

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten  
der Universität Würzburg

Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der  
Zahnheilkunde

Lehrstuhlinhaber: Prof. Dr. Jürgen Groll

---

**Modifikation von Titanoberflächen mittels  
elektrochemischer Abscheidung von  
Magnesiumphosphaten**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Florian Wenninger

aus Leverkusen

Würzburg, März 2013



Referent: Prof. Dr. Uwe Gbureck

Korreferent: Prof. Dr. Dr. Alexander Kübler

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Jürgen Groll

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.2013

Der Promovend ist Zahnarzt

**Meinen Eltern  
gewidmet**



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Kenntnisstand</b> .....	<b>3</b>
2.1	Titan als Implantatwerkstoff.....	3
2.1.1	Reintitan und Titanlegierungen.....	3
2.1.2	Mechanische und biologische Eigenschaften von Titan .....	4
2.1.3	Osteokonduktion.....	4
2.1.4	Osteoinduktion.....	5
2.1.5	Osteointegration .....	5
2.2	Der menschliche Knochen und seine chemische Zusammensetzung ..	6
2.3	Oberflächenbehandlungen von Titanimplantaten .....	8
2.3.1	Titanoberflächenbehandlung mittels Sandstrahlen .....	9
2.3.2	Titanoberflächenbehandlung mittels Säureätzung.....	10
2.3.3	Titanoberflächenbehandlung mittels Titan-Plasmaspritzen .....	11
2.3.4	Titanoberflächenbehandlung mittels Anodisation .....	11
2.4	Beschichtungsverfahren von Titanoberflächen .....	12
2.4.1	Plasmaspritztechnik.....	12
2.4.2	Elektrochemische Abscheidung.....	15
2.5	Calciumphosphate.....	15
2.6	Magnesiumphosphate .....	18
2.6.1	Vorkommen von Magnesiumphosphaten in Nierensteinen.....	18
2.6.2	Vorkommen von Magnesiumphosphaten in Abwässern .....	19
2.6.3	Magnesiumphosphate als Dünger .....	20
2.6.4	Magnesiumphosphatzemente (MPC) in der Zahntechnik .....	20
2.6.5	Weitere Anwendungen von Magnesiumphosphatzementen .....	21
<b>3</b>	<b>Material und Methode</b> .....	<b>22</b>
3.1	Elektrolyte .....	22
3.1.1	Experimentelle Elektrochemie .....	22
3.1.2	Günstigste Elektrolytzusammensetzungen und Versuchsparameter für magnesiumphosphathaltige Beschichtungen .....	24
3.1.3	pH-Wert-Messungen der Elektrolyte.....	25
3.2	Herstellung der Titanproben .....	25

3.2.1	Erste Reinigung der Titanproben .....	26
3.2.2	Oberflächenaufrauung durch Sandstrahlen .....	26
3.2.3	Zweite Reinigung der Titanproben .....	26
3.3	Versuchsaufbau für die elektrochemische Abscheidung .....	27
3.3.1	Aufbau von Kathode und Anode .....	27
3.3.2	Elektrochemische Abscheidung an der Kathode .....	28
3.3.3	Potentiostat und Messwiderstand .....	29
3.4	Sterilisation und Desinfektion von beschichteten Titanproben .....	31
3.5	Einlagerungsversuche .....	31
3.5.1	Einlagerung in Simulated Body Fluid (SBF) .....	32
3.5.2	Einlagerung in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) .....	33
3.5.3	Einlagerung in fötalem Kälberserum (fetal calf serum, FCS) .....	33
3.5.4	Aufbau der Einlagerungsversuche .....	34
3.6	Analyse der Proben mittels Röntgendiffraktometrie (XRD) .....	35
3.7	Rasterelektronenmikroskopie .....	37
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>38</b>
4.1	Elektrochemische Abscheidung .....	38
4.1.1	Ermittlung geeigneter Stromstärken der Beschichtungen .....	38
4.1.2	Elektrochemische Abscheidung von Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) .....	40
4.1.3	Elektrochemische Abscheidung von Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) .....	45
4.1.4	Massenabscheidungen bei den elektrochemischen Beschichtungen von Struvit und Newberyit .....	47
4.1.5	Herstellung von Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) .....	49
4.1.6	Versuch der Abscheidung von Struvit-K ( $\text{MgKPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) .....	51
4.2	Charakterisierung der Beschichtungen nach Einlagerung mittels Röntgendiffraktometrie (XRD) und Rasterelektronenmikroskopie .....	52
4.2.1	Charakterisierung von Struvit nach Einlagerung .....	52
4.2.2	Charakterisierung von Dittmarit nach Einlagerung .....	63
4.2.3	Charakterisierung von Newberyit nach Einlagerung .....	76
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>80</b>
5.1	Prozess der Abscheidung von Struvit .....	80
5.1.1	Einfluss des Ionenproduktes auf die Abscheidung .....	81
5.1.2	Einfluss des Löslichkeitsproduktes auf die Abscheidung .....	82

5.1.3	Einfluss des pH-Wertes auf die Abscheidung .....	82
5.1.4	Einfluss der Temperatur auf die Abscheidung .....	84
5.1.5	Analyse der Struvitbeschichtungen mittels REM .....	85
5.2	Prozess der Abscheidung von Newberyit .....	86
5.3	Prozess der Umwandlung von Struvit zu Dittmarit .....	89
5.4	<i>In-vitro</i> -Verhalten von Struvit .....	91
5.4.1	Struvit nach Einlagerung in SBF .....	93
5.4.2	Struvit nach Einlagerung in DMEM .....	94
5.4.3	Struvit nach Einlagerung in FCS .....	95
5.5	<i>In-vitro</i> -Verhalten von Dittmarit .....	96
5.5.1	Dittmarit nach Einlagerung in SBF .....	98
5.5.2	Dittmarit nach Einlagerung in DMEM .....	99
5.5.3	Dittmarit nach Einlagerung in FCS .....	100
5.6	<i>In-vitro</i> -Verhalten von Newberyit .....	100
5.7	Bewertung der elektrochemischen Abscheidung als Methode der Oberflächenmodifikation von Titanoberflächen .....	101
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>103</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>105</b>

## Abkürzungsverzeichnis

XRD	X-ray Diffraction, Röntgendiffraktometrie
REM	Rasterelektronenmikroskop
SBF	Simulated Body Fluid
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
FCS	fetal calf serum, fötales Kälberserum (FKS)
HA	Hydroxylapatit
$\alpha$ - und $\beta$ -TCP	$\alpha$ - und $\beta$ -Tricalciumphosphat
ACP	amorphes Calciumphosphat
$Mg(PO_4)_2$	Magnesiumphosphat
MAP	Magnesiumammoniumphosphat
MPC	Magnesiumphosphatzement
FMZ	Abteilung der Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnmedizin (der Universität Würzburg)
PMMA	Polymethylmethacrylat
$\Theta$	Theta
Ti	Titan
cp Ti	commercially pure titanium
Pt	Platin
Al	Aluminium
V	Vanadium
Ni	Nickel
Cu	Kupfer
Co	Cobalt
Cr	Chrom
Mg	Magnesium
Ca	Calcium
K	Kalium
P	Phosphat
Na	Natrium



# 1 Einleitung

Titan hat sich als Werkstoff für enossale Implantate in der Medizin klinisch etabliert, da es hervorragende mechanische und biologische Eigenschaften miteinander vereint [1-5]. Trotz seiner hohen Biokompatibilität besteht weiterhin die Gefahr der Manifestation einer Periimplantitis, welche bei einer umfassenden Infektion, Osteolyse und Implantatlockerung die Indikation zur Explantation darstellt [1]. Um die Wahrscheinlichkeit für den Misserfolg einer Implantation zu minimieren und die Prognose von Implantaten auch im schwierigen Knochenlager oder bei Sofortbelastung weiter zu verbessern, bedarf es der Weiterentwicklung und Modifikation der Werkstoffoberflächen. Hauptziele sind dabei die frühzeitige Osteointegration des Implantates und die Langzeitstabilität der Verankerung im Knochen [6-13].

Seit den 80er Jahren hat sich die Plasmaspritztechnik als gängige Methode zur kommerziellen Beschichtung von Titanimplantaten mit Calciumphosphaten durchgesetzt [14-18], die aufgrund ihrer vorteilhaften Kombination aus den exzellenten mechanischen Eigenschaften des Metalls und der hohen Biokompatibilität der Beschichtung mit guten Ergebnissen in der Implantologie zum Einsatz kommen [19-22]. Nachteilig sind die bei diesem Verfahren auftretenden extremen Temperaturgradienten, die sowohl die Kristallinität der keramischen Schicht [18, 23-26] als auch die Langzeitstabilität des Interfaces negativ beeinflussen können [22, 27-29].

In den 90er Jahren wurde die elektrochemische Abscheidung als alternative Methode zur keramischen Beschichtung entwickelt, mit der sich aufgrund der geringen Prozesstemperaturen niederkristalline Schichten aus verschiedenen Calciumphosphaten (z.B. HA, Bruschit, Monetit) auch auf komplex strukturierte Oberflächen aufbringen lassen [30-37]. Durch Variation der Prozessparameter (Temperatur, Elektrolytzusammensetzung, pH-Wert) können sowohl die chemische Zusammensetzung als auch Morphologie und Kristallinität der Beschichtung gezielt beeinflusst werden [31, 33, 38]. Auf diese Weise lassen sich degradierbare und dem natürlichen Knochenmineral ähnliche Schichten erzeugen, die ein hohes osteointegratives Potential aufweisen.

Durch die Suche nach Alternativen zu den eher schwer degradierbaren calciumphosphatbasierten Knochenzementen haben die Magnesiumphosphate in den letzten Jahren die Aufmerksamkeit auf sich gezogen [39-42], da sie deutlich höhere Löslichkeiten aufweisen [40-42] und nach bisherigen Erkenntnissen *in vivo* weder toxische, noch kanzerogene oder mutagene Eigenschaften besitzen [39]. Besonders Struvitzement erwies sich als deutlich besser löslich als Hydroxylapatit- [40, 42], Bruschi- oder Monetizemente [41], zeigte gleichzeitig aber eine ebenso gute Zytokompatibilität [39-40] und des Weiteren gute mechanische Eigenschaften, wie z.B. eine hohe Druckfestigkeit und eine klinisch praktikable Verarbeitungszeit [42-43]. Vor diesem Hintergrund entstand die Motivation für die vorliegende Arbeit, die positiven Eigenschaften der Magnesiumphosphate mit den Vorteilen einer elektrochemischen Modifikation metallischer Implantatoberflächen zu verknüpfen. Zielsetzung war es, durch die Nutzung der etablierten Methode zur elektrochemischen Abscheidung von Calciumhydroxidschichten [44], Magnesiumphosphat-schichten auf Titanoberflächen zu erzeugen. Die Parameter der elektrochemischen Deposition sollten dabei derart variiert werden, dass sich verschiedene Orthophosphate des Magnesiums (Struvit, Dittmarit, Newberyit und Struvit-K) gezielt abscheiden lassen.

Um das voraussichtliche Verhalten dieser Beschichtungen unter physiologischen Bedingungen zu untersuchen, wurden die abgeschiedenen Magnesiumphosphatmodifikationen in drei unterschiedliche quasi-physiologische Medien eingelagert. Dabei kamen sowohl simulierte Körperflüssigkeit (Simulated Body Fluid, SBF), deren rein anorganische Zusammensetzung dem Mineralgehalt menschlicher Körperflüssigkeit nachempfunden ist, als auch das Zellkulturmedium DMEM und fötales Kälberserum (FCS), die neben den mineralischen Komponenten auch biochemische Bestandteile enthalten, zum Einsatz. Die durch die Einlagerung hervorgerufenen kompositorischen bzw. kristallographischen Veränderungen der Beschichtungen wurden dann mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie analysiert, während die Rasterelektronenmikroskopie für die Beobachtung eventueller Veränderungen der Schichtmorphologie herangezogen wurde.

## 2 Kenntnisstand

### 2.1 Titan als Implantatwerkstoff

#### 2.1.1 Reintitan und Titanlegierungen

In der heutigen Zeit hat sich Titan als geeigneter Werkstoff für enossale Implantate in der Zahnmedizin durchgesetzt und wird nun schon seit über 40 Jahren benutzt [2-3]. Das sogenannte Reintitan ist als Material für dentale Implantate am gebräuchlichsten, wobei man unter diesem Begriff auch eine Legierung mit Sauerstoff und Stickstoff versteht. Durch die Zugabe von Sauerstoff und Stickstoff wird die Festigkeit des reinen Titans erhöht [1]. Genauer gesagt nehmen Zugfestigkeit und Härte des unlegierten Titans mit der Konzentration an Fremdstoffen, vor allem Sauerstoff, zu, während gleichzeitig Schlagzähigkeit und Bruchdehnung reduziert werden [45]. Die Reinheit handelsüblichen Titans wird über die Anteile von Sauerstoff, Kohlenstoff und Eisen charakterisiert und unterteilt sich in Reinheitsgrade von 1 bis 4. Die meisten dentalen Implantate werden aus kommerziellem Reintitan mit dem Reinheitsgrad 4 hergestellt (cp Ti 4), da dieses bessere mechanische Eigenschaften (höhere Härte und Festigkeit) als andere Grade besitzt [46].

In der Implantologie werden aber auch verschiedene Titanlegierungen benutzt, z.B. Titanium 6-Aluminium 4-Vanadium (Ti-6Al-4V) und Titanium 6-Aluminium 7-Niob (Ti-6Al-7Nb) [2, 47]. Diese Legierungen besitzen sowohl noch höhere Druck- und Biegefestigkeiten, als auch bessere Ermüdungseigenschaften als Reintitan [47]. Zellkulturuntersuchungen haben gezeigt, dass zwischen legiertem und reinem Titan kein wesentlicher Unterschied bezüglich der Zellverträglichkeit festgestellt werden kann [48]. Eine Überlegenheit des reinen Titans gegenüber der Legierung zeigte sich jedoch *in vivo* bezüglich der knöchernen Einheilung [49-50]. Weitergehend hat man herausgefunden, dass sich aus Ti-6Al-4V Aluminium herauslösen kann, welches im Verdacht steht, Nervenkrankheiten verursachen zu können [13, 51-52]. Auch eluiertes Vanadium steht im Verdacht, schädlich für den Körper zu sein, da es bei lokaler Anhäufung durch seine zelluläre Toxizität umliegende Organe und Zellen schädigen kann [13, 52-53]. Diese Befürchtungen bezüglich eluiertem

Aluminium und Vanadium brachten fast alle Implantathersteller dazu, reines Titan zu bevorzugen, oder zumindest Titanlegierungen zu benutzen, die auch ohne Al und V sehr gute mechanische und chemische Eigenschaften bei guter Biokompatibilität besitzen [54-55].

### **2.1.2 Mechanische und biologische Eigenschaften von Titan**

Titan ist bisher der Implantatwerkstoff der Wahl, da dieses Metall besonders günstige mechanische und biologische Eigenschaften vereint. Es besitzt eine große Bruchfestigkeit und eine hohe Korrosionsfestigkeit bei gleichzeitig relativ geringem Gewicht [46]. Titan hat den Vorteil, dass seine mechanischen Eigenschaften den Eigenschaften des Knochens näher kommen als die von Stahl oder Co-Cr-Legierungen. Aufgrund seiner positiven Eigenschaften ist Titan zur Zeit das optimale Metall, um Knochendefizite zu ersetzen oder zu stabilisieren [2]. Weitere mechanische Eigenschaften von Implantaten aus Reintitan werden von NATALI [56] ausführlich beschrieben.

Titan passiviert sehr schnell in korrosiven Medien und bildet eine Oxidschicht ( $\text{TiO}_2$ ), die gegen eine Zersetzung durch die meisten Säuren und Chloride resistent ist [45]. Es gibt keine Lochfraßkorrosion, da die Passivschicht von Ionen nicht durchbrochen werden kann. Bei einer Verletzung der Passivschicht erfolgt eine Repassivierung sofort [47]. Aus dieser passivierenden Oxidschicht resultiert auch die sehr gute Biokompatibilität von Titan [2]. In der Literatur sind bisher keine Hypersensitivitäten gegenüber Reintitan bekannt [47, 57]. Titan wird also vom Körper nicht als Fremdkörper erkannt, ist nicht toxisch oder allergen und verursacht keine Blutgerinnung. In der Zahnmedizin und in der Kieferchirurgie haben sich aus diesen Gründen dentale Implantate und Osteosyntheseplatten aus Reintitan durchgesetzt [1]

### **2.1.3 Osteokonduktion**

Die Auffüllung eines Knochendefektes und die mechanische Stabilisierung sind die Hauptaufgaben eines Knochenersatzmaterials. Es ist ebenfalls von großer Bedeutung, dass ein Knochenersatzmaterial eine *osteokonduktive* Wirkung besitzt, wobei das Material als Leitschiene für die Anlagerung von neu gebildetem Knochen fungieren soll [1]. Diese Eigenschaft eines Materials wird

durch seine Oberflächenbeschaffenheit beeinflusst. Eine Rolle spielen die Porosität der Oberfläche, die Fähigkeit der Oberfläche, Proteine anlagern lassen zu können und seine eigene Resorptionszeit. Eine *osteokonduktive* Oberfläche erlaubt ein Knochenwachstum auf sich selbst oder in Kanälen oder Poren [58]. Voraussetzungen für einen Knochenanbau sind das Vorhandensein von Wachstumsfaktoren [59], und das Vorhandensein einer vollen Vaskularisation im Knochen. ALBREKTSSON hat Versuche *in vivo* durchgeführt, die zeigten, dass für eine Knochenkonduktion eine gute Durchblutung dringend benötigt wird [60]. Neben diesen physiologisch-biologischen Umständen muss auch das Implantatmaterial für eine Konduktion im Knochen geeignet sein. Implantate aus Silber oder Kupfer zum Beispiel, stellen für eine *Osteokonduktion* keine brauchbaren Materialien dar [61].

#### **2.1.4 Osteoinduktion**

Wenn Knochenersatzmaterialien als Stimulus für Knochenzellen fungieren, nennt man diese *osteoinduktiv*. Sie initiieren also das Wachstum von undifferenzierten Mesenchymzellen, welche den Prozess der Knocheninduktion erzeugen, und sich dann von Preosteoblasten zu Osteoblasten und letztendlich zu Osteozyten transformieren [58, 62]. Hierbei ist das Vorkommen von undifferenzierten Zellen für eine Knochenbildung oder die Anheftung von Knochen an einem Implantat eine wichtige Voraussetzung, da diese in der Lage sind, sich durch einen Stimulus in Knochenvorläuferzellen umzuwandeln [63]. Auch wenn schon Osteoblasten an der jeweiligen Knochenstelle vorhanden sind, und dabei helfen, den Knochendefekt wieder aufzubauen, ist bekannt, dass diese nur einen kleinen Teil des Knochens wieder rekonstruieren können [64-65]. Die *Osteoinduktion* stellt per Definition den Prozess dar, bei dem die Osteogenese eingeleitet wird [66].

#### **2.1.5 Osteointegration**

Der Orthopäde BRÅNEMARK beschrieb als erster, dass im Rahmen der Vitalitätsmikroskopie in Kaninchenknochen ein als Knochenfenster dienender glatter Titanzylinder nach einigen Monaten mit dem Knochen verwachsen war. Er benannte dieses Phänomen *Osteointegration* [3, 67]. Die *Osteointegration* ist

als direkte strukturelle und auch funktionelle Verbindung zwischen lebenden Knochen und der Oberfläche eines belasteten Implantates definiert worden [68]. Fast zur gleichen Zeit beschrieb SCHRÖDER diesen biologischen Vorgang an mechanisch belasteten Implantaten als „funktionelle Ankylose“ [69]. Die Implantologie mit Titanimplantaten ist seitdem eine anerkannte Therapiemaßnahme, wobei Titan als Implantatwerkstoff alle positiven Eigenschaften vereint. Die Osteointegration ist kein isoliertes Phänomen, denn eine vorhergehende Osteokonduktion und Osteoinduktion wird vorausgesetzt. Ein Implantat ist osteointegriert, wenn die Verankerung im Knochen eine dauerhafte ist [6, 70].

## **2.2 Der menschliche Knochen und seine chemische Zusammensetzung**

Knochen haben im menschlichen Skelett in erster Linie eine Stützfunktion und ermöglichen die Bewegungen des Körpers, indem sie als Hebel wirken und die Kontraktionen der Skelettmuskeln übertragen. Knochen schützen die inneren Organe und haben eine wichtige metabolische Aufgabe als Speicherorgan, denn 99% des Calciums im Organismus werden in ihm abgelagert [71]. Knochen besteht aus einer dichten äußeren Schicht, der Corticalis, und einem weniger dichten porösen Innenraum, der Spongiosa. Die Corticalis umgibt die mit Knochenmark gefüllte Spongiosa. Periost und Endost bekleiden die äußere und innere Knochenoberfläche und haben die Funktion der Ernährung des Knochens und der Neubildung von Knochensubstanz [71-72].

BILTZ UND PELLEGRINO erforschten 1965 die chemische Zusammensetzung des menschlichen Knochens [73]. 1973 folgte eine Analyse der Zusammensetzung des Knochengewebes auf der Stufe mikroskopischer Strukturen durchgeführt von PUGLIARELLO. In Bezug auf Gewicht und Volumen wurden Calcium, Phosphor, Gesamtstickstoff, Mucopolysaccharide und Kollagen in Knochenproben bestimmt [74]. Die mineralischen und organischen Komponenten von normalen, ausgewachsenen, nicht erkrankten, menschlichen Oberschenkelknochen wurden 1983 von QUELCH bestimmt [75]. Alle analysierten Werte sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengefasst:

**Tabelle 1:** Zusammensetzung des menschlichen Knochens (alle Werte sind für trockenen Knochen; NE: von den Autoren nicht ermittelt)

	Femur eines ausgewachsenen Menschens; Werte von QUELCH [75]	Menschlicher Knochen; Vergleich mit anderen publizierten Werten von BILTZ & PELLEGRINO [73], PUGLIARELLO [74] und NIEMANN & REYMANN [76]
Mineralischer Anteil	66,8 %	67,17 % [73]
Organischer Anteil	27,5 %	NE
Carbonate	5,6 %	5,8 % [73]
Nichtkollagene organische Matrix	2,8 %	NE
Calcium	258,7 mg/g	258,1 mg/g [73]
Phosphor	116,0 mg/g	112,1 mg/g [73] 121,1 mg/g [74]
Ca/P (mg/mg)	2,24	2,3 [73]
Sialinsäure	1,96 µmol/g	0,98 µmol/g [76]
Hydroxyprolin	32,8 mg/g	29,7 mg/g [73] 27,9 mg/g [74]

Die mineralischen Anteile der Interzellularsubstanz des Knochens, die ca. 67 % des Gewichtes des gesamten trockenen Knochens ausmachen [75], bestehen zu ca. 50 % aus anorganischem Phosphat und zu ca. 35 % aus Calcium. Die restlichen 15 % der Knochengrundsubstanz verteilen sich auf die Stoffe Karbonat, Natrium, Magnesium, Ziträt, Nitrat, Fluor und verschiedene Spurenstoffe. Die im Knochen vorkommenden Mineralien liegen größtenteils in Form von Apatitkristallen vor [71]. Andere Calciumphosphate, die in wesentlich geringeren Anteilen vorkommen, sind Bruschit, Monetit, Calcium-Pyrophosphat und Octacalciumphosphat [25]. Vom mineralischen Anteil des menschlichen Knochens machen die Calciumphosphate einen Anteil von ca. 40 % aus, wobei wiederum der Anteil an Hydroxylapatit 60 % beträgt [77].

Die organischen Bestandteile der Knochengrundsubstanz, die ca. 27,5 % des getrockneten Knochens ausmachen [75], bestehen zu ca. 90-95 % aus Kollagen [71], überwiegend Typ-I-Kollagen [78]. Ebenfalls enthalten sind Osteonektin und Osteokalzin, welche für die Stabilität der Knochensubstanz wichtig sind, indem sie die Knochenminerale mit den Kollagenfasern verbinden [71].

Chemisch gesehen ist die Knochensubstanz eine Art Verbundwerkstoff aus Calciumphosphat und Kollagen. Humaner Knochen besteht zudem zu 10 % aus Wasser. Diese physiologische Flüssigkeit erhöht die Elastizität des Knochens, wohingegen die Porosität des Knochens für die mechanische Stabilität und für den Stoffaustausch zwischen den Zellen von Wichtigkeit ist [25, 79-83].

### **2.3 Oberflächenbehandlungen von Titanimplantaten**

Rate und Qualität der Osteointegration von Titanimplantaten sind abhängig von der Oberflächenbeschaffenheit eines Implantates [7-13]. Das bei Implantaten verwendete Titan wird durch verschiedene Oberflächenbehandlungen je nach Verwendungszweck modifiziert. In erster Linie wird eine rauere, vergrößerte Oberfläche des Implantates angestrebt, die eine bessere Mikroretention des verankerten Implantates im Knochen gewährleisten soll [8-9, 13]. Implantate mit höherer Oberflächenrauigkeit haben eine verbesserte frühe Fixation und eine erhöhte Langzeitstabilität im Vergleich zu Implantaten mit glatten Oberflächenbeschaffenheiten [10-12]. Es gibt weitere Studien, die demonstrieren, dass die Oberflächenrauigkeit von Titanimplantaten die Rate der biomechanischen Fixation und die Osteointegration stark beeinflussen [84-85]. Die Biokompatibilität geht von der Oberfläche aus, denn die Einheilung von Implantaten in den Knochen hängt im Wesentlichen von deren Zusammensetzung und Rauigkeit ab, wobei durch das Anrauen sowohl die Verankerung, als auch die biomechanische Stabilität verbessert werden [86]. In Zellversuchen wurde festgestellt, dass durch eine erhöhte Mikrorauigkeit auch eine gesteigerte Adhäsion und Matrixproduktion von Osteoblasten hervorgerufen wird [87].



Nachteilig bei einer sehr hohen Oberflächenrauigkeit könnten sowohl ein leicht erhöhtes Risiko einer Periimplantitis aufgrund der erleichterten Adhäsionsmöglichkeiten für Bakterien, als auch eine Steigerung der Ionenausströmung aufgrund der stark vergrößerten Oberfläche sein [88]. Diese beiden Risiken können durch das Nutzen mittlerer Rauigkeiten von 1-2 µm minimiert werden [89]. Die Rauigkeit von industriell hergestellten dentalen Implantaten variiert zwischen den Werten 1-10 µm, und soll die Verblockung zwischen Knochen und der Oberfläche des Implantates maximieren [84, 90]. Mit mechanischen Methoden wie Sandstrahlen, Polieren oder Schleifen werden die Titanoberflächen bearbeitet. Auch die chemische Oberflächenbehandlung mittels Ätzen ist weit verbreitet [91-93]. Diese Methoden werden von Implantatherstellern auch kombiniert verwendet, wodurch sie größere, aufgeraute Implantatoberflächen erzeugen, die eine bessere mechanische Festigkeit im Knochenfach, eine effektivere und rigidere Implantatfixation durch eine festere Arretierung im Knochen, eine geringere Lockerungstendenz und dadurch letztendlich auch eine schnellere Einheilung des Implantates im Knochen versprechen [12, 94].

### **2.3.1 Titanoberflächenbehandlung mittels Sandstrahlen**

Die am meisten genutzte Methode der Oberflächenbehandlung von dentalen Titanimplantaten ist das Bestrahlen der Implantate mit harten keramischen Partikeln [2], wobei diese mit hoher Geschwindigkeit mittels Pressluft durch eine enge Düse auf die Oberflächen geschossen werden.

#### **2.3.1.1 Sandstrahlen mit Korund (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)**

Korund ist nach dem Diamant das zweithärteste natürlich vorkommende Mineral. Es ist ein häufig benutztes Strahlmaterial, welches chemisch stabil und zytokompatibel ist, d.h., dass bei Verbleiben von möglichen Korundrückständen keine negativen biologischen Reaktionen ausgehend von der bearbeiteten Titanoberfläche hervorgerufen werden [95]. Es kann vorkommen, dass durch die Kugelstrahlung, aufgrund der hohen Aufprallgeschwindigkeit zwischen Partikel und Implantatoberfläche, Partikel auf der Implantatoberfläche auch nach Ultraschallreinigung verweilen [96-98]. Diese Verunreinigung der

Titanoberfläche könnte aber die ausgezeichnete Korrosionsresistenz des Titans in einer physiologischen Umgebung verändern [99].

#### 2.3.1.2 Sandstrahlen mit Titandioxid (TiO<sub>2</sub>)

Häufig werden Titanimplantate mit dem Strahlmittel Titandioxid bearbeitet. Eine experimentelle Studie, in der Mikroimplantate ein Mal mit Titandioxidpartikeln gestrahlt wurden und ein Mal nicht, zeigte nach Entnahme und einer histomorphometrischen Evaluation, dass bei kugelgestrahlten Implantaten ein signifikant höherer Knochen-zu-Implantat-Kontakt nachzuweisen war [100]. Eine Zunahme des Knochen-zu-Implantat-Kontaktes konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden [10, 101]. Klinische Studien mit Laufzeiten von bis zu zehn Jahren konnten größere Erfolgsraten und einen höheren marginalen Knochenlevel für Titandioxid-kugelgestrahlte Implantate im Vergleich zu maschinell gedrehten Implantaten feststellen [102-104].

#### 2.3.1.3 Sandstrahlen mit Calciumphosphaten

Eine dritte Möglichkeit der Oberflächenaufrauung von Titanimplantaten ist die Benutzung von Calciumphosphaten als Strahlmittel. Es gibt experimentelle Studien, die einen höheren Knochen-zu-Implantat-Kontakt bei mit Calciumphosphaten gestrahlten Oberflächen im Vergleich zu maschinell gedrehten Titanoberflächen nachweisen konnten [105-106].

### **2.3.2 Titanoberflächenbehandlung mittels Säureätzung**

Um eine Oberflächenrauigkeit auf Titanimplantaten zu schaffen, werden diese auch mit verschiedenen starken Säuren, wie HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und HF geätzt. Diese Säuren bilden Mikrovertiefungen auf der Titanoberfläche mit Größen von 0,5 bis 2,0 µm im Durchmesser [107-108]. Diese Methode ist weit verbreitet, denn nach dem Ätzen von Titan hat man eine Steigerung der Osteointegrationsrate feststellen können [109]. In einer experimentellen Studie, in der geätzte mit nicht geätzten Implantaten verglichen wurden, hatten die geätzten Implantate eine viermal größere Festigkeit im Knochen als die nicht bearbeiteten Implantate. Somit konnte nachgewiesen werden, dass chemische Ätzung von Implantatoberflächen die Stärke der Osteointegration erhöht [110].

Auf Titanoberflächen, die eine Rauigkeit durch Säureätzung erlangten, konnten höhere Schichtdicken von osteoblastischen Zellen nachgewiesen werden als auf glatten, polierten Titanoberflächen [107]. Weitere experimentelle Studien berichten von einem höheren Knochen-zu-Implantat-Kontakt und einer geringeren Knochenresorptionsrate mit säuregeätzten Oberflächen im Vergleich zu maschinell gedrehten oder Titan-Plasma-gespritzten Oberflächen [111-112]. Dennoch könnten chemische Behandlungen, wie das Ätzen mit starken Säuren die mechanischen Eigenschaften von Titan reduzieren. Säureätzung kann zu wasserstoffinduzierter Versprödung führen, und somit durch Bildung von oberflächlichen Mikrorissen die mechanische Belastbarkeit von dentalen Implantaten herabsetzen [113].

### **2.3.3 Titanoberflächenbehandlung mittels Titan-Plasmaspritzen**

Eine weitere gängige Methode, um raue Implantatoberflächen zu schaffen, ist das Plasmaspritzen mit Titan. Hier wird Titanpulver bei hohen Temperaturen in einen Plasmabrenner geführt, um es dann auf die Implantatoberfläche zu schießen. Dort verdichten sich die Titanpartikel, verschmelzen und bilden dabei einen etwa 30 µm dicken Titanfilm, der eine mittlere Rauigkeit von 7 µm aufweist [11, 114]. Diese Beschaffenheit steigert die Stärke der Haftfestigkeit zwischen der Implantat- und der Knochenoberfläche im Vergleich zu Implantaten mit glatten Oberflächen, aufgrund des größeren prozentualen Anteils an Knochen-Implantat-Kontakt. Im Versuch forderte dies auch eine höhere Extraktionskraft für das Implantat [115]. In einer klinischen Studie wurden sandgestrahlte und säuregeätzte Implantate mit Titan-Plasma-gespritzten Implantaten verglichen, doch kein klinischer Unterschied konnte festgestellt werden [116]. In der modernen Implantologie gibt es heutzutage Einigkeit darüber, Implantate aus Titan mit mittelgradiger Rauigkeit denen vorzuziehen, die eine sehr starke Rauigkeit durch Titan-Plasmaspritzen besitzen [11, 117].

### **2.3.4 Titanoberflächenbehandlung mittels Anodisation**

Das Anodisieren ist ein elektrochemisches, schichtbildendes Verfahren, wobei durch die Wahl des Elektrolyten, dessen Temperatur und der angelegten

Spannung die Zusammensetzung und die Dicke der Oxidschicht bestimmt wird. Die galvanostatische oder potentiostatische Anodisation von Titan in starken Säuren wie  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  oder  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ist eine komplexe Methode der Oberflächenmodifikation von Titanimplantaten, bei der mikro- oder nanostrukturierte Oberflächen entstehen [118]. Wenn starke Säuren in einer Elektrolytlösung benutzt werden, wird die Oxidschicht entlang der elektrischen Feldlinien gelöst und in anderen Regionen verdickt. So werden Mikro- oder Nanoporen auf der Titanoberfläche gebildet [118-121]. Die Anodisation verdickt die Oxidschicht auf dem Titan bis zu 1000 nm [118-119, 122], wobei die Mikrostruktur der Titandioxidschicht modifiziert wird [122]. Klinisch wurde eine höhere Erfolgsrate von anodisierten Titanimplantaten im Vergleich zu mechanisch gedrehten Titanimplantaten festgestellt [123].

Magnesium, Calcium, Schwefel oder Phosphor wurden bereits als Modifikation der chemischen Zusammensetzung der Oxidschicht in Versuchen beigemischt [124-126]. Es ist möglich, dass Phosphatgruppen im Titandioxid eine chemische Bindung für Calciumionen und Hydroxylapatite der Knochenmatrix während der biologischen Mineralisation anbieten [126]. Calciumionen-dotierte Titanimplantate zeigten eine schnelle und starke Osteointegration im Tierversuch [125]. Ebenfalls wurde herausgefunden, dass das Integrieren von Magnesiumionen in die Titandioxidschicht, im Vergleich zu anderen getesteten Ionen, nach Implantation eine höhere Extraktionskraft für das Implantat forderte. Eine bessere Osteointegration dieser mit Magnesiumionen dotierten Schicht wurde vermutet [119].

## **2.4 Beschichtungsverfahren von Titanoberflächen**

### **2.4.1 Plasmaspritztechnik**

Die Plasmaspritztechnik ist die am meisten genutzte Methode, um Metalloberflächen kommerziell mit Keramiken zu beschichten [16-18]. Auf Calciumphosphaten basierende Keramiken werden seit den 1980ern als Biomaterialien in der Medizin verwendet und mit diesem Verfahren auf die Metalloberflächen aufgebracht [14-15]. Durch die Plasmaspritztechnik werden Calciumphosphate wie z.B. Hydroxylapatit, Bruschiit oder Monetit auf Titan

aufgebracht, indem die keramischen Partikel in einen Plasmabrenner bei extrem hohen Temperaturen (ca. 20.000 bis 30.000 °C) eingespritzt und auf eine Titanoberfläche projiziert werden. Dort verdichten sich die Partikel, schmelzen zusammen und bilden letztendlich eine dünne Schicht. So können plasmagespritzte Beschichtungen mit einer Dicke von wenigen Mikro- bis Millimetern aufgetragen werden. Die Oberfläche des Implantates sollte durch Sandstrahlung oder einer ähnlichen Methode vorher aufgeraut werden, um die nötige mechanische Retention für die Beschichtung zu schaffen, denn die Verbindungsstärke zwischen der Beschichtung und der Oberfläche des Metalls ist beim Plasmaspritzen größtenteils von ihrer mechanischen Verblockung abhängig [16].

Die Plasmaspritztechnik hat es ermöglicht, die sehr guten mechanischen Eigenschaften von Titan, Titanlegierungen oder anderen gebräuchlichen Metallen mit der guten Biokompatibilität von z.B. HA zu kombinieren. Deshalb werden mit dieser Methode beschichtete Titanprothesen oder Titanimplantate schon in etlichen klinischen Bereichen mit vielversprechenden Ergebnissen eingesetzt [19-22]. Titanimplantate, die durch die Plasmaspritztechnik mit Hydroxylapatit beschichtet wurden, haben bereits gute mechanische Eigenschaften und Bioaktivität bewiesen und zeigten zudem eine verbesserte direkte Knochenverbindung nach Implantation [23, 127-128].

Die Methode des Plasmaspritzens hat einige Nachteile, wie die Verursachung einer starken Restspannung an der Grenzfläche zwischen Material und Beschichtung, sowie extreme Veränderungen in der Komposition und der Kristallinität des ursprünglichen Calciumphosphatpulvers [16, 21, 129-130]. Die Temperatur der Flamme des Plasmas ist weit über dem Schmelzpunkt von Hydroxylapatit (1550 °C) und verursacht eine Veränderung der Komposition und der Kristallinität des Stoffes [23]. Mögliche Calciumphosphatphasen in plasmagespritzten Hydroxylapatitbeschichtungen sind Tricalciumphosphate ( $\alpha$ - und  $\beta$ -TCP), Tetracalciumphosphate, Calciumoxide und amorphe Calciumphosphate (ACP) [18, 23-24]. Amorphes Calciumphosphat ist weitaus besser löslich als Hydroxylapatit [25-26], was dazu führt, dass die Beschichtung schneller in Lösung geht, bzw. eine schnellere Biodegeneration erfährt. Somit

sind Rate und Schnelligkeit der Biodegradation stark abhängig vom Verhältnis HA/ACP. Auch die anderen erwähnten Calciumphosphatphasen besitzen eine höhere Löslichkeit als HA [26]. Das Verhalten einer Beschichtung *in vivo* wird durch diese Veränderungen der chemischen Zusammensetzung schlecht kalkulierbar.

Manche plasmagespritzte HA-Beschichtungen zeigen sehr geringe Anzeichen der Resorption innerhalb der ersten neun Monate postoperativ. Somit sind diese Beschichtungen dafür anfälliger geworden, über einen langen Zeitraum doch zu einem Implantatverlust, der von der Grenzschicht Beschichtung/Implantat ausgeht, zu führen [27]. Solche sehr schwer resorbierbaren HA-Bruchstücke könnten Osteoklastenaktivität, Knochenverlust und zuletzt einen aseptischem Implantatverlust provozieren [28-29]. Die Stabilität der Beschichtung ist abhängig von der Kristallinität der in ihr vorkommenden Stoffe. Die Kristallinität wiederum ändert sich bei der Umwandlung zu einer amorphen Phase und bei der Rekristallisation während des Vorgangs des Plasmaspritzens [23]. Eine unregelmäßige Biodegradation der Beschichtung könnte zu einem inhomogenen Knochen-Implantat-Kontakt oder einem inhomogenen Knochenwachstum um das Implantat herum führen. Weitergehend könnten sich auch auf diesem Weg einzelne Fragmente der Beschichtung ablösen und es könnte zu einer frühzeitigen Auflösung der Beschichtung kommen [131]. Eine unvollständige oder sogar missglückte Osteointegration des Implantates wäre hier die Folge.

Ein weiteres Problem der Beschichtungsart liegt in der variierenden und schlecht zu regulierenden Schichtdicke [21, 131]. Die Technik des Plasmaspritzens als solches ist nicht besonders gut geeignet, um kleine dentale Implantate mit komplexer Form gleichmäßig zu beschichten, denn Plasmaspritzen ist eine „line-of-sight“ Methode, die eine komplexe Oberfläche mit tiefen Riefen und Makroporositäten nicht adäquat beschichten kann [132-135]. Es wurde berichtet, dass es aufgrund dieser negativen Eigenschaft der Plasmatechnik zu Delaminationen von Beschichtungen im dentalen Bereich kam [136]. Wiederum konnte ein meta-analytischer Test, der Daten von Überlebensraten HA-beschichteter Implantate miteinander verglich, nicht

zeigen, dass die Langzeitüberlebensraten von Implantaten, die mit der Plasmaspritztechnik beschichtet wurden, signifikant schlechter waren, als die anderer dentaler Implantate [137].

#### **2.4.2 Elektrochemische Abscheidung**

Die Methode der elektrochemischen Abscheidung wird seit den 1990er Jahren verwendet, um in biomedizinischen Anwendungen Titanoberflächen mit Calciumphosphaten zu beschichten. Der Prozess der Elektrokristallisation wurde erstmals von REDEPENNING ET AL. [30] und SHIRKHAZADEH [31] dafür genutzt, um Calciumphosphatbeschichtungen auf Titanlegierungen zu applizieren, indem sie bei relativ niedrigen Temperaturen einen wässrigen, Ca- und P-Ionen enthaltenden Elektrolyten für die Abscheidung nutzten. Seitdem konnten Abscheidungen von Stoffen wie Brushit ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), Monetit ( $\text{CaHPO}_4$ ) oder Hydroxylapatit (HA,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) erfolgreich mit der Technik der elektrochemischen Abscheidung realisiert werden [32-37]. Vorteilhaft an dieser Beschichtungsmethode war die Möglichkeit, durch Veränderungen der Prozesstemperatur, der Elektrolytzusammensetzung und des pH-Wertes nun sowohl die chemische Zusammensetzung als auch Morphologie und Kristallinität der Beschichtungen kontrolliert steuern zu können [31, 33, 38]. Es gibt soweit zwei Techniken der elektrochemischen Abscheidung, die gebräuchlich sind. Zum einen die direkte Ablagerung von Calciumphosphat auf einer metallischen Kathode, welches die einfachste Technik ist, zum anderen die anodische Oxidation von Metalloberflächen in einem Elektrolyten, der Calcium und Phosphat enthält [37].

### **2.5 Calciumphosphate**

Der anorganische Anteil des menschlichen Hartgewebes (Knochen und Zähne) besteht aus Calciumphosphat, hauptsächlich aus Hydroxylapatit. Calciumphosphate kommen also an sehr vielen Stellen im Körper in gelöster oder fester Form vor, deswegen bestehen viele biokompatible Materialien aus Calciumphosphaten [80, 138-143]. Beschichtungen metallischer Implantate mit Calciumphosphaten unterschiedlicher Zusammensetzungen spielen in der

Medizin bedeutende Rollen als dentale Implantate und als Endoprothesen. In Tabelle 2 sind alle hier wichtigen Calciumphosphatverbindungen aufgelistet:

**Tabelle 2:** Löslichkeitsprodukte (LP) und Ca/P-Verhältnisse diverser Calcium-Phosphate (k. D.: keine Daten) [144]

Verbindung	Summenformel	Ca/P	Log (LP) bei 25 °C	Log (LP) bei 37 °C
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	k. D.	37,40
Hydroxylapatit (HA)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	58,40	58,60
$\alpha$ -Tricalciumphosphat ( $\alpha$ -TCP, $\alpha$ -Whitlockit)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	25,50	25,50
$\beta$ -Tricalciumphosphat ( $\beta$ -TCP, $\beta$ -Whitlockit)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	28,90	29,50
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6$	1,33	96,60	95,90
Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD, Bruschit)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1,0	6,59	6,63
Calciumhydrogenphosphat Anhydrid (DCPA, Monetit)	$\text{CaHPO}_4$	1,0	6,90	7,04
Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	löslich	
Monocalciumphosphat Anhydrid (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	löslich	

Die Orthophosphorsäure ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ist eine dreibasige mittelstarke Säure und bildet den Ausgangsstoff für alle Ca-Phosphate. Allgemein gilt bei den Calciumphosphaten: Je größer das Ca:P-Verhältnis, desto alkalischer und schlechter wasserlöslich ist der Stoff [145].

Tetracalciumphosphat hat das größte Verhältnis von Ca:P (2,0) und ist damit das basischste Calciumorthophosphat. In wässrigem Medium ist Tetracalciumphosphat instabil und wandelt sich zu Hydroxylapatit (HA) und Calciumhydroxid um. Dieses Calciumphosphat wird in der Medizin zur Herstellung von Knochenersatzementen hergenommen [146-150].

Hydroxylapatit ist das stabilste Calciumorthophosphat mit einem Ca:P-Verhältnis von 1,7. Hydroxylapatit ist schlecht löslich und wird langsamer resorbiert als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tricalciumphosphat, somit ist HA unter physiologischen



Bedingungen auch stabiler als diese [25, 138]. Bei einem physiologischen pH-Wert von 7,4 stellt HA das schwerlöslichste Calciumphosphat dar. Stöchiometrisch reiner HA kommt nicht in unserem Körper vor, der biologische Apatit in Zähnen und Knochen kommt aber dem HA in seiner Zusammensetzung sehr nahe. Deswegen wird HA häufig als biokompatible Beschichtung auf zahnmedizinischen und chirurgischen Implantaten benutzt [23, 127-128]. Ein knöchernes Einwachsen von HA wird nicht immer beobachtet und eine vollständige Umwandlung zu Knochen ist ebenfalls umstritten [151]. Ein deutlicher Umbau wird nur bei großen Poren des HAs, hier korallener Herkunft (Interpore 500<sup>®</sup>), beobachtet [152], wobei HA nur sehr langsam durch Osteoklasten abgebaut wird. Klinisch und radiologisch ist Hydroxylapatit zum Teil auch nach Jahren nachweisbar.

Amorphes Calciumphosphat kann ein Ca:P-Verhältnis zwischen 1,2 und 2,2 haben und entsteht häufig als ein Zwischenprodukt bei der Fällung von Calciumphosphaten aus wässriger Lösung. Im Körper kommt amorphes Calciumphosphat bei pathologischen Verkalkungen in Weichgeweben vor [25, 82]. In der Medizin wird es auch zur Herstellung von Calciumphosphatzementen gebraucht [153-154]. Amorphes Calciumphosphat erfährt eine schnellere Biodegeneration *in vivo*, da es wesentlich besser löslich ist als Hydroxylapatit [25-26].

Bei den Tricalciumphosphaten (Ca:P-Verhältnis 1,5) unterscheidet man zusätzlich nach ihrer Kristallstruktur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tricalciumphosphat, wobei sich  $\beta$ -Tricalciumphosphat erst oberhalb von 1125 °C in  $\alpha$ -Tricalciumphosphat umwandelt.  $\alpha$ -TCP wird im wässrigen Milieu teilweise zu Hydroxylapatit,  $\beta$ -TCP wird im gleichen Milieu vollständig abgebaut. Tricalciumphosphate sind im Körper löslich und biologisch abbaubar, kommen aber in ihrer Reinform im Körper nicht vor. Nur die magnesiumhaltige Form Whitlockit existiert als Bestandteil von Zahnstein, Speicheldrüsensteinen und Blasensteinen [25, 82, 155]. Auch die Tricalciumphosphate finden in der Medizin häufig Verwendung als Bestandteil von Knochenzementen [156-157] und als Knochenersatzmaterialien. Bei der Verwendung als Knochenersatz wird eine Mischung von  $\beta$ -TCP mit HA favorisiert [158-159]. Im Gegensatz zu Hydroxylapatit werden

Tricalciumphosphate je nach Porosität und Kristallinität innerhalb einiger Zeit abgebaut und zu körpereigenem Knochen umgebaut. Daher werden vor allem  $\beta$ -TCP und der Composit-Werkstoff aus  $\beta$ -TCP und HA gerne als Biomaterialien genutzt [80, 139, 158-159]. Diese Eigenschaft kann sich aber auch negativ auswirken, wenn ein schnell resorbierbares Tricalciumphosphat eingesetzt wird, mit dem die Knochenbildung nicht Schritt halten kann und somit fibröses Gewebe einwächst [160].

Bruschiit ist mit einem Ca:P-Verhältnis von 1 leicht in Wasser löslich und entwässert oberhalb von 80 °C zum Anhydrat Monetit. In der Biologie des Menschen kommt es relativ häufig in Form von pathologischen Verkalkungen wie der Chondrocalcinose (Pseudogicht), Blasensteinen und Zahnstein vor [25, 82, 155]. Bruschiit ist auch ein Bestandteil des Knochens, indem es in der intermediären Phase der Knochenbildung anzutreffen ist. Bei der Demineralisation des Zahnschmelzes durch Karies entsteht Bruschiit als Zwischenprodukt [25, 82, 155]. In der Chirurgie ist Bruschiit ein häufiger Bestandteil in Zementen, die als Knochenersatzmaterial Verwendung finden [146-147, 153-154].

Monetit ist die wasserfreie Form von Dicalciumphosphat-Dihydrat. Es kommt weder in physiologischen noch in pathologischen Verkalkungen des Körpers vor. Auch Monetit wird in Calciumphosphatzementen als Knochenersatzmaterial eingesetzt [154, 161].

## **2.6 Magnesiumphosphate**

### **2.6.1 Vorkommen von Magnesiumphosphaten in Nierensteinen**

Die Nephrolithiasis ist eine häufige Erkrankung, bei der sich Nierensteine in den Nierentubuli und dem Nierenbecken bilden. Immerhin bestehen ca. 10 % aller Nierensteine des Menschen aus Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Sie werden Infektsteine oder Struvitsteine genannt und haben eine weiße bis graue Farbe. Voraussetzung für die Bildung von Struvitsteinen sind ureasebildende Bakterien in den Harnwegen [162].

Förderlich für die Entstehung von Nierensteinen ist die Aufnahme von steinbildenden Nahrungsmittelbestandteilen bei einer zu geringen Flüssigkeitsaufnahme. Häufige Infekte oder Verengungen der Harnwege erhöhen das Risiko einer Nierensteinbildung. Bei Vorliegen von ureaseproduzierenden Bakterien während einer Harnwegsinfektion, kommt es durch die Urease (Enzym) zur Spaltung von Harnstoff in Kohlendioxid und Ammoniak. Auf diese Weise verschiebt sich der pH-Wert in alkalische Bereiche und fördert die Präzipitation von Phosphat, Magnesium und Carbonat [163-164]. Wenn dieser Zustand über einen längeren Zeitpunkt anhält, kann es in den Harnwegen zur Bildung von Struvitsteinen kommen, die bei fortbestehender Infektion und pH-Abweichung bis zu einem das Nierenbecken ausfüllenden Ausgussstein anwachsen können [162].

### **2.6.2 Vorkommen von Magnesiumphosphaten in Abwässern**

Bei der modernen Abwasserreinigung in Klärwerken wird immer mehr darauf geachtet, dass Verbindungen aus den Abwässern entfernt werden, die Phosphor und Stickstoff enthalten. Diese Verfahren für die Abtrennung biologisch abbaubarer Nährstoffe haben aber zur Folge, dass der entnommene Klärschlamm wesentlich höhere Konzentrationen an Phosphat, Stickstoff und auch Magnesium beinhaltet und es somit oft zur Bildung von Struvit-Belägen ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) kommen kann [165]. Genauer gesagt entsteht Struvit, wenn die Konzentrationen von  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  und  $\text{Mg}^{2+}$  gemeinsam die Löslichkeitsgrenze von Struvit bei einem für diesen Prozess günstigen pH-Wert überschreiten. Je höher der pH-Wert innerhalb des Abwassers ist (übliche pH-Werte zwischen 6,0 - 8,0), desto geringer ist die Löslichkeit von Struvit in der Lösung. Der pH-Wert bei anaeroben Faulungsprozessen in Klärschlämmen der modernen Aufbereitungsprozesse ist höher als bei früheren Aufbereitungsprozessen, was wiederum die Ausfällung von Struvitkristallen begünstigt [166]. Diese Kristalle lagern sich unter bestimmten Bedingungen in Röhren, Pumpen, Filtern und Belüftungsanlagen ab und verursachen dadurch hohe Kosten [165, 167].

Viele Autoren haben sich seitdem mit dem Phänomen der Abscheidung von Struvit in Klärwerken befasst und nach Möglichkeiten gesucht, wie man die Ausbildung von Struvitablagerungen verhindern, oder aber die bereits entstandenen Ablagerungen beseitigen könnte [165-166, 168]. Anstatt die Struvitablagerungen mit verschiedenen Mitteln, wie Säure- oder Hitzebehandlungen, oder auch mit Hochdruckreinigern und anderen mechanischen Hilfsmitteln unter hohem Aufwand von den Röhren und Pumpen der Kläranlagen zu entfernen [168], könnte auch versucht werden, das Mineral Struvit kontrolliert aus dem Klärschlamm zu gewinnen. Solch eine kontrollierte Ausfällung von Struvitkristallen an einem speziell dafür gebauten Ort, der optimale Voraussetzungen für eine Ausfällung von Struvit bietet, würde die unvermeidliche Reaktion zulassen und andere, schlecht zugängliche Orte, wie Röhren und Pumpen von den hartnäckigen Ablagerungen verschonen. Auf diesem Wege könnten die gewonnen Magnesiumphosphate woanders noch als Dünger genutzt werden.

### **2.6.3 Magnesiumphosphate als Dünger**

Magnesiumammoniumphosphat (MAP) besitzt sehr gute Qualitäten als pflanzlicher Dünger im Vergleich mit Standarddüngern. MAP kann als Langzeitdünger gebraucht werden, der, ohne die Pflanzenwurzel zu beschädigen, hohe Raten an Stickstoff und Phosphat abgibt [165, 167, 169]. Aufgrund der langanhaltenden Freigabe von Stickstoff und Phosphat und geringen Sickerraten, wird Struvitgranulat als einer der besten Phosphatdünger beschrieben [167, 169]. Auch Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), das Monophosphat, wird als Dünger beschrieben, doch die Verfügbarkeit von  $\text{P}_2\text{O}_5$  für den Boden ist bei dem Hexahydrat Struvit größer [169]. Gründe für eine kontrollierte Gewinnung von Struvit aus Abwässern sind seine gute Einsetzbarkeit als Dünger und die stetig sinkenden Vorräte an phosphathaltigen Gesteinen. Gleichzeitig könnte man das Volumen an Klärschlamm stark reduzieren [165].

### **2.6.4 Magnesiumphosphatzemente (MPC) in der Zahntechnik**

Um in der Prothetik und in der konservierenden Zahnmedizin Zahnersatz wie z.B. Brücken, Kronen, Teilkronen oder Inlays herzustellen, werden sehr häufig

phosphatgebundene Einbettmassen verwendet. Die in der Zahntechnik üblichen Einbettmassen bestehen aus den Bindern Magnesiumoxid und Ammoniumdihydrogenphosphat sowie den SiO<sub>2</sub>-Modifikationen Quarz und Cristobalit als Füllstoff. Die vorgemischten Pulver werden mit einer Anmischflüssigkeit, die im Wesentlichen aus wässrigem Kieselsol (Suspension von amorphem Siliciumdioxid (SiO<sub>2</sub>)) besteht, angerührt. Es gibt auch Einbettmassen, die ohne Kieselsol, also nur mit reinem Wasser, angerührt werden können. Nach dem Anmischen erfolgt durch das Auskristallisieren des Magnesiumammoniumphosphates bei Raumtemperatur die Verfestigung der Einbettmasse nach der folgenden Reaktionsgleichung [170]:



Bei diesem Vorgang ist Struvit (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub> · 6H<sub>2</sub>O) entstanden. In der erhärteten Einbettmasse kann darauffolgend das Wachs im Vorwärmprozess ausgetrieben werden, um eine Hohlform für das dentale Werkstück zu schaffen.

### **2.6.5 Weitere Anwendungen von Magnesiumphosphatzementen**

Magnesiumphosphatzemente (MPC) werden schon seit Jahren als sehr effiziente Möglichkeit genutzt, stark befahrene Fahrbahnen schnell zu reparieren. Die positiven Eigenschaften der schnellen Abbindung und der hohen Anfangsfestigkeit machen ihn zu einem idealen Werkstoff. So können stark frequentierte Fahrbahnen ohne lange Wartezeiten bereits 4 bis 5 Stunden nach der Reparatur wieder für den Verkehr freigegeben werden [171]. MPC ist auch unter sehr tiefen Außentemperaturen anzuwenden, da es unter einer exothermen Hydratation abbindet. Auch auf vereisten Fahrbahnen zeigt MPC eine hohe Alltagstauglichkeit, da es eine sehr gute Resistenz gegenüber Frost und Enteisungsmitteln besitzt [172].

Magnesiumphosphatzemente zeigen auch multiple Einsatzmöglichkeiten als Baustoff. Im Gegensatz zu Portlandzement kann MPC nicht-toxischen Industriemüll wie Flugasche der Klasse F zu hohen Mengen aufnehmen und diesen zu einem universal einsetzbaren Baumaterial umwandeln. Sowohl toxischer als auch radioaktiver Industriemüll kann durch MPC verfestigt und stabilisiert werden, um ihn auf diese Weise sicher lagern zu können [173-174].

## 3 Material und Methode

### 3.1 Elektrolyte

#### 3.1.1 Experimentelle Elektrochemie

Ein Elektrolyt ist ein Stoff, dessen wässrige Lösung den Strom durch Ionenwanderung leitet. Die in der Lösung enthaltenen Ionen fungieren als Ladungsträger. Wenn man an Elektroden in diesem Elektrolyt Gleichstrom anlegt, wird eine Redoxreaktion erzwungen, indem es an der Anode (hier aus Platin) zu einer Oxidation und an der Kathode (hier aus Titan) zu einer Reduktion kommt. An den beiden Elektroden erfolgt also der Übergang von Elektronen in den oder aus dem Elektrolyten.

In einer vorausgehenden Arbeit der FMZ Würzburg [44], in der Titanoberflächen mit Hilfe der elektrochemischen Abscheidung mit Calciumhydroxid ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) beschichtet wurden, bestand der „Basiselektrolyt“ aus einer wässrigen Lösung aus Calciumnitrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) und Diammoniumhydrogenphosphat ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ). Der gewünschte pH-Wert wurde durch Zugabe von Citronensäure eingestellt. Die Citronensäure diente weiterhin zur Verhinderung der Abscheidung von Hydroxylapatit/Bruskit, indem diese die Reaktion beim chemischen Zwischenschritt Calciumhydroxid beendete. Die Erkenntnisse, die bei der elektrochemischen Abscheidung von Calciumhydroxid gewonnen wurden, als auch die in den Versuchen verwendeten Geräte, Apparaturen und Hilfsmittel, wurden in der vorliegenden experimentellen Arbeit auch für die elektrochemische Abscheidung von Magnesiumphosphaten genutzt.

Die Zielsetzung der ersten experimentellen Versuchsreihe war es, durch den Gebrauch von unterschiedlich zusammengesetzten Elektrolyten magnesiumphosphathaltige Oberflächen mittels elektrochemischer Abscheidung zu schaffen, welche in Punkto Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte gute Ergebnisse vorweisen konnten. Diesbezüglich wurden eine Vielzahl von Chemikalien in zueinander unterschiedlichen Verhältnissen zu potentiellen Elektrolyten in destilliertem Wasser in Lösung gebracht (alle Chemikalien wurden von der Fa. Merck KG AG in Darmstadt bezogen):

- Diammoniumhydrogenphosphat  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- Ammoniumdihydrogenphosphat  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
- Magnesiumchlorid-Hexahydrat  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- Magnesiumnitrat-Hexahydrat  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- Magnesiumoxid  $\text{MgO}$
- Natriumdihydrogenphosphat  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- Kaliumdihydrogenphosphat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- Calciumnitrat-Hexahydrat  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Die Elektrolyte, die aus den verschiedenen Kombinationspaaren der oben angegebenen Chemikalien zusammengestellt wurden, wurden wiederum mit folgenden unterschiedlichen Säuren auf relativ niedrige pH-Werte zwischen 2,0 und 5,0 titriert:

- Salpetersäure  $\text{HNO}_3$
- Salzsäure  $\text{HCl}$
- Phosphorsäure  $\text{H}_3\text{PO}_4$

Um in den elektrochemischen Versuchen unterschiedliche Schichtqualitäten zu erhalten, wurden insgesamt folgende Versuchsparameter variiert:

- Konzentrationen der einzelnen Stoffe
- pH-Werte der Elektrolyte (von 2,0 bis 5,0)
- unterschiedliche Säuren (siehe oben)
- Temperatur (von 23 bis 50 °C)
- Stromdichte (von -40 bis -3500 mA)

In dieser ersten experimentellen Phase wurden ca. 60 verschiedene Beschichtungen auf Titanproben erstellt und nach den folgenden drei Parametern beurteilt:

- 1) Schichtdicke
- 2) Homogenität
- 3) Schichthärte

Nur die beschichteten Titanproben mit den besten Ergebnissen bezüglich dieser Parameter wurden aussortiert, mittels Röntgendiffraktometrie charakterisiert und bei Bedarf für weitere Versuche hergestellt.

### 3.1.2 Günstigste Elektrolytzusammensetzungen und Versuchparameter für magnesiumphosphathaltige Beschichtungen

Die folgenden  $\text{Mg}(\text{PO}_4)_2$ -haltigen Beschichtungen wurden mit den höchsten Qualitäten bezüglich Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte bewertet:

**Tabelle 3:** Übersichtstabelle der Elektrolytzusammensetzungen und Versuchparameter für die Elektrolyte 1 bis 4

Konzentrationen der Stoffe	Konzentrationen der Stoffe	pH	Temperatur in °C	Stromstärke in mA
<b>1. <math>(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4</math></b>	<b><math>\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>		
a) 0,1 mol/l 13,2 g/l	0,3 mol/l 60,99 g/l	4,0	50	-300
b) 0,2 mol/l 26,41 g/l	0,2 mol/l 40,66 g/l	4,0	50	-300
<b>2. <math>\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4</math></b>	<b><math>\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>		
0,1 mol/l 13,2 g/l	0,30 mol/l 76,92 g/l	4,0	50	-300
<b>3. <math>\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4</math></b>	<b><math>\text{MgO}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>		
a) 0,1 mol/l 11,5 g/l	0,15 mol/l 6,045 g/l	4,0	23	-300
b) 0,1 mol/l 11,5 g/l	0,15 mol/l 6,045 g/l	4,0	50	-300
<b>4. <math>\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>		
0,1 mol/l 15,6 g/l	0,2 mol/l 51,282 g/l	4,0	50	-400



Alle Beschichtungen wurden anfangs mit einer Einzelelektrode durchgeführt, welche in Kapitel 3.3.1 näher beschrieben wird. Für die Beschichtungen im Elektrolyt Nr. 4 wurde durchweg eine Einzelelektrode benutzt, weil nur so eine gute Beschichtungsqualität mit ausreichender Schichtdicke realisiert werden konnte. Um eine Massenproduktion der Beschichtungen von den Elektrolyten Nr. 1 – 3 zu erleichtern, wurde dann aber eine Elektrode herangezogen, die einen Beschichtungsvorgang mit vier Titanproben ermöglichte (Aufbau siehe Abbildung 2). Dort wurde dementsprechend auch die vierfache Stromstärke an den Elektroden angelegt (z.B. bei Elektrolyt Nr. 1:  $4 \times -300 \text{ mA} = -1200 \text{ mA}$ ). Es wurden immer 0,5 l Elektrolyt benutzt, um einen Beschichtungsvorgang für vier Proben durchzuführen.

### **3.1.3 pH-Wert-Messungen der Elektrolyte**

Die pH-Wert-Messungen der Elektrolyte wurden mit einem pH-Messgerät (Mettler Delta 345, Fa. Mettler Toledo GmbH, Gießen) unter ständigem Rühren mit einem Magnetrührgerät in Bechergläsern durchgeführt. Die pH-Messelektrode wurde regelmäßig mit drei unterschiedlichen Eichlösungen (pH-Werte: 7,0, 9,0, 11,0) geeicht. Die verschiedenen Elektrolytlösungen wurden standardmäßig mit hochkonzentrierter Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ , 60 %, Fa. Merck KG AG, Darmstadt) auf pH 4,0 titriert. Alle Elektrolyte waren nach Erreichen des gewünschten pH-Wertes klar und frei von ungelösten Partikeln.

## **3.2 Herstellung der Titanproben**

Die für die elektrochemischen Abscheidungen als Kathode genutzten runden Titanplättchen mit einem Durchmesser von 15,5 mm wurden von der feinmechanischen Werkstatt der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Zahnklinik Würzburg aus 1 mm dicken Titanblechen (cp Ti (commercially pure titanium), Grade 2) gestanzt. Die Titanplättchen, die für die Einzelelektrode verwendet wurden, wurden am äußeren Rand jeweils mit einer Bohrung von 1 mm Durchmesser versehen, um diese mit einer Titanschraube an der Einzelelektrode befestigen zu können.

### **3.2.1 Erste Reinigung der Titanproben**

Die Titanplättchen wurden wie folgt im Becherglas mittels Ultraschall (Ultraschallbad der Fa. Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin) gereinigt:

- 1) 10 Minuten Ultraschallbad in Aceton (Entfernung von Fetten und Ölen)
- 2) 10 Minuten Ultraschallbad in 5%iger Extran-Lösung (Extran MA 03 phosphatfrei Nr. 1.07550, 2 l, Fa. Merck KG AG, Darmstadt)
- 3) 10 Minuten Ultraschallbad in ausreichend Reinstwasser
- 4) 10 Minuten Ultraschallbad in erneuertem Reinstwasser

### **3.2.2 Oberflächenaufrauung durch Sandstrahlen**

Alle Titanplättchen wurden einseitig mit 3 bar Luftdruck und einer Korngröße von 50 µm 10 Sekunden lang mit einem Sandstrahlgerät (Basic Quatro) der Fa. Renfert GmbH, Hilzingen bestrahlt. Das Strahlmittel bestand aus Korund ((Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) Strahlsand Korox, 50 µm) der Fa. BEGO, Bremen. Die Plättchen wurden mittels Pinzette fixiert und mit einem Arbeitsabstand von 2 cm unter gleichmäßigen, kreisenden Bewegungen durch das Strahlmittel aufgeraut. Alle Arbeitsabläufe wurden unter gleichen Bedingungen durchgeführt, um vergleichbar gestrahlte Titanoberflächen zu gewährleisten.

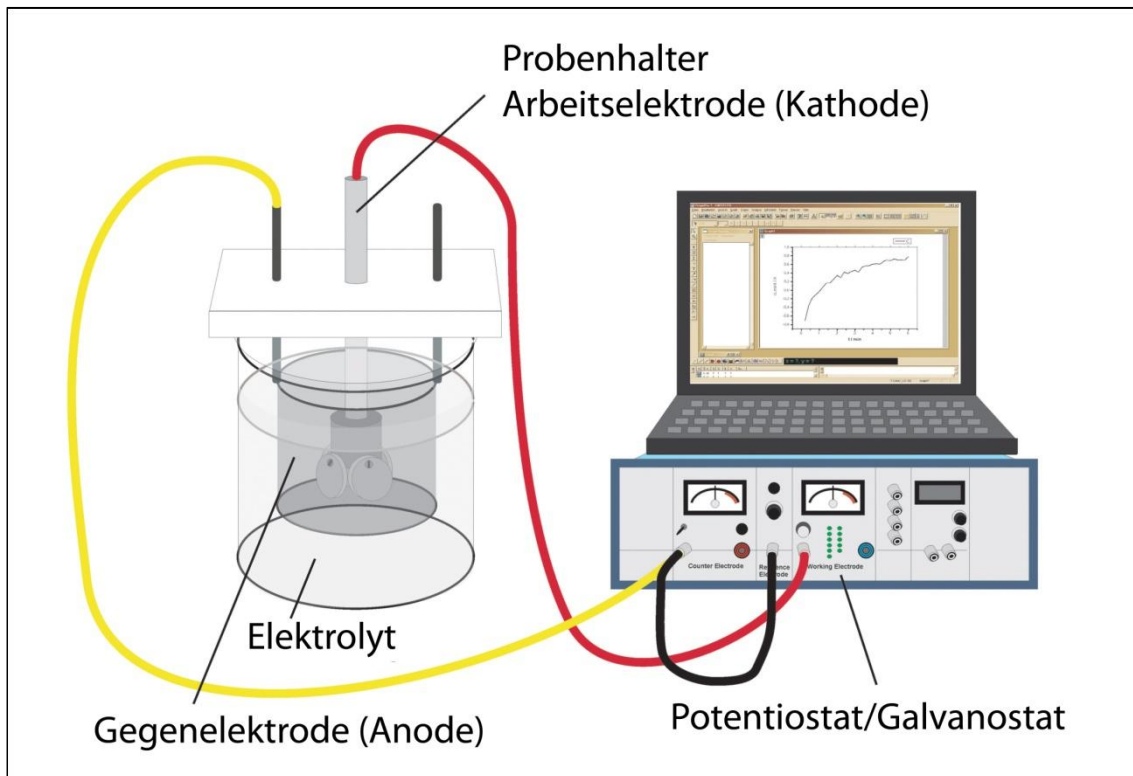
### **3.2.3 Zweite Reinigung der Titanproben**

Um eventuelle Verunreinigungen durch Strahlsand oder Titanpartikel zu entfernen, wurden die gestrahlten Titanproben wie folgt nachgereinigt:

- 1) 10 Minuten Ultraschallreinigung in 5%iger Extran-Lösung (Extran MA 03 phosphatfrei Nr. 1.07550, 2 l, Fa. Merck KG AG, Darmstadt)
- 2) 10 Minuten Ultraschallreinigung in ausreichend Reinstwasser
- 3) 10 Minuten Ultraschallbad in erneuertem Reinstwasser

Nach jeder Reinigung wurden die Proben an der Luft getrocknet und in einem sauberen Gefäß aufbewahrt.

### 3.3 Versuchsaufbau für die elektrochemische Abscheidung

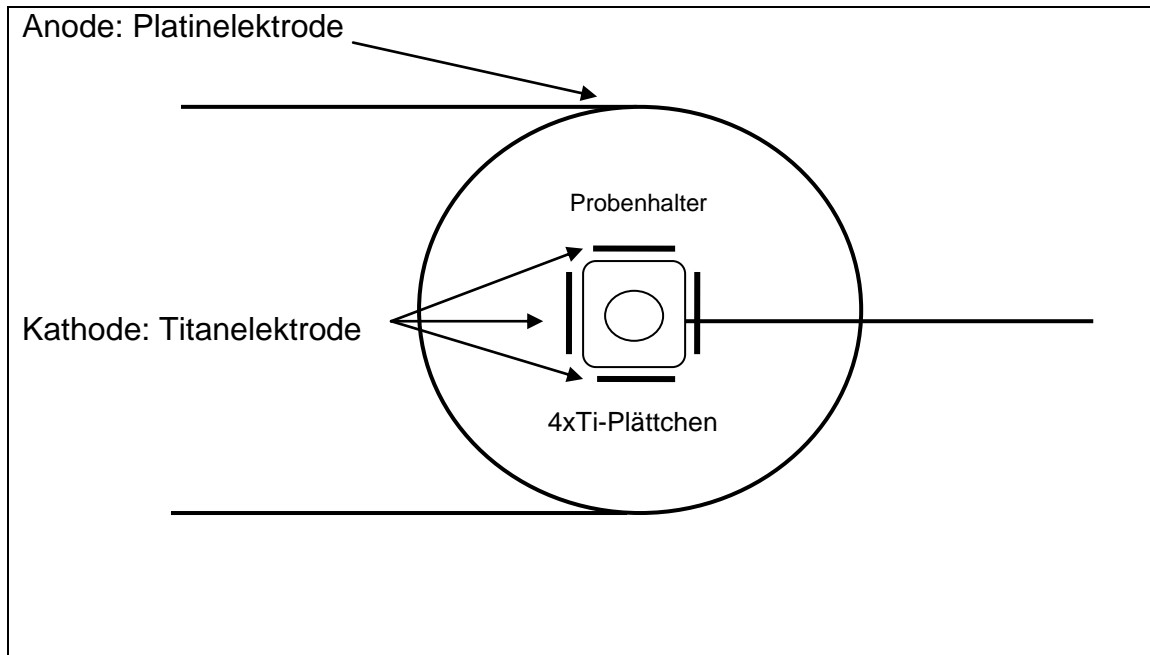


**Abbildung 1:** Die Grafik des Versuchsaufbaus zeigt den Potentiostat und den daran angeschlossenen Computer ohne Messwiderstand, die elektrochemische Zelle mit doppelwandigem Glasgefäß und Elektrolyt. Darin eingetaucht sind der Probenhalter mit insgesamt vier Titanproben als Arbeitselektrode (Kathode) und rundem Platinnetz als Gegenelektrode (Anode).

#### 3.3.1 Aufbau von Kathode und Anode

Zu Anfang der Versuche wurde ein einfacher Probenhalter mit einer Bohrung für nur ein Titanplättchen als Kathode benutzt. Die Plättchen wurden mit Titanschrauben am Probenhalter befestigt. Als Anode diente ein dünnes Platinblech mit den Maßen ca. 2,5 x 4 cm, welches in einem Abstand von ungefähr 2 cm zur Kathode gehalten wurde.

Um effizienter eine große Anzahl von Proben zu beschichten, wurden in den Elektrolyten, die die besten Oberflächenergebnisse erzielten, Beschichtungen mit einem speziellen Probenhalter für vier Titanplättchen durchgeführt (siehe Abbildung 1). Damit ein gleichmäßiger Stromfluss für alle vier Proben gewährleistet werden konnte, wurden Kathode und Anode wie folgt aufgebaut:



**Abbildung 2:** Aufbau der Probenhalterung von oben gesehen: Die Anode, ein engmaschiges Netz aus Platin (ca. 4 cm hoch, Durchmesser ca. 6 cm), befindet sich im gleichen Abstand von ca. 2 cm zu allen vier Titanplättchen. Der mit PMMA, Technovit abgeschirmte Titanprobenhalter hält vier Titanproben (Kathode) mit kleinen Titanschrauben.

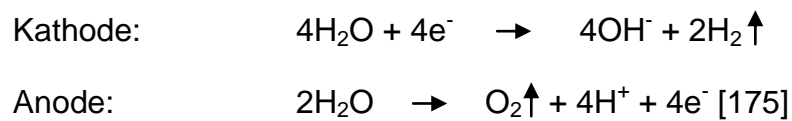
Auch die Platinelektrode wurde modifiziert, indem diese kreisförmig als sehr engmaschiges Platinnetz in einem Radius von ca. 3 cm um den Mittelpunkt des Probenhalters herum gespannt wurde. Sowohl die beiden Probenhalter als auch die Platinanoden wurden von der feinmechanischen Werkstatt der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Zahnklinik Würzburg hergestellt.

Die Elektrolytlösung wurde mittels Thermostat (Typ A100, Fa. Lauda, Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda) und einem Wasserkreislauf in einem temperaturgeregelten, doppelwandigen Glaszylinder (Fa. Schott AG, Mainz) auf die gewünschte Temperatur geheizt. Sobald die jeweilige Versuchstemperatur (siehe Tabelle 3) erreicht war, konnte die Halteapparatur samt der Anode und der Kathode in den Glaszylinder eingelassen werden.

### 3.3.2 Elektrochemische Abscheidung an der Kathode

Während dieser elektrochemischen Präzipitation von Struvit war an der Kathode eine kräftige Wasserstoffentwicklung und an der Anode eine leichte

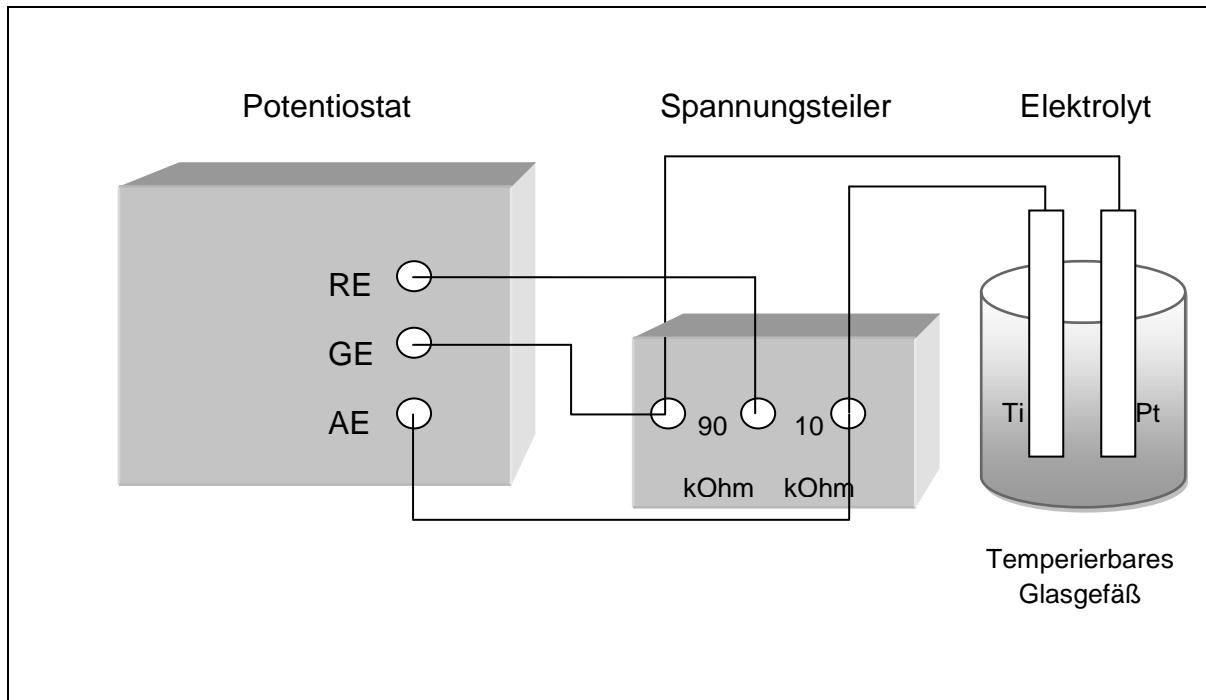
Bläschenbildung, die auf das Austreten von Sauerstoff zurückzuführen ist, zu beobachten. Nach Abscheidung einer dichten, hellweißen Struvitschicht auf den Titanproben sorgte die starke Gasentwicklung an der Oberfläche für ein teilweises, punktuell Ablösen der isolierenden Beschichtung. Diese neu geschaffenen Zugänge zur Titanoberfläche wurden aber kurz darauf wieder mit neuen Kristallen verschlossen. Somit hinterließ die Elektrolyse in der elektrochemischen Zelle eine relativ homogene, dichte und hellweiße Schicht Struvit auf den Titanproben. Um die örtlich begrenzte pH-Werterhöhung in der nahen Umgebung der Kathode nachzuvollziehen, muss der Prozess, der in der elektrochemischen Zelle durchlief, näher betrachtet werden. Sobald ein elektrisches Feld in der elektrochemischen Zelle appliziert wurde, wanderten alle geladenen Teilchen durch den Prozess der Elektrophorese zu der Elektrode mit der gegenteiligen Ladung. Der primäre elektrochemische Prozess, der während der Elektrodeposition im wässrigen Medium ablief, ist die Elektrolyse von Wasser. Dies kann anhand der beiden folgenden Reaktionen, die an den beiden Elektroden stattfanden, verdeutlicht werden:



Während des elektrochemischen Versuchs erfolgte die Abscheidung der Magnesiumphosphate an der Titankathode im basischen Milieu, während die Elektrolytlösungen standardmäßig einen pH-Wert von 4,0 besaßen. Daher war es wichtig, dass sofort nach Beendigung des Messprogramms die Proben aus dem Elektrolyt herausgenommen und mit destilliertem Wasser abgespritzt wurden, um zu verhindern, dass sich die Schichten im sauren Milieu wieder auflösten. Danach folgten eine Trocknung an der Luft und Aufbewahrung in verschlossenen Kunststoffbehältnissen.

### 3.3.3 Potentiostat und Messwiderstand

Als Spannungsquelle für die Beschichtungen wurde ein High Power Potentiostat HP96 der Fa. Bank Elektronik GmbH (Clausthal-Zellerfeld) genutzt, mit dem das Potential, d.h. die Spannung der Elektrode, auf einen gewünschten Wert geregelt wurde.



**Abbildung 3:** schematische Darstellung des Potentiostaten mit Referenzelektrode (RE), Gegenelektrode (GE) und Arbeitselektrode (AE); Spannungsteiler mit 90 kOhm und 10 kOhm Widerständen; elektrochemische Zelle skizziert mit Titankathode (Ti) und Platinanode (Pt) in temperierbarem, doppelwandigem Glasgefäß

Trotz sich verändernden Widerstandes in der elektrochemischen Zelle, konnten sowohl konstante Spannungen als auch konstante Stromstärken eingestellt werden. Um dies zu ermöglichen, stellte der Potentiostat den Strom zwischen der zu regelnden Elektrode (Arbeitselektrode, AE) und einer Hilfelektrode (Gegenelektrode, GE) so ein, dass sich die gewünschte Spannung ergab. Der Referenzpunkt wurde durch eine dritte Elektrode (Referenzelektrode, RE) dargestellt (siehe Abbildung 3). Nach Einstellung des Potentiostats und des Spannungsteilers wurden die gewünschten Messparameter im dafür vorgesehenen Computerprogramm „Data Recording and Evaluation (based on Testpoint for Windows)“ der Firma Bank Elektronik, Intelligent Controls eingegeben.

Zwischen dem Potentiostaten und der elektrochemischen Zelle wurde ein Spannungsteiler der Fa. EKF (Hamm) zwischengeschaltet. Die in das Computerprogramm eingegebene Spannung war mit dem Faktor 10 zu

multiplizieren, um die tatsächlich vorliegende Spannung in der Zelle erhalten zu können. Dies resultierte aus dem Verhältnis der Messwiderstände der Spannungsteilerschaltung von 9:1 (siehe Abbildung 3). Diese Spannungsteilerschaltung über die eingebauten Widerstände wurde zwischengeschaltet, da die Software „Data Recording and Evaluation“ im Bereich der vorzugebenden Spannung begrenzt war (bis 4 V). Die für die Beschichtungen erforderlichen Potentiale waren aber höher als die von dieser Software gelieferten Potentiale, somit war der Umweg über die Spannungsteilerschaltung notwendig.

### **3.4 Sterilisation und Desinfektion von beschichteten Titanproben**

Ein großer Anteil der magnesiumphosphathaltigen Beschichtungen wurde in kleinen Glasgefäßen in einem Autoklav der Firma Systec (Wettenberg) mit einem gängigen Autoklavierungsprogramm unter feuchter Hitze dampfsterilisiert. Das für die Sterilisation medizinisch genutzter Gegenstände gebräuchliche Programm erwärmte die zu sterilisierenden Gegenstände bei Überdruck bis auf 121 °C und hielt diese Temperatur für 20 Minuten. Nach langsamer Abkühlung des Innenraumes wurden die Proben wieder entnommen und an der Luft getrocknet. Anschließend konnten Veränderungen der jeweiligen Beschichtungen, die durch eine Entkeimung mittels Dampfsterilisation hervorgerufen wurden, mittels Röntgendiffraktometrie und Rasterelektronenmikroskopie untersucht werden.

Ein kleiner Anteil der Proben wurde durch kurzes Einlegen in Ethanol und die darauffolgende Verdunstung desinfiziert.

### **3.5 Einlagerungsversuche**

Da die Oberflächenkompatibilität darüber entscheidet, wie die erste Reaktion zwischen Organismus und Fremdkörperoberfläche in Form der Proteinadsorption abläuft [176], war es sehr wichtig und notwendig, die mit Magnesiumphosphaten modifizierten Oberflächen in *in-vitro*-Studien zu beobachten und zu analysieren. Die unterschiedlichen Beschichtungen wurden

daraufrin in drei verschiedenen Medien unter physiologischen Bedingungen eingelagert.

### 3.5.1 Einlagerung in Simulated Body Fluid (SBF)

Simulated Body Fluid nach KOKUBO [177] ist eine simulierte, azelluläre Flüssigkeit mit Ionenkonzentrationen ähnlich dem menschlichen Blutplasma, welche in den letzten Jahrzehnten oft genutzt wurde, um die Bioaktivität von Biomaterialien zu untersuchen [178-179]. Die Ionenkonzentrationen in SBF wurden in der folgenden Tabelle 4 denen von menschlichem Blutplasma gegenübergestellt.

Die SBF-Lösung wurde nach der Anleitung von KOKUBO zubereitet. Die Chemikalien der jeweiligen Stammlösung wurden bei einer physiologischen Temperatur von 37 °C in der Reihenfolge von Tabelle 5 nacheinander bis zur vollständigen Auflösung in jeweils einen Liter destillierten Wassers gegeben.

**Tabelle 4:** Ionenkonzentrationen (in mmol/dm<sup>3</sup>) in SBF und menschlichem Blutplasma [177-178]

Ion	Simulated Body Fluid	humanes Blutplasma
Na <sup>+</sup>	142,0	142,0
K <sup>+</sup>	5,0	5,0
Mg <sup>2+</sup>	1,5	1,5
Ca <sup>2+</sup>	2,5	2,5
Cl <sup>-</sup>	147,8	103,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,2	27,0
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1,0	1,0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,5	0,5

Bei der Herstellung des Mediums war es wichtig, zu beachten, dass die Ca- und die P-Stammlösung zuerst einzeln zubereitet werden sollten, um dann erst kurz vor Gebrauch im Verhältnis 1:1 vermischt zu werden. Nach Vermischung der beiden Stammlösungen wurde der pH-Wert der insgesamt 2 l SBF-Lösung mit einer geringen Menge HCl (1 mol/l) oder Tris-Base auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4 titriert und in einem Brutschrank bei 37 °C gelagert.



**Tabelle 5:** Anleitung zur Herstellung von SBF nach KOKUBO [177]

Ca-Stammlösung		P-Stammlösung	
Stoff	Menge	Stoff	Menge
NaCl	15,9900 g	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 10H <sub>2</sub> O	0,3222 g
KCl	0,4474 g	NaHCO <sub>3</sub>	0,7057 g
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,6099 g	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	0,4565 g
CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	1,0955 g		
Aqua dest.	1000 ml	Aqua dest.	1000 ml

### 3.5.2 Einlagerung in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

Bei Dulbecco's Modified Eagle Medium handelt es sich um das meistgenutzte standardisierte Nährmedium für die Zellkultur. Es beinhaltet anorganische Salze in Konzentrationen, ähnlich derer des Blutplasmas, D-Glucose, Natriumpyruvat, Aminosäuren und Vitamine [179]. Das hier genutzte DMEM wurde von der Firma GIBCO<sup>®</sup>, Invitrogen (Cat.No.21063-029) hergestellt und enthielt 4,5 g/l D-Glukose, einen HEPES-Puffer, eine Standard-Serumergänzung und war ohne Phenolrotzusatz. Die genauen Inhaltsangaben sind auf der Homepage der Firma (<http://www.invitrogen.com>) gelistet. Die 500 ml-Flaschen wurden bis zur Benutzung gekühlt aufbewahrt, um dann im Einlagerungsversuch in einem Brutschrank auf eine Temperatur von 37 °C gebracht zu werden.

### 3.5.3 Einlagerung in fötalem Kälberserum (fetal calf serum, FCS)

Fötales Kälberserum findet eine breite Anwendung in Zellkulturexperimenten, da die Anzahl von Tierversuchen in der Grundlagenforschung auf diese Weise stark reduziert werden kann. FCS wird aus dem Blut von Rinderföten zwischen dem dritten und siebten Trächtigkeitsmonat gewonnen, wobei wichtig ist, dass das Blut auf natürliche Weise gerinnt und es somit zur Freisetzung eines Wachstumsfaktors aus den Thrombozyten in das Serum kommt. Danach wird das Serum sterilfiltriert. Das hier genutzte FCS wurde von der Firma Invitrogen, Life Technologies, Karlsruhe, produziert. Weitere Angaben zum Produkt sind auf der Homepage der Firma (<http://www.invitrogen.com>) zu finden. Die 100ml-Behältnisse wurden gefroren gelagert und kurz vor Gebrauch im Kühlschrank langsam aufgetaut.

### **3.5.4 Aufbau der Einlagerungsversuche**

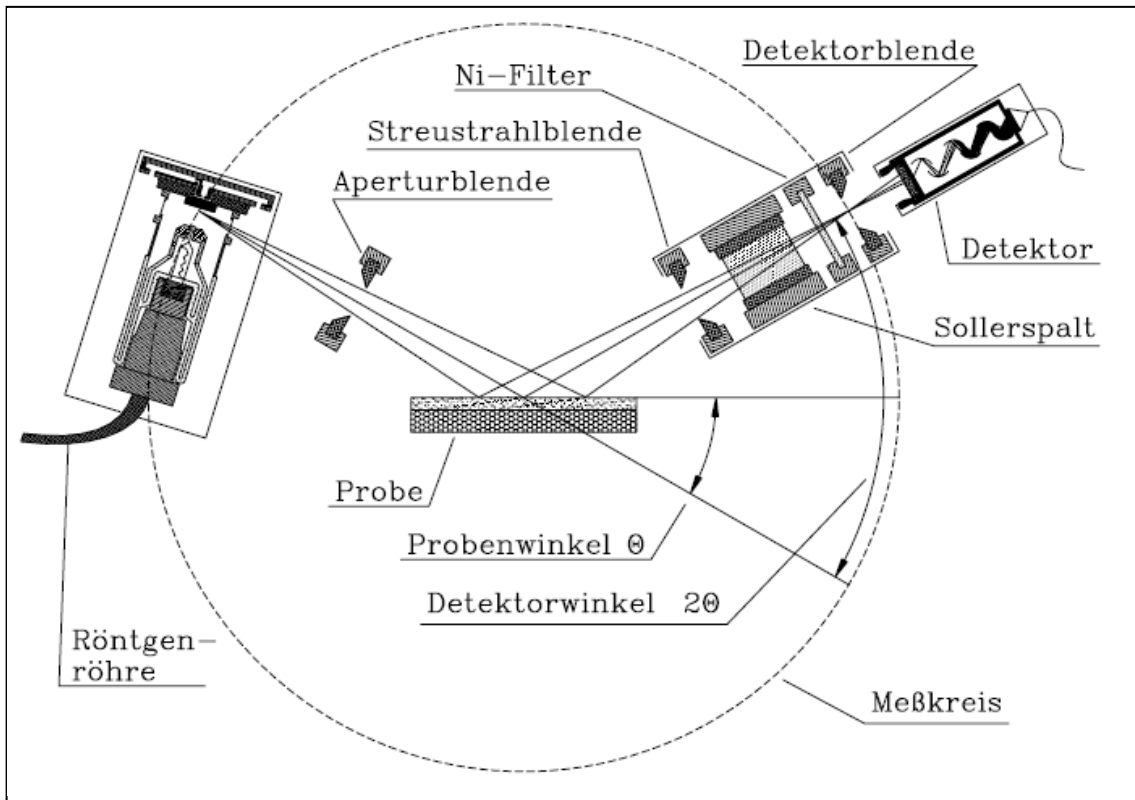
Nach Erreichen des primären Ziels, Magnesiumphosphate durch elektrochemische Abscheidung auf Titan aufzutragen, war es ein Hauptziel, diese Beschichtungsstoffe nach ihrer Charakterisierung durch Röntgendiffraktometrie (XRD) und Rasterelektronenmikroskopie mittels Einlagerungsversuche daraufhin zu untersuchen, ob es in den zuvor beschriebenen Einlagerungsmedien zu Umwandlungen der jeweiligen Stoffe kam. Nach dem Abschluss aller elektrochemischen Vorversuche und deren Stoffcharakterisierungen, wurde letztendlich festgelegt, dass alle Einlagerungsversuche mit drei verschiedenen Beschichtungsstoffen durchgeführt werden sollten. Somit war der Versuchsaufbau der Einlagerungsversuche mit den insgesamt drei Medien SBF, DMEM und FCS immer standardisiert. Dem Haupteinlagerungsversuch gingen jeweils zwei Einlagerungsversuche mit SBF und DMEM voraus.

Die beschichteten Titanproben wurden im Zelllabor der FMZ Würzburg bei sterilen Bedingungen unter einem Abzug durch kurzes Eintauchen in Alkohol desinfiziert und in 50 ml-Zentrifugengläsern mit jeweils 5 ml Medium eingelagert. Jede Probe wurde immer einzeln in einem Gefäß eingelagert. Die Kunststoffgläser wurden anschließend mit einem Schraubdeckel verschlossen, um einer teilweisen Verdunstung der Flüssigkeiten und einer möglichen Verunreinigung entgegenzuwirken. Diese Zentrifugengläser wurden in speziellen Halterungen aufrecht im Brutschrank bei physiologischen 37 °C aufbewahrt. In allen Einlagerungsversuchen wurden vier Einlagerungszeiten von 1, 3, 7 und 14 Tagen gewählt. Jede einzelne Einlagerung der drei zu untersuchenden Stoffe an den vier jeweiligen Stichtagen wurde mit jeweils drei Probenplättchen vorgenommen. Nach Erreichen dieser Einlagerungszeiten, wurden die Proben aus dem jeweiligen Medium entnommen, kurz und vorsichtig mit Reinstwasser abgespült, an der Luft getrocknet, um letztendlich, nach kurzer Lagerung, im Röntgendiffraktometer analysiert zu werden.

Alle Titanplättchen wurden bereits vor ihrer Beschichtung auf einer Feinwaage gewogen, um nach der elektrochemischen Beschichtung das Gewicht der aufgetragenen Schicht durch nochmaliges Wiegen zu ermitteln.

### 3.6 Analyse der Proben mittels Röntgendiffraktometrie (XRD)

Die folgende Abbildung 4 zeigt schematisch den apparativen Aufbau des in dieser Arbeit benutzten Röntgendiffraktometers D 5005 der Firma Siemens, Karlsruhe. Das D 5005 ist, wie abgebildet, mit einem Ni-Filter ausgestattet; es besitzt eine Cu-Anode und einen Szintillationszähler.



**Abbildung 4:** Aufbau des Diffraktometers D 5005 von der Firma Siemens. Röntgenquelle, Probe und Detektor befinden sich in der Standard Messanordnung [180].

Bei der Theta-2-Theta Anordnung nach BRAGG BRENTANO befindet sich die Probe im Mittelpunkt des sog. Messkreises, auf dem sich der Brennfleck der Röntgenröhre und die Blende des Zählrohres befinden. Um die beschichteten Titanproben mit einem Durchmesser von 15,5 mm auf dieser Ebene zu platzieren, wurde von der technischen Werkstatt der FMZ Würzburg eine spezielle Ausrichtehilfe aus Industriestahl hergestellt. Die Proben wurden jeweils mit dieser Ausrichteschablone auf der gewünschten Ebene platziert,

wobei die doppelseitig beschichteten Plättchen mittels einer stark haftenden Knetmasse auf einem Kunststoffträger befestigt wurden.

Die Probe nimmt durch eine langsame, gleich bleibende Bewegung während der Aufnahme verschiedene Winkel zum einfallenden Röntgenstrahl ein, während sich der Detektor mit doppelter Winkelgeschwindigkeit entlang des Messkreises bewegt. Dadurch werden die Interferenzen einer Probe nicht mehr gleichzeitig, sondern hintereinander detektiert.

Die vom Strichfokus kommende charakteristische Strahlung durchtritt ein Blendensystem, bestehend aus einer Sollerblende und einer Divergenzblende, die die axiale bzw. laterale Divergenz begrenzen. Danach trifft die Röntgenstrahlung auf das ebene Präparat und wird an diesem unter einem bestimmten Winkel gebeugt. Der gebeugte Strahl durchläuft wiederum ein Blendensystem, das aus Schlitz- und Sollerblenden besteht, wird gefiltert bzw. monochromatisiert und trifft letztendlich auf den Detektor. Die Beugung der Röntgenstrahlen erfolgt an den regelmäßig angeordneten Netzebenen im zu analysierenden Stoff und ist materialspezifisch. Aus den verschiedenen Reflexionen der Netzebenen resultieren unterschiedlich lange Laufwege für die Röntgenstrahlen. Durch die relative Phasenverschiebung der Röntgenstrahlen gegeneinander kommt es zu einer Überlagerung derselben. Bei bestimmten Einstrahlungswinkeln treten so Maxima der reflektierten Röntgenstrahlung am Detektor auf [180].

Diese Maxima wurden in der dazugehörigen Computersoftware als winkelabhängige Peaks in einem Diagramm dargestellt und als RAW-Datei abgespeichert. Um die Beschichtungen zu charakterisieren und Rückschlüsse auf die Beschaffenheit dieser zu führen, wurde das DIFFRAC plus Auswertungsprogramm der Firma Siemens genutzt.

Die angelegte Kathodenspannung der Röntgenröhre betrug bei allen Messungen 40 kV bei einem Strom von 50 mA. Die Beugungsreflexe der in dieser Arbeit analysierten Proben wurden durchgehend in einem Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-70^\circ$  und mit einer Schrittweite von  $0,02^\circ$  im locked coupled-Modus gemessen. Standardmäßig war das Röntgendiffraktometer für die Dauer

einer dreistündigen Messung mit einer Meßgeschwindigkeit von 3 Minuten pro Grad eingestellt. Für sehr dünne Beschichtungen wurden standardmäßig Langzeitmessungen über einen Zeitraum von 12 Stunden mit einer Meßgeschwindigkeit von 12 Minuten pro Grad durchgeführt.

### **3.7 Rasterelektronenmikroskopie**

Zur Charakterisierung der Oberflächenmorphologie der auf Titanproben aufgetragenen Magnesiumphosphatbeschichtungen wurde ein Rasterelektronenmikroskop (REM) DSM 940 der Firma Carl Zeiss AG, Oberkochen benutzt. Alle untersuchten luftgetrockneten Proben wurden auf Objektträgern aus Aluminium befestigt. Die Bedampfung der Prüfkörper mit einer leitfähigen Goldschicht erfolgte im Vakuum mit einem Sputter Coater des Typs K250 der Firma Emitech, Ashford, England. Die Goldbedampfung der Proben war notwendig, damit eine Ableitung der Ladung bei einfallenden Elektronen zur Vermeidung statischer Potentiale gewährleistet war. Die eingestellte Beschleunigungsspannung des Rasterelektronenmikroskopes betrug 5-10 kV und der Arbeitsabstand variierte zwischen 10 und 15 mm. Die Fotoaufnahmen der REM-Bilder wurden standardmäßig bei Vergrößerungen von x500, x1000 und x2000 je Probe gemacht.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Elektrochemische Abscheidung

In den durchgeführten Versuchen war es gelungen, korundgestrahlte ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) Titanproben (cp Ti, Grade 2, Durchmesser: 15,5 mm, Dicke: 1,0 mm) mit Magnesiumphosphaten mittels kathodischer Abscheidung zu beschichten. In der unter 3.3 beschriebenen elektrochemischen Zelle wurden durch lokale pH-Wert-Erhöhungen im Bereich der Titan-Kathode die Löslichkeiten von in den Ausgangselektrolyten gelösten magnesium- und phosphathaltigen Stoffen verringert und eine Ausfällung derselben verursacht.

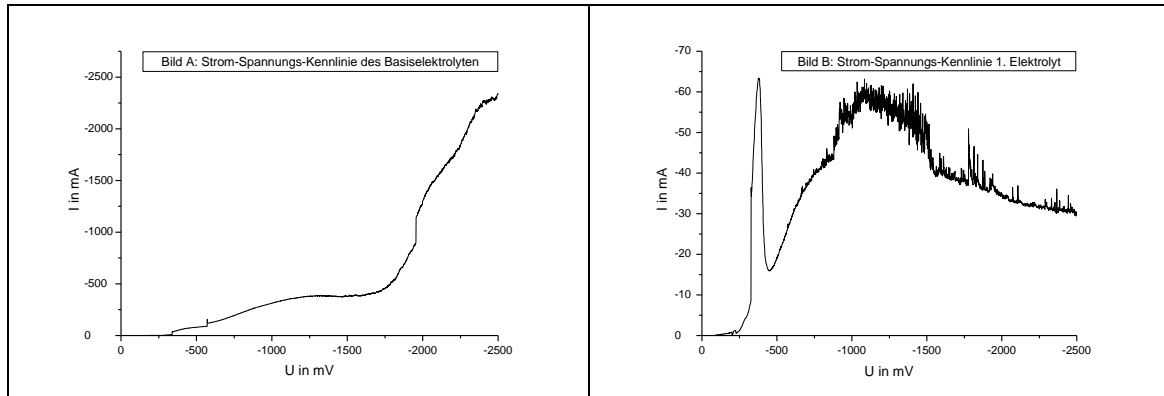
#### 4.1.1 Ermittlung geeigneter Stromstärken der Beschichtungen

In den ersten experimentellen Versuchsreihen wurden die für die optimale galvanostatische Beschichtung benötigten Stromstärken für die einzelnen Elektrolyte ermittelt, indem Spannungsrampen potentiostatisch von 0-25 V bei einer Steigerung von 10 mV/s gefahren wurden (siehe Abbildung 5). Erkennbare Plateaus in den Strom-Spannungs-Kurven dienten als Hinweis dafür, dass diese Werte geeignete Stromstärken für die Beschichtungen darstellten. Dies deutete darauf hin, dass sich der Widerstand der Elektrode durch die isolierende Beschichtung stark erhöhte und die Abscheidung vor allem bei diesen Stromstärken stattfand.

Jedoch zeichnete sich nicht bei jedem Elektrolyten, welche Ammonium-, Phosphat- und Magnesium-Ionen enthielten, ein Plateau in der Strom-Spannungs-Kennlinie ab, weshalb in solch einem Fall die optimale Stromstärke des in der vorausgehenden Arbeit der FMZ Würzburg [44] genutzten „Basiselektrolyten“ (siehe 3.1.1) für die Beschichtung angewandt wurde. Die sich bei der Spannungsrampe abzeichnende Strom-Spannungs-Kennlinie des „Basiselektrolyten“ zeigt in Bild A der Abbildung 5 ein Stromplateau zwischen den Stromstärken - 300 und - 400 mA.

Bei den Elektrolyten, die in den folgenden galvanostatischen Beschichtungen die besten Magnesiumphosphatschichten auf den Titanproben hinterließen, waren keine Stromplateaus in den Strom-Spannungs-Kennlinien auszumachen.

In Bild B der Abbildung 5 wird exemplarisch die Strom-Spannungs-Kennlinie des ersten Elektrolyten der Tabelle 3 gezeigt, bei der kein Plateau zu erkennen ist.



**Abbildung 5:** Strom-Spannungs-Kennlinien

- A) Strom-Spannungs-Kennlinie des Basiselektrolyten [44] mit Plateau
- B) Strom-Spannungs-Kennlinie des 1. Elektrolyten ohne erkennbares Plateau

Die Magnesiumphosphatbeschichtungen wurden in den wässrigen Elektrolyten, welche in Material und Methode unter Punkt 3.1.2, Tabelle 3 in ihrer Zusammensetzung erläutert wurden, bei Stromstärken vorgenommen, die für den „Basiselektrolyten“ optimal schienen. Somit konnten mit diesem Erfahrungswert bei einer Stromstärke von - 300 (Stromdichte:  $79,0 \text{ mA/cm}^2$ ) und - 400 mA (Stromdichte:  $105,3 \text{ mA/cm}^2$ ) Beschichtungen mit guter Qualität bezüglich Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte auf den Titanproben appliziert werden.

Die Beschichtungsdauer betrug bei allen Versuchen 15 Minuten. Da während dieser Beschichtungszeit der Oberflächenwiderstand der Titanelektrode aufgrund der zunehmenden Ablagerung der jeweiligen isolierenden Beschichtung stieg, wurde vom Potentiostaten die Spannung sukzessive erhöht, um die vorgegebene Stromstärke einzuhalten.

#### 4.1.2 Elektrochemische Abscheidung von Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )

Durch die Elektrolyse der ersten drei Elektrolytlösungen, die Ammonium- ( $\text{NH}_4^+$ ), Phosphat- ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) und Magnesium-Ionen ( $\text{Mg}^{2+}$ ) enthielten, bildete sich an der Titankathode, der unter 3.3 beschriebenen elektrochemischen Zelle, das Magnesiumammoniumphosphat Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). In Tabelle 6 werden die genauen Elektrolytzusammensetzungen, Versuchsparameter und Ergebnisse der Beschichtungen aufgelistet.

**Tabelle 6:** Elektrolytzusammensetzungen, Versuchsparameter und Ergebnisse der Elektrolyte Nummer 1 bis 3b

Konzentrationen der Stoffe	Konzentrationen der Stoffe	pH	Temp. in °C	Stromstärke in mA	XRD Analyse
<b>1. <math>(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4</math></b>	<b><math>\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>			
a) 0,1 mol/l 13,2 g/l	0,3 mol/l 60,99 g/l	4,0	50	-300	<b>Struvit <math>\text{MgNH}_4\text{PO}_4</math> <math>\cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>
b) 0,2 mol/l 26,41 g/l	0,2 mol/l 40,66 g/l	4,0	50	-300	<b>Struvit <math>\text{MgNH}_4\text{PO}_4</math> <math>\cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>
<b>2. <math>\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4</math></b>	<b><math>\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>			
0,1 mol/l 13,2 g/l	0,30 mol/l 76,92 g/l	4,0	50	-300	<b>Struvit <math>\text{MgNH}_4\text{PO}_4</math> <math>\cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>
<b>3. <math>\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4</math></b>	<b><math>\text{MgO}</math></b>	<b><math>\text{HNO}_3</math></b>			
a) 0,1 mol/l 11,5 g/l	0,15 mol/l 6,045 g/l	4,0	23	-300	<b>Struvit <math>\text{MgNH}_4\text{PO}_4</math> <math>\cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>
b) 0,1 mol/l 11,5 g/l	0,15 mol/l 6,045 g/l	4,0	50	-300	<b>Struvit <math>\text{MgNH}_4\text{PO}_4</math> <math>\cdot 6\text{H}_2\text{O}</math></b>

Der erste Elektrolyt, bestehend aus einer wässrigen Lösung von Diammoniumhydrogenphosphat und Magnesiumchlorid-Hexahydrat, erzeugte in zwei unterschiedlichen Konzentrationsverhältnissen (1 a) und 1 b)) bei der elektrochemischen Abscheidung eine Struvitschicht auf der Titankathode. Auch

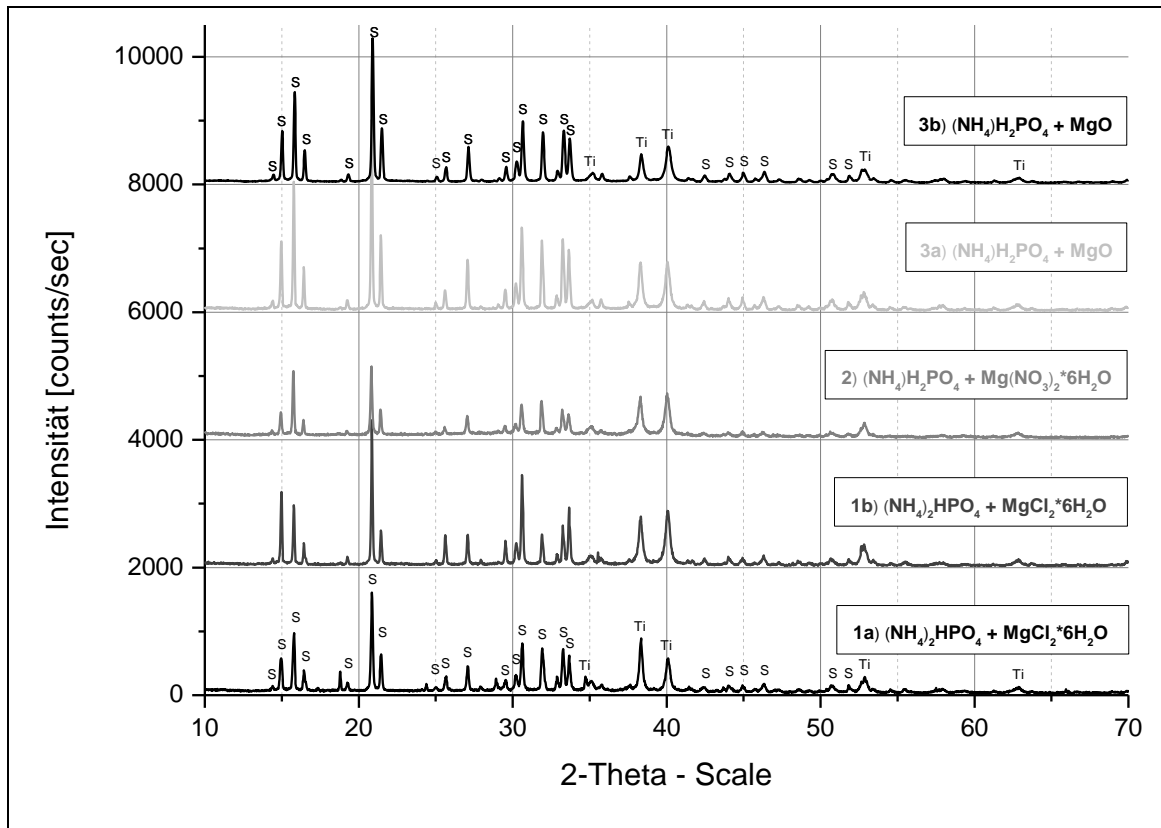


die elektrochemische Abscheidung des zweiten Elektrolyten, bestehend aus einer wässrigen Lösung von Ammoniumdihydrogenphosphat und Magnesiumnitrat-Hexahydrat, hinterließ bei gleichen Versuchsparametern eine dichte Schicht Struvit auf der Kathode. Das gleiche Ergebnis einer kathodischen Abscheidung von Struvit wurde durch die Verwendung eines ammoniumdihydrogenphosphat- und magnesiumhaltigen Elektrolyten erreicht. Wie in Tabelle 6 unter den Punkten 3 a) und b) zu sehen ist, wurden Struvitbeschichtungen nicht nur bei einer Elektrolyttemperatur von 50 °C, sondern auch bei einer Temperatur von 23 °C gebildet. Stichprobenartige pH-Wert-Messungen in der direkten Nähe der Titan-Kathode, die während der Beschichtungen getätigt wurden, ergaben relativ hohe alkalische Werte zwischen pH 8,0 und 10,0.

#### 4.1.2.1 Charakterisierung von Struvit mittels XRD

Um die beschichteten Titanproben in ihren Stoffzusammensetzungen zu charakterisieren, wurden von diesen nach einer Trocknung an der Luft Röntgendiffraktogramme erstellt und anschließend analysiert.

Die folgende Abbildung 6 zeigt alle Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen, die mit den in Tabelle 6 aufgelisteten Versuchsparametern erzeugt wurden. Diese Röntgendiffraktogramme wurden mit allen in der Datenbank des DIFFRAC-plus-Auswertungsprogramms der Firma Siemens gespeicherten Magnesiumphosphatdaten verglichen. Die Beugungsmuster der fünf Diffraktogramme waren deckungsgleich mit dem Referenzbeugungsmuster des Stoffes Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Dies galt als Nachweis dafür, dass die Elektrolyten 1 bis 3 b) bei ihrer elektrochemischen Abscheidung tatsächlich Struvit als Beschichtungen auf den Titanoberflächen hinterließen. Unterschiede zwischen diesen in Abbildung 6 gezeigten Röntgendiffraktogrammen waren nur in der Intensität, bzw. in der Höhe der für Struvit typischen Glanzwinkel, auszumachen. Dies war ein Hinweis auf die unterschiedlichen Dicken der Beschichtungen. Die optische Beschaffenheit dieser Beschichtungen wurde ebenfalls als Auswahlkriterium genutzt.

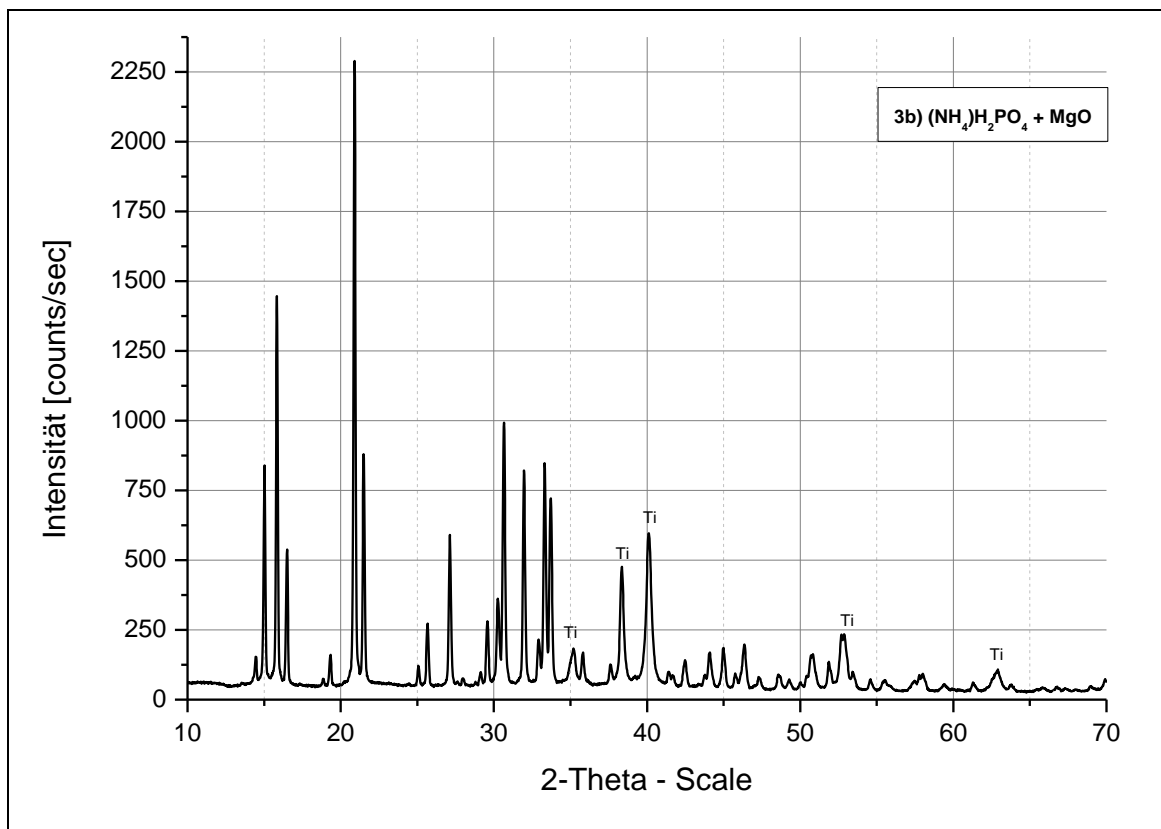


**Abbildung 6:** Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen der Elektrolyten 1 bis 3 b); alle fünf Diffraktogramme zeigen die charakteristischen Peaks von Struvit und Titan (gekennzeichnet durch S und Ti) in einem Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-70^\circ$  (x-Achse); jede Messung ist für eine bessere Übersicht um jeweils 2000 counts angehoben (y-Achse)

Die Oberflächenqualität, der mit dem Elektrolyt Nr. 3 b ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  und MgO) unter  $50^\circ\text{C}$  hergestellten Struvitbeschichtungen, war, verglichen mit den unter anderen Versuchsbedingungen erstellten Struvitbeschichtungen, in den Kategorien Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte am besten. Auch die im Röntgendiffraktogramm abgezeichneten, für Struvit charakteristischen Glanzwinkel waren stark ausgeprägt (siehe Abbildung 6). Dies hatte zur Folge, dass diese Elektrolytrezeptur unter den angegebenen Versuchsparametern zukünftig für alle Beschichtungen mit dem Stoff Struvit herangezogen und als Standardelektrolyt definiert wurde.

Die folgende Abbildung 7 zeigt ein Langzeit-Röntgendiffraktogramm der Struvitbeschichtung, die während der in dieser Arbeit folgenden Einlagerungsversuche durchgehend genutzt wurde. Deutlich sind alle

Intensitätsmaxima bei den für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) und Titan (Ti) charakteristischen Glanzwinkeln abgezeichnet:

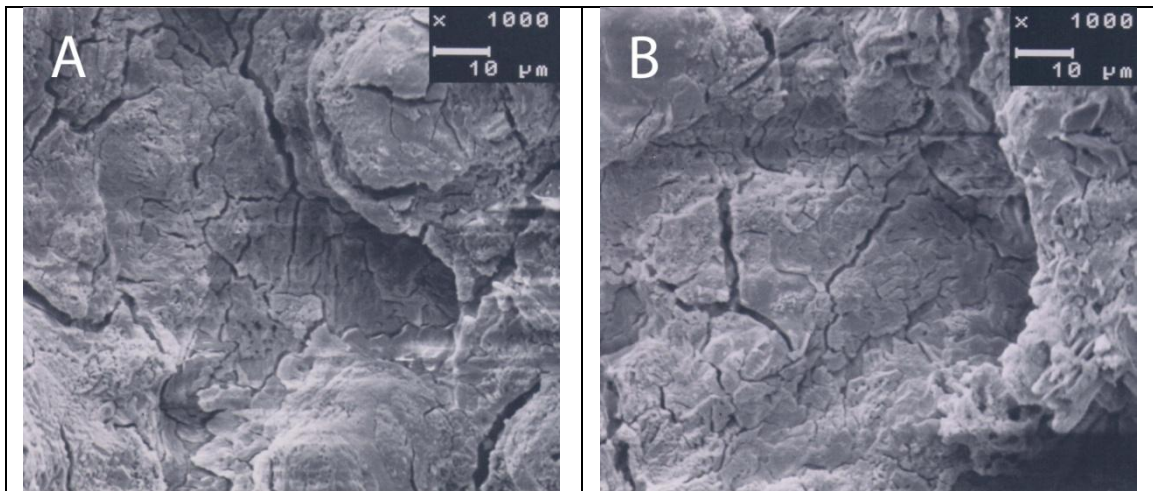


**Abbildung 7:** Langzeit-Röntgendiffraktogramm (12h Aufzeichnung) der Beschichtung des Standardelektrolyten; alle nicht beschrifteten Peaks sind charakteristisch für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ); Titanpeaks sind mit Ti gekennzeichnet

#### 4.1.2.2 Analyse von Struvit mittels REM

Von den in der elektrochemischen Zelle auf Titan aufgetragenen Struvitbeschichtungen wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, um die Oberflächenmorphologie zu untersuchen. Die Analyse der Oberflächenmorphologie der Beschichtungen war deshalb von Wichtigkeit, weil die Osteointegration von Titanimplantaten, wie im Kapitel Kenntnisstand unter 2.3 beschrieben, durch ihre Oberflächenbeschaffenheit stark beeinflusst wird. Anzustreben sind Oberflächen, die durch eine hohe Oberflächenrauigkeit eine gute Mikroretention des Implantates im Knochenfach gewährleisten und eine gute Osteoblastenadhäsion zulassen. Die Titanproben wurden, wie unter 3.7

beschrieben, mit einer leitfähigen Goldschicht bedampft und standardmäßig bei Vergrößerungen von x500, x1000 und x2000 fotografiert.

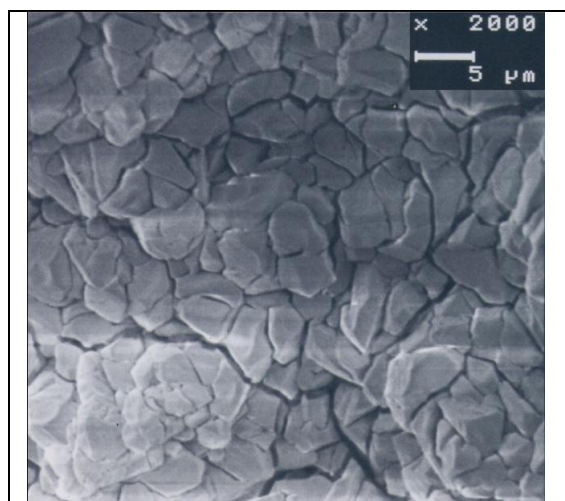


**Abbildung 8:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A)** Struvitbeschichtung, x1000
- B)** Struvitbeschichtung nach Desinfektion mit Alkohol, x1000

In der obigen Abbildung 8 werden REM-Bilder der mit dem Standardelektrolyten hergestellten Struvitbeschichtungen gezeigt. Beide Aufnahmen wurden bei einer Beschleunigungsspannung von 10 kV und einem Arbeitsabstand von 15 mm gemacht. Bei einer Vergrößerung von x1000 erkennt man die hohe Rauigkeit der stark zerklüfteten Oberfläche. Die oberen Lagen der Beschichtungen weisen größere Platten auf, die durch zahlreiche Mikrorisse voneinander getrennt sind. In den unteren, tieferen Bereichen ändert sich die plattenartige Morphologie zu einer eher granulatartigen Morphologie. Die Desinfektion der Struvitbeschichtungen mit Ethanol ergab, im Vergleich des REM-Bildes B mit dem REM-Bild A der Abbildung 8, keine sichtbare Veränderung der Oberflächenmorphologie.

Bei einer Vergrößerung von x2000, einer Beschleunigungsspannung von 5 kV und einem Arbeitsabstand von 10 mm konnten im REM die Bereiche der Struvit-Beschichtung mit granulatartigen Formationen noch besser ausgemacht werden:



**Abbildung 9:**  
Struvitbeschichtung, 5 kV, 10 mm, x2000

Die dicht aneinander gepackten, unregelmäßig geformten granulatartigen Strukturen sind an ihrer längsten Seite bis zu ca. 5 µm groß, haben keine einheitliche Form und sind von ca. 0,5-1 µm großen Spalten umgeben.

#### 4.1.3 Elektrochemische Abscheidung von Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Durch die erfolgreiche Elektrolyse der vierten Elektrolytlösung (Tabelle 3, Kapitel 3.1.2) bildete sich das Magnesiumphosphat Newberyit mit der Summenformel  $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Alle Informationen bezüglich Elektrolytzusammensetzung und Versuchsparameter sind in der folgenden Tabelle 7 zusammengefasst.

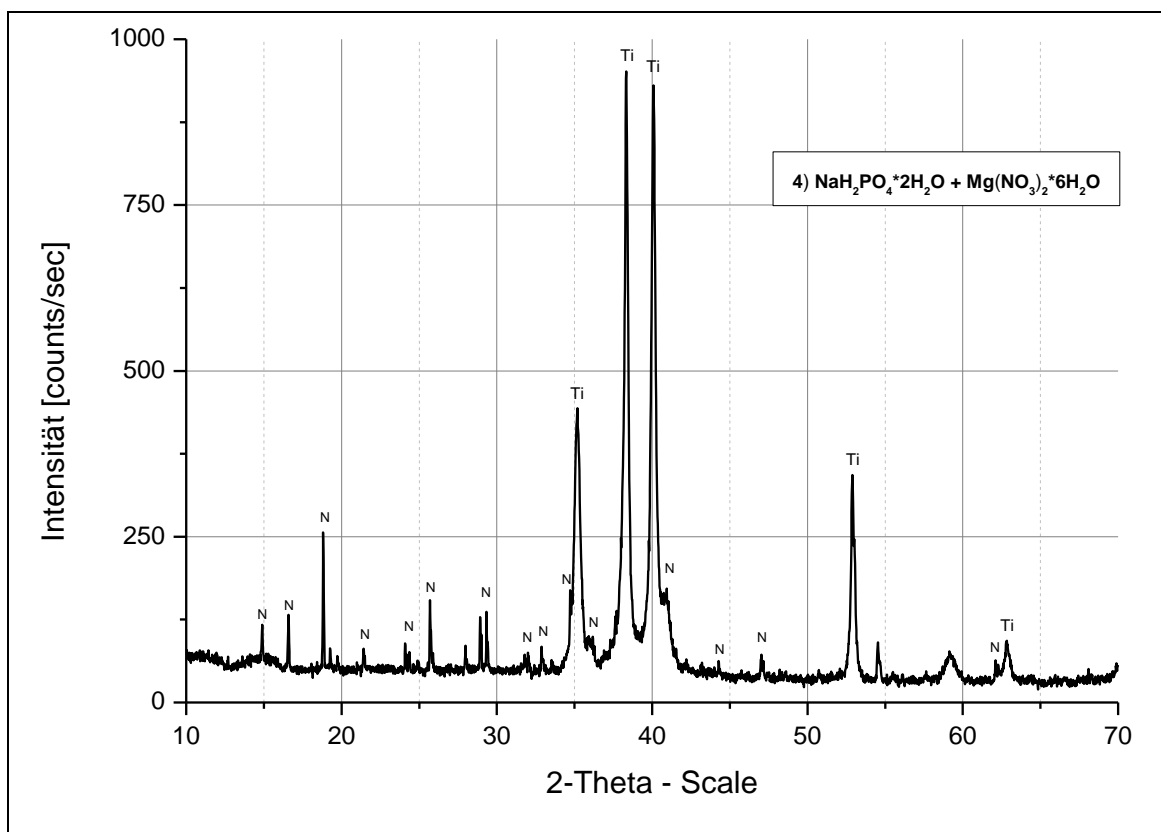
**Tabelle 7:** Elektrolytzusammensetzung, Versuchsparameter und Ergebnisse des Elektrolyten Nummer 4

Konzentrationen der Stoffe	Konzentrationen der Stoffe	pH	Temp. in °C	Stromstärke in mA	XRD Analyse
4. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{HNO}_3$			
0,1 mol/l 15,6 g/l	0,2 mol/l 51,282 g/l	4,0	50	-400	Newberyit $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Die Beschichtungen mit diesem Elektrolyten, bestehend aus einer auf pH 4,0 titrierten wässrigen Lösung von Natriumdihydrogenphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) und Magnesiumnitrat-Hexahydrat ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), wurden auch in der Massenproduktion mit der Einzelelektrode durchgeführt, da nur mit diesem Versuchsaufbau zufriedenstellende Newberyitbeschichtungen herzustellen waren. Wahrscheinlich beeinflusste die Änderung des Elektrodenaufbaus und damit auch eine Änderung der elektrischen Feldlinien im Elektrolyten die Ausfällung. Mit Hilfe der Einzelelektrode konnten bei einer angelegten Stromstärke von -400 mA Beschichtungen mit guter Qualität bezüglich Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte auf Titan appliziert werden.

#### 4.1.3.1 Charakterisierung von Newberyit mittels XRD

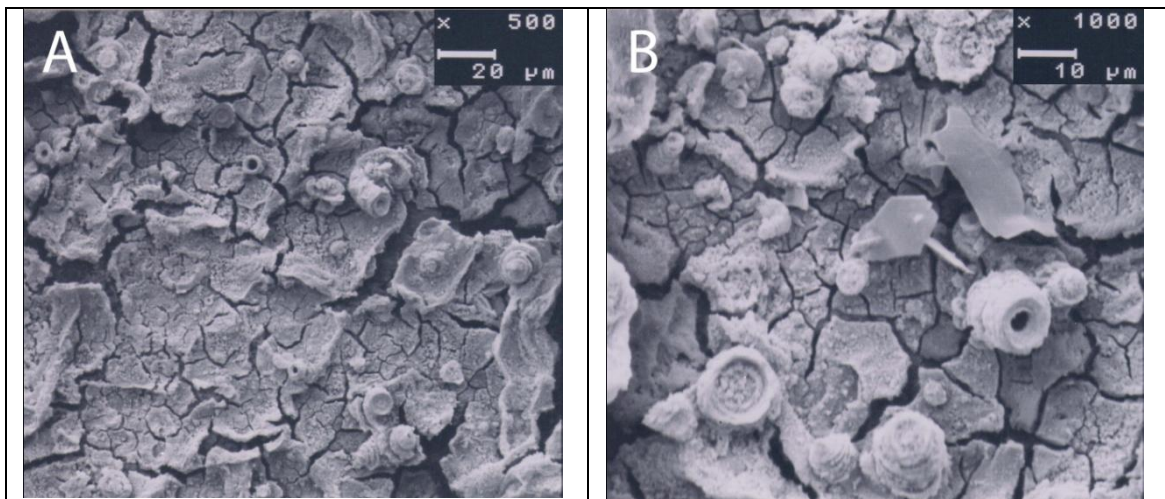
Die Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen zeigten im Auswertungsprogramm Übereinstimmung zum Referenzbeugungsmuster von Newberyit:



**Abbildung 10:** Röntgendiffraktogramm der Beschichtung des Elektrolyten Nummer 4; das Diffraktogramm zeigt die für Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) und Titan charakteristischen Peaks (gekennzeichnet mit N und Ti)

#### 4.1.3.2 Analyse von Newberyit mittels REM

Die Abbildung 11 zeigt Newberyit bei einer Vergrößerung von x500 und x1000. Es ist eine Oberfläche zu erkennen, die stark zerklüftet ist, mit vielen durch Risse unterbrochenen Platten. Auffallend sind die röhrenförmigen Strukturen auf dieser Oberfläche, die mit ihrer zentralen Öffnung vor allem in Bild B gut zu erkennen sind. Manche dieser röhrenförmigen Formationen besitzen keine zentrale Öffnung mehr, sondern sind verschlossen. Die Schichten sind im Vergleich zu den anderen hier untersuchten Magnesiumphosphatbeschichtungen verhältnismäßig dünn, was auch an der eher flachen Morphologie ohne größere Höhenunterschiede in den Aufnahmen zu sehen ist.



**Abbildung 11:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 14 mm)

- A) Newberyitbeschichtung, x500
- B) Newberyitbeschichtung, x1000

#### 4.1.4 **Massenabscheidungen bei den elektrochemischen Beschichtungen von Struvit und Newberyit**

Beim Vorgang der Elektrolyse in der elektrochemischen Zelle lagerte sich sehr schnell auf der dunklen Titanoberfläche eine weiße, kristalline Struvitschicht ab. Ein Austreten von gasförmigem Wasserstoff war während des Beschichtungsvorgangs anhand von auftretenden Gasbläschen an der Kathode deutlich sichtbar. Dabei kam es vor, dass sich kleine Beschichtungsteile von der Schicht lösten. Diese Stellen wurden aber schon nach kurzer Zeit wieder durch neue Kristallbildung verschlossen, um am Ende der Beschichtungszeit auf jeder

Titanprobe (Gewichts-Mittelwert von 821,7 mg) eine relativ homogene, hellweiße Beschichtung mit einem Gewichts-Mittelwert von 16,6 mg (siehe Tabelle 8) zu hinterlassen.

Bei einem Gewichts-Mittelwert von 16,6 mg pro Struvitbeschichtung auf jeder Titanprobe und einer errechneten durchschnittlichen Oberfläche der runden Proben von ca. 3,8 cm<sup>2</sup> ergab dies eine durchschnittliche Massenabscheidung von 4,4 mg/cm<sup>2</sup> bei der durchgeführten elektrochemischen Beschichtung mit dem Magnesiumammoniumphosphat Struvit.

Das Resultat jeder Beschichtung mit Newberyit war eine sehr dünne, weiße und homogene Schicht auf der Titanprobe mit einem Gewichts-Mittelwert von nur 2,2 mg (siehe Tabelle 8). Die für die Einzelelektrode benutzten Titanplättchen waren, um sie mit einer kleinen Titanschraube am Probenhalter zu befestigen, mit einem Loch von 1 mm Durchmesser versehen und hatten je Probe einen Gewichts-Mittelwert von 820,8 mg.

Bei einem Gewichts-Mittelwert von 2,2 mg pro Newberyitbeschichtung auf jeder Titanprobe und einer errechneten durchschnittlichen Oberfläche der runden Titanproben von ca. 3,8 cm<sup>2</sup> ergab dies für die Newberyitbeschichtungen eine durchschnittliche Massenabscheidung von 0,6 mg/cm<sup>2</sup>.

**Tabelle 8:** Massen von 40 Struvitbeschichtungen (Elektrolyt Nr. 3 b (siehe Tabelle 6)) und 16 Newberyitbeschichtungen (Elektrolyt Nr. 4), gewogen auf einer Feinwaage angegeben in mg

	<b>N gesamt</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Standard- abweichung</b>	<b>Minimum</b>	<b>Median</b>	<b>Maximum</b>
<b>Struvit</b>	40 Stück	16,6	1,4	15	16	23,5
<b>Newberyit</b>	16 Stück	2,2	0,4	1,5	2	3



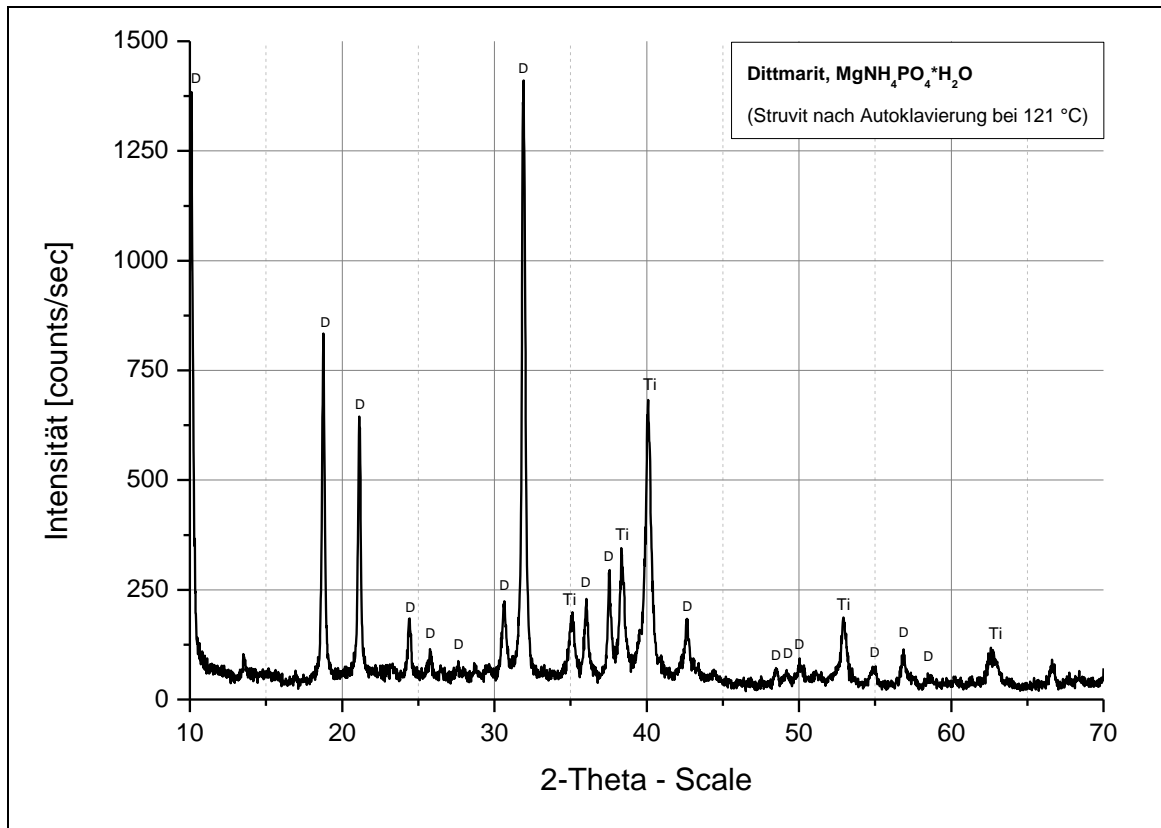
#### 4.1.5 Herstellung von Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )

Da die elektrochemische Beschichtung von dreidimensionalen Titanproben mit den Magnesiumphosphaten Struvit und Newberyit gelang, war eine Beschichtung von Titanimplantaten oder Titanosteosynthesplatten mit ihren komplexen Formen theoretisch denkbar geworden. Ein medizinischer Einsatz dieser beschichteten Titanimplantate würde aber eine vorherige Reduzierung der Anzahl an Keimen auf den Oberflächen auf ein Minimum voraussetzen. Eine gängige Methode der Keimreduzierung auf medizinisch genutzten Instrumenten ist die Dampfsterilisation in einem Autoklav.

Aus diesen Gründen war es von Interesse, zu sehen, wie sich die Beschichtungen bei einer solchen thermischen Sterilisierung im Überdruckbereich verhielten. Deshalb wurden mit Struvit beschichtete Proben und mit Newberyit beschichtete Proben einer Dampfsterilisation unterzogen. In einem Autoklav wurde ein für die Sterilisation medizinisch genutzter Gegenstände gebräuchliches Programm genutzt, welches die Innentemperatur unter feuchter Hitze langsam bis auf 121 °C erhöhte und 20 Minuten hielt. Nach einer langsamen Abkühlung konnten die Proben wieder entnommen werden. Nach Beendigung des Autoklavierungsprogrammes und Trocknung an der Luft hatten sich die Beschichtungen von Struvit mit der chemischen Formel  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  zu Dittmarit mit der chemischen Formel  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  umgewandelt. Die Newberyitbeschichtungen hingegen blieben unverändert.

##### 4.1.5.1 Charakterisierung von Dittmarit mittels XRD

Die dampfsterilisierten Struvitbeschichtungen wurden im Röntgendiffraktometer untersucht, um Veränderungen der chemischen Struktur der Titanbeschichtungen nach einer Dampfsterilisation festzustellen. Im Auswertungsprogramm zeigten die Beugungsmuster der Röntgendiffraktogramme der sterilisierten Struvitproben Übereinstimmung mit dem in der Datenbank gespeicherten Referenzbeugungsmuster für Dittmarit.



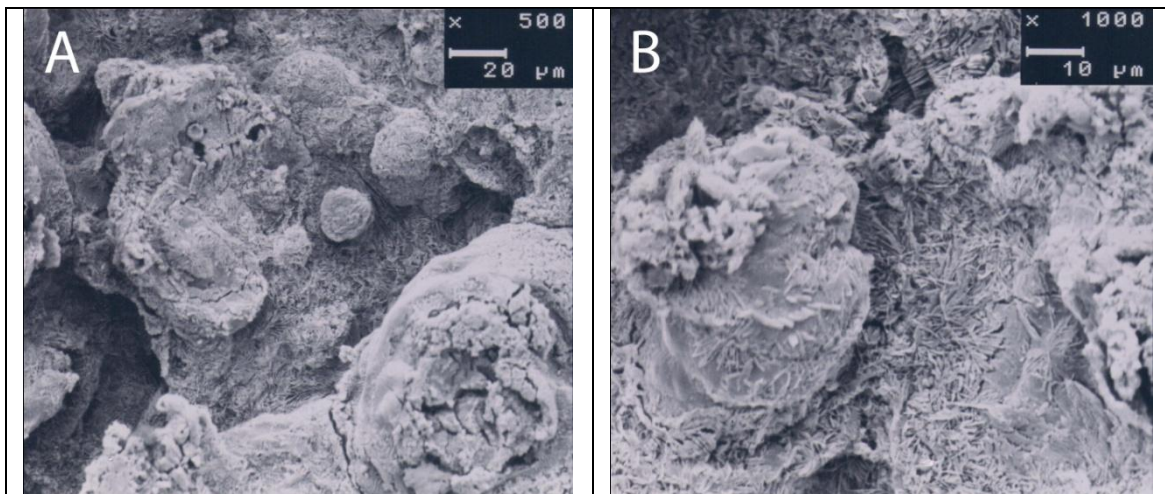
**Abbildung 12:** Röntgendiffraktogramm der Beschichtung des Standardelektrolyten nach Autoklavierungsvorgang bei 121 °C; das Diffraktogramm zeigt die für Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) und Titan charakteristischen Peaks (gekennzeichnet mit D und Ti)

Das Röntgendiffraktogramm der Abbildung 12 galt als Nachweis dafür, dass sich Struvit mit der chemischen Formel  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  bei einer Temperatur von 121 °C und einem Überschuss an Wasser in Form von Wasserdampf zu Dittmarit mit der chemischen Formel  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  umgewandelt hatte. Für alle weiteren durchgeführten Versuche wurde Dittmarit, wie in diesem Abschnitt beschrieben, durch eine thermische Sterilisierung von Struvit hergestellt.

#### 4.1.5.2 Analyse von Dittmarit mittels REM

Die von den dampfsterilisierten Proben angefertigten REM-Aufnahmen zeigten eine veränderte Oberflächenbeschaffenheit im Vergleich zu denjenigen von Struvit. Die Fotos A und B in Abbildung 13 zeigen eine raue Oberfläche mit starken Höhenunterschieden innerhalb der Beschichtung. Große, blockartige Formationen sind unterteilt durch tiefe Furchen. In den tieferen Bereichen der

Beschichtung ist eine dendritische (baumartige) kristalline Struktur zu erkennen (siehe Mitte Bild B).



**Abbildung 13:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A) Dittmaritbeschichtung, x500
- B) Dittmaritbeschichtung, x1000

#### 4.1.6 Versuch der Abscheidung von Struvit-K ( $\text{MgKPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )

Es wurden Versuche unternommen, Struvit-K mittels elektrochemischer Abscheidung als Beschichtung auf Titan zu gewinnen. Diese Beschichtungen wurden ebenfalls in der unter Punkt 3.3 beschriebenen Versuchsanordnung durchgeführt. Elektrolyte mit unterschiedlichen Konzentrationen von Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) und Magnesiumnitrat-Hexahydrat ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) wurden hergestellt. Bei unterschiedlichsten Temperaturen und Stromstärken bildeten sich entweder keine oder nur sehr dünne Schichten auf den Titanproben. Diese sehr dünnen Schichten waren inhomogen und zeigten eine sehr schlechte Haftung auf den Titanoberflächen. Sie erzeugten im Röntgendiffraktogramm kein charakteristisches Beugungsmuster, und konnten weder dem Beugungsmuster von Struvit-K noch einem Beugungsmuster eines anderen Stoffes zugeordnet werden. Es war in dieser Arbeit nicht gelungen, Titanoberflächen mittels elektrochemischer Abscheidung mit Struvit-K zu beschichten.

## **4.2 Charakterisierung der Beschichtungen nach Einlagerung mittels Röntgendiffraktometrie (XRD) und Rasterelektronenmikroskopie**

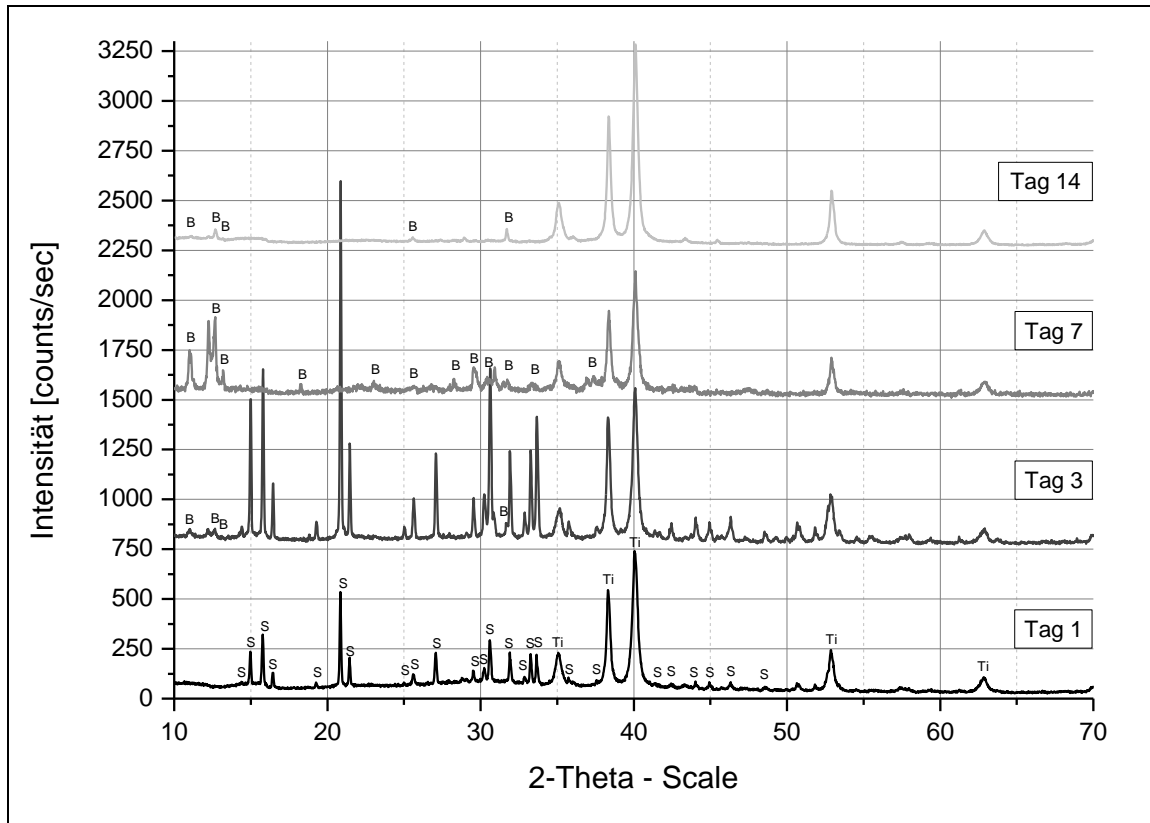
Im zweiten Versuchsaufbau dieser Arbeit wurden, nach den unter 4.1 beschriebenen Charakterisierungen der Beschichtungsstoffe, Struvit, Dittmarit und Newberyit in verschiedenen Medien unter physiologischen Bedingungen eingelagert. Der erste Teil der Proben wurde in SBF (Simulated Body Fluid), eine hinsichtlich der Salzzusammensetzung dem menschlichen Blutplasma ähnlichen Flüssigkeit, gelagert, während der zweite Teil in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), einem standardisierten Nährmedium für die Zellkultur, eingelagert wurde. Der dritte Teil wurde in fötalem Kälberserum (FCS) eingelegt. Um mögliche kompositorische Veränderungen der Magnesiumphosphate nach deren Einlagerung zu analysieren, wurden alle eingelagerten Proben nach ihrer Einlagerungszeit von einem, drei, sieben und 14 Tagen mittels XRD und Rasterelektronenmikroskopie charakterisiert.

Die Einlagerungsversuche der drei Beschichtungsstoffe Struvit, Dittmarit und Newberyit wurden, wie unter Punkt 3.5 beschrieben, aufgebaut und nachfolgend mit dem Röntgendiffraktometer analysiert (siehe 3.6). Danach wurden die Oberflächenmorphologien aller Magnesiumphosphatbeschichtungen, wie in Kapitel 3.7 beschrieben, unter einem REM untersucht. Im Folgenden werden die angefertigten Röntgendiffraktogramme der Magnesiumphosphate in Diagrammen dargestellt und deren Ergebnisse vorgestellt, und zudem auch deren REM-Bilder vor und nach ihrer Einlagerung in SBF, DMEM und FCS gegenübergestellt und analysiert.

### **4.2.1 Charakterisierung von Struvit nach Einlagerung**

#### **4.2.1.1 Einlagerung von Struvit in SBF**

In Abbildung 14 werden die vier, um jeweils 750 counts übereinandergelagerten, Röntgendiffraktogramme der mit Struvit beschichteten Titanproben nach den Einlagerungszeiten von einem, drei, sieben und 14 Tagen in Simulated Body Fluid (SBF) gezeigt.



**Abbildung 14:** Röntgendiffraktogramme der Struvitbeschichtungen nach Einlagerung in SBF; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Diffraktogramm Tag 1 zeigt alle für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) charakteristischen Peaks; Kennzeichen für Peaks: (Ti) Titan, (S) Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

Die unterste, schwarze Kurve in dieser Abbildung zeichnet das typische Beugungsmuster für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) und Titan, deren Glanzwinkel mit den Symbolen (S) und (Ti) gekennzeichnet wurden. Das Diffraktogramm für Struvit nach einem Tag der Einlagerung in SBF zeigt das gleiche Beugungsmuster wie beim Ausgangsstoff vor der Einlagerung, nur mit etwas verringerter Intensität der Glanzwinkel für Struvit. Die Verringerung der Intensität der Glanzwinkel von Struvit, im Vergleich zu denen von Titan, deutet darauf hin, dass der Beschichtungsstoff auf der Titanoberfläche leicht in Lösung gegangen war und sich die Schichtdicke nach Tag 1 der Einlagerung verringert hatte. Nach einem Tag in SBF hatte es laut Röntgendiffraktogramm keine chemische Veränderung des Stoffes Struvit gegeben.

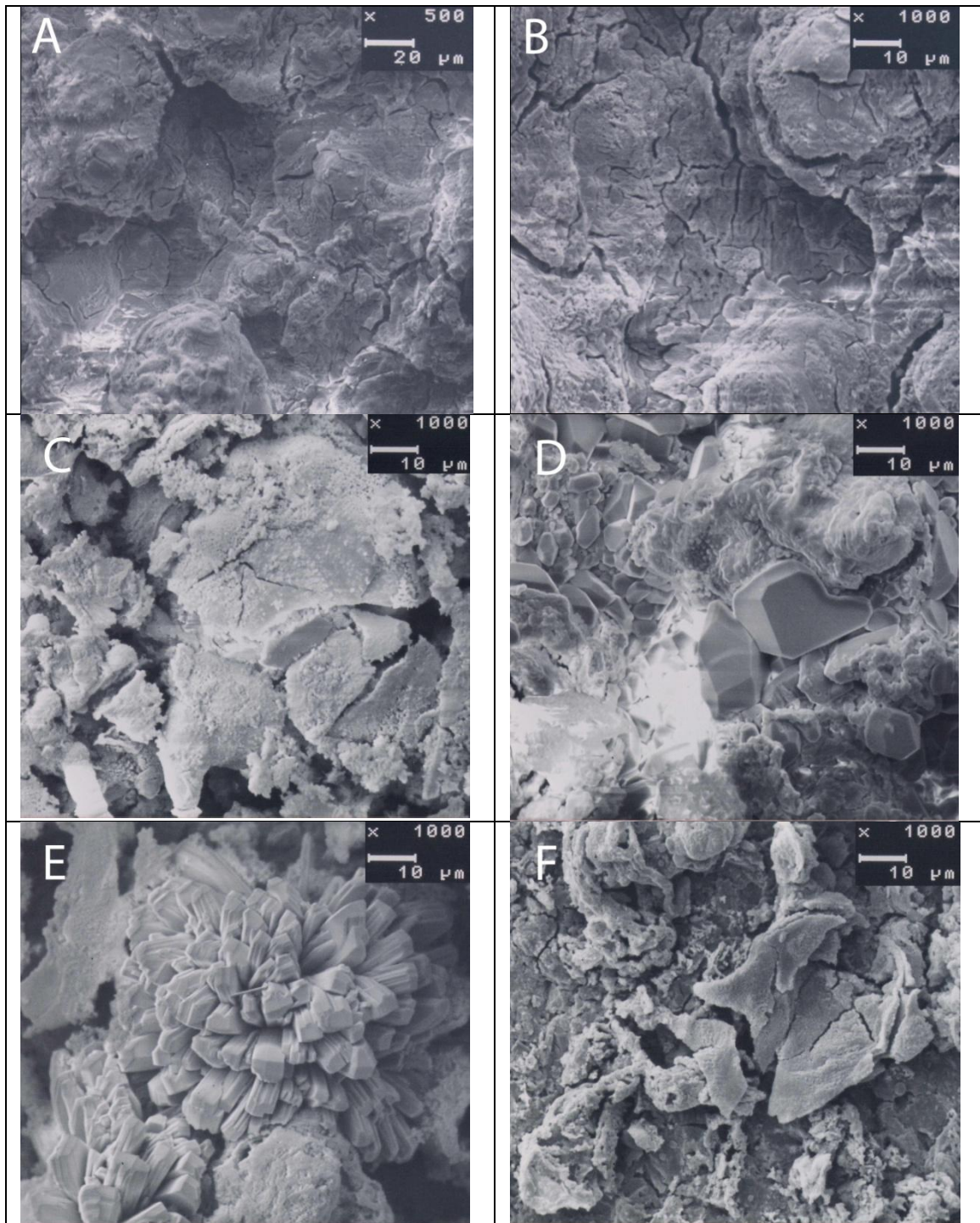
Im zweiten, dunkelgrauen Diagramm für Struvit nach dem dritten Tag in SBF zeichnen sich vor allem im Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-14^\circ$  (x-Achse) Peaks

mit geringer Intensität ab, die für das Beugungsmuster von Struvit untypisch sind. Diese Peaks sind die ersten sich abzeichnenden Intensitätsmaxima der für Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) charakteristischen Glanzwinkel und wurden in der Abbildung 14 mit (B) gekennzeichnet. Nach Tag 3 sind noch alle für Struvit charakteristischen Glanzwinkel im Röntgendiffraktogramm zu erkennen.

Das dritte Diagramm der Abbildung 14 zeigt, dass nach dem siebten Tag der Einlagerung in SBF keine für Struvit charakteristischen Glanzwinkel mehr im Röntgendiffraktogramm sichtbar sind. Anstatt dessen sind die für Bobierit (B) charakteristischen Glanzwinkel mit deutlicher Intensität im Diffraktogramm abgebildet. Demzufolge hatte sich zu diesem Zeitpunkt der Einlagerung Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) bereits vollständig zu Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) umgewandelt.

Im obersten hellgrauen Diagramm, welches das Röntgendiffraktogramm der Beschichtung nach dem 14. Tag in SBF darstellt, ist Struvit ebenfalls nicht mehr nachzuweisen. Bobierit ist anhand von Glanzwinkeln mit wesentlich kleineren Intensitäten als nach Tag 7 nachzuweisen. Da die Intensitäten bei den für Bobierit charakteristischen Glanzwinkeln, im Vergleich zu denen von Titan sehr gering sind, ist zu vermuten, dass die Beschichtung nach der langen Einlagerungsdauer von 14 Tagen zu großen Teilen in Lösung gegangen war.

Die folgenden Aufnahmen der Struvitbeschichtungen zeigen in Abbildung 15, dass es bei der Umwandlung von Struvit zu Bobierit zu neuen Kristallformationen gekommen war. Die in den Röntgendiffraktogrammen gemachten Beobachtungen korrelierten mit den in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen festgestellten morphologischen Veränderungen der Oberflächen.



**Abbildung 15:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A) Struvit vor Einlagerung, x500
- B) Struvit vor Einlagerung, x1000
- C) Struvit nach Tag 1 in SBF, x1000
- D) Struvit nach Tag 3 in SBF, x1000
- E) Struvit nach Tag 7 in SBF, x1000
- F) Struvit nach Tag14 in SBF, x1000

Alle Bilder wurden bei einer Beschleunigungsspannung von 10 kV und einem Arbeitsabstand von 15 mm im REM aufgenommen. Die Bilder A und B der Abbildung 15 zeigen Struvit vor der Einlagerung in SBF bei einer Vergrößerung von x500 und x1000 mit seiner typischen, unter 4.1.2.2 beschriebenen, Oberflächenmorphologie.

Nach einem Tag der Einlagerung in SBF haben sich in Bild C die plattenartigen, durch Mikrorisse unterteilten, Strukturen verändert, indem hier die Ebenen unterschiedlich hoch und stärker voneinander getrennt sind. Sie zeigen im Gegensatz zu Bild A und B keine fließenden Übergänge zueinander. Es ist anzunehmen, dass Teile der Beschichtung nach Einlagerung in Lösung gegangen waren, da auch im dazugehörigen Röntgendiffraktogramm ein Rückgang der Intensitäten der für Struvit charakteristischen Glanzwinkel festzustellen ist.

In Bild D ist der plattenförmige, stark zerklüftete Charakter der Beschichtung verloren gegangen. Die Oberfläche ist nun mit kristallartigen Strukturen bedeckt, wobei die kleineren Kristalle ca. 1-5 µm und die größeren Kristalle bis zu 20 µm groß sind. Die beginnende Umwandlung von Struvit zu Bobierit ist hier an den für Struvit untypischen Kristallformationen im REM festzustellen.

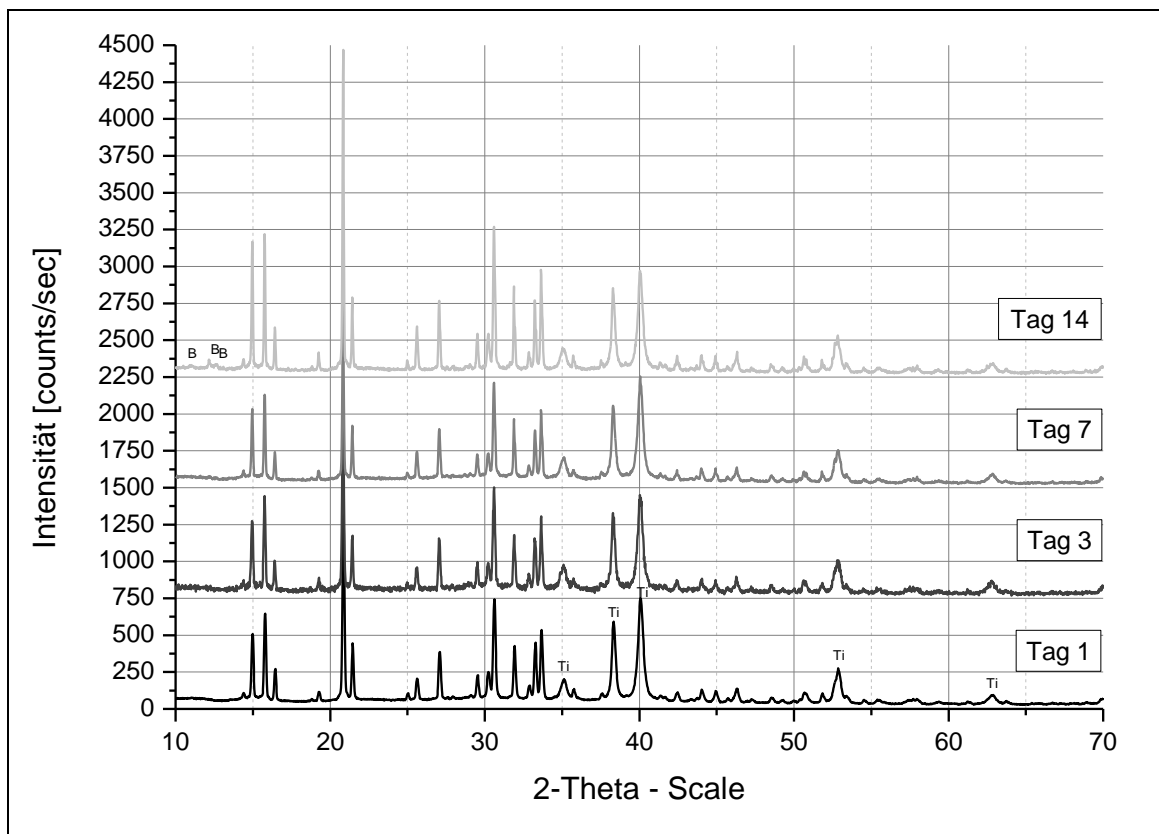
Die in Bild D abgebildeten, eher flächig nebeneinander liegend angeordneten Kristalle haben sich in Bild E nach dem siebten Tag der Einlagerung in SBF zu rosettenförmigen Kristallbüscheln formiert. Sie sind im Durchmesser bis zu ca. 50 µm groß und heben sich deutlich vom Untergrund der Beschichtung ab.

Nach 14 Tagen der Einlagerung in SBF sind nur noch wenige klare Strukturen in den REM-Bild F zu erkennen. Die Oberfläche ist relativ eben und nicht mehr so hoch und zerklüftet wie die Oberflächen auf den vorhergehenden Bildern.

#### 4.2.1.2 Einlagerung von Struvit in DMEM

In Abbildung 16 werden die um jeweils 750 counts übereinandergelegten Röntgendiffraktogramme, der mit Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) beschichteten Titanproben, nach deren Einlagerung im Nährmedium Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) gezeigt.





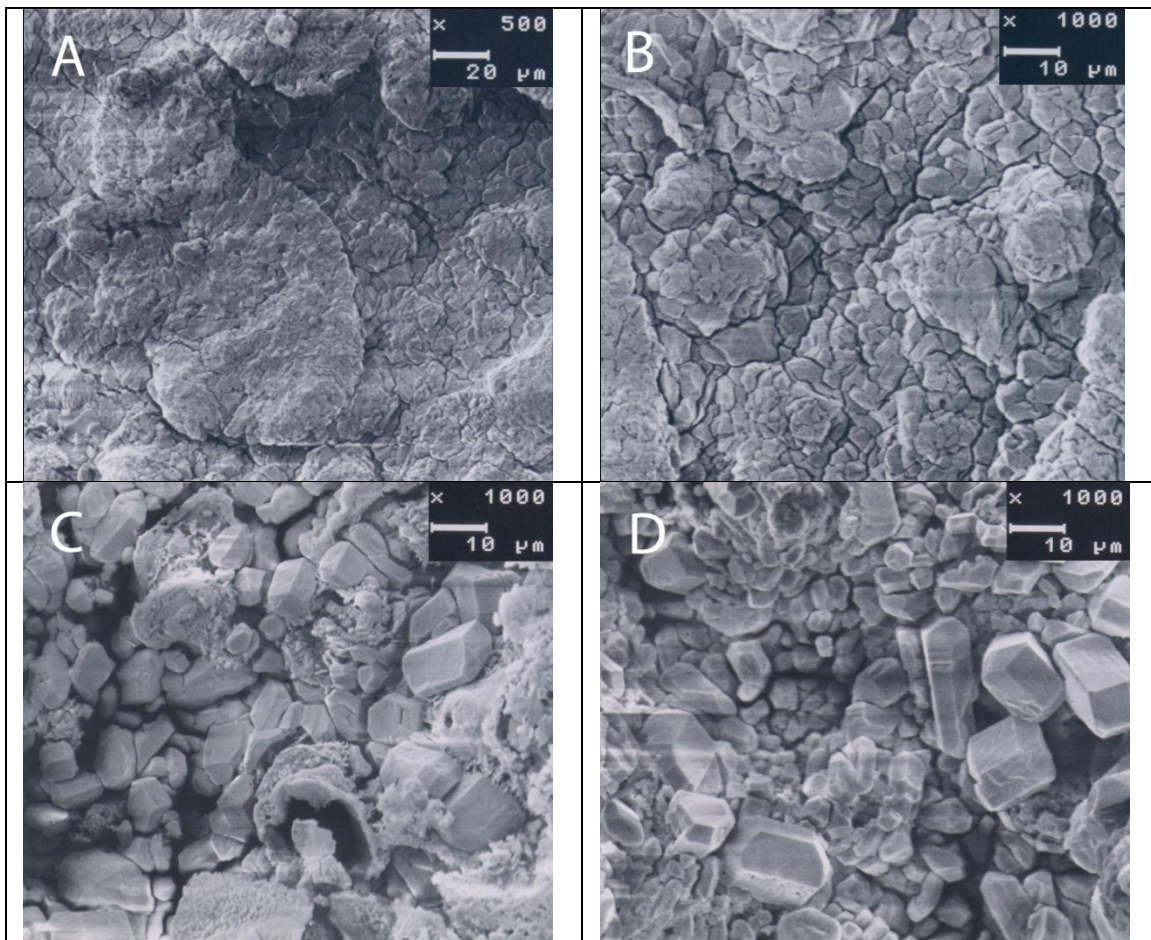
**Abbildung 16:** Röntgendiffraktogramme der Struvitbeschichtungen nach Einlagerung in DMEM; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Diffraktogramm Tag 1 zeigt alle für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) charakteristischen Peaks; Kennzeichen für Peaks:  
(Ti) Titan, (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

In den Diffraktogrammen der Proben sieht man nach den Einlagerungstagen 1 bis 7 klare Abzeichnungen der für Struvit und Titan charakteristischen Glanzwinkel. Der Stoff Struvit wird bis zum siebten Tag in DMEM ohne Veränderungen dargestellt. Im Gegensatz zu der Einlagerung in SBF ging Struvit im Laufe der Einlagerung in DMEM weniger in Lösung, denn die Intensitätsmaxima von Struvit bleiben in Abbildung 16, bei relativ konstanten Höhen der Intensitätsmaxima für Titan, weiterhin stark ausgeprägt.

Nach 14 Tagen ist Struvit im hellgrauen, obersten Röntgendiffraktogramm immer noch mit hohen Intensitätsmaxima seiner charakteristischen Glanzwinkel vertreten. Auffällig sind aber kleine, für Struvit untypische Peaks im Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-14^\circ$  (x-Achse). Diese, durch das Symbol (B) gekennzeichneten, Peaks passen zu den charakteristischen Glanzwinkeln von

Bobierrit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ). Da diese aber mit schwacher Intensität abgezeichnet wurden und weitere für diesen Stoff charakteristische Glanzwinkel ebenfalls schwach ausgeprägt sind oder aber sich mit denen von Struvit überlagern, ist davon auszugehen, dass sich Struvit bis zum 14. Tag der Einlagerung in DMEM nur zu einem geringen Anteil zu Bobierrit umgewandelt hat. Die Struvitbeschichtungen sind in DMEM langsamer in Lösung gegangen als in SBF.

Die beginnende Umwandlung von Struvit zu Bobierrit ist anhand von für Struvit untypischen kristallinen Strukturen auf den Beschichtungsoberflächen bereits in der rasterelektronenmikroskopischen Abbildung des siebten Tages nach Einlagerung in DMEM zu beobachten.



**Abbildung 17:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A) Struvit vor Einlagerung, x500
- B) Struvit vor Einlagerung, x1000
- C) Struvit nach Tag 7 in DMEM, x1000
- D) Struvit nach Tag 14 in DMEM, x1000

Die Bilder A und B der Abbildung 17 zeigen Struvit vor der Einlagerung in DMEM bei einer Vergrößerung von x500 bis x1000.

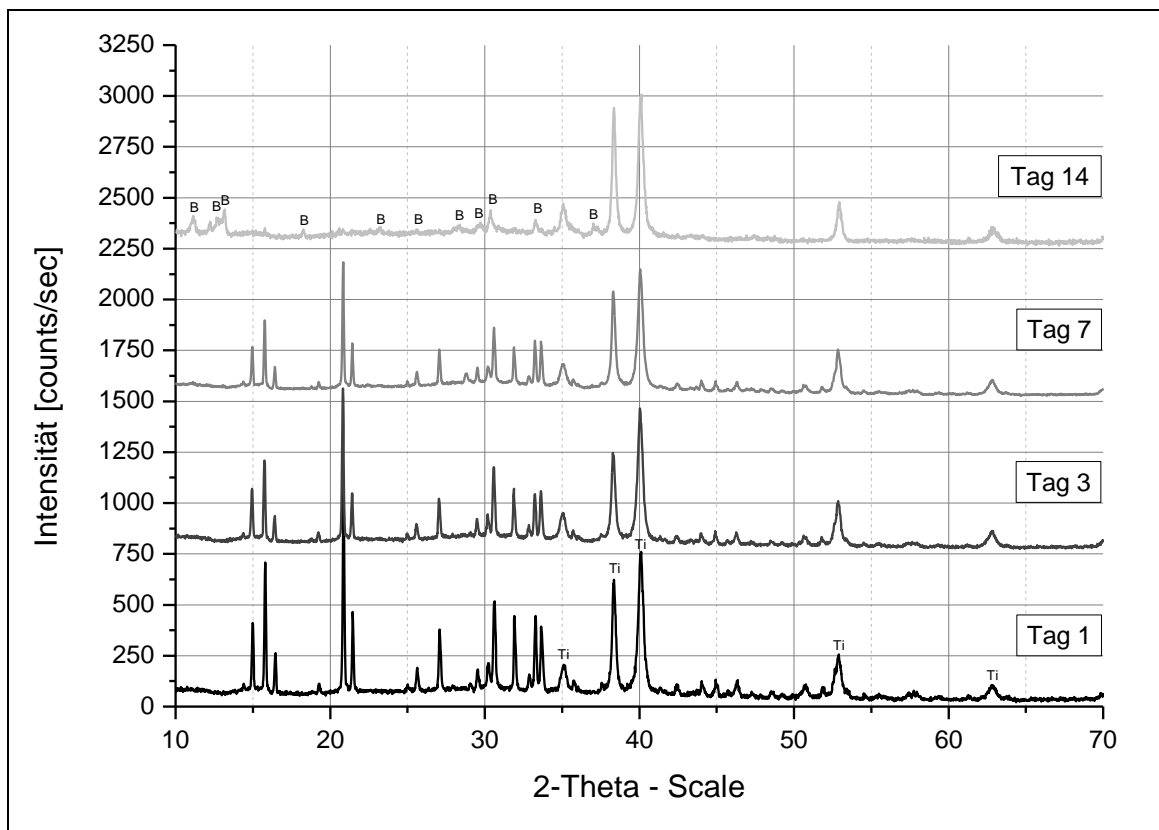
Erst nach dem siebten Tag der Einlagerung in DMEM waren in den REM-Aufnahmen der Struvitbeschichtungen Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit festzustellen. In Bild C sind vereinzelt bis zu 15 µm große kristalline Strukturen zu erkennen. Diese haben ein ähnliches Erscheinungsbild wie die Kristalle, die nach drei Tagen der Einlagerung von Struvit in SBF gebildet wurden (siehe Abbildung 15, Bild D). Die Kristalle waren, wie auch hier, ein Produkt der beginnenden Kristallisation von Bobierit.

Das Vorkommen dieser Kristalle verstärkte sich auf den Beschichtungsoberflächen nach dem 14. Tag der Einlagerung in DMEM, wie auf Bild D der Abbildung 17 zu sehen ist. Die rosettenförmigen Kristallbüschel, welche in Bild E der Abbildung 15 nach dem siebten Tag der Einlagerung von Struvit in SBF zu sehen waren, sind in der Einlagerung in DMEM innerhalb des gleichen Zeitraumes nicht gebildet worden.

#### 4.2.1.3 Einlagerung von Struvit in FCS

In Abbildung 18 werden alle Röntgendiffraktogramme der Struvitproben nach ihrer Einlagerung in fötalem Kälberserum von unten nach oben aufsteigend, jeweils um 750 counts versetzt, gezeigt.

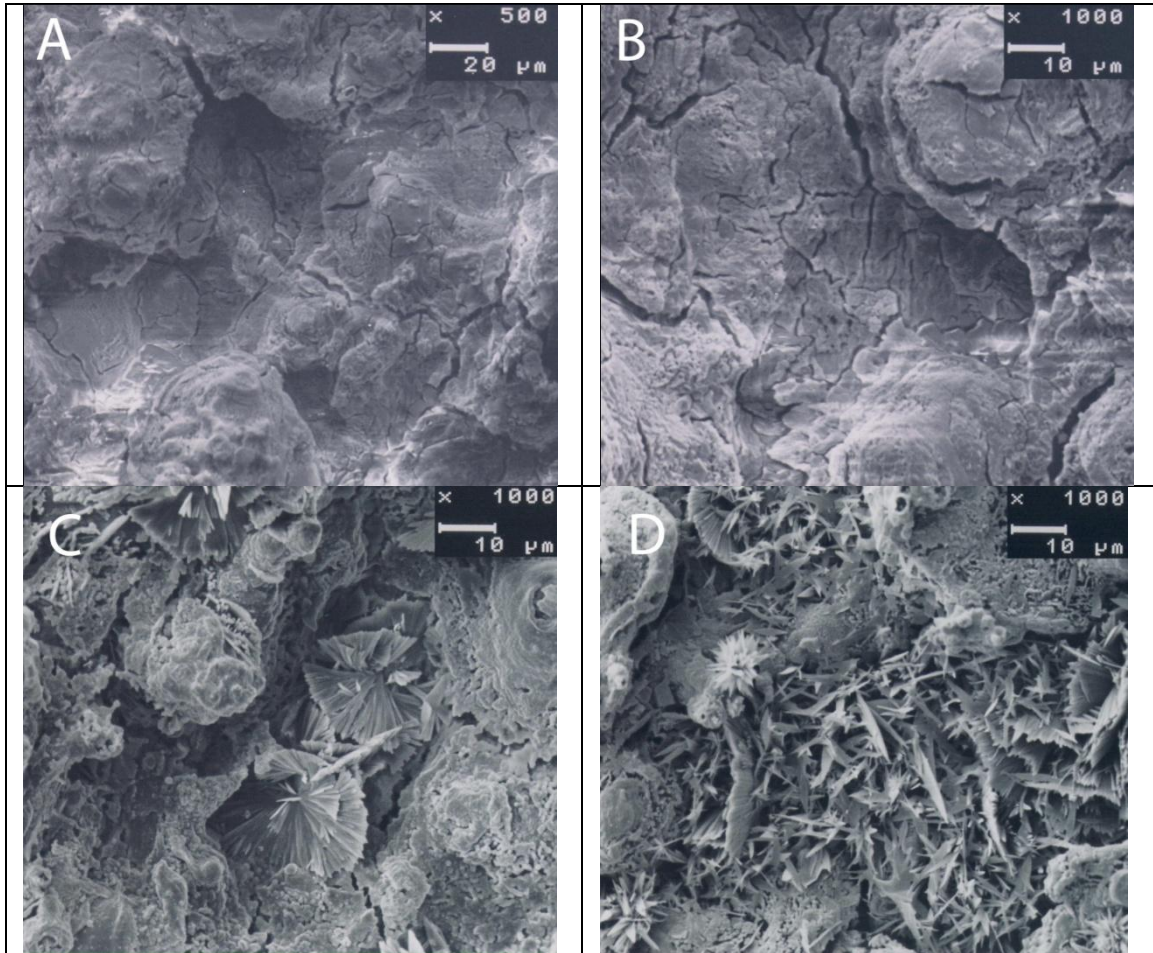
Der Stoff Struvit war bis zum siebten Tag in FCS stabil. Erst am 14. Tag nach der Einlagerung zeigen sich in Abbildung 18 starke Veränderungen im Röntgendiffraktogramm. Die vorher sehr stark ausgeprägten Intensitätsmaxima bei den für Struvit charakteristischen Glanzwinkeln sind jetzt nur noch sehr schwach ausgeprägt. Besonders auffällig verändert hat sich der Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-14^\circ$  (x-Achse), aber auch in anderen Winkelbereichen zeichnen sich viele Peaks ab, die deckungsgleich mit den charakteristischen Glanzwinkeln von Bobierit sind. Es ist anzunehmen, dass auch in FCS eine Umwandlung von Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) zu Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) stattfand, welche zwischen dem siebten und dem 14. Tag begann und am 14. Tag noch nicht ganz abgeschlossen war.



**Abbildung 18:** Röntgendiffraktogramme der Struvitbeschichtungen nach Einlagerung in FCS; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Diffraktogramm Tag 1 zeigt alle für Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) charakteristischen Peaks; Kennzeichen für Peaks: (Ti) Titan, (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

Die REM-Aufnahmen des ersten und dritten Tages nach Einlagerung von Struvit in FCS zeigten keine Veränderungen in der Oberflächenmorphologie im Vergleich zu den REM-Aufnahmen der Struvitbeschichtungen vor der Einlagerung (Bilder A und B der Abbildung 19).

Erst in den REM-Aufnahmen der Beschichtungen nach einer siebentägigen Einlagerung wurden, wie im Bild C der Abbildung 19 zu sehen ist, neue Kristallformationen im REM sichtbar. Die Kristalle haben eine fächerförmige Struktur, die vom Zentrum des Kristalls aus im Durchmesser größer werden (bis zu  $20 \mu\text{m}$ ). Diese fächerförmigen Kristalle sitzen vereinzelt verstreut auf dem für Struvit charakteristischen Untergrund.

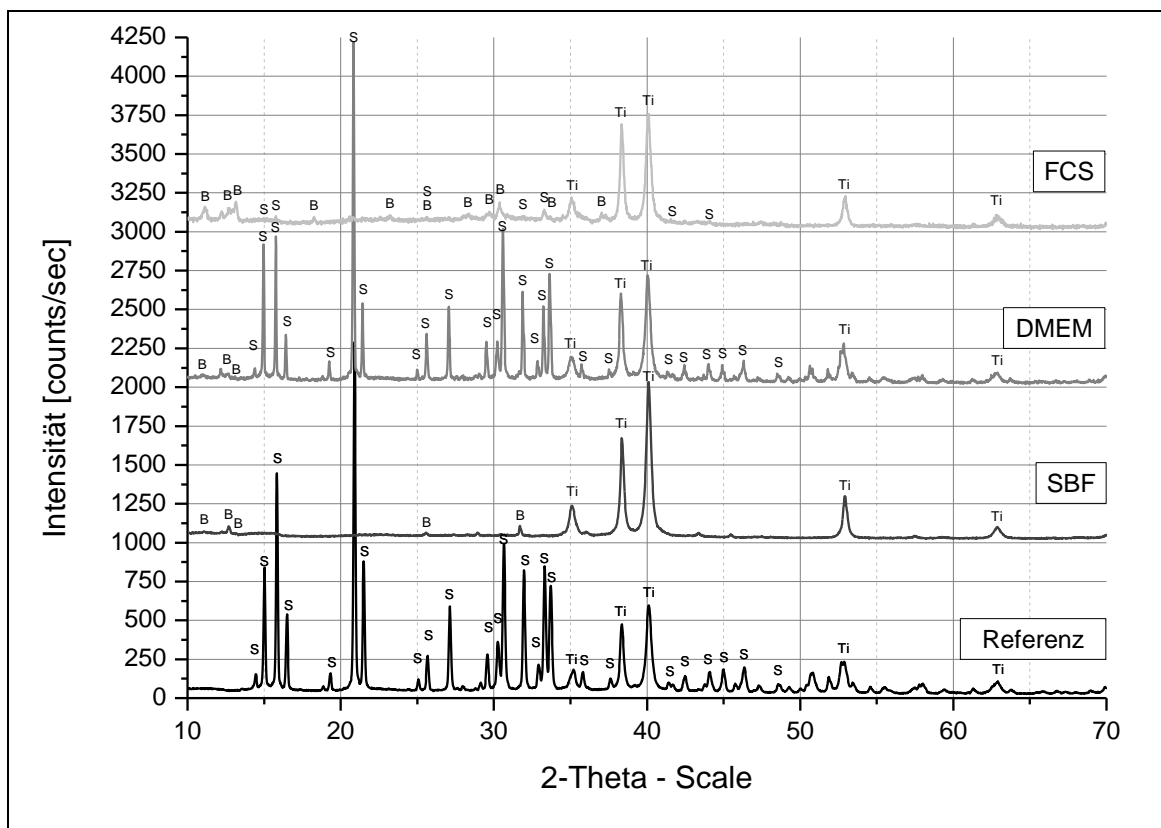


**Abbildung 19:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 11 mm)

- A)** Struvit vor Einlagerung, x500
- B)** Struvit vor Einlagerung, x1000
- C)** Struvit nach Tag 7 in FCS, x1000
- D)** Struvit nach Tag 14 in FCS, x1000

Zwischen dem siebten und dem 14. Tag kam es zu einer teilweisen, fast vollständigen Umwandlung von Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) zu Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), die auch in den dazugehörigen REM-Bildern deutlich zu erkennen ist. Im Bild D der Abbildung 19 ist die für Struvit typische Oberflächenbeschaffenheit fast gänzlich verloren gegangen. Die Beschichtung ist mit einem Teppich von nadelförmigen und auch fächerförmigen Kristallen übersät, wobei die Nadelkristalle mit ihrer länglichen und spitzen Form überwiegen. In der tausendfachen Vergrößerung sind neben den vereinzelt auftretenden fächerförmigen Kristallen auch kleinere rosettenförmige Kristallbüschel zu erkennen.

Zusammenfassend zeigt die folgende Abbildung 20 eine Übersicht über die Röntgendiffraktogramme der Struvitbeschichtungen nach ihrer maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in SBF, DMEM und FCS. Um die Veränderungen der Struvitbeschichtungen durch die Einlagerungen in den verschiedenen Medien zu verdeutlichen, ist als Referenz das Röntgendiffraktogramm von Struvit vor Einlagerung als erste Kurve abgebildet. Diese weist die für Struvit (S) und Titan (Ti) typischen Beugungsmuster auf.



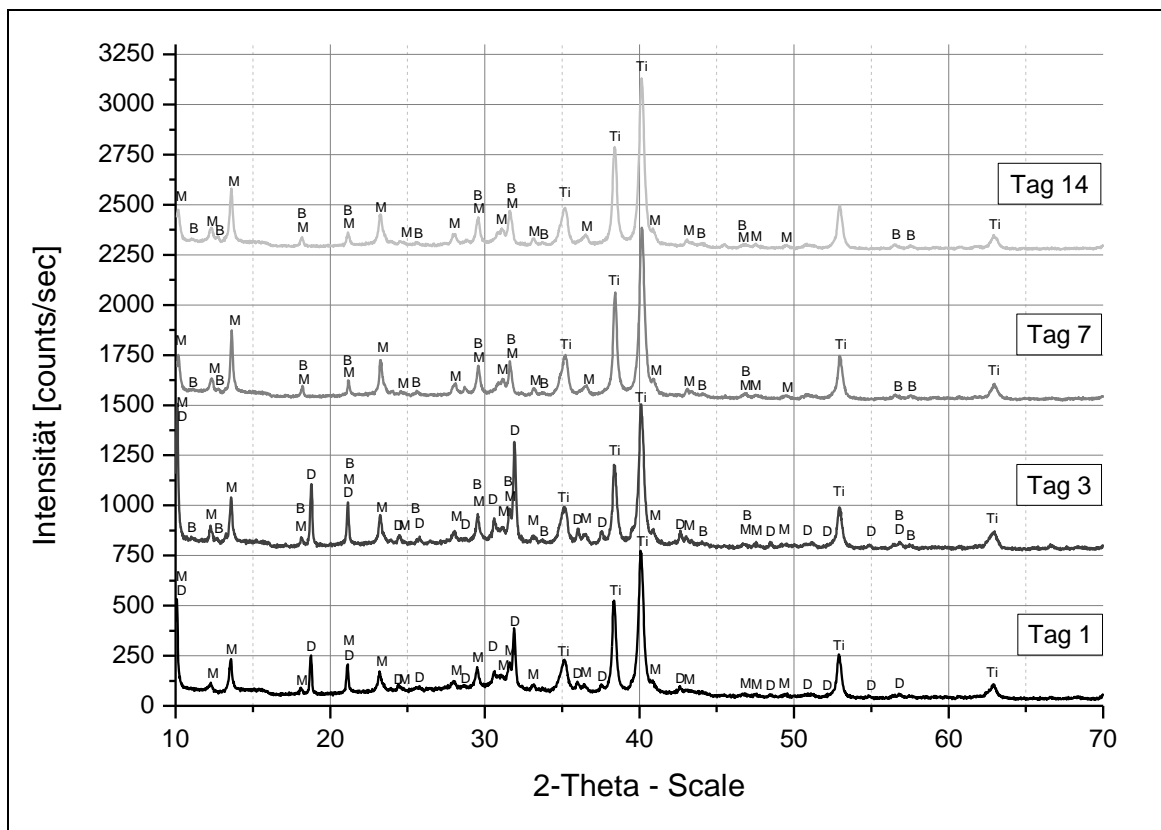
**Abbildung 20:** Röntgendiffraktogramme der Struvitbeschichtungen vor (als Referenz) und nach der maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in SBF, DMEM und FCS (geordnet von unten nach oben); Kennzeichen für Peaks: (Ti) Titan, (S) Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

## 4.2.2 Charakterisierung von Dittmarit nach Einlagerung

### 4.2.2.1 Einlagerung von Dittmarit in SBF

Die Diagramme für das Monohydrat Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) wurden in gleicher Weise wie die bereits gezeigten Diagramme für Struvit gestaltet. Hier wurden ebenfalls die Beugungsreflexe der analysierten Proben in einem Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-70^\circ$  (x-Achse) gewählt, bei einer Anhebung von je 750 counts/sec für jeden übereinandergelegten Graphen.

Im ersten Röntgendiffraktogramm der Abbildung 21 können nach einem Tag der Einlagerung in Simulated Body Fluid bereits Änderungen der Stoffkomposition festgestellt werden. Es sind zu dem Bild des reinen Dittmarits als Ausgangsstoff nun charakteristische Glanzwinkel für Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) hinzugekommen.



**Abbildung 21:** Röntgendiffraktogramme der Dittmaritbeschichtungen ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) nach Einlagerung in SBF; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Beschriftung der charakteristischen Peaks durch Abkürzungen: (Ti) Titan, (D) Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (M) Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

In Abbildung 21 sind die zahlreichen und deutlichen Intensitätsmaxima von Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) durch (M) und die von Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) durch (D) gekennzeichnet.

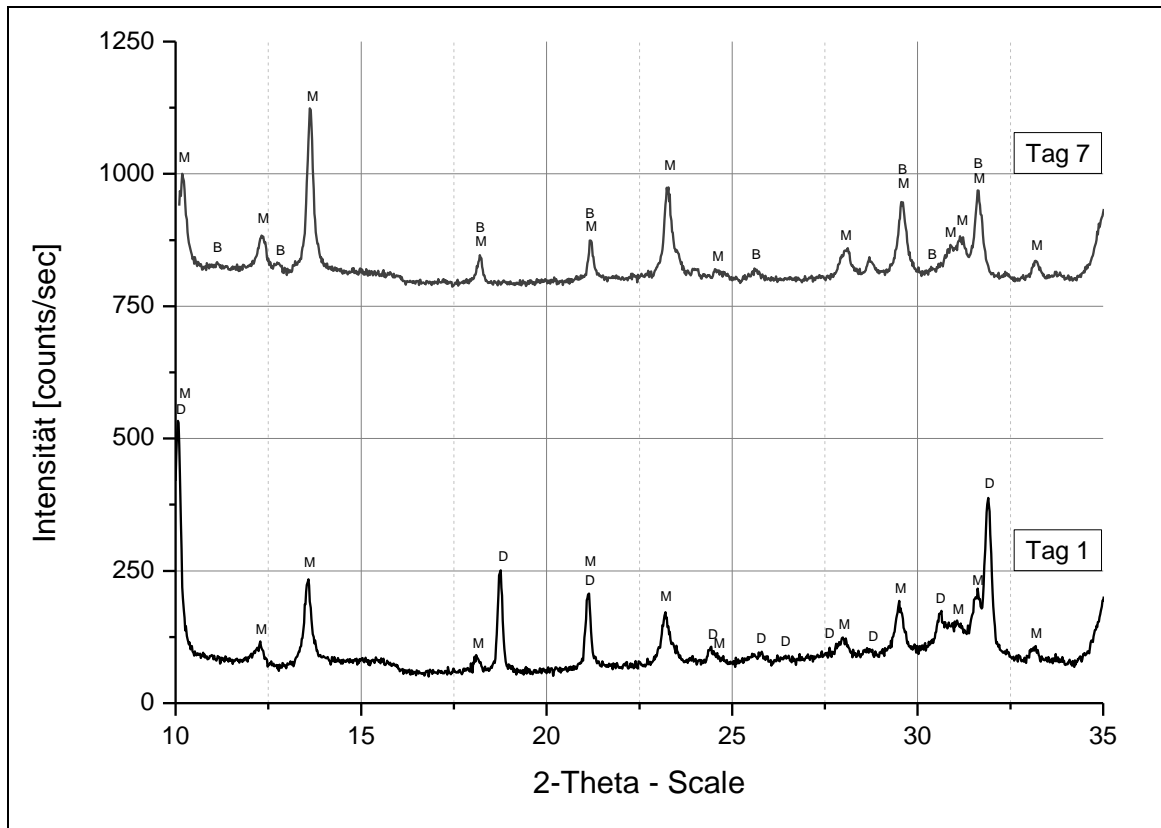
Nach dem dritten Tag der Einlagerung weist das Diffraktogramm der Dittmaritbeschichtung immer noch beide Stoffe des ersten Tages vor, doch sind charakteristische Glanzwinkel von Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) hinzugekommen, welche mit dem Buchstaben (B) gekennzeichnet sind.

Nach dem siebten Tag der Einlagerung von Dittmarit in SBF sind sämtliche charakteristischen Glanzwinkel von Dittmarit verschwunden. Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) war bereits zum siebten Tag der Einlagerung in SBF vollständig zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) und Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) umgewandelt worden.

In der obersten, hellgrauen Kurve der Abbildung 21 wurde der 14. Tag des Ausgangsstoffes Dittmarit im Medium SBF als Röntgendiffraktogramm aufgezeichnet, wobei keine weiteren Veränderungen in der Stoffkomposition anhand von neuen Intensitätsmaxima festgestellt werden konnten. Die charakteristischen Glanzwinkel von Bobierit, markiert durch den Buchstaben (B), zeichnen sich noch etwas deutlicher in ihrer Intensität ab als beim Diffraktogramm des siebten Tages nach Einlagerung.

Um eine bessere Übersicht über die wichtigsten Peakveränderungen zwischen den Einlagerungstagen 1 und 7 zu bekommen, folgt in Abbildung 22 ein vergrößerter Ausschnitt aus dem Winkelbereich von  $2-\Theta = 10-35^\circ$  (x-Achse) der Röntgendiffraktogramme eben dieser Beschichtungen. In diesem Winkelbereich ist besonders gut das Verschwinden der nur für Dittmarit charakteristischen Glanzwinkel bei  $2-\Theta = 10,1^\circ$ ,  $18,8^\circ$ ,  $24,4^\circ$ ,  $30,6^\circ$  und  $31,9^\circ$  zu beobachten. Auch sind neue, nur für Bobierit typische, Glanzwinkel bei  $2-\Theta = 11,1^\circ$ ,  $12,8^\circ$ ,  $25,6^\circ$  und  $30,4^\circ$  zu erkennen. Einige der weiteren Bobierit-Glanzwinkel sind mit denen von Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat deckungsgleich.





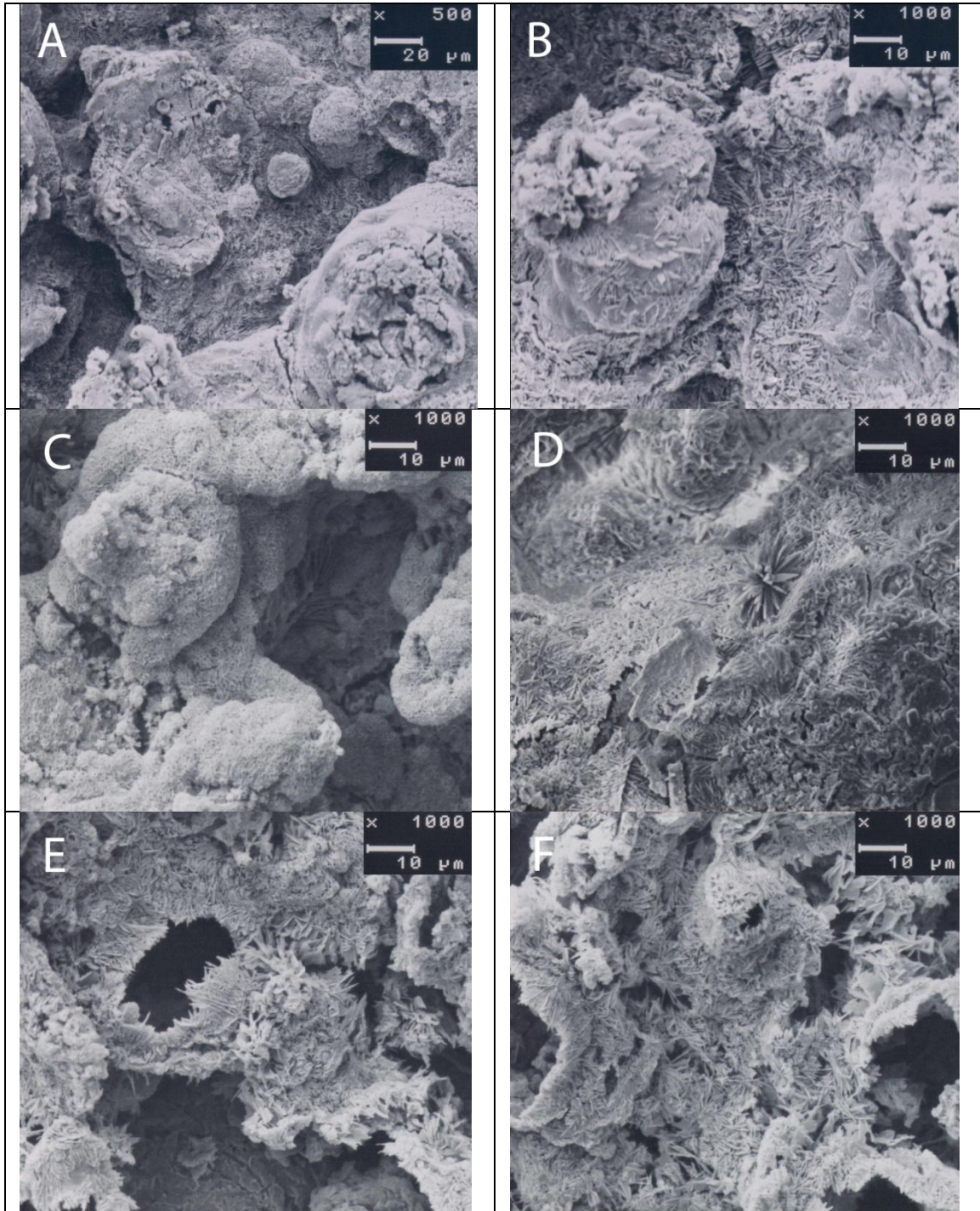
**Abbildung 22:** Vergrößerte Ansicht ( $2-\Theta = 10-35^\circ$ ) auf zwei Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen mit Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) nach Einlagerung in SBF; Tag 1 und 7 geordnet von unten nach oben; Beschriftung der charakteristischen Peaks durch Abkürzungen:

(Ti) Titan, (D) Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (M) Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

Die folgende Abbildung 23 zeigt anhand von rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen die Veränderungen der Oberflächenmorphologie des Ausgangsstoffes Dittmarit über die Dauer einer 14-tägigen Einlagerung in SBF. Die in den Röntgendiffraktogrammen zu beobachtende *in-vitro*-Degradation von Dittmarit ist in den REM-Aufnahmen anhand von Oberflächenveränderungen mit neuen, für Dittmarit untypische, Kristallformationen ebenfalls festzustellen.

Die Bilder A und B zeigen Dittmarit vor der Einlagerung mit seiner unter 4.1.5.2 beschriebenen Oberflächenstruktur.

Nach einem Tag der Einlagerung in SBF hat die Oberfläche ein korallenartiges Aussehen mit einer spongiösen Oberflächenstruktur erhalten (siehe Bild D). Die für Dittmarit typischen dendritischen Kristallstrukturen sind selten geworden.



**Abbildung 23:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A) Dittmarit vor Einlagerung, x500
- B) Dittmarit vor Einlagerung, x1000
- C) Dittmarit nach Tag 1 in SBF x1000
- D) Dittmarit nach Tag 3 in SBF x1000
- E) Dittmarit nach Tag 7 in SBF x1000
- F) Dittmarit nach Tag 14 in SBF x1000

Am dritten Tag der Einlagerung sind die Oberflächen größtenteils mit einem feinen Rasen aus nadelförmigen, faserigen Kristallen überzogen. Auffällig ist die Erscheinung von kristallinen Aggregaten in Form von Rosetten (siehe Bild D). Zu diesem Zeitpunkt der Einlagerung wurde neben Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) und Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ein weiterer Stoff, Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), anhand von Glanzwinkeln im XRD charakterisiert.

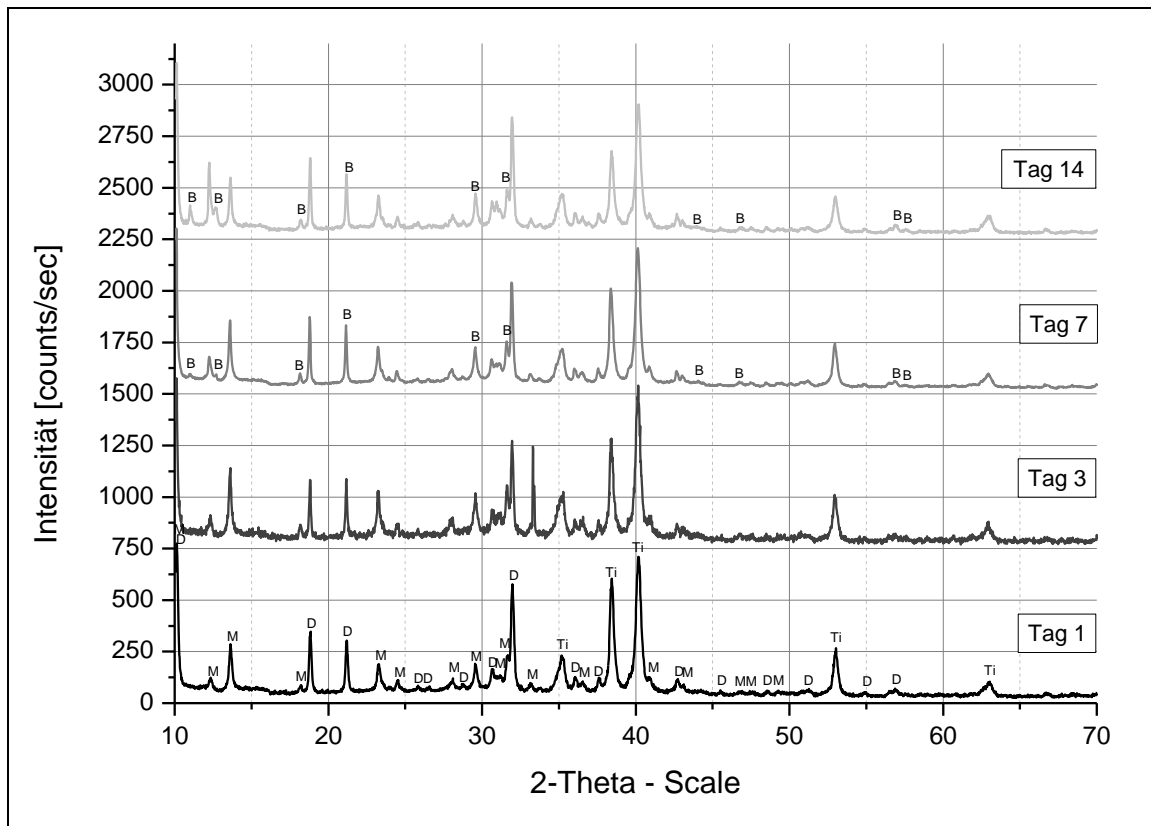
Dittmarit zeigt nach dem siebten und 14. Tag der Einlagerung in SBF eine völlig veränderte Oberflächenbeschaffenheit. Die vorher kompakte und zusammenhängende Oberfläche ist nun in den Bildern E und F stark zerklüftet und teils ausgewaschen. Die Strukturen wirken eingebrochen und dünnwandig. Feine nadel- und faserförmige Kristallstrukturen überdecken fast die gesamte Oberfläche der Schicht. Es sind keine dendritischen Kristallformationen mehr zu erkennen. Dittmarit hatte sich nach sieben Tagen in SBF zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat und Bobierit umgewandelt.

#### 4.2.2.2 Einlagerung von Dittmarit in DMEM

Das Röntgendiffraktogramm der Dittmaritbeschichtung nach einem Tag der Einlagerung in Dulbecco's Modified Eagle Medium in Abbildung 24 ähnelte dem von Dittmarit nach einem Tag der Einlagerung in SBF (Vergleich mit schwarzem Graphen in Abbildung 21). Es zeichneten sich auch hier alle für Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) (gekennzeichnet durch (D)) und Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) (gekennzeichnet durch (M)) charakteristischen Glanzwinkel der Röntgendiffraktographie ab.

Erst das Diffraktogramm des siebten Tages bringt neue Peaks zum Vorschein. Besonders auffällig sind dabei die beiden, nur für Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) typischen Intensitätsmaxima bei  $2-\Theta = 11,1^\circ$  und  $12,8^\circ$ . Die Glanzwinkel von Bobierit wurden mit (B) im grauen Diagramm markiert, wobei sich bei diesem Stoff viele Peaks im Diffraktogramm mit denen von Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat überlagern. Hervorzuheben an dieser Stelle war, dass sich nach dem siebten Tag der Einlagerung in DMEM Dittmarit immer noch in der

Beschichtung befand. Im Vergleich dazu hatte sich Dittmarit nach demselben Tag in SBF bereits vollständig umgewandelt (siehe Abbildung 21).



**Abbildung 24:** Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen mit Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) nach Einlagerung in DMEM; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Beschriftung der charakteristischen Peaks durch Abkürzungen: (Ti) Titan, (D) Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (M) Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierrit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

Das oberste, hellgraue Diagramm der Abbildung 24 zeigt noch deutlicher das Aufkommen von Bobierrit durch etwas höhere Intensitäten der Glanzwinkel. Hier sind ebenfalls die beiden Intensitätsmaxima bei  $2-\Theta = 11,1^\circ$  und  $12,8^\circ$  die hervorstechendsten. Auch nach dem letzten Einlagerungstag in DMEM ist Dittmarit deutlich anhand seiner charakteristischen Glanzwinkel im Diffraktogramm zu erkennen. Die höchsten und charakteristischsten Intensitätsmaxima von Dittmarit sind an folgenden  $2-\Theta$ -Werten aufzufinden:  $10,1^\circ$ ,  $18,8^\circ$ ,  $21,1^\circ$ ,  $32^\circ$ ,  $36^\circ$  und  $42,7^\circ$ . Im Gegensatz zu der Einlagerung in SBF, war bei der Einlagerung in DMEM Dittmarit auch noch nach 14 Tagen in der Schicht enthalten, zusammen mit den Stoffen Tri-Magnesium-Di-Phosphat-

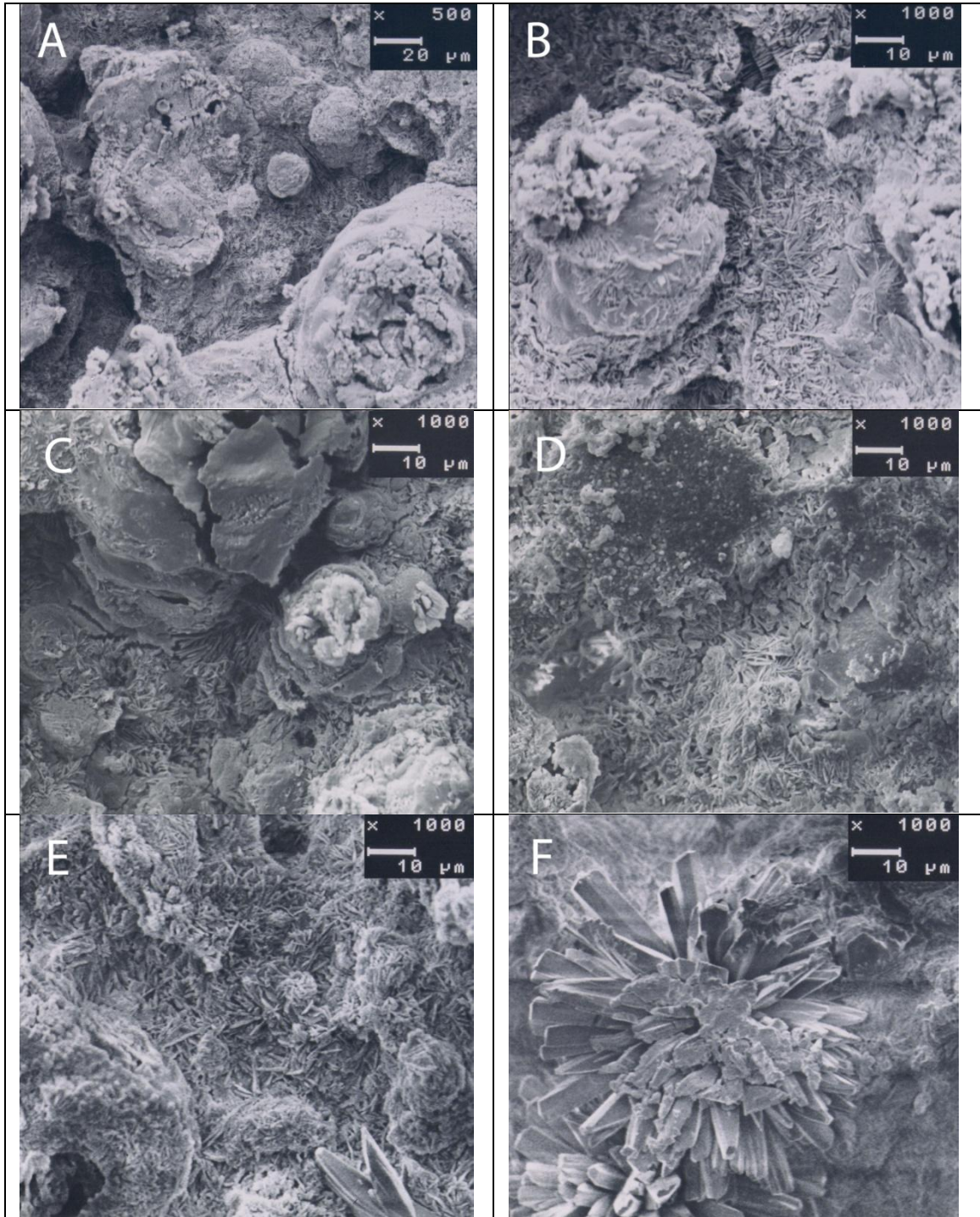
5-Hydrat und Bobierit. In diesem anorganischen Medium kam es also nicht zu einer vollständigen Umwandlung von Dittmarit.

Die in den Röntgendiffraktogrammen gemachten Beobachtungen bei der teilweisen Umwandlung von Dittmarit korrelierten auch hier mit den in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen festgestellten morphologischen Veränderungen der Oberflächen.

Die Bilder A und B der folgenden Abbildung 25 zeigen als Referenz die REM-Aufnahmen der Ausgangsbeschichtung mit Dittmarit.

Das REM-Bild der Dittmaritbeschichtung nach einem Tag der Einlagerung in Dulbecco's Modified Eagle Medium wird auf dem Foto C in der Abbildung 25 gezeigt. Wieder ist eine sehr inhomogene Oberfläche mit großen Höhenunterschieden innerhalb der Beschichtung zu sehen, ähnlich den Ausgangsbildern A und B. Auch tauchen in den tieferen Ebenen der Beschichtung die für Dittmarit typischen dendritischen Kristallstrukturen wieder auf. Die groben, blockartigen Formationen besitzen auch Bereiche auf denen die Oberflächen nicht mit den dendritischen Kristallen überzogen, sondern relativ glatt sind (z.B. obere Mitte Bild C). Diese morphologischen Veränderungen könnten auf die teilweise Umwandlung von Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) zum Mineral Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) zurückzuführen sein.

Im Aufnahmebereich des Bildes D wirkt die Beschichtung nach drei Tagen der Einlagerung flacher und homogener als die vorhergehenden Aufnahmen der Beschichtungen. Es gibt relativ ebene Bereiche, die von Gruppierungen kleiner rundlicher Kristallstrukturen besetzt sind. Daneben liegen Bereiche, die eine granulatartige Struktur besitzen und schließlich sind tieferliegende Bereiche sichtbar, die die bekannten dendritischen Kristallstrukturen besitzen. Bis zu diesem Zeitpunkt deutete laut Röntgenbeugungsanalyse nichts auf eine Veränderung der Stoffkomposition seit dem ersten Tag der Einlagerung hin.



**Abbildung 25:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

- A) Dittmarit vor Einlagerung, x500
- B) Dittmarit vor Einlagerung, x1000
- C) Dittmarit nach Tag 1 in DMEM, x1000
- D) Dittmarit nach Tag 3 in DMEM, x1000
- E) Dittmarit nach Tag 7 in DMEM, x1000
- F) Dittmarit nach Tag 14 in DMEM, x1000

Die Aufnahme E der Abbildung 25 zeigt die Dittmaritbeschichtung nach dem siebten Tag ihrer Einlagerung in dem Medium DMEM. Die gesamte Oberfläche ist sehr inhomogen. Auffällig sind nun auch einzelne, relativ große kristalline Strukturen mit einem maximalen Durchmesser von ca. 40 µm. Diese bestehen aus einigen wenigen elongierten nadelförmigen Kristallen, die an ihrer Basis dicker und prismatisch sind und zu ihrem Ende hin spitz zulaufen. Eine dieser größeren Kristallstrukturen ist in Bild E unten rechts abgebildet. Ebenfalls ist zu sehen, dass ein großer Teil der Oberfläche mit einem Teppich von feinen, nadelförmigen Kristallen überzogen ist. Es finden sich noch einige wenige dendritische Kristallformationen.

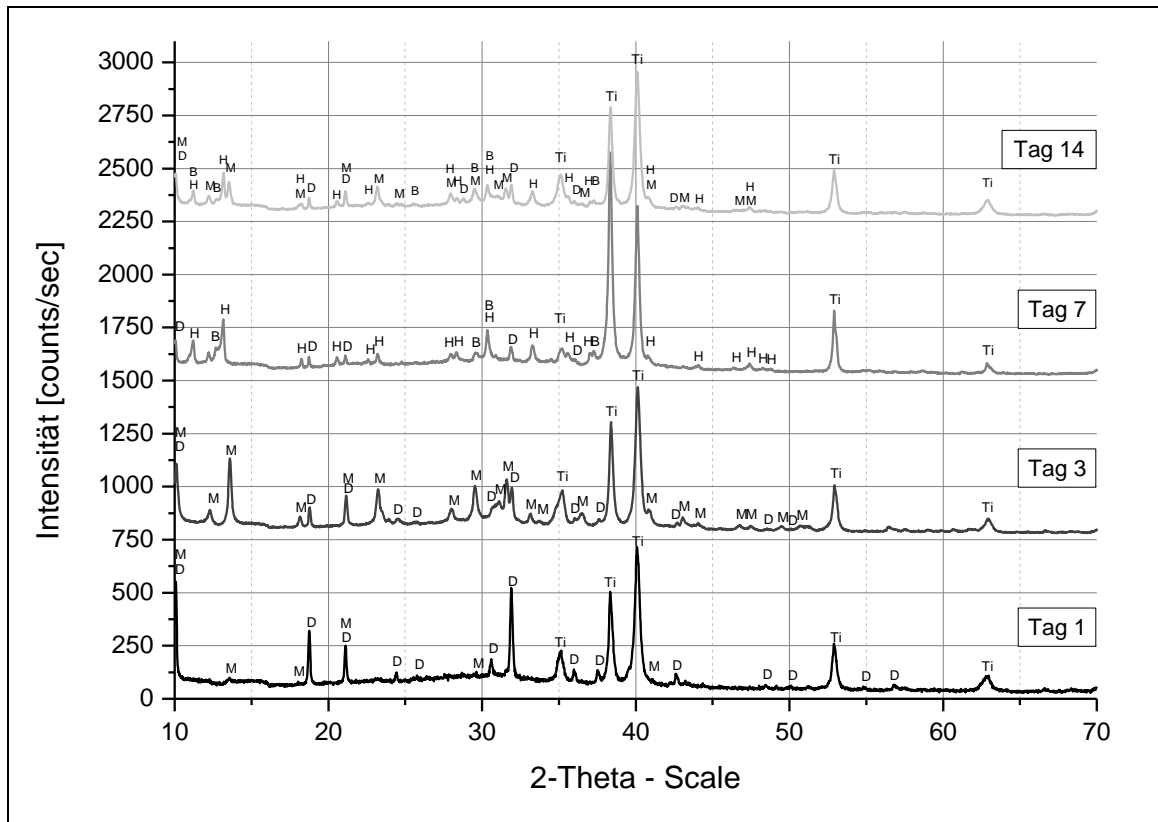
Nach dem 14. Tag der Einlagerung gibt es auf der Oberfläche der Beschichtung ein häufiges Vorkommen von massiven Kristallaggregaten. Diese Kristallbüschel haben auf dem REM-Bild F der Abbildung 25 einen maximalen Durchmesser von bis zu 60-70 µm. Das Kristallaggregat, welches auf ein tausendfaches vergrößert gezeigt wird, hat gestreckte, an der Basis dickere, prismatische Kristalle, die zum Ende hin teils spitz zulaufen. Manche dieser Kristalle sind aber zu ihrem Ende hin abgeflacht und nicht spitz zulaufend. Die unterschiedlich großen Kristallaggregate haben teils eine rosettenartige, teils eine fächerartige Form.

#### 4.2.2.3 Einlagerung von Dittmarit in FCS

Das Monohydrat Dittmarit zeigte im Einlagerungsmedium FCS viele Veränderungen. Bereits nach einem Tag der Einlagerung bei physiologischen 37 °C waren neben den für Dittmarit (D) und Titan (Ti) typischen Glanzwinkeln einige kleine Peaks des Stoffes Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $Mg_3(PO_4)_2 \cdot 5H_2O$ ) zu sehen, welche in der Abbildung 26, mit (M) gekennzeichnet sind.

Im darüber liegenden, um 750 counts angehobenen Graphen, kann diese teilweise Umwandlung von Dittmarit zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat bereits noch deutlicher mit vermehrten für Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat charakteristischen Glanzwinkeln verfolgt werden. Nach Einlagerungstag 3

zeichnen sich bereits alle für diesen Stoff charakteristischen Glanzwinkel im Beugungsdiagramm ab (siehe mit (M) markierte Maxima in Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen mit Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) nach Einlagerung in FCS; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Beschriftung der charakteristischen Peaks durch Abkürzungen: (Ti) Titan, (D) Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (M) Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), (H) Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierrit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

Der Ausgangsstoff Dittmarit ist nach dem siebten Tag in FCS noch durch seine charakteristischen Glanzwinkel im Beugungsdiagramm zu erkennen, jedoch sind die Intensitäten deutlich zurückgegangen. Besonders auffällig ist das Verschwinden der für Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat typischen Maxima, z.B. an den folgenden  $2\text{-}\Theta$ -Winkeln:  $13,6^\circ$ ,  $23,3^\circ$ ,  $28^\circ$ ,  $29,6^\circ$  und  $31,7^\circ$ . Gleichzeitig treten aber auch neue Peaks im Diffraktogramm auf, welche für zwei Stoffe charakteristisch sind. Im Bereich zwischen  $2\text{-}\Theta = 10\text{-}15^\circ$  fallen die beiden Intensitätsmaxima an  $2\text{-}\Theta = 11,2^\circ$  und  $13,2^\circ$  und im weiteren Verlauf der Kurve auch die an folgenden, mit (H) gekennzeichneten, Winkeln:  $18,3^\circ$ ,

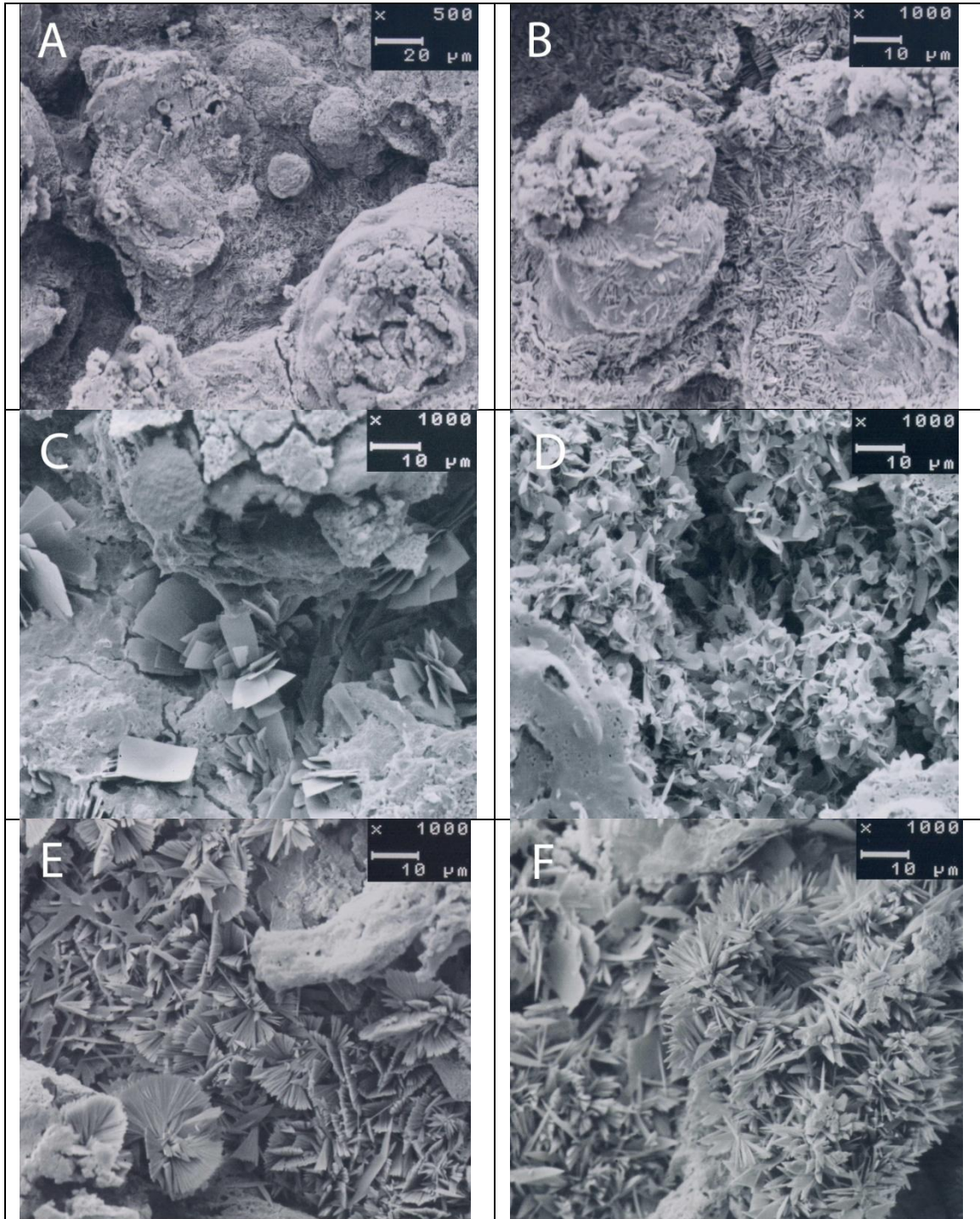


20,6 °, 23,2 °, 33,2 ° und 35,7 ° auf. Diese und weitere mit (H) markierte Intensitätsmaxima im Diagramm sind charakteristisch für Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Der zweite neue Stoff, der nach dem siebten Tag der Einlagerung identifiziert werden konnte, war Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ). Die für das Octahydrat charakteristischen Glanzwinkel sind in Abbildung 26 mit (B) gekennzeichnet. So kam es in diesem Zeitraum zu einer teilweisen Umwandlung von Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) zu Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) und dem Mineral Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), wobei Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) nicht nachzuweisen war.

Nach dem 14. Tag der Einlagerung sind wieder alle Stoffe, die auch im Röntgendiffraktogramm des siebten Tages nachgewiesen werden konnten, vertreten: Dittmarit, Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat und Bobierit. Doch nun erscheinen im obersten Diffraktogramm der Abbildung 26 auch wieder die für Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat typischen Maxima. Besonders hervorzuheben sind die folgenden 2- $\Theta$ -Winkel bei 13,6 °, 23,3 °, 28 °, 29,6 ° und 31,7 °, die durch den Buchstaben (M) markiert sind. Nach diesem letzten Einlagerungstag konnten insgesamt vier verschiedene Magnesiumphosphate nachgewiesen werden.

Auch auf den Oberflächen der Dittmaritbeschichtungen waren die Bildungen der verschiedenen Magnesiumphosphate während der 14-tägigen Einlagerung von Dittmarit in FCS zu beobachten, da in den REM-Aufnahmen der folgenden Abbildung 27 zahlreiche Kristallneubildungen zu sehen sind.

Die Aufnahme C zeigt, dass sich nach einem Tag der Einlagerung von Dittmarit in FCS in der stark zerklüfteten Oberfläche der Dittmaritbeschichtung plättchenförmige Kristalle gebildet haben. Diese Plättchenkristalle sind meistens in Gruppen angeordnet und verlassen fächerförmig ihre gemeinsame Basis. Die dünnen Plättchen werden an der längeren Seite des Rechtecks bis zu 15  $\mu\text{m}$  lang. Das Röntgendiffraktogramm (Abbildung 26) beinhaltet neben den typischen Glanzwinkeln für Titan und Dittmarit einige kleinere charakteristische Glanzwinkel für Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat.



**Abbildung 27:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

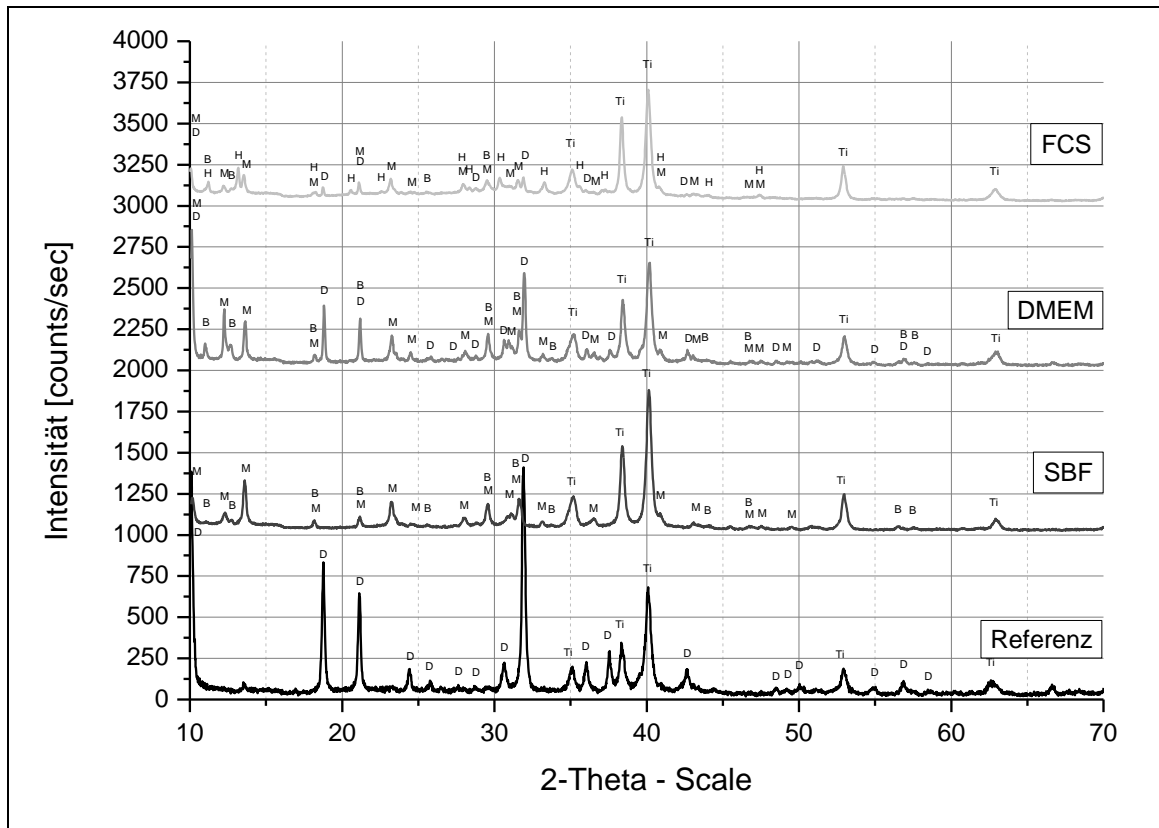
- A) Dittmarit vor Einlagerung, x500
- B) Dittmarit vor Einlagerung, x1000
- C) Dittmarit nach Tag 1 in FCS, x1000
- D) Dittmarit nach Tag 3 in FCS, x1000
- E) Dittmarit nach Tag 7 in FCS, x1000
- F) Dittmarit nach Tag 14 in FCS, x1000

Nach dem dritten Tag der Einlagerung ist die Oberfläche der Beschichtung mit vielen kleineren, unterschiedlich geformten Plättchenkristallen übersät, die ihre strenge rechteckige Form verloren haben. Diese plättchenförmigen Kristalle liegen dicht aneinander und sind teils ineinander verschachtelt.

Das REM-Bild E der Abbildung 27 zeigt eine völlig veränderte Oberfläche der Beschichtung nach dem siebten Einlagerungstag. Fast die gesamte Oberfläche ist übersät mit zwei verschiedenen Kristallarten. In den tieferen Ebenen der Beschichtung hat sich ein Teppich aus feinen Nadelkristallen gebildet, während sich in den höheren Ebenen der Beschichtung bis zu 20 µm große kristalline Aggregate in Form von Fächern formiert haben. Die einzelnen Fächer haben eine fibröse Grundstruktur und sind teilweise zu größeren Kristallbüscheln angeordnet. In den REM-Aufnahmen sind keine plättchenförmigen Kristalle mehr aufzufinden. Die Röntgenbeugungsanalyse (Abbildung 26) ergab, dass die Intensitäten der charakteristischen Glanzwinkel des Ausgangsstoffes Dittmarit stark zurückgegangen waren, der Stoff Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat nicht mehr nachzuweisen war, aber dafür zwei neue Stoffe hinzukamen: Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $Mg_2PO_4OH \cdot 4H_2O$ ) und Bobierit.

Die REM-Aufnahme F zeigt eine Vielzahl unterschiedlicher Kristallformen auf der Oberfläche der Dittmaritbeschichtung nach der 14-tägigen Einlagerungszeit in FCS. Zu den bereits in Bild E beschriebenen feinen Nadelkristallen und den Fächerkristallen kommen nun noch kristalline Aggregate in Form von Kristallbüscheln (siehe Bild F) und die aus den Bildern des ersten und dritten Einlagerungstages bekannten plättchenförmigen Kristalle dazu.

Zusammenfassend wird auch hier eine Übersicht über die Röntgenbeugungsanalyse der 14-tägigen Einlagerungen der Dittmaritbeschichtungen gegeben, indem in der folgenden Abbildung 28 die Diffraktogramme der Beschichtungen vor und nach ihrer maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in SBF, DMEM und FCS gegenübergestellt werden. Die für die Einlagerungen verwendeten Dittmaritbeschichtungen wurden, wie unter 4.1.5 beschrieben, durch Dampfsterilisation von Struvitproben hergestellt.

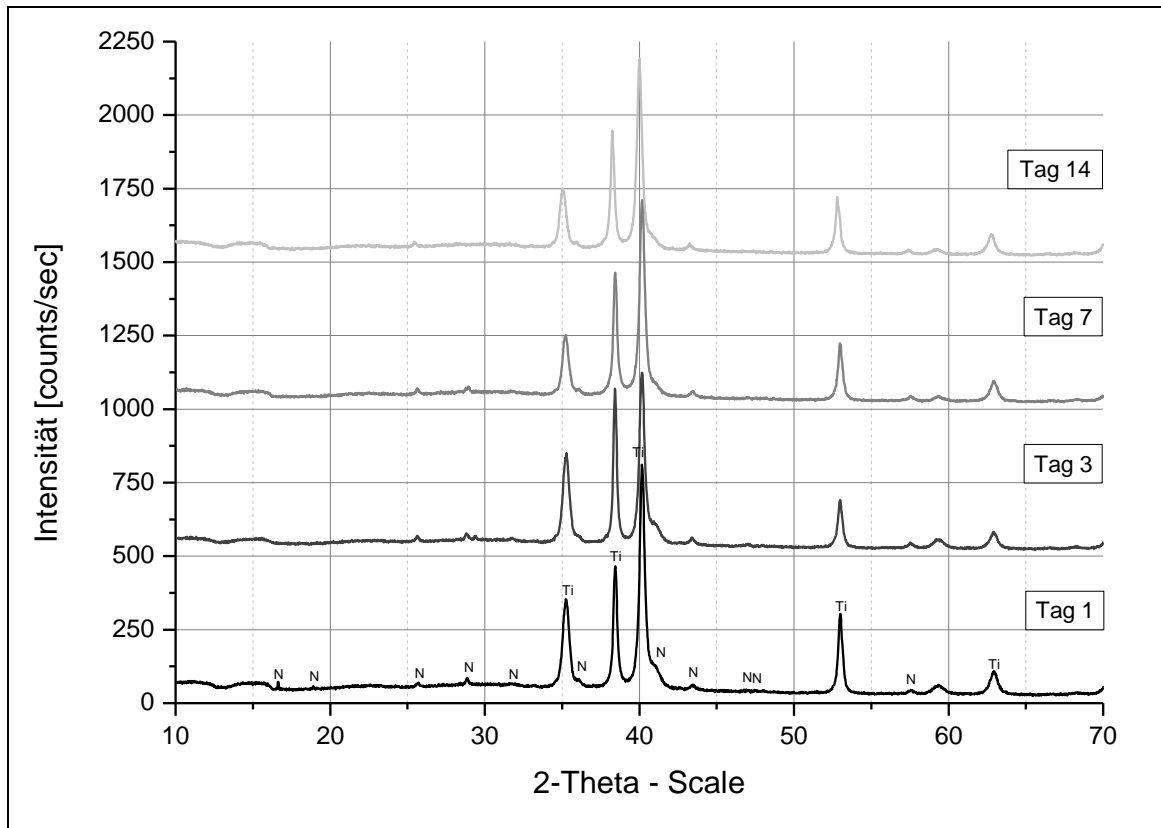


**Abbildung 28:** Röntgendiffraktogramme der Dittmaritbeschichtungen vor (als Referenz) und nach der maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in SBF, DMEM und FCS (geordnet von unten nach oben); Kennzeichen für Peaks: (Ti) Titan, (D) Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), (M) Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), (H) Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), (B) Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

#### 4.2.3 Charakterisierung von Newberyit nach Einlagerung

Es gab während der gesamten Einlagerungsversuche in SBF, DMEM und FCS keine Veränderungen des Stoffes Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), die in den Röntgendiffraktogrammen festgestellt werden konnten. Aus diesem Grund werden, stellvertretend für alle angefertigten Diffraktogramme, in diesem Kapitel nur die Diffraktogramme der Newberyitbeschichtungen nach Einlagerung in fötalem Kälberserum abgebildet.

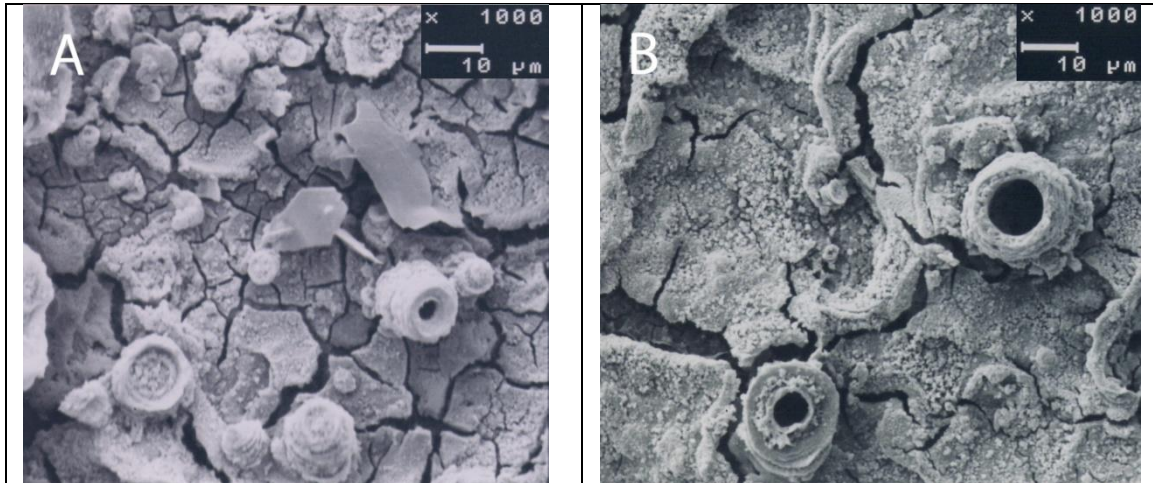
Die folgende Abbildung 29 zeigt die Röntgendiffraktogramme von Newberyit nach einem, drei, sieben und 14 Tagen der Einlagerung in FCS.



**Abbildung 29:** Röntgendiffraktogramme der Newberyitbeschichtungen nach Einlagerung in FCS; Tag 1, 3, 7 und 14 geordnet von unten nach oben; Diffraktogramme zeigen für Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) charakteristische Peaks; Kennzeichen für Peaks: (Ti) Titan, (N) Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Newberyit hat als elektrochemisch auf Titan abgeschiedene Beschichtung ein sehr charakteristisches morphologisches Erscheinungsbild unter dem REM. In Bild A der Abbildung 30 ist bei der Ausgangsbeschichtung vor Einlagerung eine mit feinen Rissen durchzogene dünne Oberfläche zu erkennen, auf der einige vulkanähnliche Strukturen verteilt sind.

Diese Oberflächenmorphologie bleibt über die gesamte Einlagerungsdauer, in den in dieser Arbeit genutzten Medien, als solches bestehen. D.h., es gibt für die Beschichtung Newberyit weder in SBF, noch in DMEM oder in FCS Veränderungen der im REM sichtbaren Oberflächenstrukturen. Das Bild B wurde exemplarisch für alle REM-Bilder der eingelagerten Newberyit-Beschichtungen abgebildet. Es zeigt eine Aufnahme der Oberfläche der Dittmaritbeschichtung nach einer 14-tägigen Einlagerung in FCS.



**Abbildung 30:** (Beschleunigungsspannung: 10 kV, Arbeitsabstand: 15 mm)

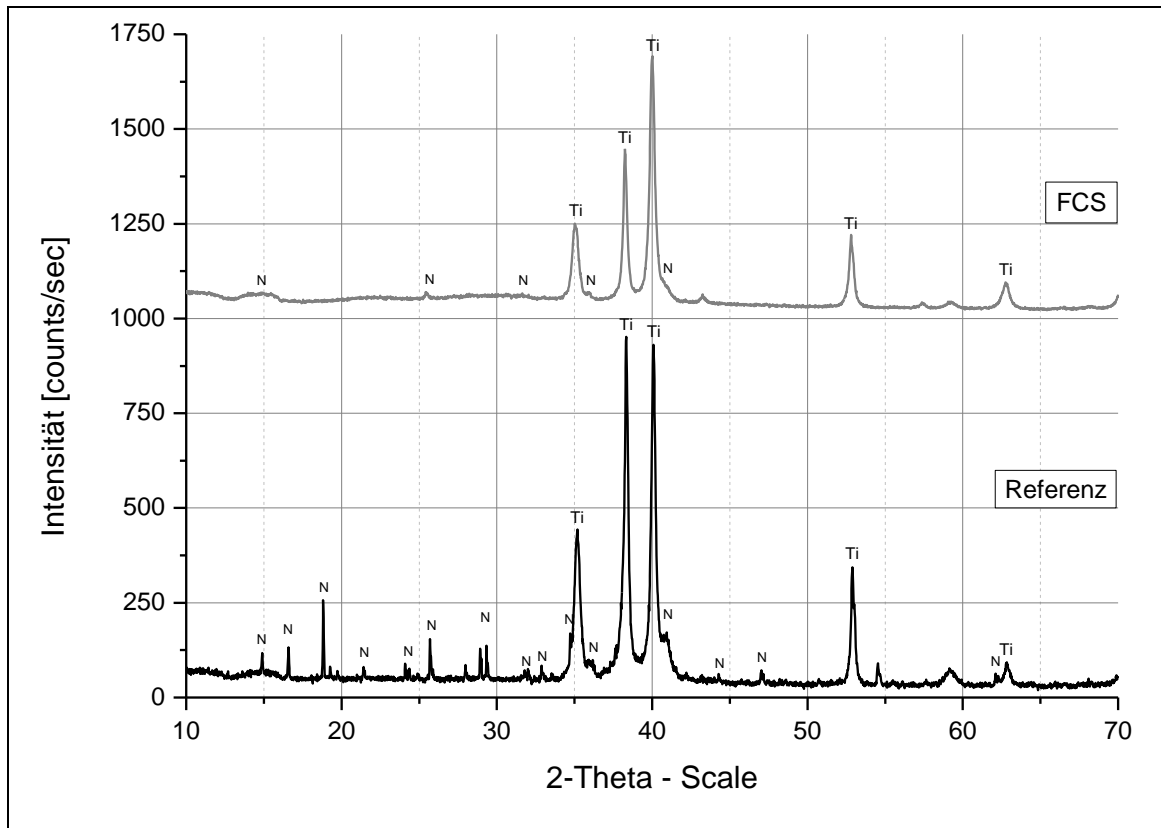
**A)** Newberyit vor Einlagerung in FCS, x1000

**B)** Newberyit nach Tag 14 in FCS, x1000

Bei einer tausendfachen Vergrößerung wird deutlich, dass einige Vulkanformationen eine breitere Basis haben und nach oben hin schmaler werden, wohingegen manche dieser Schlote eher röhrenförmig sind ohne eine breitere Basis zu haben. Die zentralen Öffnungen dieser vulkanähnlichen Formationen sind entweder komplett verschlossen (siehe Bild A links unten und unten), nur wenig geöffnet (siehe Bild B rechts), oder haben dagegen eine größere zentrale Öffnung. Sehr große Öffnungen dieser Schlote von bis zu ca. 9  $\mu\text{m}$  sind in Bild B zu sehen.

Die Beobachtung, dass im Verlauf der Einlagerung von Newberyit keine grundlegenden strukturellen Veränderungen in den REM-Aufnahmen zu erkennen sind, bestätigt die Feststellung, dass mittels Röntgendiffraktographie keine neuen Stoffe neben dem Ausgangsstoff Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) und Titan als Untergrund der Beschichtung identifiziert werden konnten.

Abbildung 31 ist eine Gegenüberstellung der Röntgendiffraktogramme von Newberyit vor und nach der maximalen Einlagerung von 14 Tagen in FCS.



**Abbildung 31:** Röntgendiffraktogramm von Newberyit vor (als Referenz) und nach der maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in FCS;  
 Kennzeichen für Peaks:  
 (Ti) Titan, (N) Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )

Nach der Einlagerung in den verschiedenen Medien konnte ein allgemeiner Rückgang der Intensitäten der für Newberyit charakteristischen Glanzwinkel im Vergleich zu denen von Titan in den Röntgendiffraktogrammen festgestellt werden. Viele der für Newberyit charakteristischen Peaks sind im Diffraktogramm nach der Einlagerung nicht mehr zu erkennen. Es ist also anzunehmen, dass die dünnen Beschichtungen teilweise in Lösung gegangen waren. Es war aber in keinem der von Newberyit erstellten Beugungsdiagramme ein weiterer, neuer Stoff neben Newberyit und Titan zu identifizieren.

## 5 Diskussion

In dieser experimentellen, materialwissenschaftlichen Arbeit war es gelungen, das Magnesiumammoniumphosphat Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) und das Magnesiumhydrogenphosphat Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) durch die Niedrigtemperatur-Beschichtungsmethode der elektrochemischen Abscheidung als Beschichtungen auf die sandgestrahlten Oberflächen von Titanproben aufzutragen und diese mittels Röntgendiffraktometrie (XRD) nachzuweisen. Das Monohydrat Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) konnte durch die Dampfsterilisation des Hexahydraten Struvit in einem Autoklaven als Beschichtung auf Titanproben synthetisiert werden. Es gelang in den Versuchen nicht, Struvit-K ( $\text{MgKPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) elektrochemisch auf Titan abzuscheiden.

Durch Röntgendiffraktometrie und Rasterelektronenmikroskopie konnte nachgewiesen werden, dass die Magnesiumphosphate Struvit, Dittmarit und Newberyit als galvanostatisch aufgetragene Beschichtungen auf Titan *in vitro* degradierbar sind. Struvit und Dittmarit zeigten in Einlagerungsversuchen unter physiologischen Bedingungen in Simulated Body Fluid (SBF), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) und in fötalem Kälberserum (FCS) kompositorische Veränderungen und eine hohe Resorptionsrate über die Dauer einer Einlagerungszeit von 14 Tagen. Newberyit hingegen erfuhr während den Einlagerungsversuchen keine Veränderungen seiner chemischen Struktur, bewies aber durch chemisches in Lösung gehen eine hohe Resorptionsrate.

### 5.1 Prozess der Abscheidung von Struvit

Bisher bekam Struvit vor allem bei der modernen Abwasserreinigung in Klärwerken Aufmerksamkeit, denn der dabei entstehende Klärschlamm besitzt hohe Konzentrationen an Phosphat, Stickstoff und Magnesium, wodurch es oft zu Bildungen von Struvit-Belägen in Pipelines, Filtern, Belüftungsanlagen und Pumpen kam [165-167]. Um die Bildung von Struvit-Belägen voraussagen, kontrollieren und letztendlich verhindern zu können, haben Wissenschaftler untersucht, welche Voraussetzungen für die Formation von Struvit in Abwässern gegeben sein müssen [165-168]. Die in diesen Untersuchungen



gewonnenen Erkenntnisse über die Voraussetzungen für die Präzipitation von Struvit in Abwässern verhalfen zu erklären, warum sich unter bestimmten Versuchsbedingungen (siehe 4.1.2) in einer elektrochemischen Zelle (siehe 3.3) das Magnesiumammoniumphosphat Struvit an der Titankathode bildete.

Die Elektrolyse des Standardelektrolyten, der aus einer mit Salpetersäure auf pH 4,0 titrierten ammoniumdihydrogenphosphat- und magnesiumhaltigen wässrigen Lösung bestand, ergab bei einer angelegten negativen Spannung und einer konstanten Stromdichte von  $79,0 \text{ mA/cm}^2$  in einer elektrochemischen Zelle eine kathodische Abscheidung von Struvit. Es wurde nachgewiesen, dass Struvit in einer annähernd reinen Form vorlag, da die Beugungsdiagramme dieser Beschichtungen deckungsgleich mit dem Referenzbeugungsmuster des Stoffes Struvit waren (siehe Kapitel 4.1.2.1). Die Peaks in den Beugungsdiagrammen zeichneten sich relativ schmal ab, was ein Hinweis auf die Kristallitgröße der Beschichtungen war. Die elektrochemische Abscheidung von Struvit wurde über eine Dauer von 15 Minuten bei Temperaturen von 23 oder 50 °C durchgeführt und hinterließ auf den Titanproben eine dichte, hellweiße Beschichtung. Der Beschichtungsvorgang erzeugte bei 50 °C eine durchschnittliche Massenabscheidung von  $4,4 \text{ mg/cm}^2$  Struvit auf den durchschnittlich ca.  $3,8 \text{ cm}^2$  großen Oberflächen der Titanproben.

### **5.1.1 Einfluss des Ionenproduktes auf die Abscheidung**

Die Ausfällung von Struvit ist abhängig vom vorliegenden pH-Wert, der Temperatur und dem Grad der Übersättigung einer Lösung, wobei die Präzipitation von Struvit dann stattfinden kann, wenn im Elektrolyt das Ionenprodukt (IAP) der Phosphat- ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), Ammonium- ( $\text{NH}_4^+$ ) und Magnesium-Ionen ( $\text{Mg}^{2+}$ ) größer wird als ihr Löslichkeitsprodukt ( $K_{\text{sp}}$ ) [165]. Das Ionenprodukt ist eine Bezeichnung für das Produkt der Konzentrationen aller infolge elektrolytischer Dissoziation in einer wässrigen Lösung vorliegenden Ionen, wobei das Ionenprodukt dem Löslichkeitsprodukt entspricht, wenn es sich um eine gesättigte Lösung handelt ( $\text{IAP} = K_{\text{sp}}$ ). In dem für die Abscheidung von Struvit benutzten Elektrolyten sieht das Ionenprodukt wie folgt aus [181]:

$$\text{IAP} = [\text{PO}_4^{3-}] [\text{NH}_4^+] [\text{Mg}^{2+}]$$

### 5.1.2 Einfluss des Löslichkeitsproduktes auf die Abscheidung

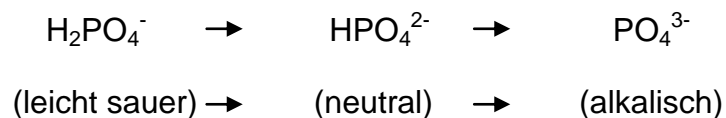
Das Löslichkeitsprodukt ( $K_{sp}$ ) eines schwerlöslichen Salzes wird als das Produkt der Konzentrationen der Ionen in seiner gesättigten Lösung definiert [165] und charakterisiert somit das Gleichgewicht zwischen einem Feststoff und seinen Ionen in Lösung. Anstelle der  $K_{sp}$ -Werte werden in der Literatur oft ihre negativen dekadischen Logarithmen, die  $pK_{sp}$ -Werte, verwendet ( $pK_{sp} = -\log K_{sp}$ ). Die Ausfällung von Struvit kann also stattfinden, wenn das Ionenprodukt von Phosphat- ( $PO_4^{3-}$ ), Ammonium- ( $NH_4^+$ ) und Magnesium-Ionen ( $Mg^{2+}$ ) größer ist, als das Löslichkeitsprodukt ( $K_{sp}$ ) von Struvit ( $IAP > K_{sp}$ ). Die genannten Ionen lagen im ammoniumdihydrogenphosphat- (0,1 mol/l) und magnesiumhaltigen (0,15 mol/l) Standardelektrolyten in hohen Konzentrationen vor, aber auch in den anderen Elektrolyten waren hohe Konzentrationen aller für die Struvitabscheidung benötigten Ionen vorhanden. STRATFUL schreibt, dass für die Präzipitation von Struvit ein Überschuss an Ammoniumionen wichtig ist [168]. Die veröffentlichten  $pK_{sp}$ -Werte für den Stoff Struvit variieren zwischen 12,36 [182-183] und 13,26 [166].

### 5.1.3 Einfluss des pH-Wertes auf die Abscheidung

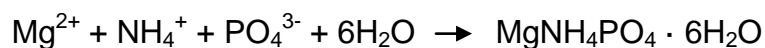
Ein weiterer wichtiger Faktor für die Präzipitation von Struvit ist der pH-Wert, da die Löslichkeit von Struvit bei ansteigendem pH-Wert sinkt. Somit erhöht sich bei ansteigendem pH-Wert das Präzipitationspotenzial von Struvit in einer wässrigen Lösung [165]. In Veröffentlichungen zum Thema „Struvitformation in Klärwerken“ wird berichtet, dass Struvitabscheidungen in einem pH-Bereich von 7,5-11,0 stattfinden, wobei Angaben der minimalen Löslichkeit von Struvit zwischen pH-Werten von 9,0 [165, 182-183] und 10,3 [166, 184] variieren. Die pH-Wert-Messungen, die während der in dieser Arbeit durchgeführten elektrochemischen Abscheidung von Struvit stichprobenartig gemacht wurden, ergaben in der Nähe der Kathode pH-Werte zwischen 8,0 und 10,0. Diese pH-Wert-Messungen dürfen aber nur als Schätzmessungen angesehen werden, da diese, je nach Nähe zur Kathode, variierten. Die Elektrolyse des Standardelektrolyten bei einer angelegten negativen Spannung und einer Stromstärke von - 300 mA verursachte also durch eine starke örtliche pH-

Werterhöhung an der Kathode eine Abscheidung von Struvit, indem Werte nahe an dessen minimaler Löslichkeit erreicht wurden.

Bei dem Prozess der kathodischen Polarisation der Titanelektrode kam es, wie erwähnt, zu einem Anstieg des pH-Wertes an der Grenzfläche zwischen Metall und Elektrolyt, aufgrund einer kathodischen Entladung von  $H^+$ -Ionen zu gasförmigem  $H_2$  und entsprechend dazu zu einer hohen Bildungsrate von  $OH^-$ -Ionen. Es ist zu vermuten, dass diese starke Bildung von Hydroxid-Ionen den pH-Wert in der Umgebung der Titan-Kathode soweit ansteigen ließ, bis das Gleichgewicht zwischen den drei Formen des im Elektrolyten vorliegenden Phosphat-Ions Richtung  $PO_4^{3-}$  verschoben wurde. Zu Anfang erzeugte der pH-Wertanstieg eine Erhöhung der Stabilität von  $HPO_4^{2-}$ -Ionen im Vergleich zu  $H_2PO_4^-$ -Ionen im Gleichgewicht der Phosphat-Ionen, was wiederum zu einem Anstieg der  $HPO_4^{2-}$ -Ionenkonzentration führte. Weitere pH-Wert-Erhöhungen führten dann an der Kathode zu einer erhöhten Stabilität der  $PO_4^{3-}$ -Ionen im Vergleich zu den  $HPO_4^{2-}$ -Ionen im Gleichgewicht, wodurch es letztendlich zu einem Anstieg der  $PO_4^{3-}$ -Ionenkonzentration im Elektrolyten kam [181]:



Die  $PO_4^{3-}$ -Ionenkonzentration stieg an der Grenzfläche von Titan und Elektrolyt so weit an, bis das Löslichkeitsprodukt von Struvit ( $pK_{sp}$ -Werte für Struvit: 12,36 [182-183] und 13,26 [166]) überschritten wurde. Diese Überschreitung, verursacht durch den plötzlichen pH-Anstieg im Elektrolyten, löste eine örtliche Kristallbildung von Struvit auf der Titanoberfläche der Kathode nach folgender Reaktion aus [165, 168]:



Aufgrund des definitiven Nachweises von Struvit als elektrochemisch abgeschiedene Beschichtung ist anzunehmen, dass durch das Anlegen eines elektrischen Potentials in einem Elektrolyten, welcher hohe Konzentrationen von Phosphat- ( $PO_4^{3-}$ ), Ammonium- ( $NH_4^+$ ) und Magnesium-Ionen ( $Mg^{2+}$ ) enthält, unabhängig davon wie hoch der Ausgangs-pH des Elektrolyten ist, eine Ausfällung von Struvit stattfinden kann, indem durch die elektrochemische

Reduktion von Wasser ein pH-Wert erzeugt wird, der zwischen 7,5 und 11,0 liegt und somit der minimalen Löslichkeit von Struvit nahe kommt.

#### **5.1.4 Einfluss der Temperatur auf die Abscheidung**

Ein letzter Faktor, der bei der Präzipitation von Struvit eine Rolle spielt, ist die Temperatur des Elektrolyten. In der Literatur wird beschrieben, dass die Löslichkeit von Struvit generell mit steigender Temperatur zunimmt und die maximale Löslichkeit von Struvit bei 50 °C vorliegt, wobei bei Temperaturen über diesen Punkt hinaus die Löslichkeit wieder abfällt [165, 185]. Ein aktueller Beitrag in der Literatur, indem der Einfluss der Temperatur auf die Ausfällung von Struvit untersucht wurde [181], beschrieb ebenfalls, dass die Temperatur die Präzipitation von Struvit beeinflusst, da eine Temperaturerhöhung eine Zunahme des Löslichkeitsproduktes  $pK_{sp}$  bewirkt. Weiterhin wurde beschrieben, dass auch die Effizienz der Phosphatentfernung aus der Lösung durch eine Temperaturerhöhung sinkt. Bei einer Temperatur von 14,5 °C konnte eine maximale Phosphatentfernung von 95 % aus einer Elektrolytlösung registriert werden, wohingegen diese bei einer höheren Temperatur von 35 °C nur noch 65 % betrug. Auch wurde gemessen, dass die Rate der Ausfällung von Struvit bei steigender Temperatur nachließ, denn für die Umwandlung der Hälfte der Phosphationenkonzentration einer Lösung zu Struvit, wurde bei steigender Temperatur immer mehr Zeit benötigt [181]. In den Beschichtungsversuchen der vorliegenden Arbeit konnten gute Struvitbeschichtungen bei Elektrolyttemperaturen von 23 bis 50 °C durch elektrochemische Abscheidung erzeugt werden. Die besten Beschichtungsergebnisse konnten in den Kategorien Schichtdicke, Homogenität und Schichthärte bei einer Temperatur von 50 °C erzielt werden. Da die im genannten Artikel untersuchte Temperaturspanne nur von 14,5 bis 35 °C reichte, bedarf es zur Erklärung der gemachten Beobachtung bei 50 °C weiterer Forschung. Es kann aber die Vermutung aufgestellt werden, dass bei einer höheren Versuchstemperatur von 50 °C die Schichtdicke zunimmt, da bei einer Erhöhung der Temperatur auch die mittlere kinetische Energie der Teilchen größer wird. D.h. die Ionen im Elektrolyten bewegen sich schneller, die Reaktionsgeschwindigkeit steigt, woraufhin es zu einer Zunahme des Kristallwachstums auf der zu

beschichtenden Oberfläche kommen könnte. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es generell keiner Temperaturerhöhung der Elektrolytlösung bedarf, um in dem hier genutzten Standardelektrolyten durch eine elektrochemische Abscheidung Titan mit Struvit zu beschichten.

#### **5.1.5 Analyse der Struvitbeschichtungen mittels REM**

In Kapitel 4.1.2.2 wurden die rastelektronenmikroskopischen Aufnahmen der angefertigten Struvitbeschichtungen abgebildet und analysiert. Die stark zerklüfteten Oberflächen besaßen eine sehr hohe Oberflächenrauigkeit, wobei die oberen Lagen der Beschichtungen größere Platten aufwiesen. In den unteren Lagen konnte eine granulatartige Morphologie ausgemacht werden. Die sehr hohe Oberflächenrauigkeit der Struvitbeschichtungen könnte sich in einer möglichen Verwendung als Beschichtung von Titanimplantaten als vorteilhaft erweisen, da nachgewiesen wurde, dass die Oberflächenrauigkeit von Titanimplantaten die Rate der biomechanischen Fixation und die Osteointegration positiv beeinflusst [84-86]. Die rauere, vergrößerte Oberfläche soll eine bessere Mikroretention des Implantates im Knochenfach gewährleisten [8-9, 13] und auch eine gesteigerte Adhäsion und Matrixproduktion von Osteoblasten zulassen [87].

Die bis zu ca. 5 µm großen granulatartigen Strukturen, die in der REM-Abbildung 9 zu sehen sind, konnten keiner bestimmten Kristallform zugewiesen werden. In der Literatur wird Struvit als eine weiße, kristalline Substanz mit orthorhombischem Kristallsystem beschrieben [186]. REM-Aufnahmen von Struvitsteinen zeigten dicht und locker gepackte Kristallschichten mit darauf verstreuten penta- und hexaedrischen, sargdeckelartigen Kristallen [187], wobei aber bei einer Untersuchung von kristallinem Struvit, gewonnen aus Abwässern, auch von stäbchenförmigen Struvitkristallen berichtet wurde [188]. Das Fehlen einer Übereinstimmung der Kristallformen war wohl auf die unterschiedlichen Methoden der Struvitgewinnung bei unterschiedlichen Wachstumsraten der Struvitkristalle zurückzuführen. Eine Desinfektion der Struvitbeschichtungen mit Ethanol ergab im Vergleich der REM-Bilder in Abbildung 8 keine sichtbare Veränderung der Oberflächenmorphologie, womit

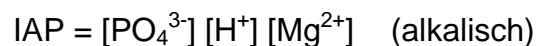
eine Desinfektion von mit Struvit beschichteten Titanimplantaten im medizinischen Bereich ohne Oberflächenveränderungen als durchführbar anzusehen wäre.

## 5.2 Prozess der Abscheidung von Newberyit

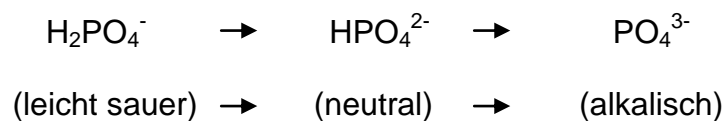
Das Magnesiumphosphat Newberyit mit der Summenformel  $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  wurde ebenfalls mittels elektrochemischer Abscheidung in einer elektrochemischen Zelle auf Titan aufgetragen, indem es in einem natriumdihydrogenphosphat- ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) und magnesiumnitrat-hexahydrathaltigen ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) Elektrolyten bei  $50\text{ }^\circ\text{C}$  und einer angelegten negativen Spannung bei einer konstanten Stromdichte von  $105,3\text{ mA/cm}^2$  kathodisch abgeschieden wurde. Den Nachweis für den Stoff Newberyit gaben Röntgendiffraktogramme der Beschichtungen (Abbildung 10, Kapitel 4.1.3.1) und deren Vergleich mit dem Referenzbeugungsmuster für Newberyit. Die für Newberyit charakteristischen Glanzwinkel des Röntgendiffraktogrammes hatten, verglichen mit denen von Titan, relativ niedrige Intensitäten, was ein Zeichen für die geringe Dicke der Newberyitbeschichtung war. Die Feststellung, dass die Peaks sehr schmal waren, war wiederum ein Hinweis auf relativ große Kristallite.

Es konnten, im Gegensatz zu den 15-minütigen Beschichtungsversuchen mit Struvit, bei denen von Newberyit nur zufriedenstellende Beschichtungsergebnisse mit einer Einzelelektrode (Abbildung 3, Kapitel 3.3.3) erlangt werden. Somit ist zu vermuten, dass die Anordnung von Kathode und Anode zueinander beim Versuchsaufbau der Viererkathode (Abbildung 1 und 2) eine Änderung der elektrischen Feldlinien im Elektrolyt erzeugte und es deshalb nicht zu der gewünschten Ausfällung von Newberyit kommen konnte. Es ist also anzunehmen, dass die Abscheidung von Newberyit eine andere Kinetik besitzt als die von Struvit. Im Vergleich zu der elektrochemischen Abscheidung von Struvit, ergab die von Newberyit eine wesentlich geringere durchschnittliche Massenabscheidung von nur  $0,6\text{ mg/cm}^2$  auf den durchschnittlich ca.  $3,8\text{ cm}^2$  großen Oberfläche der runden Titanproben.

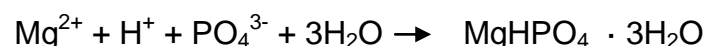
Die Präzipitation von Newberyit konnte stattfinden, sobald im Elektrolyten das Ionenprodukt der vorhandenen Phosphat- ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), Hydrogen- ( $\text{H}^+$ ) und Magnesium-Ionen ( $\text{Mg}^{2+}$ ) größer wurde, als das Löslichkeitsprodukt von Newberyit ( $\text{IAP} > K_{\text{sp}}$ ). Als Löslichkeitsprodukt von Newberyit wurde der  $\text{pK}_{\text{sp}}$ -Wert von 5,80 [167, 189] veröffentlicht. Das für die Abscheidung wichtige Ionenprodukt des Elektrolyten sah, je nach pH-Wert-Bereich, wie folgt aus:



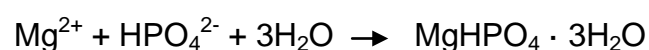
Die Präzipitation von Newberyit wurde vermutlich aufgrund der gleichen, in Kapitel 5.1 für Struvit beschriebenen, örtlichen pH-Werterhöhung verursacht. Auch hier fand durch die Elektrolyse des Elektrolyten eine Reduktion von Wasser statt, die an der Kathode eine hohe Bildungsrate von Hydroxid-Ionen auslöste. Infolgedessen wurde durch den starken örtlichen pH-Wert-Anstieg das Gleichgewicht in Richtung des alkalischen Phosphat-Ions ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) verschoben [181]:



Sobald das Löslichkeitsprodukt von Newberyit überschritten wurde und die Phosphat-Ionen in Richtung des alkalischen  $\text{PO}_4^{3-}$  verschoben waren, kam es zum erwünschten Ausfällungsprozess:



Es ist aber wahrscheinlich, vorausgesetzt das Löslichkeitsprodukt von Newberyit wurde überschritten, dass es bereits zu einer teilweisen Ausfällung von Newberyit kam, sobald die pH-Wert-Erhöhung einen Anstieg der  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionenkonzentration verursachte:



Diese Ausfällungsprozesse hinterließen auf der Titankathode eine relativ dünne, weiße Schicht Newberyit bei einer durchschnittlichen Massenabscheidung von  $0,6 \text{ mg/cm}^2$ . ABBONA ET AL. berichten in einem Artikel

über Kristallisationsprozesse von Struvit und Newberyit, dass Newberyit bei höheren pH-Werten eine höhere Löslichkeit als Struvit besitzt. Bei einer Temperatur von 25 °C soll sich die Löslichkeit von Newberyit für einen pH > 7,5 nicht mehr ändern, wohingegen die von Struvit stark abnimmt [189]. Wenn die Löslichkeit von Newberyit auch während der elektrochemischen Abscheidung ab einem pH-Wert von über 7,5 nicht mehr abnehmen sollte, dann würde dies auch einen Einfluss auf die Schichtbildung haben und könnte möglicherweise eine Erklärung für die sehr geringe Schichtdicke sein. Bei angelegter Spannung nimmt der pH-Wert des Elektrolyten in Richtung der Titankathode stetig zu. Auch wenn es in der direkten Nähe der Kathode zu weiteren Steigerungen des örtlichen pH-Wertes über 7,5 kommt, würde die Präzipitationsrate für Newberyit nicht zunehmen. Die geringe Kristallisationsrate an der Kathode hätte zur Folge, dass die Beschichtung langsamer erfolgen und eine geringere Schichtdicke erzeugen würde.

Weitergehend wurde berichtet, dass die Nukleationsrate von Newberyit temperaturabhängig ist, da diese bei einer Erhöhung der Versuchstemperatur von 25 auf 37 °C aufgrund der Steigerung der kinetischen Energie stark zunahm [189]. Diese Feststellungen von ABBONA ET AL. könnten erklären, warum eine elektrochemische Abscheidung von Newberyit in den hier gemachten Beschichtungsversuchen nur bei einer Elektrolyttemperatur von 50 °C und nicht bei 23 °C zu erzielen war.

In den im Kapitel 4.1.3.2 gezeigten REM-Bildern der Abbildung 11 ist eine stark zerklüftete, dünne Oberfläche zu erkennen, deren plattenartige Morphologie durch Mikrorisse unterteilt ist. Es ist anzunehmen, dass die Mikrorisse durch den Trocknungsprozess der Beschichtung entstanden sind. Auch hier könnte sich die hohe Oberflächenrauigkeit der Beschichtungen in einer möglichen zukünftigen Verwendung als Implantatbeschichtung als vorteilhaft erweisen. Auffällig sind in den REM-Bildern vereinzelte röhrenförmige Formationen, die aus der Oberfläche hervorragen. Diese vulkanähnlichen Formationen haben teils eine zentrale Öffnung oder sind verschlossen. Die Elektrolyse von Wasser, die unter 3.3.2 näher beschrieben wurde, verursachte offensichtlich einen Gasaustritt an der Kathode, indem an der Grenzfläche zwischen Metall und



Elektrolyt die kathodische Entladung von  $H^+$ -Ionen eine starke Bildungsrate von gasförmigem  $H_2$  hervorrief.

Es kann vermutet werden, dass diese Ausgasung von Wasserstoff an der Oberfläche der Kathode zu den, in den REM-Bildern sichtbaren, vulkanähnlichen Strukturen geführt hat. Da in der Literatur bislang noch keine elektrochemische Abscheidung von Newberyit beschrieben wurde, konnten diese Beobachtungen nicht durch andere Literaturangaben untermauert werden. In einem Artikel über die Elektrodeposition von Bruschit ( $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ) [33] wurde eine ähnliche vulkanartige Struktur der elektrochemisch aufgetragenen Oberfläche im REM beobachtet. Die in diesem Artikel geäußerten Erklärungen für die möglichen Entstehungsursachen der vulkanähnlichen Formationen der Bruschitbeschichtung könnten teilweise auch auf die röhrenartigen Formationen der Newberyitbeschichtung zutreffen. Da die sich abscheidende Newberyitbeschichtung mit zunehmender Dicke auf der Titankathode isolierend wirkte, musste sich der Wasserstoff auf dieser einige Stellen suchen, an denen er ausgasen konnte. Wiederum konnte Newberyit sich an den Stellen, die durch die Wasserstoffbläschen besetzt waren, nicht abscheiden, da durch jene kein Massentransport möglich war. An diesen Stellen entstanden vermutlich die vulkanähnlichen Formationen, indem sich beim Abgasen von der Kathode um die runden Wasserstoffbläschen herum Newberyit abscheiden konnte. Der Ionentransport während der elektrochemischen Deposition musste also aufgrund der zunehmenden, isolierenden Newberyitbeschichtung auf der Titanoberfläche zwischen den Wasserstoffbläschen und den Innenwänden dieser vulkanähnlichen Newberyitformationen stattfinden, bis nach einiger Zeit die Austrittsöffnung aufgrund der zunehmenden Newberyitdeposition gänzlich verschlossen wurde.

### **5.3 Prozess der Umwandlung von Struvit zu Dittmarit**

Ein möglicher zukünftiger medizinischer Einsatz von mit Magnesiumphosphaten beschichteten Titanimplantaten würde eine Keimreduzierung der Oberflächen voraussetzen. Deswegen wurden die mit Struvit und Newberyit beschichteten Titanproben einer Dampfsterilisation in einem Autoklaven unterzogen. Die

Newberyitbeschichtungen zeigten keine Veränderung der chemischen Struktur im Röntgendiffraktogramm, wohingegen sich die Struvitbeschichtungen ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) zu Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) umwandelten (siehe Kapitel 4.1.5). Den Nachweis für die Umwandlung lieferten Röntgendiffraktogramme der dampfsterilisierten Beschichtungen, wobei das Beugungsmuster des Röntgendiffraktogrammes der Abbildung 12 mit dem Referenzbeugungsmuster für Dittmarit übereinstimmte. Nach der Erhitzung auf  $121\text{ °C}$  in einer Umgebung mit hoher Luftfeuchtigkeit muss es also zu einer Dehydratation vom Hexahydrat Struvit zum Monohydrat Dittmarit gekommen sein:



In Artikeln über die thermale Dekomposition von Struvit berichten SARKAR und BHUIYAN ET AL. ebenfalls von einem Verlust von fünf Wassermolekülen aus der Struvitstruktur und einer Umwandlung zum Monohydrat Dittmarit, nachdem Struvit in Wasser gekocht wurde [167, 190]. Bei der Dampfsterilisation von Struvit herrschten bei Temperaturen oberhalb von  $100\text{ °C}$  und extrem hoher Luftfeuchtigkeit unter Überdruck im Autoklaven ähnliche Bedingungen, wie beim Kochen in Wasser.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Dittmaritbeschichtungen in Abbildung 13 zeigten Veränderungen gegenüber den Aufnahmen der Struvitbeschichtungen in Abbildung 8 und 9, da in einer rauen Oberfläche mit starken Höhenunterschieden innerhalb der Beschichtung nun auch dendritische (baumartige) kristalline Strukturen in den tieferen Bereichen der Dittmaritbeschichtungen zu erkennen waren. In der Literatur wurden diese Kristallstrukturen ebenfalls mit Dittmarit in Verbindung gebracht [188].

Schlussfolgernd kann gesagt werden, dass wenn ein mit Struvit beschichteter Gegenstand implantiert werden soll, dieser nicht dampfsterilisiert werden darf, sondern mittels eines anderen, nicht thermischen Verfahrens, wie der Gas- oder Strahlensterilisation, sterilisiert werden muss.

## 5.4 *In-vitro*-Verhalten von Struvit

Nach den Charakterisierungen der Beschichtungsstoffe, Struvit, Dittmarit und Newberyit wurden diese in Simulated Body Fluid (SBF), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) und in fötalem Kälberserum (FCS) unter physiologischen Bedingungen für einen maximalen Zeitraum von 14 Tagen eingelagert, um in diesen drei in der Literatur häufig genutzten Medien [178-179] eine *in-vivo*-Umgebung zu simulieren. In allen Medien zeigte Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) nach der maximalen Einlagerungszeit von 14 Tagen eine teilweise oder vollständige Umwandlung zu Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), wie in dem Übersichtsdiagramm der Abbildung 20 (Ergebnisteil 4.2.1) anhand der Röntgenbeugungsanalyse von Struvit vor und nach Einlagerung zu sehen ist.

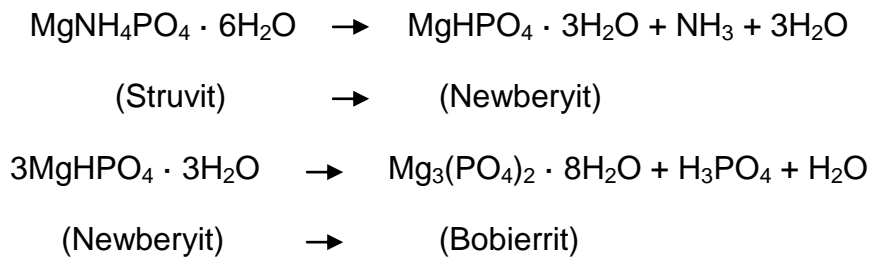
In einem Artikel von SARKAR wurde eine Zerfallsreaktion von Struvit veröffentlicht [190]:



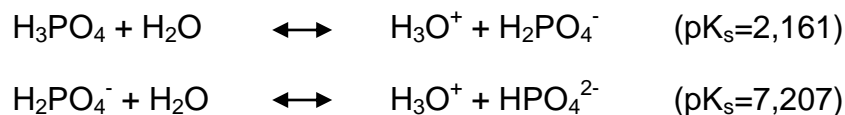
Bei der thermogravimetrischen Analyse wurde herausgefunden, dass ein Massenverlust von Struvit bei ca. 55 °C beginnt und bei ca. 250 °C endet, wobei sich Struvit, laut der oben angegebenen Reaktionsgleichung, in die Bestandteile Magnesiumhydrogenphosphat ( $\text{MgHPO}_4$ ), Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) und Wasser ( $6\text{H}_2\text{O}$ ) zersetzt. In einer Veröffentlichung von BHUIYAN ET AL. wurden Versuche beschrieben, in denen Struvit in einem Überschuss an Wasser erhitzt wurde, um das Dekompositionsverhalten im wässrigen Milieu zu beobachten. Bei Temperaturen von 50, 60 und 80 °C erfuhr Struvit nach 24 Stunden durch den sukzessiven Verlust von Ammoniak eine teilweise Umwandlung zu Bobierit [167]. TAYLOR ET AL. stellte in einer früheren Arbeit über das Löslichkeitsverhalten von Struvit fest, dass sich Struvit in einer wässrigen Lösung bei 25 °C, wenn Ammoniak aus der Lösung entweichen kann, zuerst teilweise zu Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) und dann letztendlich zum stabileren Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) umwandelte [191].

Aufgrund den von SARKAR, BHUIYAN ET AL. und TAYLOR ET AL. gemachten Beobachtungen, kann angenommen werden, dass sich die Struvitbeschichtungen nach Einlagerung bei 37 °C in SBF, DMEM und FCS laut

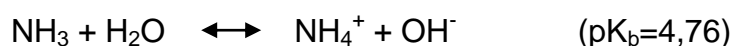
folgenden Zerfallsgleichungen zu jeweils unterschiedlichen Anteilen zu Bobierrit umgewandelt haben:



Allerdings gibt die Phosphorsäure ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) als eine dreiprotonige Säure beim hier vorliegenden neutralen pH-Wert sofort zwei Protonen in Form von Oxonium-Ionen ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) an die in den Medien im Überschuss vorliegenden Wassermoleküle ab und bildet somit Dihydrogenphosphat- und Hydrogenphosphat-Anionen:



Durch die Entstehung von Oxonium-Ionen müsste der pH-Wert des Mediums leicht sinken, jedoch wurde bei der Zerfallsreaktion auch Ammoniak freigesetzt, der als mittelstarke Base mit Wasser unter Bildung von Hydroxid-Ionen ( $\text{OH}^-$ ) reagierte und somit die Säurebildung abgepuffert oder auch den vorliegenden pH-Wert angehoben haben könnte:



Da Ammoniak in wässrigen Lösungen größtenteils als molekular gelöste Verbindung vorliegt, liegt das Gleichgewicht der Reaktion auf der Seite von Ammoniak und Wasser [175]. Bei der Umwandlung von Struvit zu Bobierrit entstehen Hydroxid- und Oxonium-Ionen bei den angegebenen  $\text{pK}_s$ - und  $\text{pK}_b$ -Werten. Ob aber dadurch der pH-Wert stark vom physiologischen pH-Bereich (7,35-7,45) der Medien abweicht, ist nur durch dauerhafte pH-Wert-Messungen während der Einlagerungen zu beantworten.

Das elektrochemisch abgeschiedene Struvit zeigte in allen Einlagerungsmedien eine hohe *in-vitro*-Degradationsrate, indem es sich innerhalb von 14 Tagen in SBF vollständig, in DMEM teilweise und in FCS fast vollständig zu Bobierrit

umwandelte. Ein Vorliegen von Newberyit in den Beschichtungen wurde zu keinem Zeitpunkt der Einlagerung festgestellt, weshalb anzunehmen ist, dass Newberyit nur als Zwischenprodukt bei der Umwandlung von Struvit zu Bobierrit eine Rolle spielte. Die im Vergleich zu Titan allgemein verringerte Intensität der für Struvit charakteristischen Glanzwinkel in den nach Einlagerung gemachten Röntgendiffraktogrammen deutete auf eine hohe Löslichkeit und somit auch auf eine hohe Resorptionsrate von Struvit hin. In einer Veröffentlichung der FMZ Würzburg konnte Struvit ebenfalls eine hohe Resorptionsrate aufweisen, indem Struvitzement innerhalb einer 13-tägigen Einlagerung in einer osteoklastischen Zellkultur (RAW 264.7 in DMEM mit 10 % FCS) eine kumulierte aktive und passive Resorption von ca. 4,7 % erfuhr, wobei für diese Analyse des Resorptionsprozesses die Freigabe von  $Mg^{2+}$ -Ionen und die Massenverluste der Proben ausschlaggebend waren. Struvitzement hatte, im Vergleich mit Bruschit-, Monetit- und Hydroxylapatitzementen, die höchste *in-vitro*-Degradationsrate [41].

Da die Einlagerungen in SBF, DMEM und FCS eine *in-vivo*-Umgebung simulierten, kann bei Struvit als möglicher Beschichtungsstoff für Titanimplantate von einer hohen *in-vivo*-Degradationsrate ausgegangen werden. Vermutungen über positive *in-vivo*-Eigenschaften von Struvit wurden auch bereits in Veröffentlichungen anderer Autoren geäußert [41, 43].

#### **5.4.1 Struvit nach Einlagerung in SBF**

Nach einem Tag der Einlagerung in SBF war eine verringerte Intensität der für Struvit typischen Glanzwinkel, im Vergleich zu denen von Titan, im Röntgendiffraktogramm der Abbildung 14 zu erkennen, was auf eine Verringerung der Schichtdicke durch teilweises in Lösung gehen der Struvitschicht hindeutete. Nach drei Tagen waren einige wenige für Bobierrit charakteristische Glanzwinkel neben denen von Struvit zu erkennen. Diese erste Abzeichnung von Bobierrit war in den REM-Aufnahmen anhand von unterschiedlich großen und ungleich geformten Kristallen auf der Oberfläche zu erkennen. Bereits nach dem siebten Tag der Einlagerung hatte sich Struvit vollständig zu Bobierrit umgewandelt. Auch die REM-Bilder in Abbildung 15

zeigten eine starke strukturelle Veränderung der Oberflächenmorphologie, mit bis zu 50 µm großen rosettenförmigen Kristallbüscheln aus gestreckten Nadelkristallen, deren Struktur in der Literatur mit Bobierit in Verbindung gebracht wird [192]. Es war anzunehmen, dass die Bobieritschicht nach der maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen stark in Lösung gegangen war, da die Intensitäten der Bobierit-Glanzwinkel stark zurückgegangen und zu einem großen Anteil auch nicht mehr zu erkennen waren. Die REM-Aufnahmen dieser Beschichtungen untermauerten diese Annahme, da die Oberfläche sehr dünn erschien und nur noch wenig klare Strukturen zu erkennen gab.

Die elektrochemisch auf Titan aufgebrachte Struvitbeschichtung wandelte sich im azellulären Medium SBF nach nur sieben Tagen vollständig zu Bobierit um. Die Resorptionsrate von Struvit war in SBF höher als in den Einlagerungen in DMEM und FCS. Das Röntgendiffraktogramm von Struvit nach seiner 14-tägigen Einlagerung in SBF (Abbildung 20) zeigt im Vergleich mit den Diffraktogrammen von Struvit vor und nach Einlagerung in DMEM und FCS deutlich, dass Struvit in SBF die schnellste *in-vitro*-Degradation erfahren hat.

#### **5.4.2 Struvit nach Einlagerung in DMEM**

Dulbecco's Modified Eagle Medium beinhaltet neben den anorganischen Salzen, in Konzentrationen ähnlich denen des Blutplasmas, auch Nährstoffe wie Vitamine, Aminosäuren und Glukose, die für das Überleben von Zellen notwendig sind [179]. Es gibt aufgrund dieser Unterschiede zu SBF Autoren, die zu dem Entschluss gekommen sind, dass DMEM als ein Zellkulturmedium die bessere Wahl sei, um eine *in-vivo*-Umgebung zu simulieren [178-179]. MANDEL sah in einer HEPES-gepufferten DMEM-Lösung eine gute Alternative zur SBF-Lösung, um in dieser eine *in-vivo*-Bioaktivität von Stoffen vorherzusagen [179]. In den hier durchgeführten Einlagerungsversuchen wurde ebenfalls ein DMEM mit einem HEPES-Puffer genutzt (siehe 3.5.2), welcher die Fähigkeit besitzt, mögliche pH-Schwankungen während der Einlagerung zu kompensieren und einen physiologischen pH-Wert beizubehalten [178]. Somit ist anzunehmen, dass die bei der Einlagerung in DMEM beobachteten *in-vitro*-Degradationsgeschwindigkeiten eher denen nahe kommen, die in einer *in-vivo*-

Umgebung anzunehmen wären, als die, die bei der Einlagerung in SBF beobachtet wurden.

Struvit blieb laut Röntgenbeugungsanalyse bis zum siebten Einlagerungstag in DMEM unverändert. Es wird angenommen, dass sich nach der maximalen Einlagerungszeit von 14 Tagen ein kleiner Anteil Struvit zu Bobierit umgewandelt hatte, da sich im Röntgendiffraktogramm der Abbildung 16, neben den für Struvit charakteristischen Peaks, einige wenige für Bobierit typische Peaks mit schwacher Intensität abzeichneten und es in den REM-Aufnahmen ähnliche Kristalle zu sehen gab, die auch bei der Einlagerung von Struvit in SBF durch die beginnende Kristallisation von Bobierit gebildet wurden. Es kam also in DMEM zu einer späteren, teilweisen Umwandlung von Struvit zu Bobierit, wobei die Vermutung angestellt werden kann, dass es bei einer längeren Einlagerungsdauer über den 14. Tag hinaus auch zu einer vollständigen Umwandlung in DMEM kommen würde. Die geringere Umwandlungsrate innerhalb der 14 Tage in DMEM könnte durch den HEPES-Puffer verursacht worden sein, indem pH-Wert-Schwankungen während der Einlagerung durch diesen abgepuffert wurden.

Die Struvitbeschichtungen zeigten in DMEM, im Vergleich zu denen in SBF, während der 14-tägigen Einlagerung eine geringere Umwandlungsrate zu Bobierit. Aufgrund der am 14. Tag der Einlagerung noch sehr hohen Intensitäten der für Struvit charakteristischen Glanzwinkel, im Vergleich zu denen von Titan (siehe Abbildung 20), ist auch von einer geringeren Resorptionsrate der Beschichtung auszugehen. Insgesamt lief die *in-vitro*-Degradation in DMEM langsamer ab als in SBF.

#### **5.4.3 Struvit nach Einlagerung in FCS**

Das organische Zellkulturmedium FCS (fetal calf serum), auch bekannt als FBS (fetal bovine serum), simuliert sehr gut eine *in-vivo*-Umgebung und wird deshalb oft in Zellkulturexperimenten genutzt. Bis zum siebten Tag der Einlagerung von Struvit in FCS zeigten sich in den Röntgendiffraktogrammen der Abbildung 18, neben einem leichten Rückgang der Intensitäten von den für Struvit charakteristischen Glanzwinkeln, keine Veränderungen, wohingegen die REM-

Aufnahmen des siebten Tages (Abbildung 19) bereits vereinzelte, für Bobierit charakteristische fächerförmige Kristallformationen [192] aufweisen konnten. Zwischen dem siebten und dem 14. Tag der Einlagerung kam es zu einer fast vollständigen Umwandlung von Struvit zu Bobierit, denn im Diffraktogramm waren jetzt nur noch wenige für Struvit typische Peaks mit sehr schwachen Intensitäten neben zahlreichen für Bobierit typischen Peaks zu sehen. In den dazugehörigen REM-Bildern waren die hier für Struvit üblichen Oberflächenbeschaffenheiten verloren gegangen und ein Teppich von nadel- und auch fächerförmigen Kristallen, welche mit Bobierit in Verbindung gebracht werden [192], hatte sich auf der Beschichtung gebildet.

Im einzigen organischen Medium dieser Einlagerungsversuche zeigte Struvit eine hohe *in-vitro*-Degradationsrate, bzw. -geschwindigkeit. Die Beschichtung hatte sich bis zum 14. Tag der Einlagerung fast vollständig zu Bobierit umgewandelt, was annehmen lässt, dass die Umwandlung nach wenigen weiteren Tagen der Einlagerung in FCS abgeschlossen worden wäre. Während der Einlagerung in FCS war eine stetige Verringerung der Intensitäten der für Struvit charakteristischen Glanzwinkel, im Vergleich zu denen von Titan, im Beugungsdiagramm der Abbildung 18 zu erkennen, was ein Hinweis auf eine stetige Verringerung der Schichtdicke durch teilweises in Lösung gehen der Struvitschicht war.

### **5.5 *In-vitro*-Verhalten von Dittmarit**

Das Monohydrat Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) wurde durch eine Autoklavierung des Hexahydraten Struvit bei 121 °C synthetisiert und ebenfalls in den Medien SBF, DMEM und FCS eingelagert. Die Röntgenbeugungsanalyse von Dittmarit vor und nach Einlagerung (siehe Abbildung 28, Kapitel 4.2.2) zeigte, dass sich das Magnesiumammoniumphosphat in allen drei Medien nach der maximalen Einlagerungszeit von 14 Tagen teilweise oder vollständig zu den Magnesiumphosphaten Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) und Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) umwandelte. In FCS bildete Dittmarit neben den beiden Tri-Magnesium-Di-Phosphaten noch Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (siehe 5.5.3).



SARKAR veröffentlichte nach einer thermogravimetrischen Analyse (TGA) von Dittmarit folgende Dekompositionsreaktion und stellte fest, dass das Dekompositionsverhalten von Dittmarit dem von Struvit sehr ähnlich ist [190]:



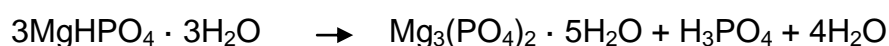
Er beobachtete, dass sich Dittmarit bei Raumtemperatur in Wasser bereits nach 24 Stunden teilweise zum im wässrigen Medium stabileren Hexahydrat Struvit umwandelte. Bei längerer Einlagerungsdauer kam es zu einer vollständigen Hydratation von Dittmarit, woraus er folgerte, dass das Hexahydrat Struvit im wässrigen Milieu stabiler ist als das Monohydrat Dittmarit [190]. Diese von SARKAR gemachte Beobachtung lässt die Annahme zu, dass das hier in den wässrigen Medien SBF, DMEM und FCS eingelagerte Dittmarit ebenfalls eine Hydratation zum Hexahydrat Struvit erfuhr. Die in dieser Arbeit gebrauchten Einlagerungsmedien wurden aber nicht auf Raumtemperatur belassen, sondern auf 37 °C erwärmt, was die Hydratation beschleunigt haben könnte. Wenn man von dieser Annahme ausgeht, dann wandelte sich der Ausgangsstoff Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) durch die Aufnahme von fünf Wassermolekülen zuerst teilweise zu Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) um,



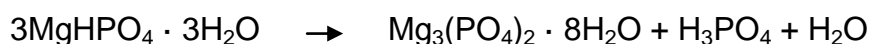
welches sich dann nach TAYLOR ET AL. im wässrigen Milieu durch das Entweichen von Ammoniak weiter zu Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) umwandelte [191]:



Struvit und Newberyit wurden zu keinem Zeitpunkt der Einlagerungsversuche auf den Beschichtungen nachgewiesen und lagen hier nur als Zwischenprodukte einer Reaktion vor, die Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) und Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) als Endprodukte hatte:



und



Die in der Reaktion entstandene Phosphorsäure ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) gab allerdings, wie auch unter 5.4 beschrieben, sofort zwei Protonen in Form von  $\text{H}_3\text{O}^+$  an die in den Medien im Überschuss vorliegenden Wassermoleküle ab und bildete Dihydrogenphosphat- und Hydrogenphosphat-Anionen. Newberyit wurde in den Medien zu Bobierit umgewandelt, da es in dieser wässrigen Umgebung die stabilere Struktur besitzt. Diese Umwandlung wurde auch von TAYLOR ET AL. [191] beschrieben. Bobierit kann sich aber auch gebildet haben, indem drei zusätzliche Wassermoleküle in das Kristallgitter von Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat einlagert wurden:



Die Umwandlungsreaktion von Struvit zu Bobierit wurde bereits im Kapitel 5.4 näher erläutert.

Dittmarit konnte in allen Einlagerungsmedien eine hohe *in-vitro*-Degradation aufweisen, indem es sich innerhalb der maximalen Einlagerungsdauer von 14 Tagen in SBF vollständig und in DMEM teilweise zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) und Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) umwandelte. In FCS bildete Dittmarit neben den Tri-Magnesium-Di-Phosphaten noch Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Die vor und nach der Einlagerung von Dittmarit gemachten Röntgendiffraktogramme (siehe Abbildung 28) deuteten auf eine hohe Resorptionsrate von Dittmarit hin. Somit kann auch für das Monohydrat Dittmarit von einer hohen Degradationsrate *in vivo* ausgegangen werden.

### 5.5.1 Dittmarit nach Einlagerung in SBF

Dittmarit zeigte in der Röntgendiffraktographie der Abbildung 21 bereits nach einem Tag der Einlagerung in SBF eine teilweise Umwandlung zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), welche bis zum dritten Tag mit der zusätzlichen Bildung von Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) fortgesetzt wurde. Die frühe teilweise Umwandlung zu Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat war in den REM-Bildern der Abbildung 23 durch das Verschwinden der für Dittmarit charakteristischen dendritischen Kristallstrukturen [188] und der Bildung einer spongiösen Oberfläche gekennzeichnet. Die Bildung von Bobierit

zwischen dem ersten und dritten Tag war anhand von vereinzelt, für Bobierit charakteristischen kristallinen Aggregaten in Form von Rosetten [192] zu beobachten. Die Umwandlung von Dittmarit muss bis zum siebten Tag der Einlagerung vollständig abgeschlossen gewesen sein, da im Diffraktogramm nur noch Intensitätsmaxima bei den für die Tri-Magnesium-Di-Phosphate Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat und Bobierit charakteristischen Glanzwinkeln zu sehen waren. Eine leichte Zunahme der für Bobierit charakteristischen Glanzwinkel gegenüber denen von Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat war nach dem 14. Einlagerungstag festzustellen. Das dazugehörige REM-Bild F der Abbildung 23 zeigte völlig veränderte, ausgewaschene Oberflächen aus feinen Nadelkristallen, auf der keine für Dittmarit typischen Kristallstrukturen mehr zu erkennen waren.

Die Dittmaritbeschichtung hatte sich im azellulären Medium SBF nach nur sieben Tagen vollständig umgewandelt und zeigte damit eine sehr schnelle *in-vitro*-Degradation.

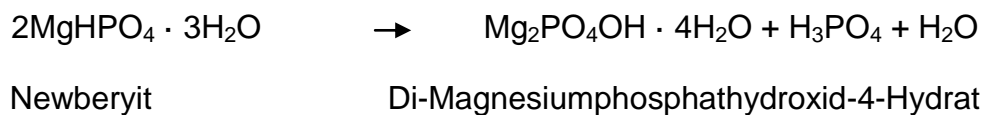
### **5.5.2 Dittmarit nach Einlagerung in DMEM**

Dittmarit zeigte bis zum dritten Tag in DMEM in den Röntgendiffraktogrammen der Abbildung 24 ähnliche Intensitätsmaxima bei für Dittmarit und Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat charakteristischen Glanzwinkeln, wie das von Dittmarit nach einem Tag in SBF. Nach dem siebten Tag in DMEM bildete sich neben Dittmarit und Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat zusätzlich Bobierit, was auch im REM durch das Auftreten von Kristallstrukturen in Form von Rosetten [192] zu beobachten war (siehe Abbildung 25). Im Gegensatz zu der Einlagerung in SBF war bei der Einlagerung in DMEM Dittmarit neben Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat und Bobierit auch nach 14 Tagen in der Beschichtung nachzuweisen.

Es fand also bis zum 14. Tag in DMEM nur eine teilweise Umwandlung von Dittmarit statt. Auch bei Dittmarit verlief die *in-vitro*-Degradation in DMEM langsamer als in SBF.

### 5.5.3 Dittmarit nach Einlagerung in FCS

Bis zum dritten Tag der Einlagerung in FCS verhielt sich Dittmarit laut der Röntgenbeugungsanalyse ähnlich wie in DMEM, wobei aber in den REM-Bildern der Abbildung 27 bis dahin noch nicht beobachtete plättchenförmige Kristalle auf den Oberflächen zu sehen sind. Es ist zu vermuten, dass diese Kristalle eine frühe Kristallisationsform des, ab dem siebten Tag im Röntgendiffraktogramm nachgewiesenen, Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrates ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) sind. Das Di-Magnesiumphosphat bildete sich wohl nach der unten angegebenen Reaktionsgleichung aus dem Zwischenprodukt Newberyit:



In einer Literaturquelle wurde ebenfalls berichtet, dass sich zusammen mit Bobjerrit auch Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat bildete. Dies fand bei einem pH-Wert von 7,4 und einer Temperatur von 75 °C statt [193]. Die Temperatur im FCS betrug konstant 37 °C, doch es wäre möglich, dass sich während der Einlagerungsdauer der pH-Wert veränderte und in alkalische Bereiche stieg, in denen diese Form des Magnesiumphosphates stabil ist.

Am Ende der maximalen Einlagerungszeit lagen neben dem Ausgangsstoff Dittmarit die Magnesiumphosphate Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat, Bobjerrit und Di-Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat in der Beschichtung vor. Dittmarit zeigte somit in FCS eine hohe *in-vitro*-Degradationsrate.

### 5.6 *In-vitro*-Verhalten von Newberyit

Während der Einlagerungsversuche in SBF, DMEM und FCS konnten keine Veränderungen der chemischen Zusammensetzung Newberyits mittels Röntgendiffraktometrie festgestellt werden. Nur ein allgemeiner Rückgang der Intensitäten der für Newberyit charakteristischen Glanzwinkel, verursacht durch ein starkes in Lösung gehen der Beschichtung, konnte im Laufe der Einlagerungen beobachtet werden. Schlussfolgernd ist anzunehmen, dass die Newberyitbeschichtung eine schnelle Resorption *in vivo* erfahren würde.

## **5.7 Bewertung der elektrochemischen Abscheidung als Methode der Oberflächenmodifikation von Titanoberflächen**

Die Methode der elektrochemischen Abscheidung hat gegenüber der Plasmaspritztechnik einige Vorteile, wie eine niedrige Prozesstemperatur, die Möglichkeit, aufgrund von einer nicht linearen Ablagerung, komplexe Oberflächen mit tiefen Riefen und Makroporositäten adäquat zu beschichten und die Möglichkeit, Kristallinität und Morphologie der Beschichtungen zu kontrollieren. Die Kristallinität der Beschichtung erhöht sich mit der Temperatur des Elektrolyten und die Morphologie der Beschichtung kann durch Variieren des elektrochemischen Potentials und der Elektrolytkonzentration kontrolliert werden [31, 33, 38]. Dieses Beschichtungsverfahren erlaubt es, aufgrund der niedrigen Prozesstemperatur, knochenmineralähnliche Beschichtungen auf Titan aufzubringen, ohne die Komposition und die Kristallinität des gewünschten Beschichtungsstoffes zu stark zu verändern. Somit besteht die Möglichkeit, gut lösliche, degradierbare Beschichtungen aufzutragen, die in kurzer Zeit vom Körper resorbiert werden können, um ein schnelles Knochenwachstum an der Implantationsstelle zuzulassen. Auf diesem Weg könnten die Gefahren eines Langzeitversagens der Beschichtung aufgrund von einer unvollständigen oder zu langsamen Resorption vermindert werden.

Ein weiterer Grund, in der Zukunft die elektrochemische Abscheidung bei der Implantatbeschichtung verstärkt in Betracht zu ziehen, ist die vielversprechende Möglichkeit des zusätzlichen Einsatzes von knochenmorphogenetischen Proteinen (Bone morphogenetic proteins, BMPs). Diese Signalproteine haben in Versuchen bewiesen, dass sie die Rate des Knochenwachstums steigern können [194-195]. BMPs könnten die Integration von keramisch beschichteten Implantaten im Knochenfach beschleunigen, indem die Beschichtungen als Träger dieser Proteine fungierten. Nach Implantation könnte die Beschichtung die knochenwachstumsbeschleunigenden Proteine in die implantatnahe Umgebung abgeben und so für eine noch schnellere Osteointegration sorgen [195-196]. Die Möglichkeit der Ausführung dieser vielversprechenden Modifikation einer Implantatbeschichtung ist nur bei einer Niedrigtemperatur-

Beschichtungsmethode wie der elektrochemischen Abscheidung möglich, da extrem hohe Verarbeitungstemperaturen, wie bei der Plasmaspritztechnik, die Proteine zerstören würden. Um eine kontinuierliche Abgabe mit relativ gleichbleibenden Proteindosierungen über einen bestimmten Zeitraum zu ermöglichen, ist die Inkorporation der knochenwachstumsfördernden Proteine während des Beschichtungsprozesses von Wichtigkeit. Dies würde aber voraussetzen, dass der Beschichtungsprozess bei physiologischen Temperaturen (37°C) vorgenommen wird.

Leider ist die Haftfestigkeit einer Beschichtung, die mittels elektrochemischer Abscheidung aufgetragen wird, geringer, als wenn diese mittels Plasmaspritzmethode appliziert wird [197]. Bei der Reduktion von Wasser während der elektrochemischen Beschichtung bildet sich Wasserstoffgas an der Kathode. Dieses H<sub>2</sub>-Gas besetzt aber dabei vereinzelt kleine Stellen auf der Kathode und verhindert an diesen die Präzipitation der jeweiligen Beschichtung [198].

Um die Nachteile dieser Beschichtungsmethode zu minimieren oder sie ganz zu verhindern, muss in weiteren Beschichtungsversuchen an Modifikationen des Elektrolyten geforscht werden. Ein möglicher Ansatz für eine Verbesserung der Homogenität der Schichten wäre der Gebrauch von niedrigeren Ionenkonzentrationen im Elektrolyten, um höhere pH-Werte für diese zu ermöglichen und somit einen weniger steilen pH-Gradienten zum pH-Wert der Elektrode zu erhalten. Auf diesem Weg könnten Beschichtungen mit niedrigeren Stromdichten und geringerer Gasbildung aufgetragen werden. Ein weiterer Verbesserungsansatz wäre der Versuch einer gepulsten Abscheidung mit periodischen rechteckförmigen Strompulsen. Die Pulspausen würden dem System eine Relaxation erlauben, was die Ionenkonzentrationen in der Nachbarschaft der Kathode weniger schnell verarmen lassen würde. Diese Modifikation der elektrochemischen Abscheidung könnte bei niedrigeren Strömen und geringerer Gasbildung homogenere Beschichtungen auf Titanoberflächen hinterlassen.

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, die experimentellen Parameter für eine erfolgreiche elektrochemische Abscheidung sowohl von Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) als auch Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) auf durch Sandstrahlen aufgeraute Titanproben zu ermitteln. Welche der beiden Phasen auf den Titanoberflächen abgeschieden wurde, hing dabei hauptsächlich von der jeweiligen Elektrolytzusammensetzung ab. Bei der Elektrodeposition selbst erwiesen sich eine Elektrolyttemperatur von  $50\text{ }^\circ\text{C}$  und Stromdichten von etwa  $79 - 105\text{ mA/cm}^2$  als optimal, um geschlossene Schichten von hinreichender Dicke reproduzierbar herzustellen. Es zeigte sich, dass die für die jeweiligen Abscheidungsprodukte optimierten Parameter ( $79\text{ mA/cm}^2$  für Struvit und  $105,3\text{ mA/cm}^2$  für Newberyit) zu deutlich unterschiedlichen Massenabscheidungen ( $4,4\text{ mg/cm}^2$  für Struvit und  $0,6\text{ mg/cm}^2$  für Newberyit bei einer Beschichtungsdauer von 15 min) führten. Das Monohydrat Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ließ sich nicht direkt abscheiden, konnte aber durch Dampfsterilisation von zuvor erzeugten Struvitschichten in einem Autoklaven erzeugt werden.

Um das Verhalten der Oberflächenmodifikationen in einer *in-vivo*-Umgebung zu simulieren, wurden die Beschichtungen für eine maximale Dauer von 14 Tagen in Simulated Body Fluid (SBF), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) und in fötalem Kälberserum (FCS) eingelagert. In bestimmten Zeitabständen wurden eingelagerte Proben ihrem Medium entnommen, getrocknet und die Schichten mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie und der Rasterelektronenmikroskopie hinsichtlich ihrer kristallographischen und morphologischen Eigenschaften charakterisiert. Dabei zeigten die drei Magnesiumphosphate jeweils unterschiedliches Degradationsverhalten in den verschiedenen Einlagerungsmedien. Struvit wandelte sich nach 14 Tagen in DMEM teilweise, in FCS größtenteils und in SBF vollständig zu Bobierit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) um. Ein ähnliches Verhalten zeigte sich bei Dittmarit, allerdings kam es hier in allen Medien zur Bildung einer weiteren Phase (Tri-Magnesium-Di-Phosphat-5-Hydrat,  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), in FCS bildete sich zusätzlich noch Di-

Magnesiumphosphathydroxid-4-Hydrat ( $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Die Newberyit-Schichten hingegen zeigten keinerlei Phasenumwandlungen, lösten sich aber in den Einlagerungsversuchen teilweise auf.

Diese Ergebnisse zeigen, dass elektrochemisch erzeugte Beschichtungen auf Magnesiumphosphatbasis durchaus vielversprechend im Hinblick auf die funktionelle Modifikation metallischer Implantatoberflächen sind. Neben den literaturbekannten positiven Eigenschaften der Magnesiumphosphate (gute Zytokompatibilität [39-40], hohe Löslichkeit [40-42] und mechanische Festigkeit [40, 42-43]) ist für zukünftige Forschungen vor allem das in dieser Arbeit untersuchte Degradationsverhalten von Interesse. Die in fast allen untersuchten Kombinationen aus Schichtmodifikation und Einlagerungsmedium auftretenden Phasenumwandlungen weisen auf durch die physiologische Umgebung hervorgerufene Resorptionsprozesse hin, die wiederum *in vivo* die Osteointegration des Implantats unterstützen könnten.

Ein weiterer Aspekt zukünftiger Untersuchungen ist die mögliche Beladung der biokompatiblen Schichten mit bioaktiven Substanzen (antibakterielle oder osteointegrative Wirkstoffe sowie Metallionen zur Unterstützung bzw. Steuerung biologischer Prozesse im implantatnahen Bereich). Hier könnten die unterschiedlichen Degradationsmechanismen der verschiedenen untersuchten Magnesiumphosphat-Modifikationen die Grundlage für kontrollierte und maßgeschneiderte Freisetzungskinetiken liefern.



## 7 Literaturverzeichnis

1. Schwenzer, N. and M. Ehrenfeld, *Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde*. 3 ed. 3. Zahnärztliche Chirurgie. Vol. 3. 2000, Stuttgart: Georg Thieme Verlag Stuttgart/New York.
2. Jones, F.H., *Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials*. Surface Science Reports, 2001. **42**(3-5): p. 75-205.
3. Branemark, P.I., et al., *Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies*. Scand J Plast Reconstr Surg, 1969. **3**(2): p. 81-100.
4. Williams, D.F., *Titanium as a metal for implantation. Part 1: physical properties*. J Med Eng Technol, 1977. **1**(4): p. 195-8, 202 contd.
5. Williams, D.F., *Titanium as a metal for implantation. Part 2: biological properties and clinical applications*. J Med Eng Technol, 1977. **1**(5): p. 266-70.
6. Albrektsson, T., et al., *Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man*. Acta Orthop Scand, 1981. **52**(2): p. 155-70.
7. Boyan, B.D., et al., *Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response*. Biomaterials, 1996. **17**(2): p. 137-46.
8. Hartwig, C.H., et al., [*Osseointegration of titanium test bodies of different surface properties in metaphyseal bone sites of the dog--a biomechanical and histological analysis*]. Biomed Tech (Berl), 1995. **40**(4): p. 99-105.
9. Boby, J.D., et al., *The effect of porous surface configuration on the tensile strength of fixation of implants by bone ingrowth*. Clin Orthop Relat Res, 1980(149): p. 291-8.
10. Gotfredsen, K., et al., *Anchorage of TiO<sub>2</sub>-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits*. J Biomed Mater Res, 1995. **29**(10): p. 1223-31.
11. Buser, D., et al., *Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs*. J Biomed Mater Res, 1991. **25**(7): p. 889-902.
12. Wennerberg, A., T. Albrektsson, and J. Lausmaa, *Torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25- and 75-microns-sized particles of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*. J Biomed Mater Res, 1996. **30**(2): p. 251-60.
13. Lee, B.H., et al., *In vivo behavior and mechanical stability of surface-modified titanium implants by plasma spray coating and chemical treatments*. J Biomed Mater Res A, 2004. **69**(2): p. 279-85.
14. Suchanek, W. and M. Yoshimura, *Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants*. J Mater Res, 1998. **13**: p. 94-117.
15. de Groot, K., J.G. Wolke, and J.A. Jansen, *Calcium phosphate coatings for medical implants*. Proc Inst Mech Eng H, 1998. **212**(2): p. 137-47.

16. Whitehead, R.Y., W.R. Lacefield, and L.C. Lucas, *Structure and integrity of a plasma sprayed hydroxylapatite coating on titanium*. J Biomed Mater Res, 1993. **27**(12): p. 1501-7.
17. Lemons, J.E., *Hydroxyapatite coatings*. Clin Orthop Relat Res, 1988(235): p. 220-3.
18. Klein, C.P., et al., *Features of calcium phosphate plasma-sprayed coatings: an in vitro study*. J Biomed Mater Res, 1994. **28**(8): p. 961-7.
19. Caulier, H., et al., *The effect of Ca-P plasma-sprayed coatings on the initial bone healing of oral implants: an experimental study in the goat*. J Biomed Mater Res, 1997. **34**(1): p. 121-8.
20. Massaro, C., et al., *Surface and biological evaluation of hydroxyapatite-based coatings on titanium deposited by different techniques*. J Biomed Mater Res, 2001. **58**(6): p. 651-7.
21. Peng, P., et al., *Thin calcium phosphate coatings on titanium by electrochemical deposition in modified simulated body fluid*. J Biomed Mater Res A, 2006. **76**(2): p. 347-55.
22. Ellies, L.G., D.G. Nelson, and J.D. Featherstone, *Crystallographic changes in calcium phosphates during plasma-spraying*. Biomaterials, 1992. **13**(5): p. 313-6.
23. Tong, W., J. Chen, and X. Zhang, *Amorphization and recrystallization during plasma spraying of hydroxyapatite*. Biomaterials, 1995. **16**(11): p. 829-32.
24. Koch, B., J.G. Wolke, and K. de Groot, *X-ray diffraction studies on plasma-sprayed calcium phosphate-coated implants*. J Biomed Mater Res, 1990. **24**(6): p. 655-67.
25. LeGeros, R.Z., *Calcium phosphates in oral biology and medicine*. Monogr Oral Sci, 1991. **15**: p. 1-201.
26. LeGeros, R.Z., *Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics*. Clin Mater, 1993. **14**(1): p. 65-88.
27. Bloebaum, R.D., et al., *Analysis of particles in acetabular components from patients with osteolysis*. Clin Orthop Relat Res, 1997(338): p. 109-18.
28. Capello, W.N., et al., *Hydroxyapatite in total hip arthroplasty. Clinical results and critical issues*. Clin Orthop Relat Res, 1998(355): p. 200-11.
29. Dhert, W.J., et al., *A mechanical investigation of fluorapatite, magnesiumwhitlockite, and hydroxylapatite plasma-sprayed coatings in goats*. J Biomed Mater Res, 1991. **25**(10): p. 1183-200.
30. Redepenning, J. and J.P. Mclsaac, *Electrocrystallization of brushite coatings on prosthetic alloys*. Chemistry of Materials, 1990. **2**(6): p. 625-627.
31. Shirkhazadeh, M., *Bioactive calcium phosphate coatings prepared by electrodeposition*. Journal of Materials Science Letters, 1991. **10**: p. 1415-1417.
32. Redepenning, J., et al., *Characterization of electrolytically prepared brushite and hydroxyapatite coatings on orthopedic alloys*. J Biomed Mater Res, 1996. **30**(3): p. 287-94.

33. Kumar, M., H. Dasarathy, and C. Riley, *Electrodeposition of brushite coatings and their transformation to hydroxyapatite in aqueous solutions*. J Biomed Mater Res, 1999. **45**(4): p. 302-10.
34. Ban, S. and S. Maruno, *Hydrothermal-electrochemical deposition of hydroxyapatite*. J Biomed Mater Res, 1998. **42**(3): p. 387-95.
35. Doi, Y., et al., *Osteoclastic responses to various calcium phosphates in cell cultures*. J Biomed Mater Res, 1999. **47**(3): p. 424-33.
36. Kawashita, M., et al., *Apatite-forming ability of carboxyl group-containing polymer gels in a simulated body fluid*. Biomaterials, 2003. **24**(14): p. 2477-84.
37. Ishizawa, H. and M. Ogino, *Thin hydroxyapatite layers formed on porous titanium using electrochemical and hydrothermal reaction*. Journal of Materials Science, 1996. **31**(23): p. 6279-6284.
38. Shirkhazadeh, M., *Direct formation of nanophase hydroxyapatite on cathodically polarized electrodes*. J Mater Sci Mater Med, 1998. **9**(2): p. 67-72.
39. Yu, Y., et al., *Evaluation of inherent toxicology and biocompatibility of magnesium phosphate bone cement*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2010. **76**(2): p. 496-504.
40. Ewald, A., et al., *Effect of cold-setting calcium- and magnesium phosphate matrices on protein expression in osteoblastic cells*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2010.
41. Grossardt, C., et al., *Passive and active in vitro resorption of calcium and magnesium phosphate cements by osteoclastic cells*. Tissue Eng Part A, 2010. **16**(12): p. 3687-95.
42. Driessens, F.C.M., et al., *Calcium phosphates as fillers in struvite cements*. Bioceramics, Vol 17, 2005. **284-286**: p. 161-164.
43. Vorndran, E., et al., *Formation and properties of magnesium-ammonium-phosphate hexahydrate biocements in the Ca-Mg-PO<sub>4</sub> system*. J Mater Sci Mater Med, 2011. **22**(3): p. 429-36.
44. Moseke, C., W. Braun, and A. Ewald, *Electrochemically Deposited Ca(OH)<sub>2</sub> Coatings as a Bactericidal and Osteointegrative Modification of Ti Implants*. Advanced Engineering Materials, 2009. **11**(3): p. B1-B6.
45. Eichner, K. and H.F. Kappert, *Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung*. Band 1, Grundlagen und Verarbeitung. Vol. Band 1. 2005: Thieme. 119-172.
46. Rau, G. and R. Ströbel, *Die Metalle in der Zahntechnik*. Vol. 18. 1999, München: Verlag Neuer Merkur GmbH.
47. Steinemann, S.G., *Titanium--the material of choice?* Periodontol 2000, 1998. **17**: p. 7-21.
48. Keller, J.C., et al., *Characterizations of titanium implant surfaces. III*. J Biomed Mater Res, 1994. **28**(8): p. 939-46.
49. Han, C.-H., et al., *Quantitative and qualitative investigations of surface enlarged titanium and titanium alloy implants*. Clinical Oral Implants Research, 1998. **9**(1): p. 1-10.
50. Wagner, W. and A.H. Valentin, *Morphometrischer Vergleich der Knochenregeneration an Titan und einer vanadiumhaltigen und vanadiumfreien Titanlegierung*. Z Zahnärztl Implantol, 1987. **3**(48).

51. Jansson, E.T., *Aluminum exposure and Alzheimer's disease*. J Alzheimers Dis, 2001. **3**(6): p. 541-549.
52. Lugowski, S.J., et al., *Release of metal ions from dental implant materials in vivo: determination of Al, Co, Cr, Mo, Ni, V, and Ti in organ tissue*. J Biomed Mater Res, 1991. **25**(12): p. 1443-58.
53. Rae, T., *The toxicity of metals used in orthopaedic prostheses. An experimental study using cultured human synovial fibroblasts*. J Bone Joint Surg Br, 1981. **63-B**(3): p. 435-40.
54. Lee, B.H., et al., *Surface modification by alkali and heat treatments in titanium alloys*. J Biomed Mater Res, 2002. **61**(3): p. 466-73.
55. Lee, B.H., Y.D. Kim, and K.H. Lee, *XPS study of bioactive graded layer in Ti-In-Nb-Ta alloy prepared by alkali and heat treatments*. Biomaterials, 2003. **24**(13): p. 2257-66.
56. Natali, A.N., *Dental Biomechanics*. 6. Dental devices in titanium-based materials via casting route, ed. F. Bonollo, A.N. Natali, and P.G. Pavan. 2003, London: Taylor & Francis.
57. Duchna, H.W., et al., *[Prospective study of the significance of contact sensitization caused by metal implants]*. Zentralbl Chir, 1998. **123**(11): p. 1271-6.
58. Albrektsson, T. and C. Johansson, *Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration*. Eur Spine J, 2001. **10 Suppl 2**: p. S96-101.
59. TRIPPEL, S.B., et al., *Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons - Growth Factors as Therapeutic Agents\**. J Bone Joint Surg Am, 1996. **78**(8): p. 1272-86.
60. Albrektsson, T., *The healing of autologous bone grafts after varying degrees of surgical trauma. A microscopic and histochemical study in the rabbit*. J Bone Joint Surg Br, 1980. **62**(3): p. 403-10.
61. Albrektsson, T., *Principles of osseointegration*. Dental and maxillofacial implantology, ed. H. JA and W. K. 1995, London: Mosby-Wolfe.
62. Goldberg, V.M. and S. Stevenson, *Natural history of autografts and allografts*. Clin Orthop Relat Res, 1987(225): p. 7-16.
63. Young, R.W., *Nucleic acids, protein synthesis and bone*. Clin Orthop Relat Res, 1963. **26**: p. 147-60.
64. Frost, H.M., *The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part II*. Clin Orthop Relat Res, 1989(248): p. 294-309.
65. Frost, H.M., *The biology of fracture healing. An overview for clinicians. Part I*. Clin Orthop Relat Res, 1989(248): p. 283-93.
66. Wilson-Hench, J., *Osteoinduction*. Progress in biomedical engineering. Vol. 4., Definitions in biomaterials. 1987, Amsterdam: Elsevier.
67. Branemark, P.I., et al., *Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period*. Scand J Plast Reconstr Surg Suppl, 1977. **16**: p. 1-132.
68. Branemark, P.I., G.A. Zarb, and T. Albrektsson, *Tissue-Integrated Protheses*. Osseointegration in Clinical Dentistry. 1985, Chicago: Quintessence Publishing Co.
69. Schroeder, A., *[Coated hollow cylinder implants: previous experimental and clinical observations (personal report)]*. SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd, 1979. **89**(11): p. 1136-7.

70. Albrektsson, T., *On long-term maintenance of the osseointegrated response*. Aust Prosthodont J, 1993. **7 Suppl**: p. 15-24.
71. Moseke, C., *Biominalisation von Knochengewebe unter dem Einfluss von Metallionen - Modellsysteme und Kristallanalyse* -. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften im Fachbereich Physik an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, 2003: p. 1-217.
72. Schiebler, T.H., *Anatomie - Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie*. Vol. 9. 2005, Würzburg: Springer Berlin Heidelberg New York.
73. Pellegrino, E.D. and R.M. Biltz, *The composition of human bone in uremia. Observations on the reservoir functions of bone and demonstration of a labile fraction of bone carbonate*. Medicine (Baltimore), 1965. **44**(5): p. 397-418.
74. Pugliarello, M.C., et al., *Analysis of bone composition at the microscopic level*. Calcif Tissue Res, 1973. **12**(3): p. 209-16.
75. Quelch, K.J., et al., *Chemical composition of human bone*. Arch Oral Biol, 1983. **28**(8): p. 665-74.
76. Niemann, K.M. and P.M. Reymann, *Sialic acid content of cortical bone*. Biochem Med, 1974. **10**(2): p. 146-52.
77. Schroeder, H.E., *Orale Strukturbiologie*. Vol. 3. 1987, Stuttgart, New York: Thieme Verlag.
78. Kreutzig, T., *Kurzlehrbuch Biochemie*. Vol. 12. 2006, München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag. 343.
79. Dorozhkin, S.V. and M. Epple, *Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten*. Angewandte Chemie, 2002. **114**(17): p. 3260-3277.
80. Daculsi, G., J.M. Bouler, and R.Z. LeGeros, *Adaptive crystal formation in normal and pathological calcifications in synthetic calcium phosphate and related biomaterials*. Int Rev Cytol, 1997. **172**: p. 129-91.
81. Daculsi, G., et al., *Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics*. Calcif Tissue Int, 1990. **46**(1): p. 20-7.
82. LeGeros, R.Z., *Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification*. Z Kardiol, 2001. **90 Suppl 3**: p. 116-24.
83. Tracy, B.M. and R.H. Doremus, *Direct electron microscopy studies of the bone-hydroxylapatite interface*. J Biomed Mater Res, 1984. **18**(7): p. 719-26.
84. Wennerberg, A., et al., *A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses*. Clin Oral Implants Res, 1998. **9**(1): p. 11-9.
85. Cochran, D.L., et al., *Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible*. J Biomed Mater Res, 1998. **40**(1): p. 1-11.
86. Thull, R., *[Surface modifications to improve biocompatibility and mechanical properties of orthopedic implants]*. Orthopade, 2003. **32**(1): p. 51-9.

87. Groessner-Schreiber, B. and R.S. Tuan, *Enhanced extracellular matrix production and mineralization by osteoblasts cultured on titanium surfaces in vitro*. J Cell Sci, 1992. **101 ( Pt 1)**: p. 209-17.
88. Becker, W., et al., *A prospective multicenter clinical trial comparing one- and two-stage titanium screw-shaped fixtures with one-stage plasma-sprayed solid-screw fixtures*. Clin Implant Dent Relat Res, 2000. **2(3)**: p. 159-65.
89. Albrektsson, T. and A. Wennerberg, *The impact of oral implants - past and future, 1966-2042*. J Can Dent Assoc, 2005. **71(5)**: p. 327.
90. Wennerberg, A., et al., *A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies*. Clin Oral Implants Res, 1995. **6(1)**: p. 24-30.
91. Li, D., et al., *Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants*. J Biomed Mater Res, 2002. **60(2)**: p. 325-32.
92. Buser, D., et al., *Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface*. J Dent Res, 2004. **83(7)**: p. 529-33.
93. Buser, D., et al., *Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs*. J Biomed Mater Res, 1999. **45(2)**: p. 75-83.
94. Wennerberg, A., et al., *Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography*. Biomaterials, 1996. **17(1)**: p. 15-22.
95. Naji, A. and M.F. Harmand, *Cytocompatibility of two coating materials, amorphous alumina and silicon carbide, using human differentiated cell cultures*. Biomaterials, 1991. **12(7)**: p. 690-4.
96. Darvell, B.W., et al., *Contamination of titanium castings by aluminium oxide blasting*. J Dent, 1995. **23(5)**: p. 319-22.
97. Placko, H.E., et al., *Surface characterization of titanium-based implant materials*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000. **15(3)**: p. 355-63.
98. Orsini, G., et al., *Surface analysis of machined versus sandblasted and acid-etched titanium implants*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000. **15(6)**: p. 779-84.
99. Pourbaix, M., *Electrochemical corrosion of metallic biomaterials*. Biomaterials, 1984. **5(3)**: p. 122-34.
100. Ivanoff, C.J., et al., *Histologic evaluation of the bone integration of TiO<sub>2</sub> blasted and turned titanium microimplants in humans*. Clin Oral Implants Res, 2001. **12(2)**: p. 128-34.
101. Rasmusson, L., K.E. Kahnberg, and A. Tan, *Effects of implant design and surface on bone regeneration and implant stability: an experimental study in the dog mandible*. Clin Implant Dent Relat Res, 2001. **3(1)**: p. 2-8.
102. Rasmusson, L., J. Roos, and H. Bystedt, *A 10-year follow-up study of titanium dioxide-blasted implants*. Clin Implant Dent Relat Res, 2005. **7(1)**: p. 36-42.
103. Gotfredsen, K. and U. Karlsson, *A prospective 5-year study of fixed partial prostheses supported by implants with machined and TiO<sub>2</sub>-blasted surface*. J Prosthodont, 2001. **10(1)**: p. 2-7.

104. van Steenberghe, D., et al., *A prospective split-mouth comparative study of two screw-shaped self-tapping pure titanium implant systems*. Clin Oral Implants Res, 2000. **11**(3): p. 202-9.
105. Piattelli, M., et al., *Bone response to machined and resorbable blast material titanium implants: an experimental study in rabbits*. J Oral Implantol, 2002. **28**(1): p. 2-8.
106. Novaes, A.B., Jr., et al., *Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible*. Int J Oral Maxillofac Implants, 2002. **17**(3): p. 377-83.
107. Zinger, O., et al., *Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography*. Biomaterials, 2004. **25**(14): p. 2695-711.
108. Massaro, C., et al., *Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part I: chemical composition*. J Mater Sci Mater Med, 2002. **13**(6): p. 535-48.
109. Wong, M., et al., *Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone*. J Biomed Mater Res, 1995. **29**(12): p. 1567-75.
110. Klokkevold, P.R., et al., *Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit*. Clin Oral Implants Res, 1997. **8**(6): p. 442-7.
111. Cochran, D.L., et al., *The use of reduced healing times on ITI implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: early results from clinical trials on ITI SLA implants*. Clin Oral Implants Res, 2002. **13**(2): p. 144-53.
112. Trisi, P., C. Marcato, and M. Todisco, *Bone-to-implant apposition with machined and MTX microtextured implant surfaces in human sinus grafts*. Int J Periodontics Restorative Dent, 2003. **23**(5): p. 427-37.
113. Yokoyama, K., et al., *Fracture mechanisms of retrieved titanium screw thread in dental implant*. Biomaterials, 2002. **23**(12): p. 2459-65.
114. Yang, Y.Z., et al., *Preparation of graded porous titanium coatings on titanium implant materials by plasma spraying*. J Biomed Mater Res, 2000. **52**(2): p. 333-7.
115. Claes, L., P. Hutzschenreuter, and O. Pohler, *[The dependence of the removal torque of a leg screw a screw surface and implantation time (author's transl)]*. Arch Orthop Unfallchir, 1976. **85**(2): p. 155-9.
116. Roccuzzo, M., et al., *Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study*. Clin Oral Implants Res, 2001. **12**(6): p. 572-8.
117. Ong, J.L., D.L. Carnes, and K. Bessho, *Evaluation of titanium plasma-sprayed and plasma-sprayed hydroxyapatite implants in vivo*. Biomaterials, 2004. **25**(19): p. 4601-6.
118. Sul, Y.T., et al., *Oxidized implants and their influence on the bone response*. J Mater Sci Mater Med, 2001. **12**(10-12): p. 1025-31.
119. Sul, Y.T., et al., *Optimum surface properties of oxidized implants for reinforcement of osseointegration: surface chemistry, oxide thickness,*

- porosity, roughness, and crystal structure.* Int J Oral Maxillofac Implants, 2005. **20**(3): p. 349-59.
120. Xiropaidis, A.V., et al., *Bone-implant contact at calcium phosphate-coated and porous titanium oxide (TiUnite)-modified oral implants.* Clin Oral Implants Res, 2005. **16**(5): p. 532-9.
  121. Huang, Y.H., et al., *Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone.* Clin Oral Implants Res, 2005. **16**(1): p. 105-11.
  122. Sul, Y.T., et al., *Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants.* Biomaterials, 2002. **23**(8): p. 1809-17.
  123. Jungner, M., P. Lundqvist, and S. Lundgren, *Oxidized titanium implants (Nobel Biocare TiUnite) compared with turned titanium implants (Nobel Biocare mark III) with respect to implant failure in a group of consecutive patients treated with early functional loading and two-stage protocol.* Clin Oral Implants Res, 2005. **16**(3): p. 308-12.
  124. Sul, Y.T., E.S. Byon, and Y. Jeong, *Biomechanical measurements of calcium-incorporated oxidized implants in rabbit bone: effect of calcium surface chemistry of a novel implant.* Clin Implant Dent Relat Res, 2004. **6**(2): p. 101-10.
  125. Sul, Y.T., C.B. Johansson, and T. Albrektsson, *Oxidized titanium screws coated with calcium ions and their performance in rabbit bone.* Int J Oral Maxillofac Implants, 2002. **17**(5): p. 625-34.
  126. Sul, Y.T., et al., *Bone reactions to oxidized titanium implants with electrochemical anion sulphuric acid and phosphoric acid incorporation.* Clin Implant Dent Relat Res, 2002. **4**(2): p. 78-87.
  127. van Blitterswijk, C.A., et al., *Bioreactions at the tissue/hydroxyapatite interface.* Biomaterials, 1985. **6**(4): p. 243-51.
  128. Jarcho, M., *Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics.* Clin Orthop Relat Res, 1981(157): p. 259-78.
  129. Filiaggi, M.J., N.A. Coombs, and R.M. Pilliar, *Characterization of the interface in the plasma-sprayed HA coating/Ti-6Al-4V implant system.* J Biomed Mater Res, 1991. **25**(10): p. 1211-29.
  130. Palka, V., E. Postrkova, and H.K. Koerten, *Some characteristics of hydroxylapatite powder particles after plasma spraying.* Biomaterials, 1998. **19**(19): p. 1763-72.
  131. Tranquilli, P.L., et al., *Evaluation of different preparations of plasma-spray hydroxyapatite coating on titanium alloy and duplex stainless steel in the rabbit.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1994. **5**(6): p. 345-349.
  132. Geesink, R.G., K. de Groot, and C.P. Klein, *Chemical implant fixation using hydroxyl-apatite coatings. The development of a human total hip prosthesis for chemical fixation to bone using hydroxyl-apatite coatings on titanium substrates.* Clin Orthop Relat Res, 1987(225): p. 147-70.
  133. Lemons, J.E., *Bioceramics. Is there a difference?* Clin Orthop Relat Res, 1990(261): p. 153-8.
  134. Lacefield, W.R., *Hydroxyapatite coatings.* Ann N Y Acad Sci, 1988. **523**: p. 72-80.



135. Ducheyne, P., *Bioceramics: material characteristics versus in vivo behavior*. J Biomed Mater Res, 1987. **21**(A2 Suppl): p. 219-36.
136. Giavaresi, G., et al., *Mechanical and histomorphometric evaluations of titanium implants with different surface treatments inserted in sheep cortical bone*. Biomaterials, 2003. **24**(9): p. 1583-94.
137. Lee, J.J., L. Rouhfar, and O.R. Beirne, *Survival of hydroxyapatite-coated implants: a meta-analytic review*. J Oral Maxillofac Surg, 2000. **58**(12): p. 1372-9; discussion 1379-80.
138. Rueger, J.M., *[Bone substitution materials. Current status and prospects]*. Orthopade, 1998. **27**(2): p. 72-9.
139. Rueger, J.M., W. Linhart, and D. Sommerfeldt, *[Biologic reactions to calcium phosphate ceramic implantations. Results of animal experiments]*. Orthopade, 1998. **27**(2): p. 89-95.
140. Stupp, S.I. and P.V. Braun, *Molecular manipulation of microstructures: biomaterials, ceramics, and semiconductors*. Science, 1997. **277**(5330): p. 1242-8.
141. Stupp, S.I. and G.W. Ciegler, *Organoapatites: materials for artificial bone. I. Synthesis and microstructure*. J Biomed Mater Res, 1992. **26**(2): p. 169-83.
142. Liu, D.M., *Fabrication of hydroxyapatite ceramic with controlled porosity*. J Mater Sci Mater Med, 1997. **8**(4): p. 227-32.
143. Constantz, B.R., et al., *Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone*. Science, 1995. **267**(5205): p. 1796-9.
144. Bangert, K. (2005) *Herstellung und Charakterisierung von Calciumorthophosphaten für die Anwendung als Knochenersatzwerkstoffe*. Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.
145. Koutsoukos, P., et al., *Crystallization of calcium phosphates. A constant composition study*. Journal of the American Chemical Society, 1980. **102**(5): p. 1553-1557.
146. Otsuka, M., et al., *Particle size effect of metastable calcium phosphates on crushing strength of self-setting bioactive calcium phosphate cement*. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1993. **41**(11): p. 2055-7.
147. Hamanishi, C., et al., *Self-setting, bioactive, and biodegradable TTCP-DCPD apatite cement*. J Biomed Mater Res, 1996. **32**(3): p. 383-9.
148. Fernandez, E., et al., *Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: solution chemistry*. J Mater Sci Mater Med, 1999. **10**(3): p. 169-76.
149. Fernandez, E., et al., *Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part II: precipitate formation during setting reactions*. J Mater Sci Mater Med, 1999. **10**(3): p. 177-83.
150. Moseke, C. and U. Gbureck, *Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications*. Acta Biomater, 2010. **6**(10): p. 3815-23.
151. Sailer, H.F. and F.E. Weber, *[Bone substitutes]*. Mund Kiefer Gesichtschir, 2000. **4 Suppl 1**: p. S384-91.

152. Reedy, B.K., et al., *Properties of coralline hydroxyapatite and expanded polytetrafluoroethylene membrane in the immature craniofacial skeleton*. *Plast Reconstr Surg*, 1999. **103**(1): p. 20-6.
153. Kurashina, K., et al., *In vivo study of calcium phosphate cements: implantation of an alpha-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste*. *Biomaterials*, 1997. **18**(7): p. 539-43.
154. Takagi, S., L.C. Chow, and K. Ishikawa, *Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements*. *Biomaterials*, 1998. **19**(17): p. 1593-9.
155. Hesse, A. and D. Heimbach, *Causes of phosphate stone formation and the importance of metaphylaxis by urinary acidification: a review*. *World J Urol*, 1999. **17**(5): p. 308-15.
156. Mirtchi, A.A., J. Lemaitre, and E. Munting, *Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the properties of the beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements*. *Biomaterials*, 1989. **10**(9): p. 634-8.
157. Mirtchi, A.A., J. Lemaitre, and N. Terao, *Calcium phosphate cements: study of the beta-tricalcium phosphate--monocalcium phosphate system*. *Biomaterials*, 1989. **10**(7): p. 475-80.
158. Daculsi, G., *Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute*. *Biomaterials*, 1998. **19**(16): p. 1473-8.
159. Daculsi, G., et al., *Biphasic calcium phosphate/hydrosoluble polymer composites: a new concept for bone and dental substitution biomaterials*. *Bone*, 1999. **25**(2 Suppl): p. 59S-61S.
160. Hollinger, J.O., et al., *Role of bone substitutes*. *Clin Orthop Relat Res*, 1996(324): p. 55-65.
161. Fukase, Y., et al., *Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cements*. *J Dent Res*, 1990. **69**(12): p. 1852-6.
162. Baenkler, H.-W.G., H.; Hahn, J.-M.; Hinterseer, M.; Knez, A.; Lafrenz, M.; Möhlig, M.; Pfeiffer, A.F.H.; Schmidt, H.H.-J.; Schmidt, M.; Spranger, J.; Witzens-Harig, M.; Zidek, W., *Kurzlehrbuch Innere Medizin. Nephrologie*, ed. W. Zidek. 2007, Stuttgart: Thieme.
163. McLean, R.J., et al., *A simple technique for studying struvite crystal growth in vitro*. *Urol Res*, 1990. **18**(1): p. 39-43.
164. Grantham, M. and B. Richmond, *Unusual facet cyst containing struvite and hydroxyapatite*. *Skeletal Radiol*, 2001. **30**(1): p. 57-9.
165. Doyle, J.D. and S.A. Parsons, *Struvite formation, control and recovery*. *Water Research*, 2002. **36**(16): p. 3925-3940.
166. Ohlinger, K.N., T.M. Young, and E.D. Schroeder, *Predicting struvite formation in digestion*. *Water Research*, 1998. **32**(12): p. 3607-3614.
167. Bhuiyan, M.I., D.S. Mavinic, and F.A. Koch, *Thermal decomposition of struvite and its phase transition*. *Chemosphere*, 2008. **70**(8): p. 1347-56.
168. Stratful, I., M.D. Scrimshaw, and J.N. Lester, *Conditions influencing the precipitation of magnesium ammonium phosphate*. *Water Res*, 2001. **35**(17): p. 4191-9.

169. Bridger, G.L., R.W. Starostka, and M.L. Salutsky, *Micronutrient Sources - Metal Ammonium Phosphates as Fertilizers*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1962. **10**(3): p. 181-&.
170. Eichner, K. and H.F. Kappert, *Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung*. Einbettmassen ed. Band 1, Grundlagen und Verarbeitung. Vol. Band 1. 2005: Thieme. 34-45.
171. Seehra, S.S., S. Gupta, and S. Kumar, *Rapid setting magnesium phosphate cement for quick repair of concrete pavements — characterisation and durability aspects*. Cement and Concrete Research, 1993. **23**(2): p. 254-266.
172. Yang, Q., S. Zhang, and X. Wu, *Deicer-scaling resistance of phosphate cement-based binder for rapid repair of concrete*. Cement and Concrete Research, 2002. **32**(1): p. 165-168.
173. Singh, D., et al., *Chemically bonded phosphate ceramics for low-level mixed-waste stabilization*. Journal of Environmental Science and Health Part a-Environmental Science and Engineering & Toxic and Hazardous Substance Control, 1997. **32**(2): p. 527-541.
174. Wagh, A.S., et al., *Stabilization of Rocky Flats Pu-contaminated ash within chemically bonded phosphate ceramics*. Journal of Nuclear Materials, 1999. **265**(3): p. 295-307.
175. Römpp, *Thieme Chemistry, Römpp Online-Version 3.5*. 2009, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
176. Jennissen, H.P., *Verträglichkeit groß geschrieben; Neue Wege zur Bioverträglichkeit von Materialien durch gezielte Oberflächenmodifikation*. Essener Unikate, 2000: p. 78-93.
177. Kokubo, T. and H. Takadama, *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?* Biomaterials, 2006. **27**(15): p. 2907-2915.
178. Lee, J.T.Y., et al., *Cell culture medium as an alternative to conventional simulated body fluid*. Acta Biomaterialia, 2011. **7**(6): p. 2615-2622.
179. Mandel, S. and A.C. Tas, *Brushite (CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) to octacalcium phosphate (Ca<sub>8</sub>(HPO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) transformation in DMEM solutions at 36.5°C*. Materials Science and Engineering: C, 2010. **30**(2): p. 245-254.
180. Filies, O., *Röntgenreflektometrie zur Analyse von Dünnschichtsystemen-Charakterisierung ultradünner Schichten*. Dissertation, Institut für Kernphysik, Münster, 1997. **Band I**.
181. Ben Moussa, S., et al., *Influence of temperature on struvite precipitation by CO(2)-deagassing method*. Crystal Research and Technology, 2011. **46**(3): p. 255-260.
182. Buchanan, J.R., C.R. Mote, and R.B. Robinson, *Struvite Control by Chemical Treatment*. Transactions of the Asae, 1994. **37**(4): p. 1301-1308.
183. Buchanan, J.R., C.R. Mote, and R.B. Robinson, *Thermodynamics of Struvite Formation*. Transactions of the Asae, 1994. **37**(2): p. 617-621.
184. Booram, C.V., R.J. Smith, and T.E. Hazen, *Crystalline Phosphate Precipitation from Anaerobic Animal Waste Treatment Lagoon Liquors*. Transactions of the Asae, 1975. **18**(2): p. 340-343.

185. Aage, H.K., et al., *The solubility of struvite*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 1997. **223**(1-2): p. 213-215.
186. Whitaker, A. and J.W. Jeffery, *Crystal Structure of Struvite,  $Mg_3H_4PO_4 \cdot 6H_2O$* . Acta Crystallographica Section B-Structural Crystallography and Crystal Chemistry, 1970. **B 26**(Oct15): p. 1429-&.
187. Suzuki, T., et al., *Study of the structure of struvite stones with scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray microanalysis*. Urol Int, 1997. **58**(2): p. 88-92.
188. Massey, M.S., et al., *Macroscopic and microscopic variation in recovered magnesium phosphate materials: Implications for phosphorus removal processes and product re-use*. Bioresource Technology, 2010. **101**(3): p. 877-885.
189. Abbona, F., H.E.L. Madsen, and R. Boistelle, *Crystallization of 2 Magnesium Phosphates, Struvite and Newberyite - Effect of Ph and Concentration*. Journal of Crystal Growth, 1982. **57**(1): p. 6-14.
190. Sarkar, A.K., *Hydration Dehydration Characteristics of Struvite and Dittmarite Pertaining to Magnesium Ammonium Phosphate Cement Systems*. Journal of Materials Science, 1991. **26**(9): p. 2514-2518.
191. Taylor, A.W., E.L. Gurney, and A.W. Frazier, *Solubility Products of Magnesium Ammonium and Magnesium Potassium Phosphates*. Transactions of the Faraday Society, 1963. **59**(487): p. 1580-&.
192. RRUFF, *RRUFF Project, Mineral Data Publishing*. 2001-2005, Department of Geosciences, University of Arizona, USA.
193. Ibasco, S., *Magnesium Phosphate Precipitates and Coatings for Biomedical Applications*, in *Faculty of Dentistry*. 2009, McGill University: Montreal.
194. Ohgushi, H. and A.I. Caplan, *Stem cell technology and bioceramics: from cell to gene engineering*. J Biomed Mater Res, 1999. **48**(6): p. 913-27.
195. Ijiri, S., et al., *Ectopic bone induction in porous apatite-wollastonite-containing glass ceramic combined with bone morphogenetic protein*. J Biomed Mater Res, 1997. **35**(4): p. 421-32.
196. Kuboki, Y., et al., *BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis*. J Biomed Mater Res, 1998. **39**(2): p. 190-9.
197. Xiao, X.F., R.F. Liu, and Y.Z. Zheng, *Characterization of hydroxyapatite/titania composite coatings codeposited by a hydrothermal-electrochemical method on titanium*. Surface and Coatings Technology, 2006. **200**(14-15): p. 4406-4413.
198. Chen, J.-S., H.-Y. Juang, and M.-H. Hon, *Calcium phosphate coating on titanium substrate by a modified electrocrystallization process*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1998. **9**(5): p. 297-300.

## Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn **Prof. Dr. Uwe Gbureck** für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas und die Ermöglichung Räumlichkeiten, Geräte und Materialien der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde (FMZ) der Universität Würzburg jederzeit nutzen zu dürfen.

Meinen ganz besonderen Dank möchte ich an Herrn **Dr. Claus Moseke** aussprechen, der mich mit seiner stets sehr hilfreichen Betreuung bei der Realisierung dieser Dissertation maximal unterstützt hat. Angefangen bei den ersten Versuchsvorbereitungen bis hin zu den letzten Korrekturen des Schriftstücks hat er mich auf kollegiale und freundschaftliche Art betreut.

Herrn **Prof. Dr. Dr. Alexander Kübler** danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Vielen Dank auch an alle **Mitarbeiter der FMZ**, die mir mit ihrer Hilfe den Aufbau, die Durchführung und die Auswertung der Versuchsreihen ermöglicht haben.

Meinem Mitdoktoranden und guten Freund **Dr. Matthias Hipp** danke ich für die Motivation, für den Zusammenhalt und für den guten Humor, den er mir über die gesamte Zeit unserer gemeinsamen Forschung entgegengebracht hat.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern **Frau Leonore & Herrn Dr. Walter Wenninger** für ihre uneingeschränkte, großzügige und liebevolle Unterstützung über meinen gesamten Bildungsweg hinweg bis hin zum heutigen Tage. Ohne die regelmäßigen Erinnerungshilfen meines Vaters hätte ich es nie geschafft... ;-)

Zu guter Letzt danke ich meiner Frau **Annika Wenninger** für ihre Bereitschaft, selbst mitten in der Nacht Korrektur zu lesen und mir stets neue Motivation zu schenken.

# Lebenslauf

## ***Persönliche Daten***

---

Name: Florian Wenninger  
Adresse: Brandstraße 41  
90482 Nürnberg  
Geburtsort: Leverkusen am 14.08.1980

## ***Schulbildung***

---

1986-1987: Pinewood School, Elementary School, Elkhart, IN, USA  
1987-1991: Heinrich-Lübke Schule, Grundschule, Leverkusen, Deutschland  
1991-1993: Ophovener Gymnasium, Leverkusen  
1993-1997: Werner Heisenberg Gymnasium, Leverkusen  
1997-1998: Milton Academy, High School, Boston, MA, USA  
1998-1999: Werner Heisenberg Gymnasium, Leverkusen  
1999-2001: Landrat-Lucas-Schule, Leverkusen  
18.06.2001: Hochschulabschluss an der Landrat-Lucas-Schule, Leverkusen

## ***Studium***

---

2002-2004: Student der Gesundheitsökonomie an der Universität Bayreuth  
2004-2009: Student der Zahnmedizin an der Universität Würzburg  
12.11.2009: Abschluss des Staatsexamens Zahnmedizin an der Universität Würzburg  
2009-2010: Promotionsstudent in der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde der Universität Würzburg

## ***Beruf***

---

2010-2013: Vorbereitungsassistent in der Praxis Dr. Enssle, Nürnberg  
2013: Angestellter Zahnarzt in der Praxis Dr. Alius, Nürnberg

*Nürnberg, den 27. März 2013*