwei verschiedenen Barrierschichten (10 nm und 30 nm).	47
Abbildung 3.12 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO ₂ 3D-Komposite mit 30 % Silberanteil ohne und mit zwei verschiedenen Barrierschichten, die in situ aufgebracht wurden (10 nm und 30 nm).	48
Abbildung 3.13 UV-Vis. Dargestellt sind 100 nm Ag/TiO ₂ 3D-Komposite mit 30 %. Vergleich der Plasmonenresonanz bei in situ und ex situ Barrieren bei einer 10 nm und 30 nm Schichtdicke. Auffällig ist die Abschwächung der Absorption der 30 nm in situ Barrieren.	49
Abbildung 3.14 TEM und UV-Vis-Aufnahme eines typischen Ag/TiO ₂ 2D-Komposits mit 2 nm Silber auf 10 nm Titandioxid.	50
Abbildung 3.15 UV-VIS-Spektren verschiedener 2D-Komposite mit 2 nm Silber, die mit unterschiedlichen Barrierschichten versehen wurden. Es sind die hintergrundkorrigierten Spektren dargestellt. Auffällig ist neben der steigenden	

Intensität der sprunghafte Blauversatz des Absorptionspeaks bei einer Barriere von 10 nm.	51
Abbildung 3.16 UV-VIS-Spektren verschiedener 2D-Komposite mit 2 nm Silber, die mit unterschiedlichen Barrierschichten versehen wurden. Die Spektren sind auf das Absorptionsmaximum normiert worden. Auffällig ist ein Schulterpeak (a) und der Rotversatz (b), der bei einer Barriere von 10 nm wieder verschwindet.	51
Abbildung 3.17 Modell des Barrierewachstums auf Oberflächensilber am Beispiel eines 2D-Komposits.....	53
Abbildung 3.18 Schematische Darstellung der Auswirkung einer ex situ und einer in situ Barriere. Durch die Änderung des Barriersystems lassen sich bei selben Silberanteil gezielt unterschiedliche Morphologien in einem Komposit erzeugen.	55
Abbildung 4.1 Hafttest mittels Ultraschallbad. Links: Proben werden in verschiedene Lösungsmittel eingebracht. Rechts: Ergebnis einer nicht haftenden Schicht TiO ₂ auf 20 nm Gold ohne Haftvermittler.....	59
Abbildung 4.2 Schematische Darstellung der untersuchten 2D-Komposite.	59
Abbildung 4.3 Schematische Darstellung der untersuchten 3D-Komposite	60
Abbildung 4.4 Schematische Darstellung der untersuchten Barrierschichtsysteme.	60
Abbildung 4.5 Schematische Durchführung der Wässerung mit den Routineuntersuchungen.....	61
Abbildung 4.6 Schematische Darstellung zweier Methoden zur Wasserentnahme für ICP-MS Messungen. Beim 'Volltausch' wird das gesamte Wasser entfernt und beim 'Halbtausch' jeweils nur die Hälfte des Mediums. Anschließend wird bei beiden Methoden wieder auf die Ursprungsmenge mit frischem Medium aufgefüllt.....	62
Abbildung 4.7 UV-Vis-Spektrum eines typischen 2D-Komposits mit 2 nm Silber an der Oberfläche. Dargestellt ist der Effekt der Wässerung (Volltausch) nach 40 Minuten und einer Woche. In Grau ist die Basislinie für das Initial-Spektrum angedeutet, die für die Auswertung vom Spektrum subtrahiert wird.	64
Abbildung 4.8 TEM-Aufnahme eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber nach Präparation, 40 Minuten und 2 Stunden in Wasser (gleiche Probe, ohne Wasserwechsel).....	66
Abbildung 4.9 UV-Vis: Entwicklung des Silberplasmonenpeaks über die Zeit einer gewässerten 2D-Komposit-Probe. Deutliche Annahme der Plasmonenfläche und Verschiebung der Peak-Position. Rechts: Spektrum Basislinien-korrigiert.	66
Abbildung 4.10 UV-Vis: normierte Plasmonenfläche eines 2D-Komposits gegen die Zeit.	67
Abbildung 4.11 ICP-MS Messung der Silberkonzentration in Lösung durch ein 2D-Komposit mit 2 nm Silber über die Zeit während der Wässerung.....	67
Abbildung 4.12 UV-Vis-Spektrum: Veränderung des Silberplasmonenresonanz eines 2D-Komposits mit 2 nm gedampften Silber durch Alterung. Bei der Alterung im Dunkeln (rot) ist nur ein geringer Unterschied zur frischen Probe (schwarz) zu erkennen. Bei der Alterung im Hellen (blau) ist die Plasmonenresonanz fast ganz verschwunden.	69

Abbildung 4.13 UV-Vis-Spektren von zwei Wochen gealterten 2D-Kompositen mit 2 nm Silber. Unterschied in der Änderung des Spektrums durch Wässerung über eine Woche.	70
Abbildung 4.14 ICP-MS: Gemessene Silberkonzentration in Wasser von verschiedenen 2D-Kompositen mit 2 nm Silber. Gegenübergestellt ist eine frische (rot) Probe und zwei gealterte (hell- und dunkelgrau).	70
Abbildung 4.15 UV-Vis: Entwicklung der Silberplasmonenresonanz über die Zeit einer gewässerten kristallinen 2D-Komposit Probe. Deutliche Annahme der Plasmonenfläche und Verschiebung der Peak-Position. Rechts: Spektrum Baselinienkorrigiert.	71
Abbildung 4.16 Visualisierung der in Tabelle 4.3 aufgeführten Peakpositionen und -intensitäten. Die angegebenen Zahlen repräsentieren die Reihenfolge der Messzeiten: 1 = 40 min, 2 = 2 h usw.	72
Abbildung 4.17 UV-Vis: normierte Plasmonenfläche gegen die Zeit. Im Vergleich zum 2D-Komposit gibt das kristalline 2D-Komposit das Silber verstärkt ab.	73
Abbildung 4.18 ICP-MS: Messung eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber im Vergleich zu einem entsprechenden Komposit auf kristallinem Titandioxid. Die Darstellung zeigt die Silberfreisetzung über die Zeit während der Wässerung.	73
Abbildung 4.19 UV-Vis-Spektrum eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber und einer Barriere von 5nm.	74
Abbildung 4.20 (a) - (d) UV-Vis-Spektren von 2D-Kompositen mit 2 nm Silber und Barrieren von je 1 - 10 nm. Die Veränderung durch das Wässern mit der Zeit ist dargestellt.	75
Abbildung 4.21 UV-Vis-Spektrum eines 2D-Komposits mit 2 nm Silber im Vergleich zu entsprechenden Kompositen mit Barrierschichten. Die Darstellung zeigt die Veränderung der normierten Fläche des Silberplasmons über die Zeit während der Wässerung.	76
Abbildung 4.22 ICP-MS: Silberfreisetzung von Ag/TiO ₂ 3D-Kompositen mit unterschiedlichem Silbergehalt bei gleicher Schichtdicke von 100 nm.	78
Abbildung 4.23 Gemessene Silberkonzentration in Wasser für verschiedene Ag/TiO ₂ 3D-Komposite. Alle Proben haben die gleiche Schichtdicke. Dargestellte Messzeiten: 40 min, 1 d und 7 d. Nach einem Tag ist ein quadratischer Zusammenhang zu erkennen.	79
Abbildung 4.24 Relative Änderung des Gesamtsilbers in Kompositen mit unterschiedlichem Silberanteil nach einem Tag Wässerung. Vergleich Abbildung 4.23.	80
Abbildung 4.25 ICP-MS: Silberfreisetzung eines Ag/TiO ₂ 3D-Komposit mit 20 % Silberanteil mit und ohne Barriere (30 nm).	81
Abbildung 4.26 ICP-MS: Einfluss verschiedener Barriersysteme auf die Silberfreigabe. Gemessen an Ag/TiO ₂ 3D-Kompositen mit 32 % Silberanteil. Verglichen werden eine ex situ Barriere, ein Mischsystem und eine in situ Barriere. Markierte Werte bei 40 min zeigen eine große Messunsicherheit.	82

Abbildung 4.27 Unterschiedliches Freisetzungsverhalten für in situ und ex situ Barrieren. Ohne große Cluster wird das Silber direkt in das Medium abgegeben. Bei einer ex situ Barriere erfolgt ein Zwischenschritt über die großen Cluster.	83
Abbildung 4.28 ICP-MS: Veränderung der Silberfreisetzung eines Ag/TiO ₂ 3D-Komposits mit 12 % Silberanteil. Durch einen technischen Fehler sind die ermittelten Werte zwar untereinander jedoch nicht mit anderen Messreihen vergleichbar.	84
Abbildung 4.29 ICP-MS: Einfluss der Schichtdicke auf die Silberfreisetzung gezeigt bei einem Ag/TiO ₂ 3D-Komposit mit 10 % Silberanteil. Verwendete Sichtdicken waren, 100 nm, 200 nm und 400 nm.	85
Abbildung 4.30 ICP-MS: Einfluss eines leitfähigen Substrats auf die Silberfreigabe. Gemessen an einem Ag/TiO ₂ 3D-Komposit mit 10,5 % Silberanteil auf einer 20 nm dicken Nickelschicht.	86
Abbildung 4.31 ICP-MS: Nickelabgabe eines Ag/TiO ₂ 3D-Komposit mit 10,5 % Silberanteil auf einer 20 nm dicken Nickelschicht.	86
Abbildung 5.1 Alle Proben wurden zuerst für eine Stunde mit der E. coli SAR18 Bouillon versetzt. Danach wurden sie gespült und in die entsprechenden mit Silbernitrat angereicherten Nährmedien gelegt. Die angegebenen Konzentrationen sind Endkonzentrationen in Lösung.	98
Abbildung 5.2 Effekt von Silbernitrat auf Fibroblasten, 10.000 Zellen pro cm ² , nach 72 Stunden. Die Zellen wurden entweder direkt in die mit Silbernitrat angereicherte Nährlösung gegeben (hell), oder zuerst in Nährlösung gegeben und nach einer Stunde Silbernitrat versetzt (dunkel). Die Überlebensfähigkeit ist relativ zu unbehandelten Proben angegeben. Jeder Messpunkt entspricht drei Proben.	99
Abbildung 5.3 In der Abbildung ist die Silberfreisetzung verschiedener Proben über einen Zeitraum von 40 Minuten bis drei Tagen dargestellt. Der gefärbte horizontale Bereich stellt die zuvor ermittelten Konzentrationsgrenzen von 0,64 - 0,95 µg Silberionen in 1 ml Medium dar.	100
Abbildung 5.4 Fluoreszenz Messung verschiedener 3D-Komposite. Zu erkennen ist, dass bereits bei einem Silberanteil von 6% eine deutliche antimikrobielle Aktivität nachweisbar ist.	101
Abbildung 5.5 Effekt von Ag/TiO ₂ -Kompositen auf menschliche Fibroblasten, Zelldichte bei Aussaat 10.000 Zellen pro cm ² , im Phase Contrast Micrograph nach 72 Stunden. (a) direkt im Well, (b) auf purem Glassubstrat, (c) TiO ₂ -Beschichtung, (d) 20 % Ag/TiO ₂ , (e) 32 % Ag/TiO ₂ . Probe mit 32 % Silberanteil zeigt toxisches Verhalten.	102
Abbildung 5.6 Effekt verschiedener Ag/TiO ₂ -Komposite auf menschliche Fibroblasten. Zelldichte bei Aussaat 10.000 Zellen pro cm ² , Messung nach 72 Stunden. Jeder Messpunkt entspricht drei Proben. Die Probe mit 32 % Silberanteil zeigt toxisches Verhalten durch eine Beeinträchtigung von mehr als 50 %.	102
Abbildung 5.7 XPS: Silberanteil der Komposite gegen Silbersignal. Zu erkennen ist ein nahezu linearer Zusammenhang bis etwa 30 %.	103
Abbildung 5.8 XPS: Silberanteil der Komposite gegen Silbersignal vor und nach der Sterilisation. Zu erkennen ist nur eine kleine Änderung des Oberflächensilbers.	104

Abbildung 5.9 XPS: Änderung des Oberflächensilbers mit der Zeit. Nach zwei Stunden sind nur noch kleine Änderungen zu beobachten. 105

Abbildung 5.10 Aus der Master Thesis von V. G. Kotnur. UV-Vis Messungen eines 2D-Komposits von 2 nm Silber auf Glas. Links: Silberfreisetzung in Reinstwasser. Rechts: Silberfreisetzung in Essigsäure (pH4). Erkennbar ist eine deutlich schnellere Verminderung der Plasmonenresonanz in Säure gegenüber Wasser [Kotnur]..... 107

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1 Peakpositionen und -intensitäten der in Abbildung 3.15 dargestellten Spektren. Auffällig ist der Blauversatz bei der 10 nm Barriere..... 52

Tabelle 4.1 Genauigkeit der ICP-MS-Einzelmessung getestet mit der Mehrfachmessung derselben Probe: Ag/TiO₂ 3D-Komposit mit 20 % nach 40min Wässerung..... 68

Tabelle 4.2 Wassermengenabhängigkeit der Silberfreisetzung getestet mit gleichen 2D-Kompositen mit 2 nm Silber, gemessen nach einer Woche. 68

Tabelle 4.3 Peakpositionen und -intensitäten der in Abbildung 4.9 und Abbildung 4.15 dargestellten Spektren. Verglichen werden die Effekte der Wässerung von 2D-Kompositen auf amorpher und kristalliner Matrix. 72

Tabelle 5.1 Mikrobielle Hemmung und bakterizide Aktivität von Silbernitrat auf verschiedene Stämme..... 97

Literatur

- [Agarwal2010] A. Agarwal: *Surfaces modified with nanometer-thick silver-impregnated polymeric films that kill bacteria but support growth of mammalian cells*, *Biomaterials* 31 (2010) 680
- [Ahuja2009] R. Ahuja: *A prospective double-blinded comparative analysis of framycetin and silver sulphadiazine as topical agents for burns: a pilot study*, *Burns*, 35 (2009) 672
- [Alt2004] V. Alt: *An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement*, *Biomaterials*, 25 (2004) 4383
- [Asharani2009] P. Asharani: *Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells*, *ACS Nano*, 3 (2009) 279
- [Baldan2002] A. Baldan: *Progress in Ostwald ripening theories and their applications to nickel-base superalloys*, *Journal of Materials Science*, 37 (2002) 2171
- [Bayston2007] R. Bayston: *Prevention of infection in neurosurgery: role of "antimicrobial" catheters*, *J. Hosp. Infect.*, 65 (2007) 39
- [Biswas2005] P. Biswas: 2005 Critical Review: *Nanoparticles and the environment*, *J. Air & Waste Manage. Assoc* 55 (2005) 708
- [Cao, 2004] G. Cao: *Nanostructures and Nanomaterials*, Imperial College Press 2004
- [CLSI2006] Clinical and Laboratory Standards Institute: *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 7th edn. Approved Standard M7-A7*, Wayne, PA: CLSI, 2006.
- [Chakravadhanula2011] V. Chakravadhanula: *Nanostructural and Functional Properties of Ag-TiO₂ Coatings Prepared by Co-Sputtering Deposition Technique*, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 11 (2011) 4893
- [Chakravadhanula] V. Chakravadhanula: *Vapor phase deposition of functional nanocomposite thin films and their modification by ion beam irradiation*, Dissertation, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2011

- [Chaloupa2010] K. Chaloupa: *Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications*, Trends in Biotechnology, 28 (2010) 580
- [Chen2006] J. Chen: *Effect of silver nanoparticle dressing on second degree burn wound*, Zhonghua Wai Ke. Za Zhi, 44 (2006) 50
- [Chen2007] X. Chen: *Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications*, Chem. Rev., 107 (2007) 2891
- [Chen2008] X.Chen: *Nanosilver: A nanoproduct in medical application*, Toxicology Letters 176 (2008) 1
- [Choi2008] O. Choi: *Size Dependent and Reactive Oxygen Species Related Nanosilver Toxicity to Nitrifying Bacteria*, Environ. Sci. Technol., 42 (2008) 4583
- [Chopra2007] I. Chopra: *The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59 (2007) 587
- [Cieslak2009] M. Cieslak: *TiO₂/Ag Modified Carpet Fibres for the Reduction of Nicotine Exposure*, Fibres & Textiles in Eastern Europe, 17 (2009) 59
- [Dakka1999] A. Dakka: *Optical study of titanium dioxide thin films prepared by R.F. sputtering*, M.J.Condensed Matter, 2 (1999) 153
- [Diebold2003] U. Diebold: *The surface science of titanium dioxide*, Surface Science Reports, 48 (2003) 53
- [Dulbecco1954] R. Dulbecco: *Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses*. J. Exp. Med., 99 (1954) 167
- [Elbahri2011] M. Elbahri: *An Omnidirectional Transparent Conducting-Metal-Based Plasmonic Nanocomposite*, Advanced Materials, 23 (2011) 1993
- [Faupel2007] F. Faupel: *Deposition of nanocomposites by plasmas*, Contrib. Plasma Phys., 47 (2007) 537
- [Feng2000] Q. Feng: *A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus*, Journal of Biomedical Materials Research, 52 (2000) 662
- [Flegler1993] S. Flegler: *Elektronenmikroskopie*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg (1993)

- [Gentry2011] S. Gentry: *Ostwald Ripening in Metallic Nanoparticles: Stochastic Kinetics*, J. Phys. Chem. C, 115 (2011) 12736
- [Gravante2009] G. Gravante: *Nanocrystalline silver: a systematic review of randomized trials conducted on burned patients and an evidence-based assessment of potential advantages over older silver formulations*, Ann. Plast. Surg., 63 (2009) 201
- [Greve] H. Greve: *Magnetische Metall/Polymer Nanokomposite für Hochfrequenzanwendungen*, Dissertation, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2007
- [Hanisch] C. Hanisch: *Polymer-Metall-Nanokomposite nahe der Perkolationschwelle für sensorische Anwendungen*, Dissertation, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2009
- [Heilmann2003] A. Heilmann: *Polymer Films with Embedded Metal Nanoparticles*, Springer Verlag Berlin (2003)
- [Hentrick2006] E. Hentrick: *Reducing implant-related infections: active release strategies*, Chem. Soc. Rev., 35 (2006) 780
- [Ho2011] C. Ho: *Oxidative Dissolution of Silver Nanoparticles by Dioxygen: A Kinetic and Mechanistic Study*, Chem. Asian J., 6 (2011) 2506
- [Jain2009] J. Jain: *Silver Nanoparticles in Therapeutics: Development of an Antimicrobial Gel Formulation for Topical Use*, Molecular Pharmaceutics, 6 (2009) 1388
- [Jebril] S. Jebril: *Synthesis and Characterization of Vertical and Horizontal Nanowires for Functional Device Fabrication*, Dissertation, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2010
- [Jung2008] W. Jung: *Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli*, Appl. Environ. Microbiol., 74 (2008) 2171
- [Kelly2004] L. Kelly: *Handbook of Microbiological Media*, CRC Press London (2004)
- [Köhler1993] K. Köhler: *Koordinationschemie an Oxidoberflächen*, ChiuZ, 5 (1993) 248

- [Kotnur] V. Kotnur: *Ag ion release from Nanocomposites; A Plasmonic study for Antimicrobial Coatings*, Master Arbeit, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2009
- [Kumar2008] A. Kumar: *Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil*, Nat. Mater., 7 (2008) 236
- [Kreibig1995] U. Kreibig, M. Vollmer: *Optical Properties of Metal Clusters*, Springer Verlag Berlin (1995)
- [Lansdown2002] A. Lansdown: *Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action.*, Journal of wound care, 11 (2002) 125
- [Lawrence2005] E. Lawrence: *Materials for urinary catheters: a review of their history and development in the UK*, Medical Engineering & Physics 27 (2005) 443
- [Lee1994] W. Lee: *Preparation and properties of amorphous TiO₂ thin films by plasma enhanced chemical vapor deposition*, Thin Solid Films, 237 (1994) 105
- [Lee2003] H. Lee: *Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics*, Journal of Materials Science, 38 (2003) 2199
- [Li2010] X. Li: *Dissolution-Accompanied Aggregation Kinetics of Silver Nanoparticles*, Langmuir, 26 (2010) 16690
- [Linsebigler1995] A. Linsebigler: *Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results*, Chem. Rev., 95 (1995) 735
- [Liu2010] J. Liu: *Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids*, Environ. Sci. Technol., 44 (2010) 2169
- [Liu2011] J. Liu: *Kinetics and Mechanisms of Nanosilver Oxysulfidation*, Environ. Sci. Technol., 45 (2011) 7345
- [Lok2007] C. Lok: *Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities*, J. Biol. Inorg. Chem., 12 (2007) 527
- [Mauritz2004] K. Mauritz: *State of Understanding of Nafion*, Chem. Rev. 104 (2004) 4535
- [Marabio2010] C. Marambio-Jones: *A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment*, J Nanopart Res, 12 (2010) 1531

- [Mie1908] G. Mie: *Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen*. In Annalen der Physik. Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1908
- [Morones2005] J. Morones: *The bactericidal effect of silver nanoparticles*, Nanotechnology 16 (2005) 2346
- [Mudunkotuwa2011] A. Mudunkotuwa: *The devil is in the details (or the surface): impact of surface structure and surface energetics on understanding the behavior of nanomaterials in the environment*, J. Environ. Monit., 13 (2011) 1135
- [Müller2008] N. Müller: *Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment*, Environ. Sci. Technol., 42 (2008) 4447
- [Monteiro2009] D. Monteiro: *The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver*, International Journal of Antimicrobial Agents 34 (2009) 103
- [Ohring2002] M. Ohring: *The Materials Science of Thin Films*, Academic Press San Diego (2002)
- [Ostwald1900] W. Ostwald: *Über die vermeintliche Isomerie des roten und gelben Quecksilberoxyds und die Oberflächenspannung fester Körper*, Zeitschr. für physikalische Chemie, 34 (1900) 495
- [Phenrat2008] T. Phenrat: *Stabilization of aqueous nanoscale zerovalent iron dispersions by anionic polyelectrolytes: adsorbed anionic polyelectrolyte layer properties and their effect on aggregation and sedimentation*, J Nanopart Res, 10 (2008) 795
- [Poppa1993] H. Poppa: *Nucleation, Growth, and TEM Analysis of Metal Particles and Clusters Deposited in UHV*, Catal. Rev.-Sci. Eng., 35 (1993) 359
- [Prodan2003] E. Prodan: *A Hybridization Model for the Plasmon Response of Complex Nanostructures*, Science 302 (2003) 419
- [Rai2009] M. Rai: *Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials*, Biotechnology Advances, 27 (2009) 76
- [Ramstedt2009] M. Ramstedt: *Bacterial and mammalian cell response to poly(3-sulfopropyl methacrylate) brushes loaded with silver halide salts*, Biomaterials 30 (2009) 1524

- [Schmidt2003] M. Schmidt: *Oxygen and Silver Clusters: Transition from Chemisorption to Oxidation*, Phys. Rev. Lett., 91 (2003) 243401
- [Schürmann] U. Schürmann: *Eigenschaften von Polymer-Silber-Nanokompositen hergestellt durch Co-Sputtern*, Dissertation, Technische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 2006
- [Shrivastava2007] S. Shrivastava: *Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles*, Nanotechnology, 18 (2007) 225103
- [Smith1995] D. Smith: *Thin Film Deposition - Principles and Practice*, McGraw-Hill (1995)
- [Som2011] C. Som: *Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and façade coatings*, Environment International, 37 (2011) 1131
- [Stebounova2011] L. Stebounova: *Silver nanoparticles in simulated biological media: a study of aggregation, sedimentation, and dissolution*, J Nanopart Res, 13 (2011) 233
- [Thamaphat2008] K. Thamaphat: *Phase Characterization of TiO₂ Powder by XRD and TEM*, Kasetsart J. (Nat. Sci.), 42 (2008) 357
- [Tilocca2004] A. Tilocca: *Vertical and Lateral Order in Adsorbed Water Layers on Anatase TiO₂(101)*, Langmuir, 20 (2004) 8379
- [Valappil2007] S. Valappil: *Effect of Silver Content on the Structure and Antibacterial Activity of Silver-Doped Phosphate-Based Glasses*, Antimicrob. Agents Chemother., 51 (2007) 4453
- [Venables1994] J. Venables: *Atomic processes in crystal growth*, Surf. Sci. 299-300 (1994) 798
- [Wei2011] M. Wei: *Diffusion of water molecules confined in slits of rutile TiO₂(1 1 0) and graphite(0001)*, Fluid Phase Equilibria 302 (2011) 316
- [Williams 2010] L. Williams: *Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents*, International Geology Review, 52 (2010) 745
- [Xu2009] Y. Xu: *In Vitro Comparison of the Efficacies of Natamycin and Silver Nitrate against Ocular Fungi*, Antimicrob. Agents Chemother., 53 (2009) 1636

- [Yamanaka2005] M. Yamanaka: *Bactericidal actions of a silver ion solution on Escherichia coli, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis*, Appl. Environ. Microbiol., 71 (2005) 7589
- [Yang2009] W. Yang: *Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA*, Nanotechnology, 20 (2009) 085102
- [Yao1993] J. Yao: *Theory and simulation of Ostwald ripening*, Physical Review B, 47 (1993) 110
- [Zaporajtchenko2006] V. Zaporajtchenko: *Physico-chemical and antimicrobial properties of co-sputtered Ag-Au/PTFE nanocomposite coatings*, Nanotechnology, 17 (2006) 4904

Danksagung

Als ich damals die Stelle am Institut für Materialwissenschaft, Materialverbunde angetreten habe, war ich als Physiker mit dem Schwerpunkt der Astrophysik fachfremd. Dennoch hat Herr Prof. Dr. Franz Faupel mir die Möglichkeit für diese Arbeit gegeben. Dafür möchte ich mich von ganzem Herzen bedanken. Auch wurde mir die Eingewöhnung sehr leicht gemacht, denn seine Tür stand mir für wissenschaftliche, aber auch für persönliche Fragen immer offen.

Meinen Betreuern Dr. Vladimir Zaporojtchenko und Dr. Thomas Strunskus danke ich, dass sie mir während der Bearbeitung meiner Themen immer mit Rat und Tat beistanden und mich bei neuen Ideen unterstützten.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Klaus Rätzke. Er stand mir in meiner Zeit als Doktorand immer mit Ratschlägen bei, und er schaffte es, mich immer wieder aufs Neue zu motivieren.

Herrn Dipl.-Ing. Stefan Rehders möchte ich meinem Dank dafür aussprechen, dass er sowohl die Anlagen für diese Arbeit entwickelt hat, als auch durch seinen Einsatz und seine technische Expertise immer eine Lösung für auftretende Probleme hatte. Herrn Dipl.-Ing. Rainer Kloth danke ich für die Unterstützung bei allen Computerproblemen.

Ich freue mich, über die Jahre ein Teil einer freundschaftlichen und entspannten Arbeitsgruppe gewesen sein zu dürfen. Ich habe viele Freunde gefunden, und auch wenn ich nicht alle aufzählen kann, danke jedem einzelnen für die schöne Zeit. Betonen möchte ich an dieser Stelle Dipl.-Chem. Christina Pakula, Dr. Henry Greve, Dr. Ulrich Schürmann und Dr. Sebastian Wille, die mich besonders zum Ende der Arbeit nicht nur fachlich sondern genauso moralisch unterstützt haben. Und ich danke Dipl.-Ing. Kerstin Meurisch für die vielen Denkanstöße, wenn es wieder nicht voran ging.

Viele Ergebnisse waren nur durch die enge Kooperation mit anderen Wissenschaftlern und Arbeitsgruppen möglich, denen ich danken möchte.

Ich danke Dr. Kiran Chakravadhanula, mit dessen Zusammenarbeit die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit entstanden. Herrn Dr. Seid Jebril danke ich für die Durchführung der EDX-Messungen, sowie B.Sc. Maike Wegner und Dipl.-Phys. Tilo Peter für die XPS-Messungen. Auch danke ich Herrn Prof. Dr. Mady Elbahri für die Hilfestellungen bei den optischen Messungen.

Frau Dr. Claudia Röhl und Herrn Prof. Dr. Rainer Podschun vom Universitätsklinikum Schleswig-Holstein danke ich für die Kooperation bei den medizinischen Untersuchungen.

Dipl.-Ing. Ulrike Westernströer und Dr. Dieter Garbe-Schönberg vom Institut für Geowissenschaften / ICP-MS-Labor danke ich für die Hilfe bei der Entwicklung der Messmethoden und natürlich der Bereitstellung von Material und vor allem Zeit.

Ich möchte an dieser Stelle Herrn Dr. Detlev Repenning danken, der mich überhaupt erst auf das Titandioxid brachte und mich bei meinen Schritten mit diesem Material begleitete.

Besonderer Dank gilt B.Sc. Natalie Wohner, die mich lange Zeit als studentische Hilfskraft engagiert und hochmotiviert unterstützt hat.

Mindestens genauso wichtig ist neben der fachlichen Betreuung das familiäre Umfeld für den erfolgreichen Abschluss einer Doktorarbeit. So danke ich meinen Eltern Vinka und Stipan, die mich seit je her bei allen meinen Ideen und Plänen begleiteten und mir halfen bis zum heutigen Tag, alle meine gesteckten Ziele erfolgreich zu erreichen.

Ich danke meinen beiden Brüdern Viktor und Stjepan für ihren uneingeschränkten Rückhalt und ihrer Hilfe in jeder Situation.

Ich danke meinen Schwiegereltern Petra und Winnie und der ganzen Familie Wellmann, die während der Zeit immer voll hinter mir standen und mir soweit sie es vermochten immer beistanden.

Die letzten Worte dieser Arbeit widme ich meinen wichtigsten Menschen. Ich danke meiner Frau Mareike und meinen Kindern Janko und Ylvi, die mir während der ganzen Zeit immer die Kraft gaben, durchzuhalten, und mir halfen, mich nach jedem Rückschlag wieder aufzuraffen. Danke!