

## Zusammenfassung

Lediglich aus den USA ist für das Jahr 1998 eine Abschätzung der Schadenssumme aus infektiös bedingten Ruckrufaktionen bekannt, 30 Mrd. US-\$. Ein Viertel dieser Kosten resultiert aus einer mangelnden Hygiene und Anlagenreinigung. Beide, der Lebensmittelproduzent und der Anlagenbauer, werden hiervon meistens überrascht, was in mittelständischen Unternehmen zu erheblichen Umsatzverlusten führen kann.

Die Minimierung der Adhäsionsrate an den Oberflächen einer lebensmitteltechnischen Anlage ist für die Gewährleistung der Produktqualität wesentlich. Diese Garantie kann der Produzent bzw. Betreiber einer steriltechnischen Anlage nur dann übernehmen, wenn ihm eine Materialkenngröße zur Verfügung steht, die die Zusammenhänge zwischen der Rauheit, der Oberflächenenergie und der Adhäsion beschreibt. Der aktuell verwendete Mittenrauhwert  $R_a$  erfüllt diese Forderungen nicht. Die Ableitung einer diesbezüglichen Materialkenngröße ist somit von essentieller Bedeutung.

Bekannterweise hängt das Ergebnis einer topographischen Messung vom verwendeten Meßverfahren und der Auswertung der Rohdaten ab. Eine Beurteilung der einzelnen Methoden und deren fertigungstechnische Aussagekraft ist grundlegend für die Beurteilung steriltechnischer Oberflächen.

Die Aussagen werden wesentlich von der Art und Weise der Experimente zur Bestimmung der Haftungswahrscheinlichkeit beeinflusst. Bei der Betrachtung einzelner Zellen bieten sich Methoden zur Bestimmung der Haftkräfte an, in denen mit einer extern aufgebracht Kraft die Meßobjekte von der Oberfläche abgelöst werden. Diese Vorgehensweise ist in der Steriltechnik relevant, da man bereits eine Minimierung der anfänglichen Adhäsionszustände anstrebt.

Mittels umfangreicher Simulationen wurde ein Kennwert als Haftungswahrscheinlichkeit abgeleitet, der sich aus zwei Teilwahrscheinlichkeiten zusammensetzt. Diese charakterisieren einerseits über die topographieabhängige Adhäsionsfläche den Rauheitseinfluß und andererseits unter Einbeziehung eines Adhäsionsmodells den Einfluß der Oberflächenenergie. Unter Anwendung der an realen Oberflächen gemessenen Oberflächenenergien (Bundesanstalt für Materialforschung und -Prüfung in Berlin; BAM) konnte die Wirkung einer Veränderung der Oberflächenenergie, d.h. für unterschiedliche Materialien und Oberflächenzustände, auf die Reinigungsfähigkeit abgeschätzt werden. Darüber hinaus wurden an simulierten Oberflächen strukturabhängige Charakteristika analysiert. Typisch ist die Ausbildung eines mehr oder weniger ausgeprägten Minimums. Mit den Trennkraftmessungen des Lehrstuhles für Maschinen- und Apparatekunde (MAK) konnte die Tendenz dieses Optimums der Haftwahrscheinlichkeit bei gewissen  $R_a$ -Werten deutlich nachgewiesen werden.

Die Lage und die Breite dieses Optimums muß jedoch noch eingehender experimentell untersucht werden. Die Simulationen und experimentellen Untersuchungen zeigen aber, daß auf jeden Fall für verschiedene Materialkombinationen unterschiedliche Optima zu erwarten sind. Diese liegen in dem für die Lebensmitteltechnik interessanten Rauheitsbereich ( $R_a$ ) von 0,4 – 1,5  $\mu\text{m}$ .

Prinzipiell ist zu erwarten, daß

- für hochenergetische Oberflächen (Email) das Minimum weitaus enger gegenüber niedrigerenergetischen Oberflächen (Teflon) ist. Auf Grund ihrer Oberflächeneigenschaften tendieren Stähle zum Verhalten der Email.
- sehr spitze, kammartige Profile einfacher zu reinigen sind als langgezogene wellige (geringe Adhäsionsfläche).
- die viskoelastischen Eigenschaften des Biofilmes die Adhäsionsflächen und somit die Reinigbarkeit beeinflussen.

- ein Polieren auf immer kleinere  $R_a$ -Werte nicht zu empfehlen ist. Die Haftwahrscheinlichkeit, entsprechend die gemessenen Trennkraften, steigen wieder an.
- die bearbeitungsinduzierten Anisotropien und Oberflächendefekte einen wesentlichen Einfluss haben.

Die bisherigen Untersuchungen mit unterschiedlichen Topographien und Oberflächenenergien sowie die Trennkraftmessungen und Simulationen fixierten grundlegende Eckpunkte zur Ermittlung einer optimal reinigbaren Oberfläche. Mittels weiterer Untersuchungen, v.a. mit niedrig energetischen Oberflächen und höheren Rauheiten, soll ein Katalog von „guten“ und „schlechten“ Oberflächen zusammengestellt werden.

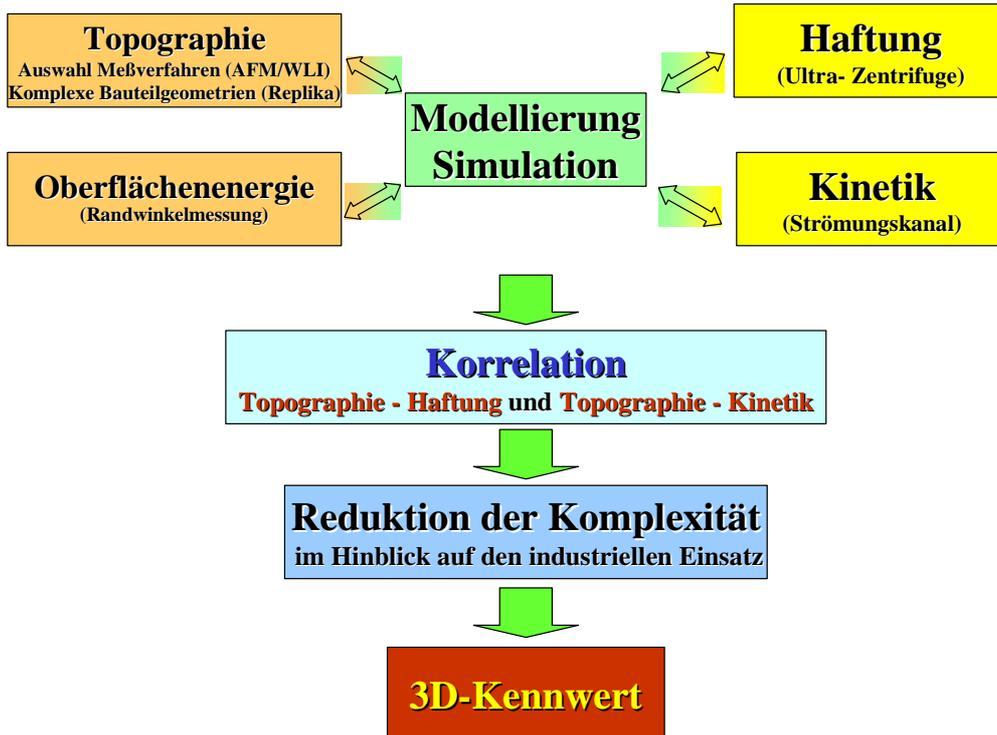
Ein spezifisches Problem für kmU's sind die ständig steigenden Anforderungen an die Verbesserung der Oberflächenqualität, u.a. infolge sich ständig veränderter Qualitätssicherungs- und Sicherheitskonzepte (z.B. HACCP) der Lebensmittelindustrie. Dieser Entwicklung können aus Kostengründen kmU's kaum folgen, so daß sie gegenüber Großunternehmen eindeutig im Nachteil sind.

Die Ergebnisse fanden unter Mitwirkung der BAM Eingang in die Standardisierungsdiskussion des VDI/VDE Fachausschuss 3.43 „Kalibrierverfahren und Normale“. Der Richtlinienentwurf für das kalibrierte Messen mit Rastersonden – Mikroskopen ist ab diesem Jahres (2003) verfügbar. Grundsätzlich können alle Unternehmen diese Richtlinie nutzen.

Die Forschungsergebnisse eröffnen kmU's die Chance, leicht zu reinigende Oberflächen mittels der Rauheit (Bearbeitung) und der Oberflächenenergie (Materialauswahl) zu gestalten. Desweiteren wurden die Grundlagen für eine Kenngröße geschaffen, die als ein Qualitätskriterium für steriltechnische Oberflächen gelten kann. Die kmU's können Garantien hinsichtlich Hygieneanforderungen an Oberflächen geben (z.B. nach Maschinenrichtlinie, Lebensmittelhygienerichtlinie, GMP-Richtlinie). Dies ist zum einen ein Wettbewerbsvorteil und hilft andererseits kostspielige, sogar produktverschlechternde Oberflächenbearbeitungen zu vermeiden. Die Ergebnisse tragen somit zur Kostensenkung und Verbesserung der Marktpositionen der kmU's bei.

### **„Das Ziel des Vorhabens wurde erreicht.“**

Die Aufgaben und die Verflechtung der beteiligten Partner ist im folgenden Bild dargestellt. Die Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin (BAM) und der Lehrstuhl für Maschinen- und Apparatekunde der TU München (MAK) gaben die gewonnenen Ergebnisse der Oberflächen und der Trennkraftuntersuchungen weiter an Prof. Schmidt (Unterauftrag BAM). Dieser fügt die Ergebnisse aus der Praxis mit den simulierten Ergebnissen zusammen, vergleicht diese und passt das Simulationsmodell an. Durch regelmäßige Treffen der Projektpartner war ein guter Informationsaustausch gewährleistet. Die aus den Simulationen gewonnenen Ergebnisse können helfen, die sehr zeitaufwändigen Praxisversuche auf die wesentlichen Punkte zu fixieren und zu reduzieren. Mit der Kombination von Simulation und Praxisversuchen kann den kmUs die Möglichkeit eingeräumt werden, schnell und einfach eine Oberfläche beurteilen zu können.



**B Oberflächen-topographische und oberflächen-energetische Erfassung steriltechnisch eingesetzter Oberflächen (Forschungsstelle 1, BAM)**

**B.1 Replikatechniken zur indirekten topographischen und topometrischen Erfassung der Oberfläche**

**B.1.1 Zielstellung**

Replikatechniken (Abdrucktechniken) ermöglichen eine zerstörungsfreie, indirekte Oberflächenprüfung an Bauteilen mit Innenwandungen, schwer zugänglichen Stellen sowie an großen, nicht demontierbaren Objekten. Im Mittelpunkt steht dabei die topographische und topometrische Erfassung von Makro- und Mikrogeometrien, Rauheiten sowie Oberflächendefekten. Es existieren verschiedene Verfahren für eine schnelle, kostengünstige und unter Labor- bzw. Industriebedingungen durchführbare Herstellung von Oberflächenabdrücken.

Bei allen Abdruckverfahren werden (x,y,z)- Koordinaten durch mechanische Transformation vom Original (Master) über den Abdruck (Negativ) auf die Kopie (Replika) übertragen. Die Auswahl der zur Verfügung stehenden Replikaverfahren (Tabelle 1) wird durch die Eigenschaften des Prüfobjektes und des Abdruckmaterials, die geforderte Auflösung (vertikal und lateral), die verwendete Oberflächenmesstechnik sowie durch äußere Randbedingungen bei der Präparation bestimmt.

**Tabelle 1:** Eigenschaften der Replikaverfahren

<b>Eigenschaften</b>	<b>Abformmassen Technovit 3040 KEM 40</b>	<b>Abformmasse Provil Novo Light</b>	<b>UV - Lack</b>	<b>Folien 35 µm 80 µm 130 µm</b>
<b>Material</b>	kalt-polymerisierende Kunststoffe auf Methacrylatbasis	Silikonkautschuk	lösemittelfreies, UV -härtendes Polymer/Acrylat Gemisch	Celluloseacetatfolie, in Aceton löslich
<b>Konsistenz vor Verarbeitung</b>	Zweikomponenten-System Pulver + Flüssigkeit	Zweikomponenten-System sehr zähflüssig	flüssiger Lack	Folie + Aceton
<b>Aushärtezeit</b>	bis 12 min	bis 8 min	ca. 5s	10 min
<b>Konsistenz nach Verarbeitung</b>	hart und unelastisch Enthaftungsprobleme	elastisch (gummiartig), kein Enthaftungsproblem	hart und unelastisch, Enthaftungsproblem	elastisch, liegt in Folienform vor
<b>Optische Eigenschaften</b>	teilweise transparent	nicht transparent	transparent	transparent
<b>Elektrische Eigenschaften</b>	nichtleitend	nichtleitend	nichtleitend	nichtleitend
<b>Vakuumkompatibel</b>	ja	nein	ja	ja
<b>Übertragung</b>	Welligkeit / Rauheit	Welligkeit / Rauheit	Welligkeit / Rauheit	Rauheit

Zur Bewertung der Übertragungsgüte, d.h. der vertikalen und lateralen Auflösung und einer oberflächentreuen Abbildung der (x,y,z)-Koordinaten, wurden ausgesuchte Abdrucktechniken an unterschiedlichen Referenz- bzw. Realoberflächen erprobt und im Zusammenhang mit der Validierung

der Messtechnik untersucht [1/2]. Dabei sind in einem einstufigen Abdruckverfahren jeweils Negative der Testoberflächen angefertigt worden, d.h. eine Vertiefung in der Originaloberfläche wird auf der Oberfläche des Abdruckes als Erhöhung dargestellt. In der Tabelle 1 sind die hier verwendeten Replikaverfahren mit den jeweiligen Eigenschaftsprofilen gegenüber gestellt.

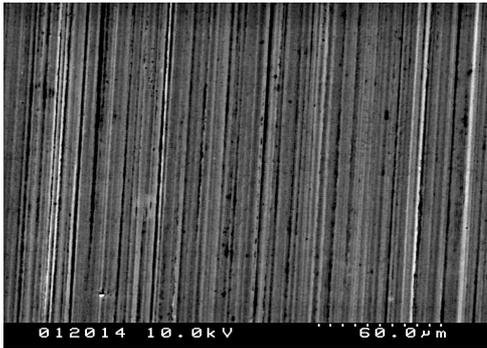
Bezüglich der verwendeten Messverfahren setzt dies voraus, dass diese in der Lage sind, auf Basis der Negativ-Rohdaten eine Invertierung vorzunehmen, um auf elektronischem Wege die Originaloberfläche darzustellen. Auch wenn dies im Einzelfall nicht unproblematisch ist, erübrigt sich ein weiterer Abdruckprozess. Die Validierung der erprobten Replikaverfahren bezieht sich sämtlich auf die im wesentlichen ungestörte, d.h. weitgehend homogene, isotrope und fehlerstellenfreie Oberfläche und die relevanten Materialien (Stahl 1.4404, Email und PTFE).

### ***B.1.2 Auswahl definierter Referenz- und Realoberflächen***

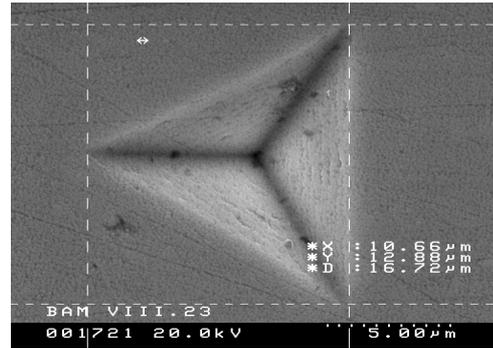
Um die Übertragungsqualität der einzelnen Replikaverfahren sowohl qualitativ als auch quantitativ zu bewerten, wurden Oberflächen mit bekannten, genau definierten Strukturen unterschiedlicher Ausprägung ausgewählt, die zuvor mittels Rasterelektronen-Mikroskopie (REM) abgebildet wurden. Insgesamt wurden sechs verschiedene Referenz - Topographien (Abb. 1 und 2) für diese Untersuchungen verwendet. Im einzelnen sind dies:

- **PTB Rauhnorm (fein und mittel):** ungestörte, parallele Bearbeitungsriefen definierter Rauheit: Standard mittel,  $R_a = (0,53 \pm 0,02) \mu\text{m}$ ; Standard fein,  $R_a = (0,142 \pm 0,004) \mu\text{m}$  als Referenz für die Rauheitskennwerte
- **Berkovich – Eindruck:** Mit Hilfe eines Berkovich – Diamanten (dreiseitige Pyramide) wurden fünf Eindrücke unterschiedlicher Tiefe in eine beschichtete Stahlprobe eingebracht. Damit standen definierte Geometrien zur Verfügung, mit denen u. a. die Bewertung des Einflusses der Kantensteilheit vorgenommen wurde. Die Kantenlängen der Eindrücke reichen von 12,8  $\mu\text{m}$  bis 1,45  $\mu\text{m}$ , die zugehörigen Tiefen liegen zwischen 1,65  $\mu\text{m}$  und 0,18  $\mu\text{m}$ .
- **VLSI – Standard:** eine Mikrostruktur, bestehend aus gleichmäßig angeordneten quadratischen Vertiefungen (Kantenlänge = 5  $\mu\text{m}$ , Pitch = 10  $\mu\text{m}$ , Tiefe = 180 nm), zur Bewertung des lateralen und vertikalen Auflösungsvermögens sowie des Einflusses von Stufen und Kanten
- **Email:** Emailoberfläche mit Kratzer: Kratzertiefe: ca. 13  $\mu\text{m}$ , Kratzerbreite: ca. 3  $\mu\text{m}$ . Mit Blick auf fehlerstellenbehaftete Oberflächen sollten Anforderungen, die bei Makrodefekten an das Replikaverfahren gestellt werden, untersucht werden.
- **Kupferfolie:** Eine galvanisch mikrostrukturierte Oberfläche mit Lotusgeometrie. Wellenlängen:  $\lambda_1$  ca. 15  $\mu\text{m}$ ,  $\lambda_2$  ca. 4  $\mu\text{m}$ . Hierbei handelt es sich um eine extrem komplexe Oberflächengeometrie, die höchste Anforderungen an das Replikaverfahren stellt.

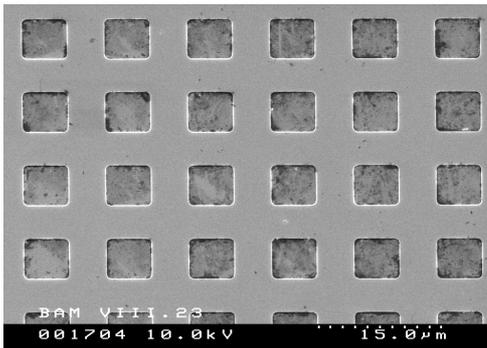
Die Auswahl der Referenzoberflächen erfolgte sowohl mit Blick auf die eingesetzten Replikaverfahren als auch hinsichtlich der Eignungsprüfung und Validierung der verwendeten Messtechnik unter industriellen Aspekten (Zeitfaktor, Kostenfaktor, Robustheit).



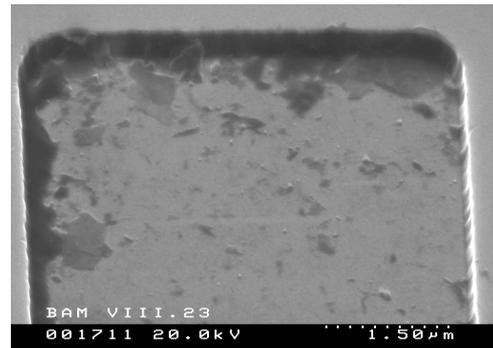
**Abb.1 a)** PTB Rauhnormal fein (REM-Aufnahme)



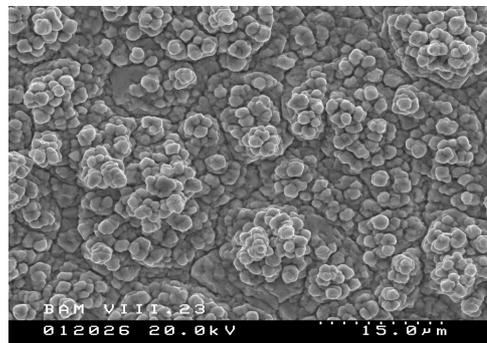
**b)** Berkovich-Eindruck (REM-Aufnahme)



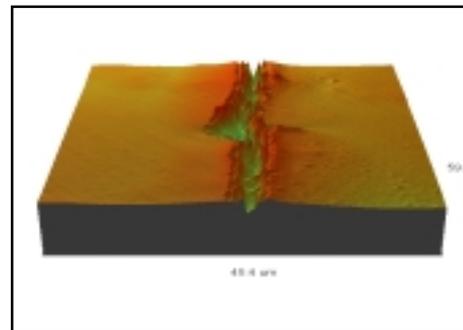
**Abb.1 c)** VLSI-Standard, Übersicht (REM-Aufnahme)



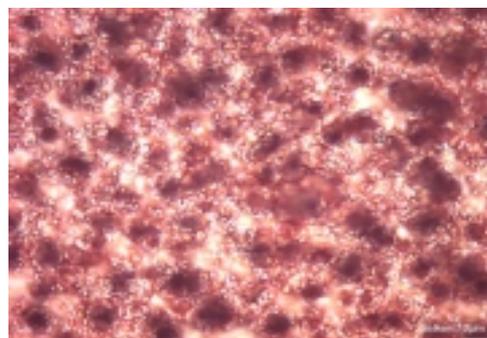
**d)** VLSI-Standard, Detail (REM-Aufnahme)



**Abb. 2: a)** Kupferfolie mit Lotus Geometrie (REM-Aufnahme)



**b)** Emailoberfläche mit Kratzer (WLIM-Aufnahme)



**Abb. 2: c)** Kupferfolie mit Lotus Geometrie (Lichtmikroskop, LIM)



**d)** Emailoberfläche mit Kratzer (Lichtmikroskop, LIM)

### B.1.3 Auswahl geeigneter Messverfahren

Um das Auflösungsvermögen und die Übertragungsgüte der Replikverfahren messtechnisch bewerten zu können, müssen topographische und topometrische Messsysteme ausgewählt werden, welche sowohl die Original-Oberflächen (Referenzoberflächen) als auch die angefertigten Oberflächenabdrucke gleichermaßen erfassen können. Voraussetzung dafür ist die Kenntnis der Eigenschaften von Original- und Abdruckoberflächen. Die in Tabelle 1 dargestellten Eigenschaften der Abdrucktechniken setzen hier der verwendbaren Messtechnik Grenzen.

Gerade bei Verwendung von Replikverfahren ist es unbedingt notwendig, flächenhaft und berührungslos erfassende 3D – Messverfahren einzusetzen, da sonst eine Beschädigung der weichen Abdruckmaterialien anzunehmen wäre. Des weiteren ist bei der qualitativen und quantitativen Bewertung von Oberflächen generell und bei Vergleichen zwischen einer Originaloberfläche und der Oberfläche ihres Abdruckes ein rein profilmessendes Verfahren (x, z)-Koordinaten nur in bedingtem Maße aussagefähig, da ein einzelner Linienscan wenig Aufschluss über den Zustand und die dreidimensionale Beschaffenheit einer Oberfläche gibt. Eventuelle Oberflächendefekte oder Mikrostrukturen werden in ihren Abmessungen (x,y,z) nicht vollständig oder nur zufällig erfasst. Auch ist ein Vergleich von Abdruck- und Originaloberfläche bei einem rein profilmessenden Verfahren bezüglich des Wiederfindens identischer Messorte auf der Oberfläche deutlich erschwert bzw. unmöglich. Kritische Punkte zur Erfassung der „wahren“ Topographie und Topometrie mit mechanischen und optischen Messverfahren sind hier zusammengefasst:

- Material der Probe (hart / weich, transparent / opaque / reflektierend)
- Topographie der Probe (Kontur, Welligkeit, Rauheit, Kanten, Poren, Spitzen, Fehlstellen)
- Topometrie der Probe (Größenordnung von  $R_a$  bzw.  $R_z$ , Aspektverhältnis)
- Art der Messsonde (Diamant / Cantilever Si bzw.  $Si_3N_4$  / Licht)
- Geometrie der Messsonde (Spitzenradius, Öffnungswinkel, Wellenlänge)
- Arbeitsabstand, Informationstiefe der Messsonde
- Wechselwirkungsmechanismus:
  - berührend: mechanischer Tastschnitt, AFM (contact –mode)
  - berührungslos: AFM ( non – contact – mode), WLI, CLSM, optischer Tastschnitt, LIMI
- komplexe Geometrien, mehrdimensionale Rauheit (Lotusgeometrie)
- Artefakte:
  - Oberflächenverunreinigung (Probe, Sonde)
  - Verhalten an Poren, Spitzen, Stufen, Flanken, Fehlstellen
  - Verhalten bei dünnen transparenten Deckschichten
  - Faltung von Proben- und Sondengeometrie
  - Anfahrriichtung der Sonde

Tabelle 2 enthält eine Übersicht etablierter Messverfahren und deren Abbildungseigenschaften bzw. Möglichkeiten zur Erfassung der Topographie und Topometrie von Oberflächen im allgemeinen. Neben den qualitativen und quantitativen Aspekten der Bewertbarkeit von Oberflächen wären für die Auswahl geeigneter Messverfahren folgende Gesichtspunkte von Interesse:

- Anschluss zum traditionellen Lichtmikroskop auf der Abbildungsseite
- Anschluss zum traditionellen mechanischen Tastschnitt bei der profilbasierten Rauheitsmessung
- schnelle 3D-Erfassung der Oberfläche unter industriellen Randbedingungen (Zeitfaktor, Kostenfaktor, Robustheit)
- Validierbarkeit (mittels REM auf der Abbildungsseite, mittels AFM bei der profilbasierten Rauheitsmessung)

**Tabelle 2:** Übersicht topographisch-topometrischer Messverfahren

Messverfahren	Abbildungseigenschaften
Lichtmikroskopie (LIMI)	2D – Abbildung (x,y), „semi“- quantitativ 3D – Abbildung (x,y,z): geringe Schärfentiefe bis 1000 –fache Vergrößerung Auflösung: lateral bis 0,5 µm
Raster –Elektronenmikroskopie (REM)	2D – Abbildung (x,y), „semi“- quantitativ 3D – Abbildung (x,y,z): hohe Schärfentiefe bis 30000 –fache Vergrößerung Auflösung lateral bis 1 nm
Mechanischer Tastschnitt	2D – Abbildung, quantitativer (x,z) Profilschnitt
Optischer Tastschnitt	2D – Abbildung, quantitativer (x,z) Profilschnitt
Konfokale – Laser – Raster –Mikroskopie (CLSM)	3D – Abbildung, (x,y) -Scan + (z) –Scan
Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM)	3D – Abbildung, (x,y) –Erfassung + (z) –Scan
Atom – Kraft – Mikroskopie (AFM)	3D – Abbildung, (x,y) –Scan + (z) -Erfassung

In Tabelle 3 sind die zur Bewertung der Übertragungsgüte der Replikaverfahren im speziellen herangezogenen Messverfahren zusammengestellt. Beim Einsatz des Rasterelektronenmikroskops zur Validierung von Replikaverfahren muss überdies berücksichtigt werden, dass die zu untersuchende Probe vakuumbeständig und zumindest ihre Oberfläche betreffend elektrisch leitfähig sein muss. Deshalb wurden nur solche Replikamaterialien ausgewählt, die dies im Prinzip sicherstellen. Eine zusätzliche metallische Beschichtung der Oberfläche ist aber insbesondere bei Kunststoffen unumgänglich.

**Tabelle 3:** Optische Messverfahren zur Bewertung der Übertragungsgüte von Replikatechniken

Auswahlkriterien u. Randbedingungen	Verfahren zur Oberflächencharakterisierung
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eigenschaften der Messobjekte (Original/Abdruck)</li> <li>• hohe laterale und vertikale Auflösung</li> <li>• berührungslose Bewertung der Übertragungsgüte</li> <li>• dreidimensional erfassende Verfahren</li> <li>• leistungsfähige Software (Analyse, Simulation, Modellierung)</li> <li>• Messzeiten (3D / 2D erfassend)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Topographische Verfahren (X - Y)</b> Lichtmikroskop, LIMI (Fa. Reichert Jung) Rasterelektronenmikroskop, REM (Fa. Hitachi)</li> <li>• <b>Topometrische Verfahren (X - Y - Z)</b> Weißlichtinterferenzmikroskopie, WLIM (Fa. Wyko, Fa. Zygo/LOT, Fa. ATOS) Konfokales Laser Raster Mikroskop, CLSM (Fa. Leica)</li> </ul>

Nach erfolgter Eingangsevaluierung wurde das CLSM - Verfahren für die weitergehende Charakterisierung der Oberflächen auf Grund seiner im Vergleich zum WLIM - Verfahren um mindestens zwei Größenordnungen schlechteren vertikalen Auflösung nicht mehr berücksichtigt.

#### B.1.4 Bewertung der Replikaverfahren

Die mit den Referenzproben unter Verwendung der in Tabelle 3 genannten Messverfahren gewonnenen Ergebnisse zur Bewertung der generellen Übertragungsgüte sind nun in Tabelle 4 zusammengefasst dargestellt.

**Tabelle 4:** Bewertung der Übertragungsgüte der verschiedenen Replikatechniken

Bewertungskriterien und Eigenschaften	Abformmassen Technovit 3040 KEM 40	Abformmasse Provil Novo Light	UV - Lack	Folien
			35 µm 80 µm 130 µm	35 µm 80 µm 130 µm
<b>Übertragung / Auflösung von Strukturen lat./vert. &lt; 15 µm</b>	unbefriedigend, Überlagerung durch Eigenstruktur	unbefriedigend, Verzerrungen und Artefakte	unbefriedigend, Artefakte (Lackmischung)	gut 35µm, 130 µm Folien beste Ergebnisse
<b>Eigenstruktur der Abdruckmaterialien</b>	ausgeprägt	gering	sehr gering	gering
<b>Schrumpfung</b>	(2 – 5) %	0,3 %	ca. 10 %	keine
<b>Enthftung und Rückstände auf Originaloberflä-</b>	starke Adhäsion und Rückstände	leichte Enthftung keine Rückstände	starke Adhäsion und Rückstände	leichte Enthftung, keine Rückstände
<b>Präparationsaufwand</b>	hoch	sehr gering	hoch	gering
<b>Artefakte</b>	Krater / Ausbrüche	Krater / Blasenbildung	Ausbrüche an Kanten	gering

Von den erprobten Replikatechniken zeigte das Folien-Abdruckverfahren hinsichtlich der Übertragungsqualität und der Handhabbarkeit bei ungestörten Oberflächen mit Abstand die besten Ergebnisse. Eine quantitative Bewertung mittels Weißlichtinterferenzmikroskopie, speziell der Vergleich der Rauheitskennwerte, wird in Abschnitt B.2.5 besprochen. Gegenwärtig laufen entsprechende Normierungsvorhaben (Abschnitt B.2.6).

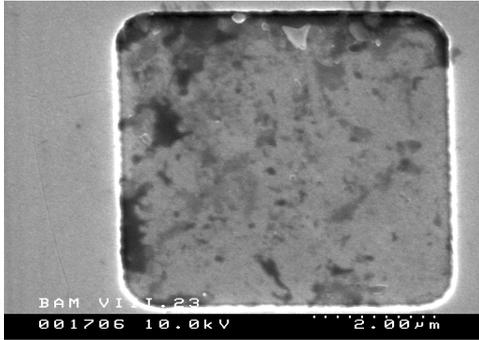
Die Übertragungsgüte wurde zunächst qualitativ sowohl mit klassisch abbildenden Verfahren, wie dem Lichtmikroskop (LIMI) als Routine-Inspektions-Instrument und dem Raster-Elektronen-Mikroskop (REM) als eingeführtes Verfahren zur Detailinspektion, als auch mit modernen 3D – Verfahren der zerstörungsfrei optischen Oberflächenabbildung, insbesondere mit der konfokalen Laser-Raster-Mikroskopie (CLSM) und der Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM), bewertet.

Von den untersuchten Messverfahren ist die Weißlichtinterferenzmikroskopie eindeutig das Vorzugsverfahren. Allerdings hat auch dieses Verfahrens seine Grenzen. Probleme treten insbesondere an Stufen bzw. Kanten oder dünnen transparenten Deckschichten auf. Für weitere Untersuchungen, insbesondere auch zur Validierung der WLIM, erscheint eine Kombination mehrerer Messverfahren, insbesondere von WLIM und AFM (als Nano-Tastschnitt Technik) sinnvoll zu sein. ( Multi-Sonden-Konzept Abschnitt B.2.4)

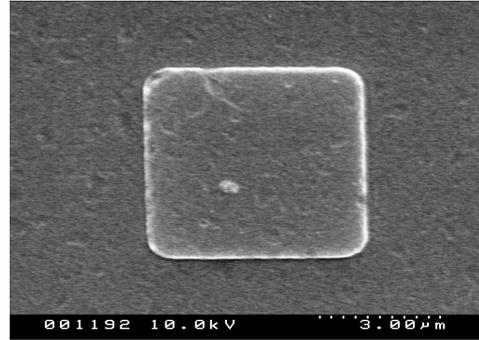
Der Vorteil besteht darin, dass sich die Verfahren sinnvoll ergänzen und der Anschluss zum Prinzip des mechanischen Tasters (mittels AFM) und zum Lichtmikroskop (mittels WLIM) sichergestellt

wird. Außerdem ist die notwendige Ergänzung der Messbereiche für Übersichtsaufnahmen (WLIM, AFM, REM) gegeben. Eine vergleichbare drei-dimensionale Erfassung der „wahren“ Topographie und Topometrie einer Oberfläche wäre somit am ehesten gewährleistet.

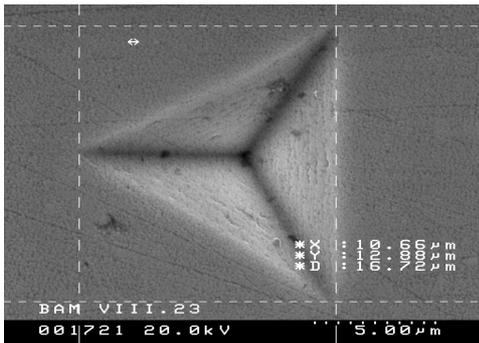
Die Ergebnisse zum bevorzugten Replikverfahren, der Folienabdrucktechnik mit 35 µm Cellulose-Acetat-Folie, sind in den Abbildungen 3a – 3d dargestellt. Bei dem Vergleich zwischen jeweils linker und rechter Aufnahme muss beachtet werden, dass es sich hier um nur annähernd identische Stellen auf den Oberflächen von Original und Abdruck (mittels 35 µm Abdruckfolie) handelt.



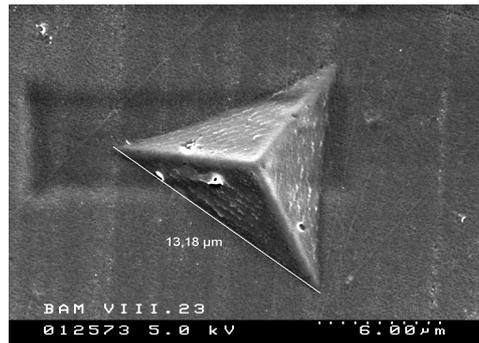
**Abb. 3a:** VLSI – Standard, Original



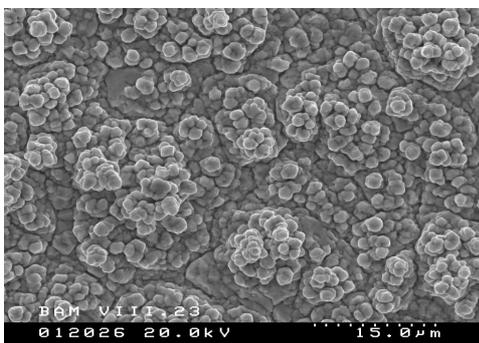
Abdruck (REM)



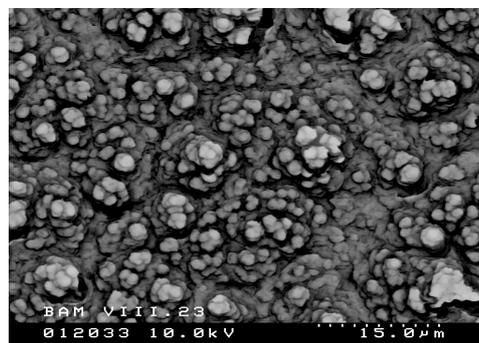
**Abb. 3b:** Berkovich-Eindruck, Original



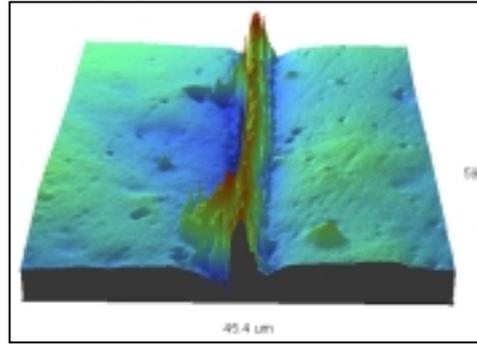
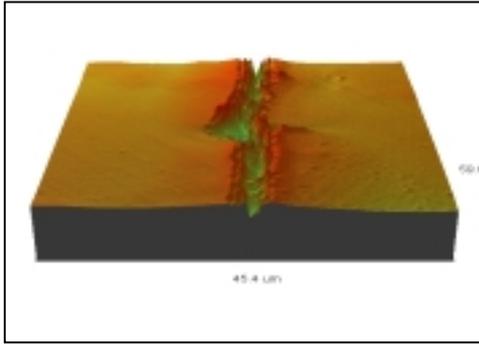
Abdruck (REM)



**Abb. 3c:** Kupferfolie mit Lotus-Geometrie, Original (REM-Aufnahme)



Abdruck (invertierte REM-Aufnahme)



**Abb. 3d:** Kratzer in Emailoberfläche,  
Original (WLIM-Aufnahme)

Abdruck (WLIM-Aufnahme)

## ***B.2 Oberflächen – topographische Erfassung steriltechnisch eingesetzter Oberflächen***

### ***B.2.1 Zielstellung***

Um den Submikro- und Nanometerbereich besser erfassen zu können, war das neuartige Multi-Sonden-Konzept, eine Kombination von in z-Richtung rasternder Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM) und berührungslosem AFM, zu erproben und zu validieren sowie der Anschluss zum LIMI und zum mechanischem Tastschnitt nach DIN EN ISO 4287 sicherzustellen.

Bei der Atomkraftmikroskopie wurde von vornherein auf den „non-contact“-Mode orientiert, um den Einfluss von Oberflächenfehlstellen, Oberflächenablagerungen sowie Wechselwirkungsartefakte (Scanrichtung, Schwingungen des Cantilervers) möglichst gering zu halten. Ganz zu vermeiden ist dies aber grundsätzlich nicht.

### ***B.2.2 Möglichkeiten und Grenzen der Messverfahren***

In der Tabelle 5 wird ein Überblick über die verwendeten Messverfahren unter topographischen, funktionellen und kostenmäßigen Gesichtspunkten gegeben. In Tabelle 6 sind die für die Topographiebewertung präferierten Messverfahren mit ihren Vor- und Nachteilen zusammengestellt und in den Abb. 4a bis 4c und 5 werden lichtmikroskopische und WLIM Aufnahmen bei etwa gleicher Vergrößerung (20:1 bzw.1000:1) gegenübergestellt.

Der deutliche Informationszuwachs bei Verwendung der WLIM ist evident: 3D-Abbildung mit Rauheitskennwerten, statt 2D-Abbildung ohne Rauheitskennwerte (Abb. 4a-4c). Wie in Abb. 5 dargestellt, können mit dem WLIM - Verfahren zusätzlich Histogramme, beliebige Profilschnitte und perspektivische Darstellungen erzeugt werden. Die WLIM ist für alle relevanten Materialien gleichermaßen einsetzbar und gewährleistet relativ unabhängig von der Reflektivität der Oberfläche (also werkstoff- und rauheitsunabhängig), typischerweise im Bereich von 0,1 % bis 99,9 % Reflektivität, die Erzeugung auswertbarer Rohdaten. Eine Einschränkung ist nur an Kanten und bei dünnen transparenten Deckschichten zu machen.

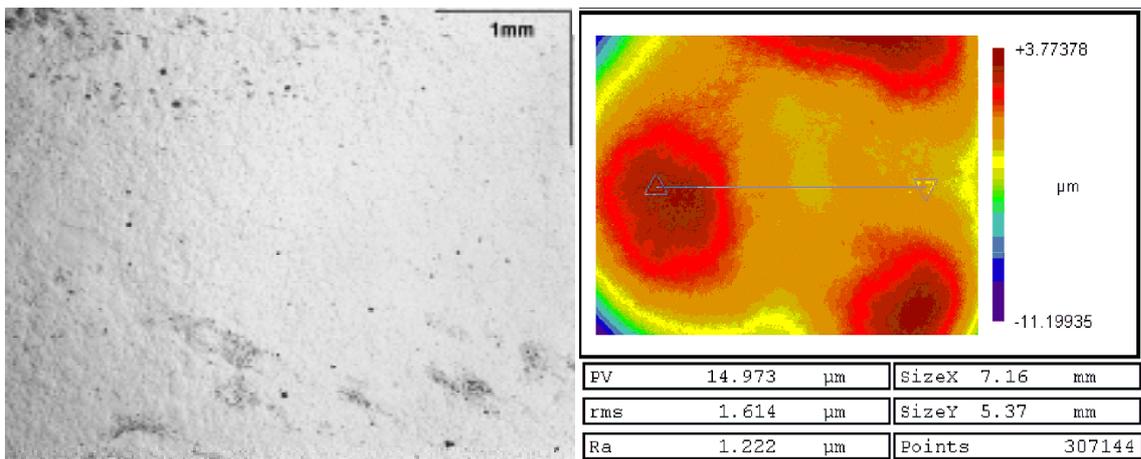
Neben Email (Abb. 5) zeigen die Abbildungen 6 und 7 entsprechende Aufnahmen von geschliffenem und electropoliertem Stahl bzw. von PTFE. Mittels WLIM können darüber hinaus weitergehende Topometrieanalysen durchgeführt und Rauheiten verschiedener Ordnung mittels Fourieranalyse isoliert werden (Abb. 6 und Abb. 7).

**Tabelle 5:** Ausgewählte topographische und topometrische Messverfahren (Übersicht)

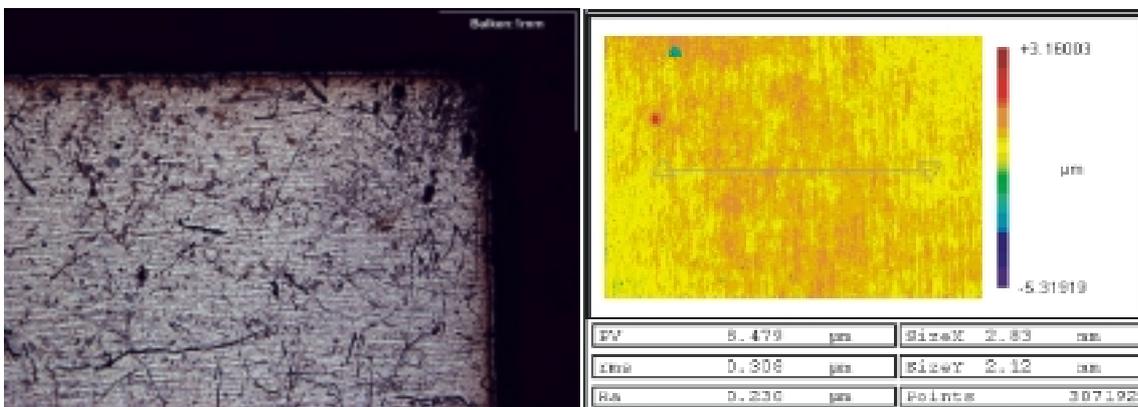
Abb. - Verfahren	Maßstab	Messsystem	Bemerkungen	Zeitaufwand/ Rohdaten
<b>Makro – Aufnahme (Licht – Amplitude)</b>	1:1 ... 5:1 (objektabhängig)	Kamera $\lambda = (0,4 \dots 0,8) \mu\text{m}$	qualitativ	10 - 30 min / 1s x – y Abb.
<b>Mikro – Aufnahme (Licht – Amplitude)</b>	20:1 ... 1000:1	Lichtmikroskop (LIMI) $\lambda = (0,4 \dots 0,8) \mu\text{m}$	qualitativ	10 min / 10 s x – y Abb.
<b>Mechanischer Tastschnitt (Tastspitze)</b>	x: bis 20:1 z: 2 bis 10 000	Profilometer (Taster; $r = 2 \mu\text{m}$ )	quantitativ DIN EN ISO 4287	5 – 10 min/ 1min x – z Abb.
<b>Mikro – Aufnahme (Licht – Phase)</b>	10:1 ... 1000:1	Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM) $\lambda = (0,4 \dots 0,6) \mu\text{m}$	quantitativ VDE-Richtlinie (Entwurf)	15 min / 10 s x – y - z Abb.
<b>Nahfeld – Technik (WW-Potential)</b>	1000:1 ... 20 000:1	Atom – Kraft – Mikroskopie (AFM) ( $r_{\text{tip}} = 10 \text{ nm}$ )	quantitativ	30 min / 10 min x – z Abb.

**Tabelle 6:** Ausgewählte topometrische Messverfahren: Vor- und Nachteile

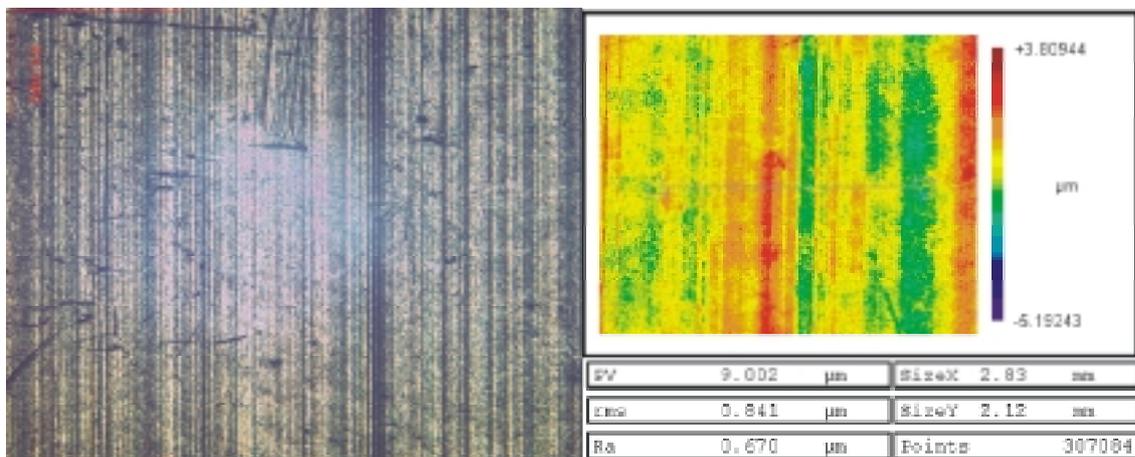
	Vorteile	Nachteile
<b>Mechanischer Taster</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- standardmäßige industrielle Anwendung</li> <li>- genormt DIN EN ISO 4287</li> <li>- einfache Handhabung</li> <li>- kostengünstig</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- großer Öffnungswinkel des Tasters (Verrundungsradius <math>2 \mu\text{m}</math>)</li> <li>- Probleme bei Poren etc.</li> <li>- Probleme bei weichen Oberflächen</li> </ul>
<b>Atom – Kraft – Mikroskopie (AFM)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sehr hohe laterale Auflösung bis atomar (Verrundungsradius <math>r_{\text{tip}} = 10 \text{ nm}</math>)</li> <li>- vertikale Auflösung vergleichbar mit Weißlichtsystem (<math>\sim 0,1 \text{ nm}</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- relativ hohe Kosten</li> <li>- Wechselwirkung Cantilever/ Probe erfordert hohen Justieraufwand</li> <li>- empfindlich gegen Oberflächenkontamination</li> </ul>
<b>Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- geringe Wechselwirkung mit der Probe, berührungslose und schnelle 3D-Messung</li> <li>- geringer Justierbedarf</li> <li>- Auflösung: lateral <math>\sim 0,5 \mu\text{m}</math>; vertikal <math>\sim 0,1 \text{ nm}</math></li> <li>- Anschluss an Mikroskop, Taster u. AFM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- hohe Kosten</li> <li>- Einfluss der optischen Konstanten</li> <li>- Probleme bei transparenten Deckschichten</li> </ul>



**Abb. 4a:** Mikro-Aufnahmen einer Email - Oberfläche: LIMi und WLIM (Vergrößerung 20:1)



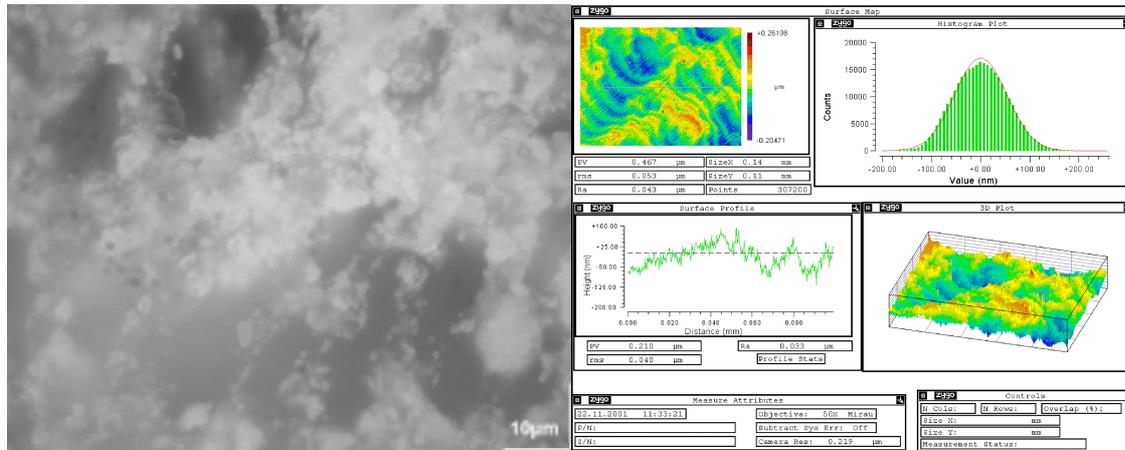
**Abb. 4b:** Mikro-Aufnahmen einer Stahl - Oberfläche: LIMi und WLIM (Vergrößerung 20:1/32:1)



**Abb. 4c:** Mikro-Aufnahmen einer PTFE - Oberfläche: LIMi und WLIM (Vergrößerung 20:1/32:1)

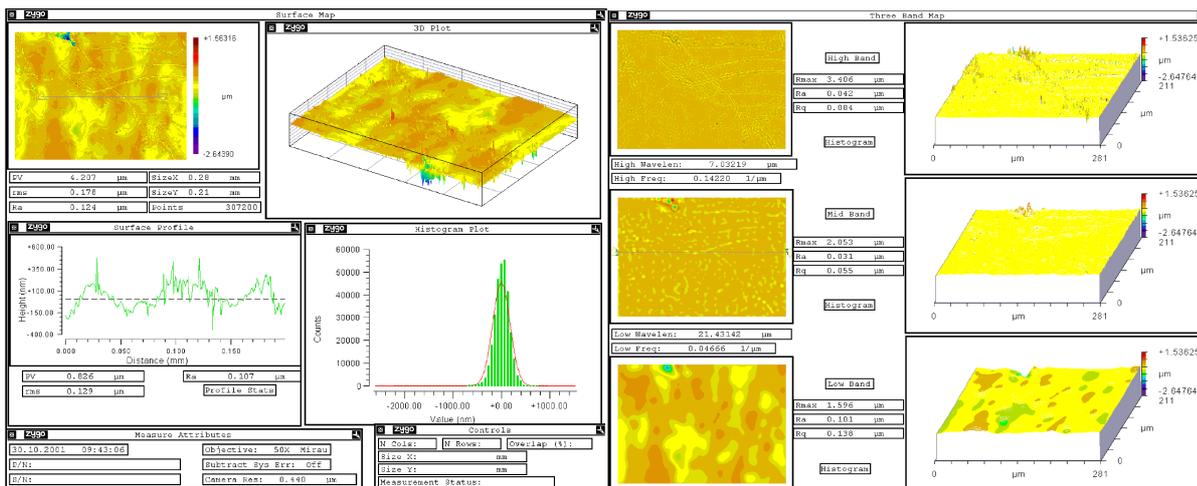
Vergleicht man die Histogramme aus den WLIM - Aufnahmen für Email, Stahl und PTFE (Abb. 5, 6 und 7), sind ungeachtet der absoluten Rauheitswerte wesentliche qualitative Unterschiede festzustellen. Weitgehend symmetrische Histogramme werden für Email (Abb. 5) und elektropolierten Stahl (Abb. 6) beobachtet, während für PTFE (Abb. 7) eine asymmetrische Verteilung der Rauheitsverteilung festzustellen ist. Auch die Fourieranalyse zeigt in den verschiedenen Frequenzbereichen deutliche Unterschiede: Bei PTFE (Abb. 7) wird in allen Frequenzbereichen eine Vorzugsstruktur (Schälriefen) nachgewiesen, bei geschliffenem und elektropoliertem Stahl dagegen zeigen

die Hochpass-, Bandpass- und Tiefpassanalysen in den verschiedenen Frequenzbereichen unterschiedliche Verteilungsbilder für die Oberflächenrauheit. In allen Fällen ist eine Korrelation zu den Bearbeitungsprozessen anzunehmen, was die Methode für die Qualitätssicherung prädestiniert.



**Abb. 5:** Mikro –Aufnahmen einer Email – Oberfläche: LIMi und WLIM (Vergrößerung 1000:1)

Bei dem WLIM-Verfahren sind wegen der Auswertung der Phaseninformation vertikale Auflösungen von unter 1 nm erreichbar. Bei der lateralen Auflösung ist man dagegen wie beim Lichtmikroskop an die Beugungsbegrenzung von etwa 0,5 µm (bei 1000-facher Vergrößerung) gebunden. Der Informations- und Zeitgewinn beim WLIM-Verfahren ist allerdings so beträchtlich, dass insbesondere mit Blick auf die digitale Speicherung der Rohdaten (x-y-z Koordinaten) und deren Weiterverarbeitbarkeit (beliebiger Profilschnitt, Histogramme, Fourieranalyse) immense Vorteile bestehen. Die pixelgenaue Zuordnung der Oberflächenabbildung ermöglicht zudem ein „Stitchen“ der Oberfläche. So können auch größere Flächen jenseits der eigentlichen Objektgröße (bei gegebener Vergrößerung) durch automatisiertes „Zusammensetzen“ von Einzelbildern abgebildet werden. Von dem verwendeten Wellenlängenbereich her (einschließlich der erreichbaren Vergrößerungen) ist der Anschluss an das LIMi sichergestellt.



**Abb. 6:** WLIM Topometrieanalyse von Stahl 1.4404 geschliffen 400 + elektropliert (Vergrößerung 650:1)  
 Draufsicht, 3D - Perspektive, Oberflächenprofil, Histogramm und Fourieranalyse



Schälriefen und für elektropolierten Stahl abgerundete Schleifriefen identifiziert. Mit anderen Worten: Wählt man die Vergrößerung nur groß genug, wird nahezu jede Oberfläche inhomogen, anisotrop bzw. fehlerstellenbehaftet. Die Ergebnisse aus der Erprobung des Multisondenkonzepts sind im Abschnitt B 2.4 ausführlich beschrieben.

### B.2.3 Bewertung der evaluierten Messverfahren

Die klassischen Verfahren der Topographie/Topometrie-Bewertung (LIMI/mechanischer Taster) versagen bei Submikrometer- und Nanometer- 3D-Topographien. Die rasternde Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM) und die Atom-Kraftmikroskopie (AFM) sind insbesondere in ihrer Kombination geeignet, die „wahre“ Topographie/Topometrie einer Oberfläche im Submikro- und Nanometerbereich zu erfassen. Unabhängig davon muss sichergestellt werden, dass die experimentellen Randbedingungen (Probenort, Taststrecke/Tastfläche) und die Erfassung und Weiterverarbeitung der Rohdaten (x,y,z) für die unterschiedlichen Verfahren vergleichbar sind. Nur so lässt sich der spezifische Sondereinfluss bewerten.

Die WLIM sichert bezüglich der Taststrecke sowohl den Anschluss an den „long scan“ des mechanischen Tasters (Makro-Tastschnitt) als auch an den „short scan“ des AFM (Nano-Tastschnitt). Außerdem besteht zum Lichtmikroskop (Vergrößerung 20:1 ► Teileinspektion und mechanische Standard -Taststrecke bzw. 1000:1 ► Detailinspektion, Defekte, Artefakte) eine direkte Vergleichbarkeit.

Auch die Rohdatenverarbeitung muss validiert werden: Mit zwei Messprinzipien (WLIM, AFM) und vier Software-Paketen [WLIM-MetroPro, AFM-Nanoview 4.0, unabhängig: SPIP, MARKIII (Fa. Fries) und HVT (FH Jena)] sind zumindest für Referenzobjekte im Rahmen einer industriell relevanten Ergebnisunsicherheit vergleichbare Werte erzielbar. Dass hier generell Handlungsbedarf besteht, macht Tabelle 7 deutlich. Für die klassische Rauheitsmessung nach DIN EN ISO 4287 sind nanometer-skalierte Topographie-Einflüsse nicht mehr relevant. Eine vergleichende Betrachtung zwischen mechanischen Tastschnitt (genormt) und WLIM (noch nicht genormt) und für Taststrecken im Millimeterbereich ist in Tabelle 7 dargestellt. Grundproblem ist hierbei, dass nicht an identischen Taststrecken gemessen werden kann. Bezüglich der Validierung des WLIM mit Hilfe des AFM wurde dieses Problem im Multi – Sonden – Topometrie - Messplatz (Abschnitt B.2.4) gelöst.

**Tabelle 7:** Rauheitskennwerte Tastschnitt und WLIM im Vergleich

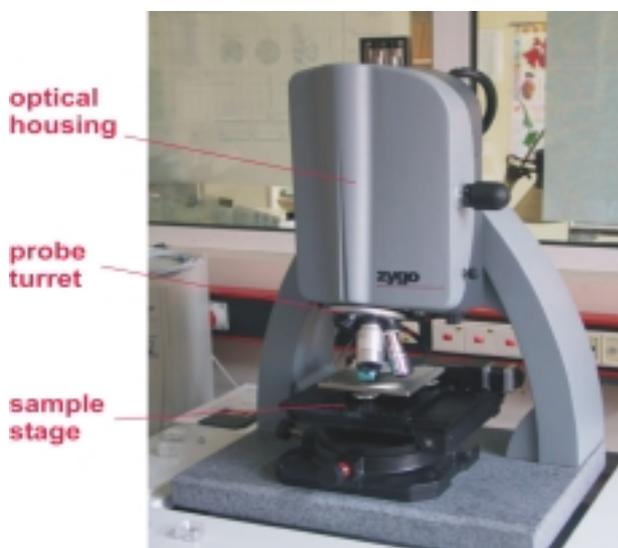
Werkstoff	Tastschnitt – Verfahren (Taststrecke $L_t = 5,6 \text{ mm}$ ) (DIN EN ISO 4287)				Weißlichtinterferenzmikroskop ( $L_t$ nicht genormt)	
	BAM		MAK / TUM		$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$L_t$ [mm]
	$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$R_z$ [ $\mu\text{m}$ ]	$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$R_z$ [ $\mu\text{m}$ ]		
<b>Stahl 1.4404 K400 + ep</b>	$0,12 \pm 0,01$	$1,00 \pm 0,14$	$0,23 \pm 0,06$	$1,14 \pm 0,25$	0,23 0,12	2,8 0,28
<b>PTFE TFM 1600</b>	$0,21 \pm 0,02$	$1,61 \pm 0,28$	-	-	0,7 0,4	2,8 0,28
<b>Email CW4_5</b>	$0,06 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,05$	-	-	0,81 0,05	2,8 0,28
<b>Email CW4_4</b>	$0,06 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,05$	-	-	1,22 0,04	7,2 0,14

Für die WLIM ist in Abhängigkeit von der Substrattopographie eine starke Abhängigkeit von der Tastfläche (d.h. der gewählten Vergrößerung) festzustellen. Hierdurch erklären sich auch die Unterschiede bei der Verwendung verschiedener (jeweils kalibrierter) Tastschnittgeräte.

Die Interpretation der Rohdaten und die Simulation von Oberflächen hat ggf. Sonden - Spezifika zu berücksichtigen. Der Anschluss der 3D-Verfahren an den klassischen Tastschnitt ist dabei sicherzustellen. Der 3D- Rauheitskennwert muss durch Datenreduktion industriellen Belangen Rechnung zu tragen (siehe Abschnitt B.2.5). Dabei wurden die Ergebnisse an Referenzobjekten überprüft, der Sonden- und Verfahrenseinfluss wurde für Original/Abdruck/Kopie minimiert und quantifiziert und bei der Rohdatenerfassung und -verarbeitung berücksichtigt. Die experimentellen Daten konnten für ungestörte Oberflächen in Übereinstimmung mit Modellierung und der Simulation gebracht werden (Abschnitt B.2.5 und Abschnitt S).

#### **B.2.4 Das Multi-Sondenkonzept (WLIM/AFM - Messplatz)**

Das Multi – Sonden – Konzept [3] integriert WLIM und AFM (zur Validierung des WLIM - Verfahrens) mit den Merkmalen nach Abb. 9 und Tabelle 8. Mit diesem Konzept wurde die Voraussetzung geschaffen, an **identischen** Probenorten **ohne jegliche** Probenmanipulation zu messen, eine scheinbar triviale, in der Praxis aber ansonsten kaum umsetzbare Forderung. Beim AFM wurde von vornherein auf den „non – contact“ Mode orientiert, um für beide Verfahren berührungslos zu messen. Das AFM ist zwar ein sehr gutes Validierungsinstrument, in der Praxis aber wegen seiner hohen Empfindlichkeit, der relativ langen Messzeit (Aufbau von 3D-Bildern aus 2D- Profilen) und des geringen Arbeitsabstandes aber kaum als industrielles Routineinstrument geeignet.



#### **Multi - Sonden - Konzept:**

- Messen identischer Probenorte mit unterschiedlichen Sonden (WLIM, AFM) ohne Probenbewegung.
- Typischer Repositionierfehler des x-y-z-Tisches: 1  $\mu\text{m}$  ohne bzw. bis 5  $\mu\text{m}$  mit Drehung des Sonden-Turrets (“probe-to-probe”).
- Hochgenaue Messungen; schwingungsgedämpfter Tisch und luftgefedertes optisches System.

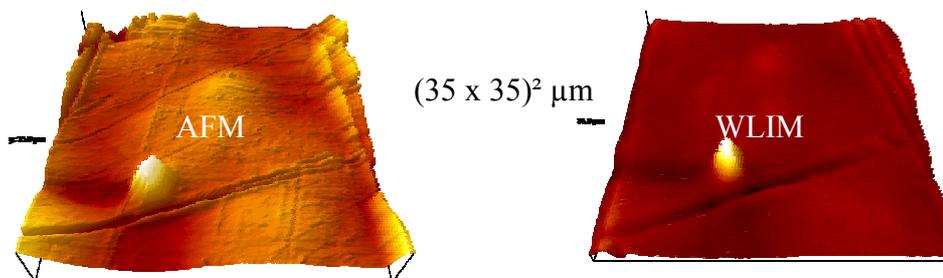
**Abb 9:** Multi – Soden – Konzept: WLIM /AFM (Validierung der Rohdaten)

**Tabelle 8:** Vergleich von AFM und WLIM

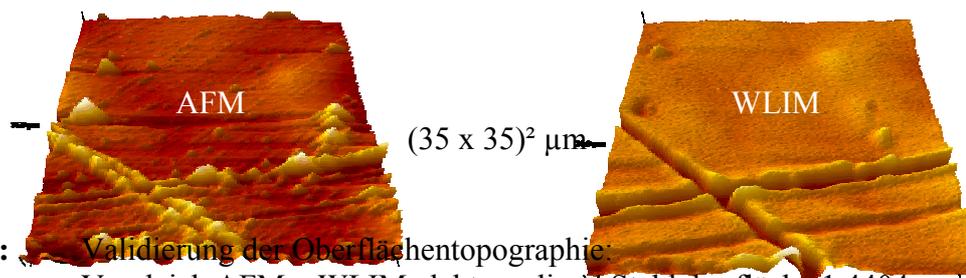
	AFM	WLIM		
<b>Betriebsmode</b>	non-contact	-	-	-
<b>Objektive</b>	-	2,5 x	20 x	50 x
<b>Gesichtsfeld</b>	(40 x 40) μm <sup>2</sup>	(7,3 x 5,3) mm <sup>2</sup>	(0,35 x 0,26) mm <sup>2</sup>	(70 x 55) μm <sup>2</sup>
<b>Pixelzahl</b>	max. 256 x 256	max. 640 x 480	max. 640 x 480	max. 640 x 480
<b>Vergrößerung</b>	3000:1	20:1	400:1	2000:1
<b>Spitzenradius</b>	< 10 nm	-	-	-
<b>NA</b>	-	0,075	0,40	0,55
<b>Auflösung lat. / vert.</b>	< 1 nm / 0,1 nm	4,7 μm / 0,1 nm	0,8 μm / 0,1 nm	0,6 μm / 0,1 nm
<b>Typische Messzeit</b>	15 min	(2 – 3) min	(2 – 3) min	(2 – 3) min
<b>Arbeitsabstand</b>	einige nm	10,3 mm	4,7 mm	3,4 mm

### B.2.5 Validierung des Multisonden-Konzeptes

Beispielhaft sind die Ergebnisse der Validierung des WLIM-Messungen in Abb. 10 und Abb. 11 zusammengestellt. Wegen der deutlich geringerer lateralen Auflösung erscheinen WLIM-Aufnahmen im Vergleich zu AFM – Aufnahmen stets glatter.

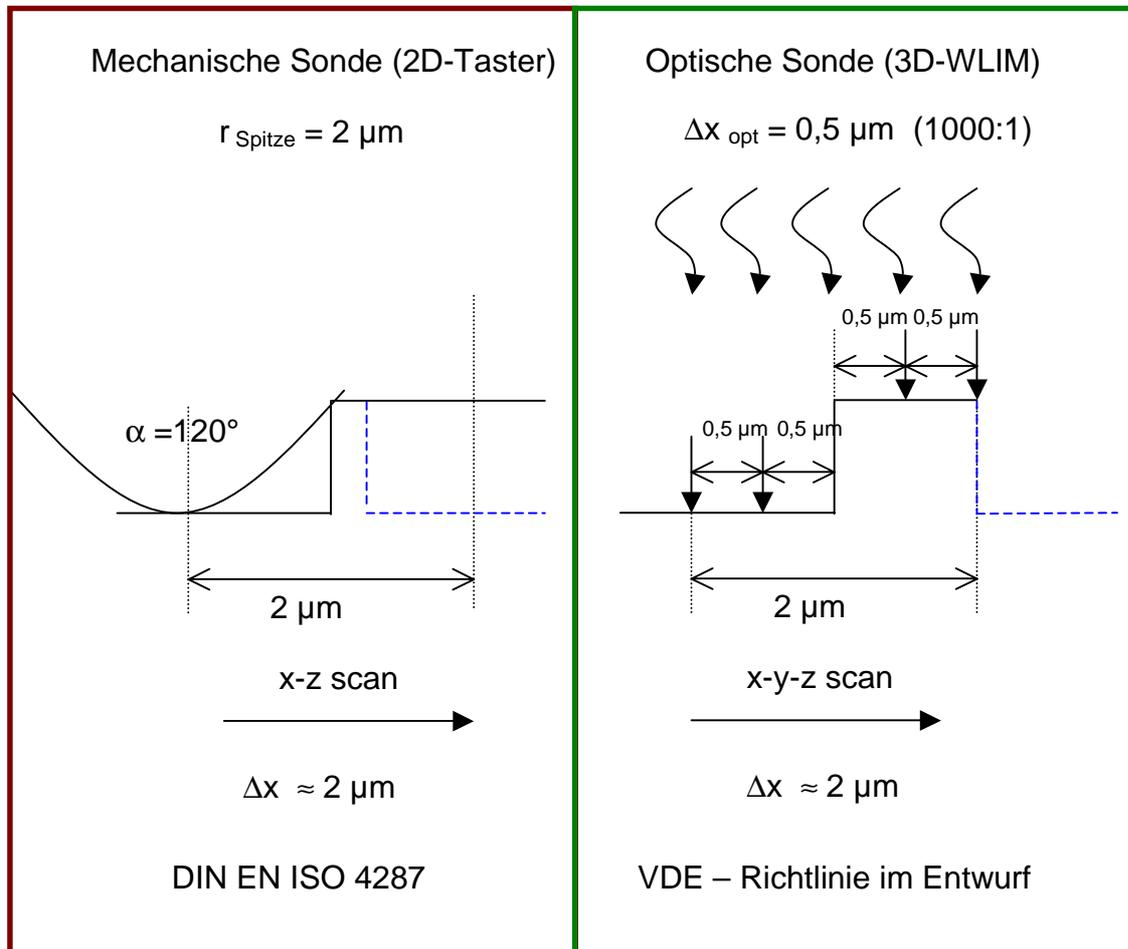


**Abb.10:** Validierung der Oberflächentopographie:  
Vergleich AFM – WLIM elektropolierte Stahloberfläche 1.4404



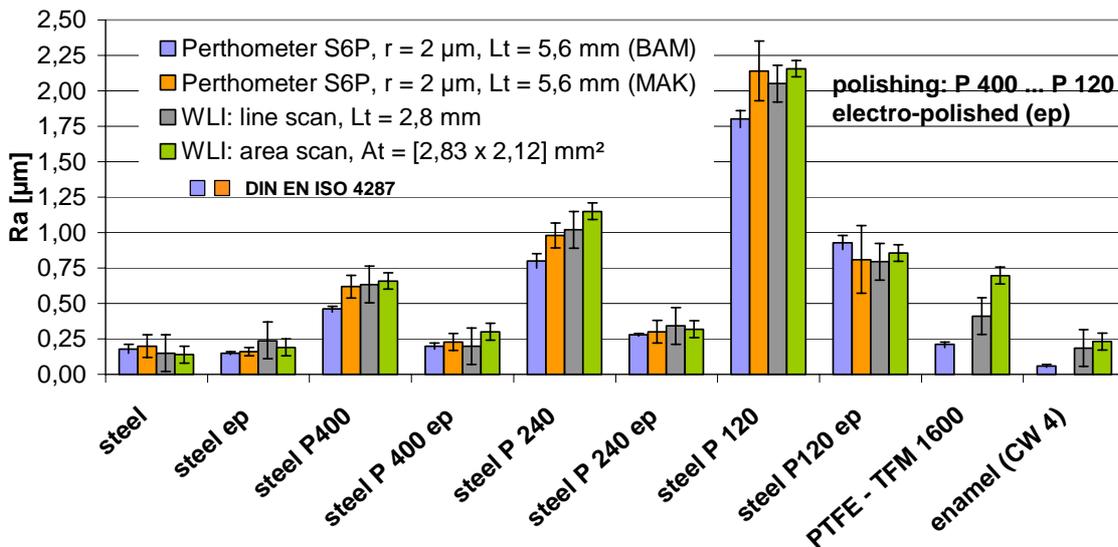
**Abb. 11:** Validierung der Oberflächentopographie:  
Vergleich AFM – WLIM elektropolierte Stahloberfläche 1.4404

Für die Validierung der Rohdaten wurden systemeigene Software-Pakete: (NanoView 4.0 für AFM, MetroPro 7.10.0 für die WLIM) sowie hardwareunabhängiger Softwarepakete wie SPIP (V.2.3203), Mark III (V. 3.6.5) und das an der FH Jena entwickelte HVF-Programm (Abschnitt S. 4.4) genutzt. Neben der Validierung der WLIM mittels AFM war der Anschluss an den mechanischen Tastschnitt ein zentrales Thema. In Abb. 12 sind die beiden Sondenprinzipien gegenübergestellt.



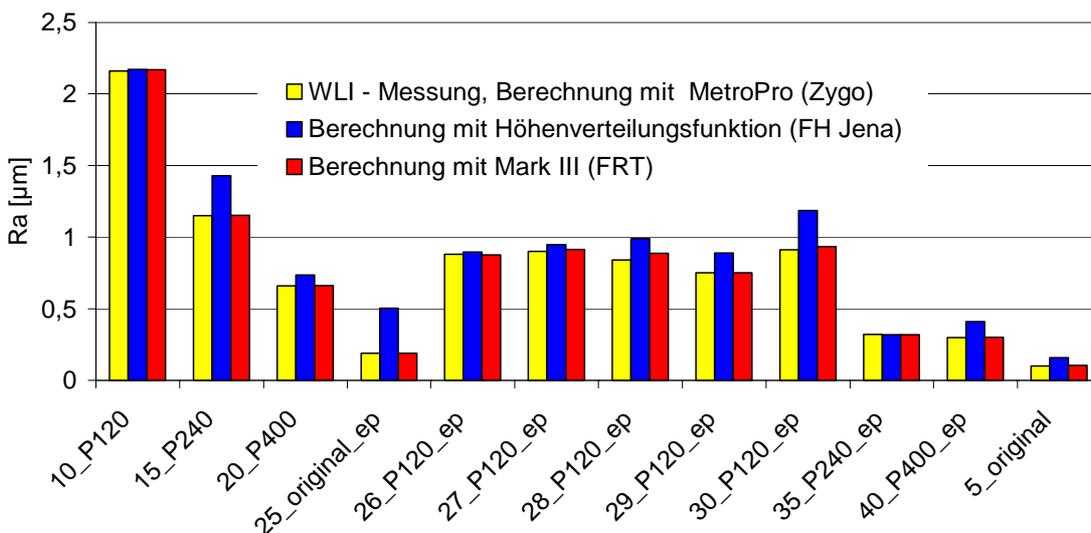
**Abb.12:** Laterale Auflösung mechanische und optische Sonden

Im Ergebnis einer Abschätzung (nach Abb. 12) resultiert aus dem Sondenradius von  $2 \mu\text{m}$  bzw. der optischen Auflösung von  $0,5 \mu\text{m}$  für beide Verfahren eine vergleichbare laterale Ortsauflösung von ca.  $2 \mu\text{m}$ . Für Messungen an ungestörten Oberflächen sollte dies in vergleichbaren Rauheitswerten münden. An weitgehend ungestörten, d.h. homogenen, isotropen und fehlerstellenfreien, Oberflächen ist dies im Rahmen der Ergebnisunsicherheit tatsächlich der Fall (Abb. 13).

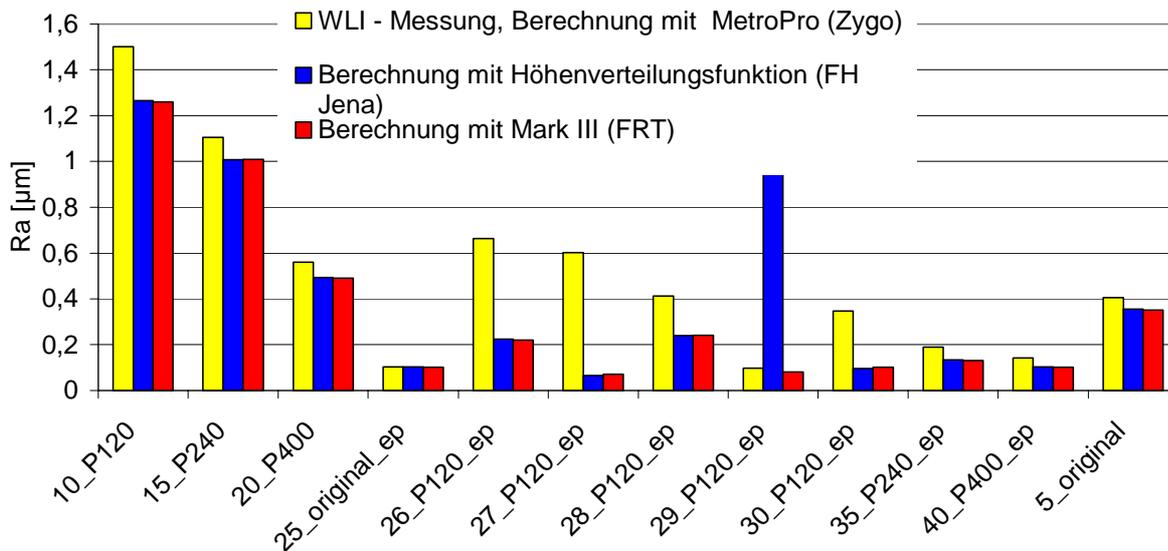


**Abb. 13:** Rauheiten ( $R_a$ ) von Stahloberflächen (1.4404) mit unterschiedlichen Bearbeitungszuständen für mechanische und optische Sonden (PTFE und Email zum Vergleich)

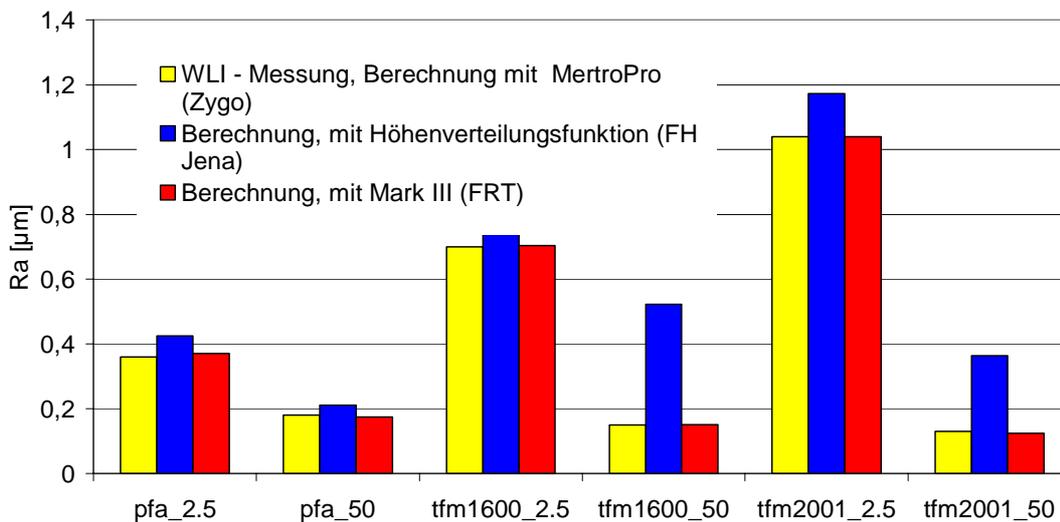
Die softwareseitige Validierung der Rohdaten ist in den Abb. 14 bis Abb. 16 zusammengestellt. Solange ungestörte Oberflächen vorliegen, lässt sich zwischen den verschiedenen Analyseverfahren eine gute Übereinstimmung herstellen. In Gebieten von Inhomogenitäten bzw. Anisotropien und Fehlstellen treten dagegen Unterschiede zu Tage. Der Einfluss von lokalen Inhomogenitäten hängt auch vom gewählten Objektfeld (Vergrößerung) ab, wie der Vergleich von Abb. 14 und 15 verdeutlicht. Tendenziell werden die Diskrepanzen mit zunehmender Vergrößerung stärker, was bestätigt, dass Realoberflächen, die mit bloßem Auge noch homogen erscheinen, im Submikro-meter- und Nanometerbereich deutliche Inhomogenitäten aufweisen können.



**Abb. 14:** Validierung von Flächenrauheiten für Stahl 1.4404 mit Hilfe verschiedener Softwarepakete (Basis WLIM-Rohdaten, 50:1)



**Abb. 15:** Validierung von Flächenrauheiten für Stahl 1.4404 mit Hilfe verschiedener Softwarepakete (Basis WLIM-Rohdaten, 1000:1)



**Abb. 16:** Validierung von Flächenrauheiten: für PTFE) mit Hilfe verschiedener Softwarepakete (Basis von WLIM-Rohdaten, 50:1 bzw. 1000:1)

### B.2.6 Standardisierung des Vorzugsverfahrens WLIM

Die Standardisierungsfragen wurden im VDI/VDE Fachausschuss 3.43 „Kalibrierverfahren und Normale“ unter Mitwirkung der BAM, der Fa. BOSCH, der PTB, der Uni Hamburg sowie einiger Gerätehersteller behandelt.

Im Ergebnis wurde ein Richtlinienentwurf für das kalibrierte Messen mit Rastersonden –Mikroskopen erstellt, der 2003 verfügbar sein wird. Im einzelnen wurden bzw. werden noch folgende Aspekte bearbeitet:

- Richtlinie für das Arbeiten mit optischen Verfahren im Bereich der Interferenzmikroskopie (phasenschiebende-, konfokale-, Weißlicht-Verfahren)

- Anforderung an notwendige *Normale*. Entwicklung *eines Normals* für unterschiedliche Messaufgaben, um den experimentellen und den Kostenaufwand gering zu halten.
- Ausweitung des Richtlinienentwurfs auf andere noch nicht genormte Sodenverfahren (AFM) in Anlehnung an bestehende Normen und Richtlinien für mechanische Messverfahren (z. B. mechanischer Taster).

Analog der Definition der Längen von Taststrecken für die 2D-erfassenden Verfahren (mechanischer Taster), sind genormte Tastflächen für die 3D-erfassenden Verfahren (z.B. WLIM) jeweils mit entsprechenden Filterwellenlängen festzulegen. Damit kann dann in der Praxis nach Norm gemessen werden. Zu beachten ist aber, dass das Problem „Messung an identischen Probenorten“ mit der 3D-Erfassung der Oberfläche zwar deutlich entschärft (Bezug auf signifikante Oberflächenmerkmale) aber insbesondere für hohe Vergrößerungen *a priori* nicht vollständig gelöst ist. Hier kann die Suche, wenn keine zusätzliche Kennzeichnung möglich ist, zeitaufwendig sein.

### **B.2.7 Praxisbeispiel: Degradation von PE-Schläuchen**

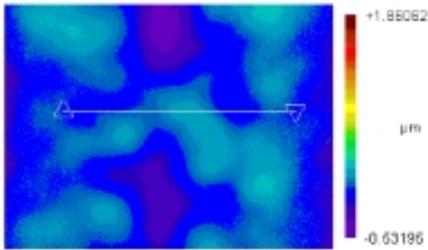
An einem Beispiel aus der Praxis wird die Leistungsfähigkeit des WLIM-Verfahrens gegenüber dem mechanischen Tastschnitt nachgewiesen. In Tabelle 9 sind die verschiedenen Messaspekte gegenübergestellt. Im Ergebnis wäre die Degradation von PE-Schläuchen bezüglich der Oberflächenrauheit mit einem mechanischen Tastschnittverfahren überhaupt nicht bewertbar.

**Tabelle 9:** Beispiel: PE - Schläuche für den Bierausschank  
(gekrümmte Innenflächen, duktiler Werkstoff)

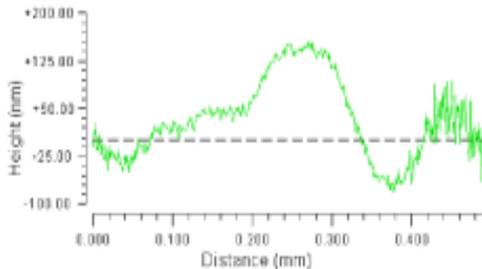
<b>Problemstellung</b>	<b>Mechanischer Taster</b>	<b>WLIM</b>
Norm / Richtlinie	DIN EN ISO 4287	VDE Richtlinie (Entwurf)
Präparation	Aufschneiden der Schläuche	Aufschneiden der Schläuche
Innenradius (10 mm)	nicht tolerabel axial – kritisch, radial - nicht messbar	korrigierbar, messbar
Werkstoff - Duktilität	Messung i.d.R. nicht zuverlässig	unkritisch, weil berührungslos
Messmode	Linien p Profil (2D)	Flächen- Profil (3D) (incl. Linien-Profil)
Messzeit	pro Linie ca. 60 s pro Fläche ca. 20 min	pro Fläche ca. (2 – 3) min

Wie in Abb. 17 dargestellt, lässt sich mittels WLIM an den Innenflächen der Schläuche bezüglich der Rauheitskennwerte nach softwaremäßiger Berücksichtigung der Zylinderinnenflächen, die Degradation schnell, berührungslos und 3D-mäßig signifikant im  $R_a$  – Wert nachweisen. In der rein profilmäßigen (2-dimensionalen) Betrachtung wäre dies im Rahmen der Messunsicherheit kaum möglich.

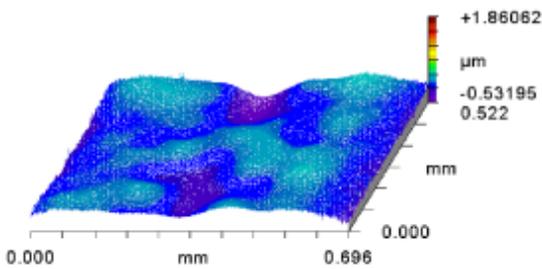
### Werkstoff: neu



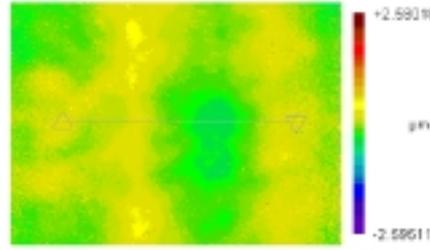
Linien-Profil: rms 0,12  $\mu\text{m}$   
 Ra: 0,09  $\mu\text{m}$



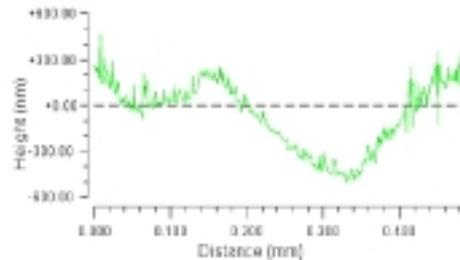
Flächen-Profil: rms 0,06  $\mu\text{m}$   
 Ra: 0,05  $\mu\text{m}$



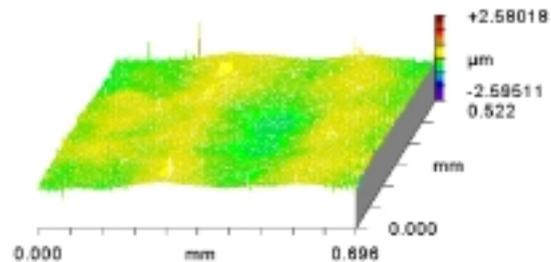
### Werkstoff: 1,5 Jahre alt



Linien-Profil: rms 0,17  $\mu\text{m}$   
 Ra: 0,14  $\mu\text{m}$



Flächen-Profil: rms 0,22  $\mu\text{m}$   
 Ra: 0,19  $\mu\text{m}$



**Abb. 17:** Oberflächentopographie von PE-Schläuchen für den Bierausschank (WLIM 200:1)

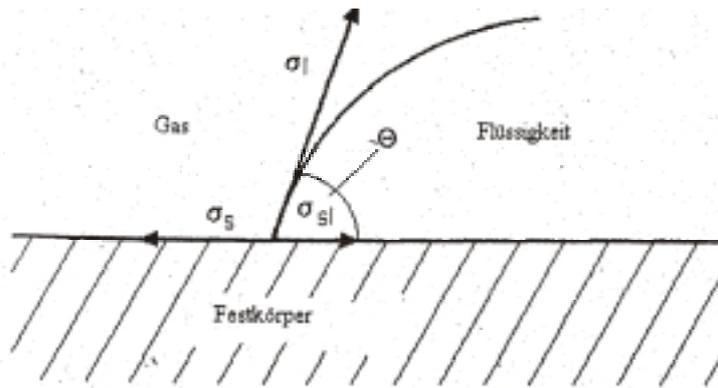
## B.3 Oberflächen-energetische Erfassung steriltechnischer Oberflächen

### B.3.1 Statische Kontaktwinkelmessung

Die Bestimmung der Grenzflächenspannung zwischen flüssiger und fester Phase in Anwesenheit einer gasförmigen Phase (Luft) erfolgt durch Kontaktwinkelmessung. Aus dem Kontaktwinkel  $\theta$  kann die Oberflächenenergie  $\sigma$  über die Young-Gleichung [4] berechnet werden:

$$\cos \theta = (\sigma^{\text{sg}} - \sigma^{\text{sl}}) / (\sigma^{\text{lg}}) \quad (1)$$

Die Indizes bezeichnen die beiden Phasen zwischen denen die Grenzflächenspannung besteht: fest (s), flüssig (l) und gasförmig (g). Graphisch kann Gleichung (1) über Vektoren dargestellt werden und wird in Abbildung 18 veranschaulicht.



**Abb 18:** Kontaktwinkel auf einer Festkörperoberfläche nach Young

### B.3.2 Bestimmung der Oberflächenenergie

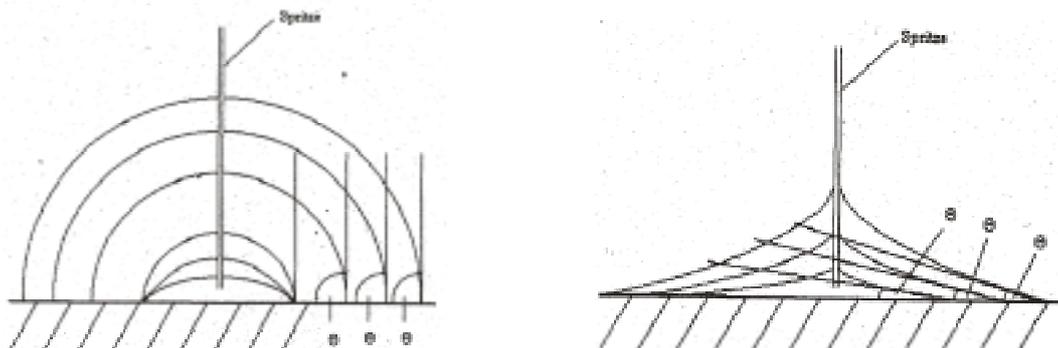
Owens, Wendt, Rabel und Kaelble [5] postulierten die Existenz eines polaren Anteils (Wechselwirkung permanenter Dipole), sowie einen dispersen Anteils (Wechselwirkung induzierter Dipole) an der Grenzflächenspannung. Die Gesamtflächenspannung ist also die Summe der dispersen und polaren Anteile:

$$\sigma = \sigma^{\text{dispers}} + \sigma^{\text{polar}} \quad (2)$$

Kommen zwei Phasen in Kontakt, so wechselwirken entlang der Grenzfläche nur polare mit polaren, disperse mit dispersen Anteilen der jeweiligen Grenzflächenspannung. Bei bekannten polaren und dispersen Anteilen der Grenzflächenspannung von Flüssigkeiten kann der polare und der disperse Anteil der Oberflächenspannung von Festkörpern bestimmt werden.

### B.3.3 Dynamische Kontaktwinkelmessung

Die dynamische Kontaktwinkelmessung beschreibt die Vorgänge an der Grenzfläche flüssig - fest während der Vorgänge der Benetzung (Zunahme des Volumens) und der Entnetzung (Abnahme des Volumens). Dazu kann auf verschiedene Weise entweder die Flüssigkeit oder der Festkörper mit möglichst konstanter Geschwindigkeit bewegt werden.



**a)** Fortschreitwinkel  
(Volumenzunahme)

**b)** Erzeugung des Rückzugswinkels  
(Volumenabnahme)

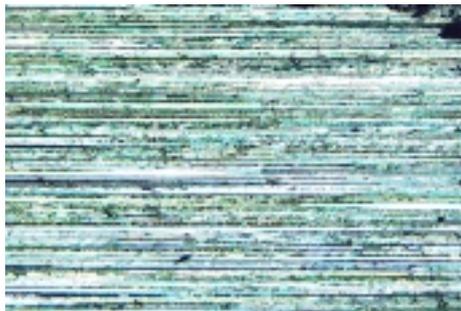
**Abb. 19:** Dynamische Kontaktwinkelmessung

### B.3.4 Experimentelle Ergebnisse der Kontaktwinkelmessung

Mittels Kontaktwinkelmessung soll u.a. der Einfluss der Rauheit einer Oberfläche auf deren Oberflächenenergie bewertet werden. Für alle relevanten Werkstoffe (Stahl 1.4404, Email und PTFE) standen sechs verschiedene Testflüssigkeiten (Dijodmethan, n-Hexadecan, 1-Decanol, Formamid, Ethylenglycol und Wasser) zur Verfügung, mit denen statische Messungen vorgenommen wurden. Dies war im wesentlichen der Proben - Dimensionierung (Stahl [20x20mm<sup>2</sup>], und der Probenebenheit (Email Ø 20 mm), geschuldet. Für ein statistisch abgesichertes Ergebnis sind mind. 5 Tropfen von jeweils drei Flüssigkeiten auf einer Probe im Abstand von 5 mm aufzubringen.

Bei den Email-Proben war außerdem die Basislinie nicht reproduzierbar festzulegen (Balligkeit der Oberflächen und die Tropfen lagen teilweise nicht symmetrisch auf der Festkörperoberfläche. Außerdem lagen die Email und die PTFE – Proben nicht in verschiedenen Rauheitsklassen vor. Bei den Stahlproben, mit Rauheiten [ $R_a = (0,2 - 2,1) \mu\text{m}$ ] bestanden die genannten Probleme nicht. Hier soll exemplarisch der Rauheitseinfluss studiert werden. Für Proben mit einer sehr großen Oberflächenrauheit (z.B. Probe K120,  $R_a = 2,1 \mu\text{m}$ ) ergaben sich bei den Kontaktwinkelmessungen im Gegensatz zu den elektropolierten Proben (z.B. Stahl ep,  $R_a = 0,2 \mu\text{m}$ ), in Schliffrichtung und 90° zur Schliffrichtung unterschiedliche Kontaktwinkel. In Abbildung 20 ist dieser Effekt dargestellt.

Die Oberflächenenergien „ $\sigma$ “ an Einzelproben sind: Stahl 1.4404 je nach Bearbeitungsstufe 33 mN/m - 40mN/m, Email 35 mN/m - 58 mN/m und PTFE – Sorten 17 mN/m - 25 mN/m.



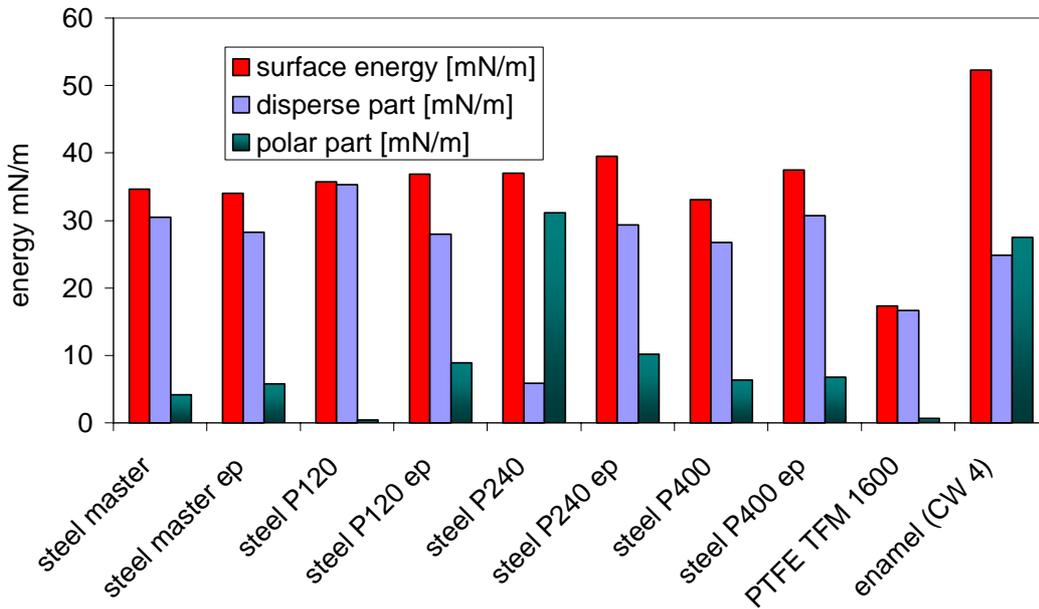
a) Stahl P 120: Tropfen parallel zu den Rillen vermessen,  $\alpha = 56.0^\circ$

b) Stahl P 120: Tropfen im rechten Winkel zu den Rillen vermessen,  $\alpha = 86.6^\circ$

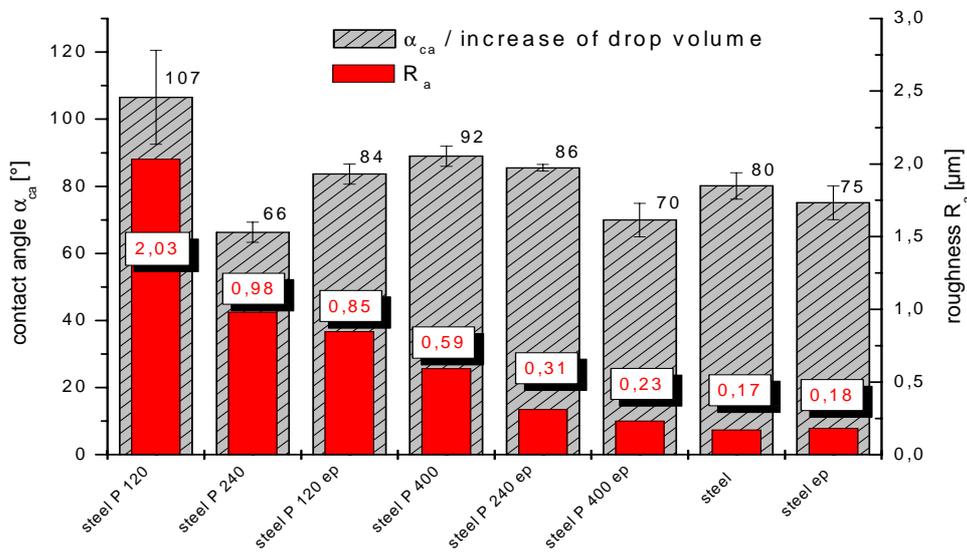
**Abb. 20:** Kontaktwinkel  $\alpha_{ca}$  von Wasser auf Stahl vs. Rauheit  $R_a$  in Anwesenheit orientierter Rillen (Rückzugswinkel)

Der Effekt der Kontaktwinkelabhängigkeit von der Schliffrichtung (Anisotropien der Probe) ist evident. Aus dynamischen Kontaktwinkelmessungen können Rückschlüsse auf den Rauheitseinfluss gezogen werden (Abb. 21-23). In der Regel wird zur Berechnung der freien Grenzflächenenergie der Fortschreitwinkel benutzt. Der Rückzugswinkel erlaubt eine Aussage über die

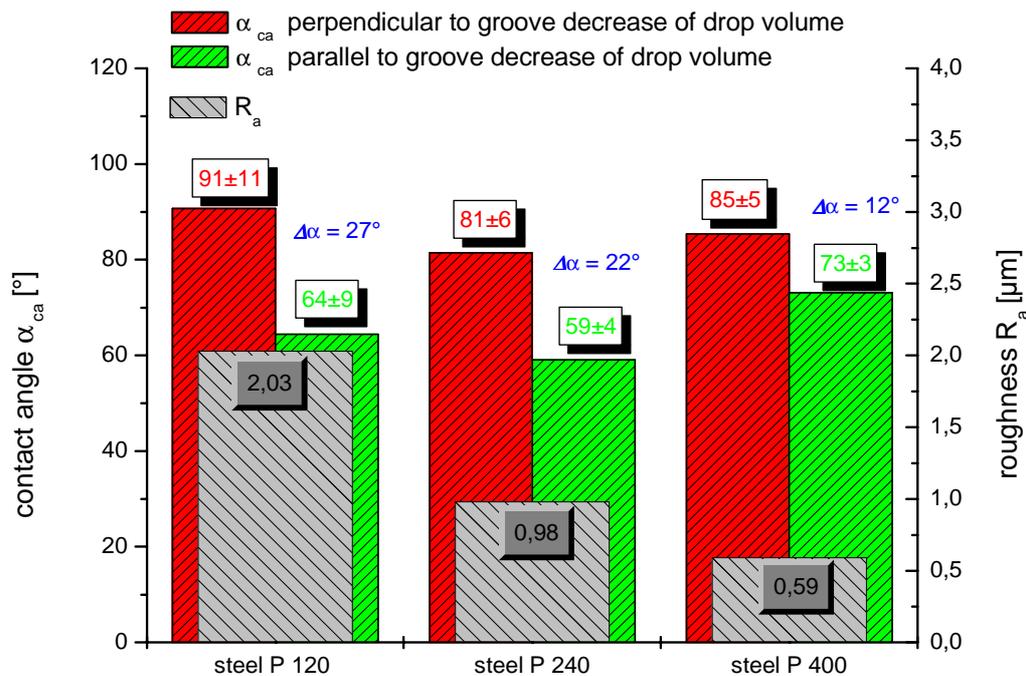
makroskopische Rauigkeit des Festkörpers. Diese Korrelation wird an den verschiedenen Oberflächen von Stahl exemplarisch nachgewiesen.



**Abb. 21:** Oberflächenenergie von Stahl unterschiedlicher Bearbeitungsstufen (PTFE und Emaille zum Vergleich)



**Abb. 22:** Kontaktwinkel  $\alpha_{ca}$  von Wasser auf Stahl vs. Rauheit  $R_a$  in Abhängigkeit von Vorzugsrichtung (Fortschreitewinkel)



**Abb. 23:** Kontaktwinkel  $\alpha_{ca}$  von Wasser auf Stahl vs. Rauheit  $R_a$  in Anwesenheit orientierter Rillen (Rückzugswinkel)

#### B.4. Zusammenfassung und Ausblick

Die einzelnen Ergebnisse lassen sich thesenmäßig wie folgt zusammenfassen [6]:

- Die **Folienabdrucktechnik** ist ein abbildungstreues Replikaverfahren für Mikrorauheiten: ambulante Diagnostik, komplexe Geometrien.
- Die **Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM)** ist Topographiemessverfahren mit hoher **Praxisrelevanz**: schnell, 3D-erfassend, berührungslos, fast beliebige Reflektivitäten (Original und Replika) sind akzeptierbar, geeignet für duktile Werkstoffe und gekrümmte Oberflächen, mit großem Arbeitsabstand, Abbildung von ca. 1000  $\mu\text{m}^2$  bis zu einigen 10  $\text{mm}^2$  mit einer Aufnahme.
- Zur **Validierung** wurden Rasterelektronenmikroskopie (**REM**) – für die Replikaverfahren – bzw. Atomkraftmikroskopie (**AFM**) – für die Topometriebewertung – erfolgreich eingesetzt (vertikale und horizontale Auflösung, Rauheitskennwerte)
- Die **Weißlichtinterferenzmikroskopie (WLIM)** garantiert im Bereich der Mikrorauheiten den nahtlosen **Anschluss an die mechanische Profilometrie**.
- Zur **Standardisierung des WLIM-Verfahrens** wurde eine **VDE-Richtlinie** im Entwurf erarbeitet, die 2003 veröffentlicht wird.
- Beim Zusammentreffen von Mikrorauheiten und **makroskopischen Fehlstellen bzw. im Bereich höchster Auflösungen** offenbart die Validierung (hard- und softwarebezogen) materialabhängig Diskrepanzen in der Modellierung.
- Die Bestimmung der **Oberflächenenergie** aus Randwinkelmessungen wird durch **Werkstoff-, Rauheits- und Anisotropie-Effekte** beeinflusst.
- Für **höherenergetische** isotrope Oberflächen (z. B. Stahl) ist der **Rauheitseinfluss** weniger ausgeprägt als für **niederenergetische** (z. B. PTFE).
- Die experimentellen **Werkstoff-Kennwerte** (Rauheit, Oberflächenenergie) lassen sich bei Abwesenheit von makroskopischen Fehlstellen und Anisotropien unter Verwendung von ge-

- eigneten Modellen mit **steriltechnisch relevanten Kenngrößen** (Haftung, Kinetik) korrelieren (Abschnitte S und W).
- Die modellmäßige Erfassung der steriltechnisch kombinierten Wirkung von Oberflächen - Topometrie und Oberflächen-Energie Anteilen liefert einen **klassifizierbaren 3D-Rauheitskennwert** (Abschnitt S).

Zusammenfassend kann festgestellt werden: Solange die untersuchten Oberflächen ungestört, d.h. homogen, isotrop und fehlerstellenfrei waren, ließen sich die erarbeiteten Präparations- und Messverfahren auch unter industriellen Randbedingungen validieren.

Inhomogenitäten (lokale Defekte und Ablagerungen), Anisotropien (Schleif- bzw. Schälriefen) sowie sonstige Oberflächenabweichungen und Fehlerstellen (Oxidschichten, Luftfeuchtheitsfilme, Kratzer, Risse) führen zu Problemen der präparativen und messtechnischen Erfassung bzw. der Validierung.

Auch wenn in dem hier vorgestellten Vorhaben bezüglich dieser kritischen Punkte erste experimentelle Voraussetzungen (zusätzliche Interferometer-Objektive, Validierung der Federkonstanten des AFM-Cantilevers, zusätzliche Rauheitsstandards) geschaffen wurden, muss in dem zwischenzeitlich bewilligten Anschlussvorhaben (Kenn-Nr. AiF-FV 13586 N) diesen kritischen Stellen in ihrer Erfassung, Beschreibung und Auswirkung auf die steriltechnische Reinigbarkeit von Oberflächen das Hauptaugenmerk geschenkt werden.

## B.5 Literatur

- [1] M. Weise: Untersuchung von Replikatechniken zur indirekten Topographischen und topometrischen Prüfung technischer Oberflächen
- [2] U. Beck, W. Weise: Replica-Techniques for Indirect Inspection of Surface and Coating Defects and for Evaluation of Topography and Topometry of 3D-Shaped Surfaces
- [3] U. Beck, S. Baudach, J. Arndt: Damage Analysis of Coating Substrate Systems: Multiprobe Techniques for the Evaluation of Defects and Surface Topography from the Micrometer- to the Nanometer-Range
- [4] Heribert Stroppe: Physik für Studenten der Natur- und Technikwissenschaften, S. 119-120 (11. Auflage 1999)
- [5] Manuel of Krüss GmbH: Theorie of Drop Shape Analysis
- [6] U. Beck, G. Reiners, N. Gamer, R. Schmidt, B. Weigl: Material- and Topography-Related Surface Features of Components for Food Production Facilities: Contamination, Adhesion and Cleaning of Species

## B.6 Danksagung

Neben den eigentlichen Vorhabenmitarbeitern danken wir insbesondere Herrn Matthias Weise und Herrn Dr. Steffen Baudach, die wesentliche Beiträge zur erfolgreichen Projektbearbeitung auf den Gebieten der Replikatechnik und der Validierung der optischen Messtechnik erbracht haben.

## **W Reinigungstechnische Evaluierung der Oberflächen**

In Absprache mit den Mitgliedern des projektbegleitenden Ausschusses wurden folgende Materialien als Untersuchungsflächen ausgewählt:

Als Vertreter der Metalle kam Edelstahl 1.4404 (316 L), kaltgewalztes Vormaterial (cIII) zum Einsatz. Zusätzlich wurde das Ausgangsblech jeweils mit Korn 120, Korn 240 und Korn 400 geschliffen sowie mit einem Standartabtrag von ca. 30 – 40  $\mu\text{m}$  elektropoliert werden. Ferner wurden alle Proben (Korn 120, 240 und 400) ebenfalls mit einem Abtrag von ca. 30 - 40  $\mu\text{m}$  elektropoliert. Es standen insgesamt 8 Metall-Proben zur Verfügung. Als Vertreter der Kunststoffe wurde der in der Lebensmittelpraxis häufig eingesetzte Auskleidungs- und Dichtstoff PTFE eingesetzt. PTFE gilt aufgrund seiner Porenstruktur als schlecht reinigbar. Bei den untersuchten PTFEs handelt sich um emulsions- und suspensionspolymerisierte Typen sowie vollfluorierte Thermoplaste, die FDA-Zulassung haben. Für die ersten Untersuchungen kamen die Typen TFM 2001 (für Rohre und Schläuche), TFM 1600 (für Apparatebau) und PFA 6502 (für Folienherstellung) in Plattenform zum Einsatz. Stellvertretend für die Gruppe der Gläser werden verschiedene Typen von Email verwendet. Nachdem die Oberflächen von der Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung in Berlin (BAM) bezüglich Rauheit und Oberflächenenergie untersucht wurden, werden am Lehrstuhl für Maschinen- und Apparatekunde die Trennkräfte zwischen Glaskugeln (zum Kalibrieren der Meßsysteme) sowie Mikroorganismen und den Testoberflächen bestimmt. Die für die Messungen im Strömungskanal verwendeten Plättchen haben eine Länge von 40 mm, eine Breite von 20 mm und eine Höhe von 2 mm. Die Plättchen für das Atomic Force Microscope (AFM) und die Zentrifuge müssen kleiner sein. Ihre Maße sind 10 x 10 x 2 mm. Die geschliffenen Stahloberflächen wurden in zwei Ausführungen verwendet: in Schleifrichtung, d.h. mit der Krafrichtung, und gegen Schleifrichtung, d.h. quer zur Ausrichtung der angreifenden Kraft.

Die Glaskugeln haben einen mittleren Durchmesser von 22,30  $\mu\text{m}$ , die Hefezellen einen von 5,45  $\mu\text{m}$ . Die Partikelgrößenverteilungen stammt aus einer Laserbeugungsmessung. Die Messungen wurden in der „natürlichen“ Umgebung der Hefezellen, in wässriger Lösung, durchgeführt.

### **W.1 Einflussparameter auf die Trennkräfte zwischen Partikeln und Oberflächen**

#### **W.1.1 Van der Waals Kräfte**

Bei Partikeln mit einem Durchmesser größer als 100  $\mu\text{m}$  dominiert die Gewichtskraft. Reduziert sich der Durchmesser der Partikeln, nimmt der Einfluss der Gewichtskraft im Verhältnis der dritten Potenz des Partikeldurchmessers ab. Die Anziehungskräfte zwischen den Stoffen nehmen jedoch in Relation dazu in der sechsten bis siebten Potenz des Partikeldurchmessers zu. So hat beispielsweise ein Partikel mit 1  $\mu\text{m}$  Durchmesser eine um  $10^6$  höhere Anziehungskraft als die Gewichtskraft des Partikels. Die Haftkräfte setzen sich hauptsächlich aus den Einzelanteilen van der Waals Kraft, Elektrostatik und Kapillarkraft zusammen [1, 21].

Grundsätzlich können verschiedene Haftsysteme in Betracht kommen: das Platte-Platte-Modell, das Kugel-Kugel-Modell und das Kugel-Platte-Modell. Letzteres beschreibt das Haftsystem Mikroorganismus bzw. Partikel auf einer Oberfläche am besten. Deshalb wird im Folgenden ausschließlich auf Basis dieser Vorstellung gearbeitet. Sonderfälle werden hier nicht betrachtet. Zur Berechnung der Haftkräfte müssen stark vereinfachte Modelle herangezogen werden, da das Energiespektrum der Oberflächen meist unbekannt ist und diese

Vorgänge in starkem Maße von Oberflächenverunreinigungen sowie durch Adsorption von Fremdstoffen beeinflusst werden [21].

Die Größe der van der Waals Kraft  $F_{\text{vdW}}$  für die Modellkombination Kugel-Platte berechnet sich nach Gleichung (W.1):

$$F_{\text{vdW}} = \frac{H \cdot d}{12 \cdot a^2} \quad (\text{W.1})$$

wobei  $H$  die Hamaker Konstante,  $a$  der Adhäsionsabstand und  $d$  der Kugeldurchmesser ist. Im Falle der Haftung, also des Berührens von Partikel und Oberfläche, würde sich der Abstand  $a$  dem Wert null annähern und die berechenbare Haftkraft würde gegen den Wert unendlich laufen. Die Partikel sind demnach rechnerisch nicht mehr von der Oberfläche abzutrennen. Dies widerspricht den Beobachtungen. Deshalb wurde ein Grenzwert für  $a$  als Anpassungsparameter eingeführt. Dieser liegt im Bereich von einer Atomgröße. In dieser Arbeit wird mit einem Anpassungsparameter  $a_0$  von  $4 \text{ \AA}$  bzw.  $0,4 \text{ nm}$  gerechnet [5, 16].

Die Haftkräfte können aus zwei „Anteilen“ zusammengesetzt werden: dem Materialteil und dem Geometrieteil. Den Materialteil beschreibt die Hamaker Konstante. Die Hamaker Konstante des Haftsystems kann aus Tabellenwerken entnommen oder über Kontaktwinkelmessung [14, 22] (Oberflächenenergie) bestimmt werden. Näherungsweise kann der Zusammenhang von Hamaker Konstante und Oberflächenenergie  $\gamma_s$  durch Gleichung (W.2) aufgestellt werden [11].

$$H \approx \gamma_s \cdot 24 \cdot \pi \cdot (0,165 \text{ nm})^2 \approx \gamma_s \cdot 2,053 \cdot 10^{-18} \cdot \text{m}^2 \quad (\text{W.2})$$

Die Hamaker Konstante des Systems Hefezelle in Wasser suspendiert auf Stahl ist  $4,20 \cdot 10^{-20} \text{ J}$ , die von Galskugeln in Wasser auf Stahl liegt bei  $5,80 \cdot 10^{-20} \text{ J}$ .

In den Geometriefaktor geht die Partikelgröße und v.a. der  $R_a$ -Wert der Oberfläche der über  $a^2$  ein. Dieser kann nur auf einen Mittelwert festgelegt werden und unterliegt Schwankungen. Da die Oberfläche durch den  $R_a$ -Wert nicht als ideal glatt angesehen werden kann, schwankt damit der Abstand der Hefezelle von der Oberfläche. Die Hefezelle kann sich in Täler bzw. Mulden der Oberflächenrauigkeit anlagern. Dies hat veränderte Berührungspunkte, Abstände und somit Haftkräfte zur Folge [8].

Einen Ansatz in dem die Oberflächenenergie und die Rauheit der Oberfläche (somit auch die rauheitsbedingt geänderte Oberflächenenergie) in die Berechnung der van der Waals Kraft mit eingeht, beschrieb Johnson, Kendall und Roberts (JKR). Das Gleichgewicht zwischen glattem, weichem Partikel auf glatter, weicher Oberfläche wird durch die Elastizitätskräfte der Kontaktflächen beeinflusst. Das JKR Modell stellte den Zusammenhang zwischen diesen beiden Einflussgrößen basierend auf der Hertz'schen Theorie her [6, 12]. Die Berechnung kann bei gegebenem Kugelradius  $d/2$  und der Oberflächenenergie  $\gamma_s$  mit Gleichung (W.3) erfolgen.

$$F_{\text{JKR}} = 3 \cdot \pi \cdot \frac{d}{2} \cdot \gamma_s \quad (\text{W.3})$$

Eine weitere Möglichkeit der Kraftberechnung über die Oberflächenenergie beschreibt die Beeinflussung von Kontaktdeformation und molekularer Anziehung zwischen einer elastischen Kugel und einer starren Ebene, das sogenannte Derjaguin-Muller-Toporov Modell (DMT). Die Kräfte unterscheiden sich jedoch nur unwesentlich von mit dem JKR Modell entwickelten.

Im Teil B.2 wurden von der BAM Oberflächenenergien der Testoberflächen bestimmt. Für alle Stahlproben betragen sie etwa 32 mN/m, für PTFE etwa 18 mN/m und für Email und Glas 50 mN/m. Beispielhaft soll nach Gleichung (W.3) die Trennkraft zwischen Glaskugeln und Stahloberfläche nach JKR berechnet werden.

$$F_{JKR} = 3 \cdot \pi \cdot \frac{d}{2} \cdot \gamma_s = 3 \cdot \pi \cdot \frac{22,30\mu\text{m}}{2} \cdot \sqrt{0,032 \cdot 0,050} \text{ N/m} = 4,3 \cdot 10^{-6} \text{ N}$$

### W.1.2 Elektrostatische Kräfte im flüssigen Medium

In Flüssigkeit kann sich in ionenhaltiger Umgebung ein Abstoßungspotential entwickeln. In flüssiger Umgebung (Wasser bei pH = 7) sind Feststoffteilchen meist negativ geladen. Somit können hier die elektrostatischen Kräfte einer Adhäsion entgegenwirken [17].

Teilchen sind von einer Ladungswolke umgeben. Am Teilchen sind Ladungen an der Oberfläche adsorbiert. Diese Ladungen werden in der Ionenwolke um das Teilchen kompensiert. Diese Wolke wird diffuse Schicht genannt. Die diffuse Schicht aus nicht fixierten, beweglichen Ionen ist kein festes, starres Gebilde. Es kommt bei der Diffusionsbewegung des Teilchens zu Reibungskräften und dadurch zu einem teilweise Abstreifen der Gegenionen an einer Scherebene. Das geladene Teilchen kann aufgrund der abgestreiften Gegenionen die negativen Ladung nicht mehr kompensieren. Es ist nach außen hin nicht mehr neutral, eine auf die Umgebung wirksame Potentialdifferenz ist entstanden. Dieses Potential wird als Zeta-Potential bezeichnet. Das Zeta-Potential ist stark von den dissoziierten Gruppen des geladenen Teilchens und somit vom pH-Wert abhängig.

Diffusionsbewegungen scheren nur eine wenige Ionen der diffusen Schicht ab. Das messbare Zeta-Potential ist gering. Wird die Abscherung z.B. durch mechanische oder elektrische Einflüsse unterstützt, steigt auch das Zeta-Potential an. Bei hoher Scherung rückt die Scherebene an die Partikeloberfläche. Das an der Scherebene vorhandene Zeta-Potential nähert sich dem Stern-Potential an. In der Praxis wird das relativ leicht messbare Zeta-Potential mit dem Stern-Potential gleichgesetzt [17].

Zur Bestimmung der Zeta-Potentials kann mit einem Partikelladungsdetektor gearbeitet werden. Ein Partikelladungsdetektor (PCD) besteht im wesentlichen aus einer Messzelle mit Goldelektroden sowie dem dazugehörigem Verdrängerkolben. Um zu verhindern, dass bereits in der Messzelle befindliche Ionen das Messsignal verfälschen, muss diese vor und nach jeder Messung gründlich gereinigt werden. In wässrigen Systemen kann mittels eines PCD schnell und quantitativ das PCD-Signal bestimmt werden. In die gereinigte Messzelle wird die zu untersuchende Probe gegeben, bis beide Goldelektroden mit Flüssigkeit bedeckt sind. Jetzt wird der Verdrängerkolben in die Messzelle eingesetzt, der über einen Motor definiert oszilliert. Der Kolben induziert eine oszillierende Flüssigkeitsströmung innerhalb der Messprobe. Die diffus um das Partikel verteilte Schicht wird definiert abgesteift. Es kommt zur Verschiebung der Ionenwolke um das geladene Partikel. An den beiden Goldelektroden, wird das PCD-Potential abgegriffen. In der Praxis wird das PCD-Potential mit dem Strömungspotential gleichgesetzt

MÜLLER zeigte den linearen Zusammenhang zwischen dem Strömungspotential und dem Zeta-Potential. Bei einem Strömungspotential von 0 mV ist das dazugehörige Zeta-Potential ebenfalls 0 mV. Das zweite Wertepaar wird über das PCD mit einer Lösung bekannten Zeta-Potentials bestimmt. Dieser Messpunkt und der Nulldurchgang erlauben im einfachsten Fall über den linearen Zusammenhang eine Korrelationsgerade zu konstruieren. Mehrere Wertepaare mit Lösungen unterschiedlichen Zeta-Potentials sind zu empfehlen.

Die elektrostatische Abstoßungsenergie  $V_R$  werden nach Gleichung (W.4) berechnet [13, 15].

$$V_R = 32 \cdot \pi \cdot d \cdot k_B \cdot T \cdot n \cdot l_D^2 \cdot e^{\frac{a}{l_D}} \cdot \left( \tanh \left( \frac{z \cdot e \cdot \zeta}{k_B \cdot T} \right) \right)^2 \quad (\text{W.4})$$

mit Gleichung (W.5)

$$l_D = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \cdot \epsilon_r \cdot k_B \cdot T}{2 \cdot e^2 \cdot n \cdot z^2}} \quad (\text{W.5})$$

- d = Partikeldurchmesser
- $k_B$  = Boltzmann-Konstante ( $k_B = 1,38 \times 10^{-23}$  J/K)
- T = absolute Temperatur (T = 298 K)
- n = Konzentration der Ionensorte (Annahme:  $n = 6 \times 10^{23}$  Stück / m<sup>3</sup> Flüssigkeit)
- $l_D$  = Debye-Länge (5 nm)
- a = Partikelabstand (Anpassungsparameter für  $a = 4 \times 10^{-10}$  m)
- z = Wertigkeit der Ionen (z = 2)
- e = Elementarladung ( $e = 1,6022 \times 10^{-19}$  C)
- $\zeta$  = Zeta-Potential
- $\epsilon_0$  = Dielektrizitätskonstante im Vakuum ( $\epsilon_0 = 8,8542 \times 10^{-12}$  C/(V m))
- $\epsilon_r$  = Dielektrizitätskonstante des Mediums ( $\epsilon_r = 80,18$ )

Mit Hilfe der Kalibriergeraden erfolgte die Darstellung des Zusammenhangs zwischen PCD-Signal und Zeta-Potential. Der hierzu verwendete Standard ist der „Zeta Potential Transfer Standard“ der Firma „Malvern Instruments Ltd (UK)“. Dieser hat ein konstantes Zeta-Potential von  $-50 \text{ mV} \pm 5 \text{ mV}$ .

Der gemittelte Wert der Dreifachbestimmung für das PCD-Potential des Zeta-Potential-Standards ergab  $-1452 \text{ mV}$ . Mit diesen Wertepaaren wird die nachfolgende Korrelationsgerade aus dem einen Messpunkt unter der vereinfachten Annahme des Nulldurchgangs aufgestellt (Bild W.1).

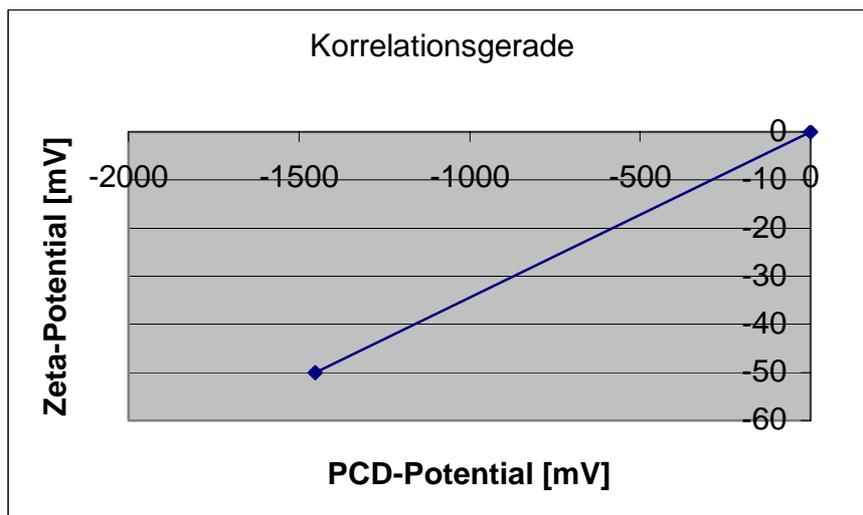


Bild W.1 Korrelationsgerade zwischen PCD- und Zeta-Potential

Daraus ergeben sich die Messwerte für das Zeta-Potential der Hefesuspension von  $-38 \text{ mV}$ , der Glasgugelsuspension von  $-43 \text{ mV}$  und der Stahlproben  $-20 \text{ mV}$ .

Die Abstoßungsenergie durch die Elektrostatik sowie die Anziehungsenergie durch die van der Waals Komponente können somit abstandabhängig berechnet werden.

### **W.1.3 Kapillarkräfte**

Kapillarkräfte treten auf, wenn sich Flüssigkeit zwischen zwei Festkörperoberflächen befindet (Dreiphasenkontakt). Die Kräfte werden zwischen hydrophilen Oberflächen aufgrund des Laplace Druckunterschiedes zwischen dem Flüssigkeitsinneren und dem umgebenden Fluid sowie der Oberflächenspannung der Flüssigkeit wirksam. Das Partikel haftet auf der Oberfläche durch den entstandenen kapillaren Unterdruck. Aufgrund der Oberflächenspannung gibt es eine Anziehungskraft zwischen benetzten Partikeln, die Agglomerate zusammenhalten kann. Ist ein Stoff von mischbaren Flüssigkeiten umgeben (wie im Rahmen dieser Arbeit z.B. Hefezellen in wässriger Suspension), ist kein Dreiphasenkontakt vorhanden. Es treten keine Kapillarkräfte auf [23].

### **W.1.4 Kombination der van der Waals und elektrostatischen Energie über die DLVO-Theorie**

Zur Beschreibung der effektiv auf ein suspendiertes Partikel wirkenden Kräfte ist es nötig, die Komponenten der attraktiven mit denen der repulsiven zu überlagern (DLVO Theorie). Das Zusammenführen von elektrostatischer Abstoßungsenergie und van der Waals Anziehungsenergie kann mit einer Wechselwirkungsergebnis dargestellt werden [15]. Die Überlagerung der van der Waals Wechselwirkung mit der Born'schen Abstoßung kann im nahen Bereich zu einem primären Minimum führen. Durch die unterschiedliche Abstandsabhängigkeit der van der Waals und elektrostatischen Haftkräfte überwiegt bei der Wechselwirkungsergebnis in größerem Abstand des Teilchens von der Oberfläche die elektrostatische Kraft. Es bildet sich ein Maximum aus. Ist diese Energiebarriere kleiner als  $10 \cdot k_B \cdot T$  können die Partikel durch Brown'sche Molekularbewegung agglomerieren. Ist sie größer  $10 \cdot k_B \cdot T$ , können sich Teilchen nur auf einen definierten Abstand nähern. Soll auf einen kleineren Abstand angenähert werden, müssen sie die Abstoßungsenergie überwinden. Es müsste dem System Energie zugeführt werden. Haben Teilchen die Energiebarriere in Richtung kleinerer Abstände überschritten, überwiegt meist Anziehung. Die Kurve der Wechselwirkungsergebnis hängt in großem Maße von der elektrostatischen Abstoßung und somit vom umgebenden Fluid ab. Bei größerem Teilchenabstand kann es wieder zu einem Bereich kommen, in dem die van der Waals Anziehung überwiegt. Dies führt dann zur Ausbildung eines sogenannten sekundären Minimums bei dem die Teilchen ebenfalls haften. Die Bindung im sekundären Minimum ist nicht so stark ausgeprägt wie im primären Minimum und kann durch mechanische Einwirkung leicht überwunden werden.

Deformationen der Partikel, Oberflächenrauheiten und Inhomogenitäten der Oberfläche werden jedoch bei diesen Betrachtungen nicht berücksichtigt. Die Messung der Trennkräfte von Partikeln oder Mikroorganismen kann helfen, tieferen Einblick in den Zusammenhang Partikel, Oberfläche und umgebendes Medium zu geben.

Mikroorganismen können sich im Gegensatz zu toter Materie aktiv bewegen. Zusätzlich können sie ihr Oberflächenpotential aktiv beeinflussen [3]. Viele Mikroorganismen befinden sich in wässriger Lösung, haben also eine Nettoladung. Durch die DLVO-Theorie für das System Mikroorganismus - Oberfläche in wässrigem Medium, würde sich im Kontaktbereich eine Abstoßung der Partikel ergeben. Dennoch haften viele Mikroorganismen auf Oberflächen. Spezielle Haftmechanismen und sogenannte extrapolymere Substanzen aus Proteinen und Zuckern spielen im Prozess der Mikroorganismenhaftung eine wesentliche Rolle. So können Zellen die wirkende Kontaktfläche verändern und z.B. vom sekundären

Minimum in das primäre Minimum der DLVO-Wechselwirkungsresultierenden „rutschen“. Ein feste Haftung ist die Folge. Pili und Geißeln können die Primäranheftung von Mikroorganismen unterstützen. Trotz dieser unterschiedlichen Anhaftungsvorgänge sind die physikalischen Grundprinzipien der Berechnung der Haftkraft von Mikroorganismen auf Oberflächen mit den gleichen Methoden der Haftkraftberechnung für Feststoffe durchzuführen. Für die Systeme Hefe-Wasser-Stahl und Glaskugeln-Wasser-Strahl sind die Einzelbeiträge der Energien und die Wechselwirkungsresultierende in Bild W.2 eingetragen.

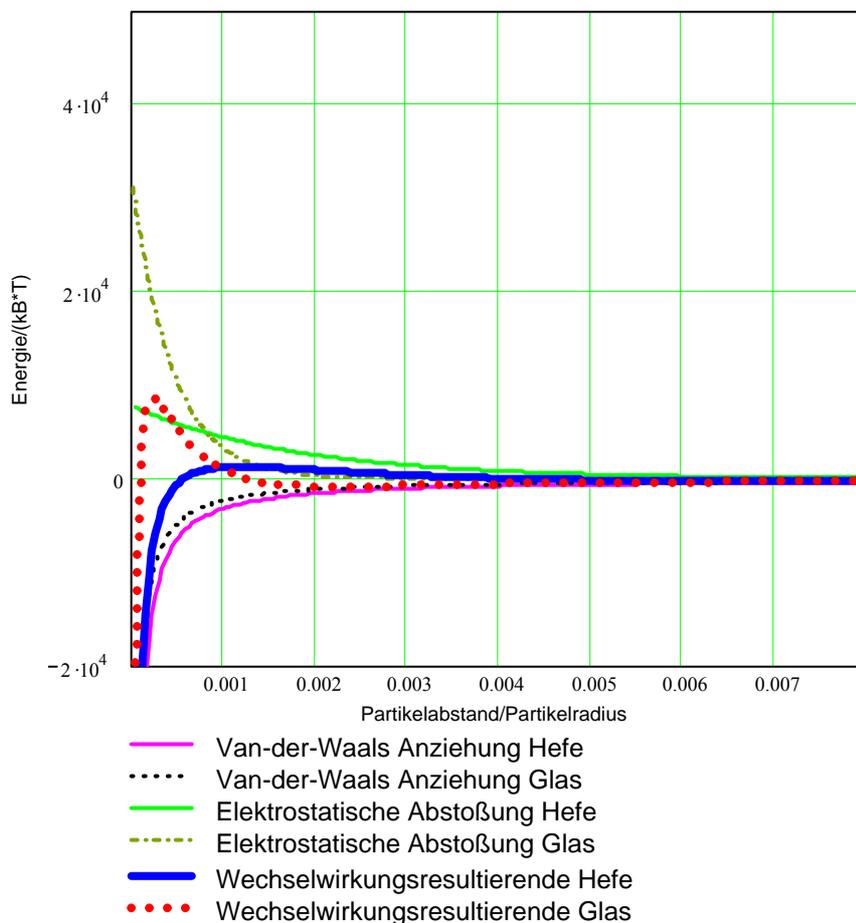


Bild W.2: Van der Waals Anziehungsenergie, elektrostatische Abstoßungsenergie und Wechselwirkungsresultierende für die Systeme Hefe bzw. Glas auf Stahl in Wasser

## W.2 Bestimmung der Trennkräfte

### W.2.1 Bestimmung der Trennkräfte von Hefezellen mit dem Atomic Force Microscope

Beim Atomic Force Microscope (AFM) tastet eine scharfe Spitze eine Probenoberfläche in geringstem Abstand ab. Zwischen der auf einem federnden Hebelarm (Cantilever) befindlichen Spitze und den Atomen der Probenoberfläche kommt es zur Ausbildung zwischenatomarer Kräfte. Zur Erstellung einer topographischen Karte der Probenoberfläche wird diese auf einer Piezokeramik befestigt und mit der Spitze des Cantilevers mechanisch abgetastet. Die Auslenkung des Cantilevers wird permanent mittels Laser detektiert [10].

Das AFM eignet sich nicht nur eine Probe abzubilden, sondern auch auftretende Trenn- bzw. Haftkräfte im Pico- und Nanonewtonbereich normal zur Oberfläche zu messen. Um Kraft-Weg-Kurven zu ermitteln, wird die Cantilever-Spitze senkrecht an die Probe angenähert und

anschließend wieder abgehoben. Die gemessenen Kräfte werden von der integrierten Software zu Kraft-Weg-Kurven verarbeitet. Mit dem AFM kann der Weg zum Trennen einer Probe bestimmt werden. Mit dem Hook'schen Gesetz kann zusammen mit der Federkonstante der Cantilevers die nötige Trennkraft errechnet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde als Mikroorganismus Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) verwendet. *Saccharomyces cerevisiae* wird in der Lebensmittelindustrie häufig als Leitorganismus für Verunreinigung und Restschmutz angesehen. Für die Trennkraftbestimmung sind die beiden in Kontakt stehenden Oberflächen relevant. Die Zellwand der Hefe macht ca. 20 % des Hefegewichts aus. Sie besteht aus mehreren Schichten 1,3 - Glucan, Eiweiß, und Lipiden. An ihrer Oberfläche ist die Zellmembran von einer Schleimhülle umgeben, dem sogenannten Hefegummi, der sich überwiegend aus Mannan aufbaut (Bild W.3).

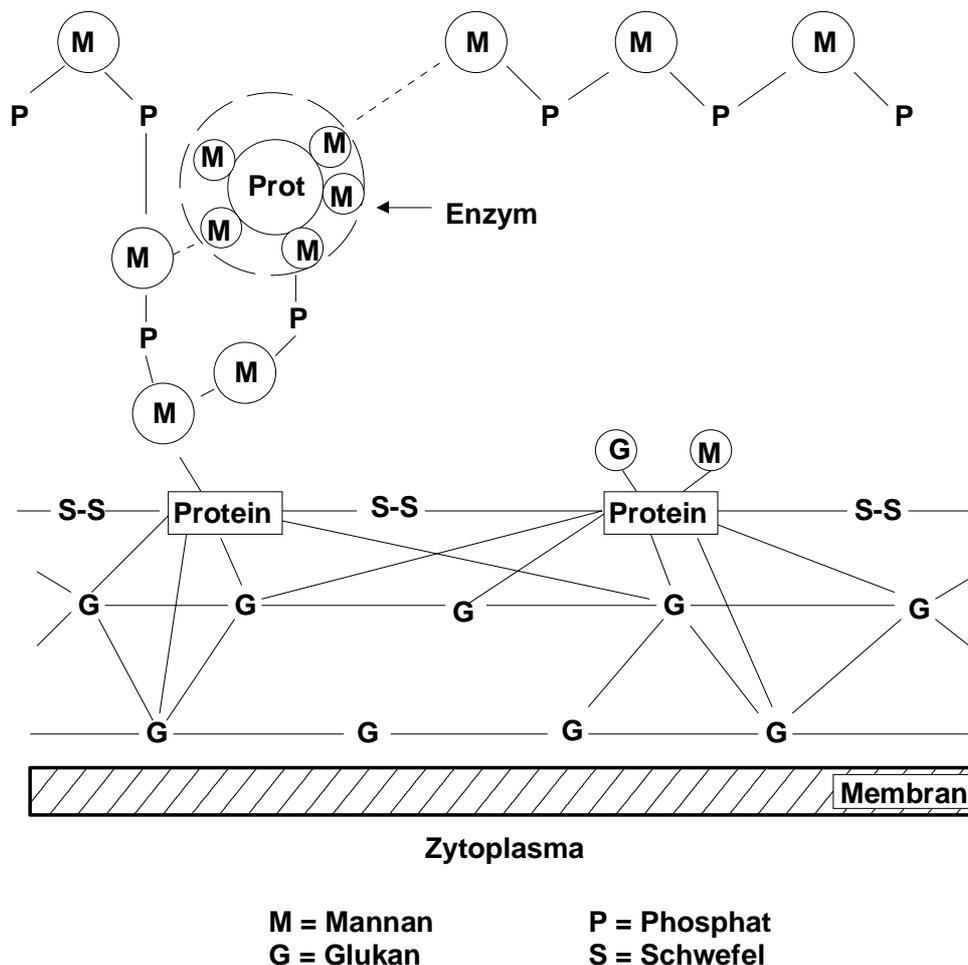


Bild W.3      Schematischer Aufbau der Oberfläche einer Hefezelle

Diese Zusammensetzung der Oberflächen wird zur Befestigung der Hefezelle am AFM Cantilever genutzt. Es wäre möglich handelsüblichen Klebstoff zum Befestigen der Hefezelle am Cantilever zu nehmen, doch würde z. B. durch das darin enthaltene Lösungsmittel die Hefezelle abgetötet werden oder die Beschaffenheit der Hefezelle verändern. Die Immobilisierung, d.h. das „Ankleben“ der Hefezelle am Cantilever erfolgt deshalb durch eine sogenannte Funktionalisierung [24]. Zur Befestigung der Zellen am Kraftsensor wird dieser silanisiert und anschließend ein Lektin angekoppelt. Das Lektin Concanavalin A [4] ist ein Protein und bindet spezifisch an die auf der Zelloberfläche reichlich vorhandenen Glykoproteine (Bild W.4).

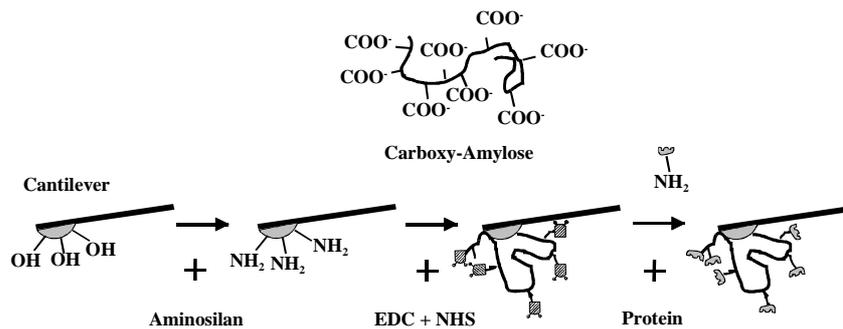


Bild W.4 Funktionalisierung eines AFM Cantilevers

Zur Bestimmung der Haftkräfte wird ein funktionalisierter Cantilever, an dem die Hefezelle befestigt worden ist, in das Kraftmikroskop eingespannt und Kraft-Weg-Kurven aufgezeichnet. Die Untersuchungen wurden in einer Fluidzelle in wässriger Umgebung durchgeführt. Die natürliche Umgebung der Hefezellen konnte somit simuliert werden. Die Auswertung der Kraft-Weg-Kurven erfolgte mit dem von VINTZELBERG selbst erstellten Programm „Force 3“. Mit dem AFM kann pro Messung lediglich eine Trennkraft zwischen Partikel und Oberfläche bestimmt werden. Viele Messungen an einem Ort bzw. in einer Matrixmessung erlaube statistische Aussagen. Nach exakter Messung des Weges zur Trennung muss die Federkonstante  $k$  des Cantlievers möglichst exakt bestimmt werden. Es gibt sowohl theoretische als auch praktische Methoden zur Bestimmung der Federkonstante.

### W.2.1.1 Berechnung der Federkonstante aus Abmaßen

Es ist nur selten der Fall, dass die exakte Federkonstante von Cantilevern angegeben ist, da sie meist auf der theoretischen Bewertung der Geometrie und der elastischen Eigenschaften beruhen. Die Berechnung [10] eines einfachen rechteckigen Cantilevers erfolgt nach Gleichung (W.6).

$$k = \frac{E \cdot t^3 \cdot w}{4 \cdot l^3} \quad (\text{W.6})$$

Die meisten Federn sind „v-förmig“. Die Berechnung der Federkonstante eines „v“-geformten Cantilevers beruht auf Gleichung (W.7).

$$k = \frac{E \cdot b^3 \cdot d \cdot t^3}{2 \cdot l^3 \cdot (4 \cdot d^3 + b^3)} \quad (\text{W.7})$$

$k$  = Federkonstante,  $E$  = Youngs Modulus,  $t$  = Cantileverdicke,  $w$  = Cantileverbreite,  $l$  = Cantileverlänge,  $b$  = Basisbreite des dreieckigen Cantilevers

Außerdem vernachlässigt diese Vorgehensweise die Möglichkeit, dass die Feder einen strukturellen Defekt aufweisen und die Cantilever-Geometrie variieren könnte. In die Federkonstante geht zum Beispiel die Cantilever - Dicke  $t$  in der dritten Potenz ein. Schon aus kleinen Variationen in der Dicke  $t$ , können große Veränderungen der Federkonstante  $k$  resultieren.

### W.2.1.2 Federkonstantenbestimmung mit der Methode der angehängten Masse

Bei der Methode der angehängten Masse wird die effektive Masse  $m^*$  des Cantilevers und die Federkonstante  $k$  durch Anhängen einer bekannten Masse  $M$  einer Glaskugel an den Cantilever und durch die Messung der Änderung der Resonanzfrequenz  $\nu$  bestimmt. Das Anhängen erfolgt hierbei nur durch Adhäsion von Glaskugeln, nicht durch Kleben [10]. Anschließend wird das Partikel so abgelegt, dass später sein Durchmesser unter dem Mikroskop gemessen, und daraus mittels der Dichte die Masse  $M$  berechnet werden kann. Ist das für unterschiedliche große Partikel geschehen, ergibt sich die Federkonstante aus Gleichung (W.8).

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \cdot \sqrt{\frac{k}{M+m^*}} \quad (\text{W.8})$$

$m^*$  ist die effektive Masse die von der Cantilever – Geometrie abhängig ist. Für einen gleichförmigen Cantilever von rechteckiger Form beträgt die effektive Masse  $m^* = 0,24 \cdot m_b$ , wobei  $m_b$  die Masse des Cantilevers darstellt. Da jedoch durch Anhängen verschiedener Massen bzw. verschieden großer Kugeln, die Federkonstante ohne Berechnen der effektiven Masse  $m^*$  ermittelt werden kann, ist hier die Cantilever - Geometrie ohne Bedeutung. Dadurch, daß mindestens zwei verschiedene Massen an den Cantilever angehängt werden, ergeben sich zwei Gleichungen mit zwei Unbekannten. Die Masse  $M$  der Partikel wurde durch Messen des Kugeldurchmessers mit dem Mikroskop und Verwendung der mit einem Pyknometer bestimmten Glasdichte von  $2501,7 \text{ kg/m}^3$ , berechnet.

### W.2.1.3 Methode der thermisch induzierten Fluktuation

Thermische Vibrationen des Cantilevers sind eine wesentliche Quelle des Rauschens beim Kraftmikroskop [2]. Durch die Messung der thermisch angeregten Zitterbewegung konnte die Federsteifigkeit des Kraftsensors bei kleinsten Auslenkungen bestimmt werden. Ein Teilchen in einem System mit der Temperatur  $T$  besitzt die mittlere thermische Energie  $\frac{1}{2} k_B T$  der regellosen thermischen Bewegung. Hierbei ist  $k_B$  die Boltzmannkonstante und  $T$  die absolute Temperatur. Es gilt Gleichung (W.9).

$$\frac{1}{2} \cdot k_B \cdot T = \frac{1}{2} \cdot k \cdot \hat{z}^2 \quad (\text{W.9})$$

Diese Zitterbewegung beruht auf der Brown'schen Molekularbewegung.  $z$  ist die mittlere Verschiebung während einer bestimmten Beobachtungszeit, und dadurch  $\hat{z}^2$  die mittlere quadratische Auslenkung des Cantilevers durch thermische Vibrationen. Daraus ergibt sich für die Berechnung der Federkonstante die Gleichung (W.10).

$$k = \frac{k_B \cdot T}{\hat{z}^2} \quad (\text{W.10})$$

### W.2.1.4 Befestigen der Hefe am Cantilever

Das Befestigen der Hefezelle wurde auf verschiedene Arten versucht. Als beste Methode erwies sich ein Umkehrmikroskop. In einer Petrischale wird eine Hefesuspension in Phosphatpuffer hergestellt, die so stark verdünnt wird, dass unter dem Umkehrmikroskop in

einem Gesichtsfeld nur noch 5 - 10 Hefezellen zu sehen sind. Es wird gewartet, bis sich die Hefezellen auf dem Boden der Petrischale abgesetzt haben. Dann wird mit dem selbstkonstruierten Mikromanipulator, an dem in diesem Fall der Cantilever mit der Spitze nach unten weisend befestigt ist, in die Suspension eingetaucht und eine Hefezelle aufgenommen. Der zweischenkellige, funktionalisierte Cantilever mit einer vorher ermittelten Federkonstante, an dem die Hefezelle schon befestigt ist, wird in das Kraftmikroskop eingespannt. Es wird mit der Nasszelle gearbeitet. Durch das Arbeiten im Medium Wasser wird der normale Lebensraum der Hefezelle simuliert. Zum Vergleich wurden auch einige Versuche im trockenen System durchgeführt. Die Haftkräfte sind durch die zusätzlich vorhandenen Kapillarkräfte deutlich größer.

### W.2.1.5 Ergebnisse der AFM Messungen

#### Vergleich der Federkonstantenbestimmungsmethoden

Die oben beschriebenen Methoden zur Bestimmung der Federkonstante sind prinzipiell alle zerstörungsfrei. Die Methode der Berechnung wurde getestet, zeigt jedoch dass hoher Aufwand dennoch zu großen Messfehlern führte. Die Methode wurde nicht weiter angewendet. Die Methode der des thermischen Rauschens ist schnell und einfach durchzuführen. Die Methode der angehängten Massen fordert zwar längere Zeit ist jedoch am Genauesten und somit die Methode der Wahl für die folgenden Versuche.

#### Vergleich der Trennkräfte für Messungen an einem Ort und Matrixmessungen

Die Messungen am AFM werden in zwei Weisen durchgeführt. Zuerst wird eine Hefezelle an den Cantilever mit definierter Federkonstante „geklebt“ und 400 mal die Trennkraft an einem Ort der Testoberfläche gemessen. Hiermit soll die Reproduzierbarkeit der Messungen geprüft werden. Daraufhin werden 400 verschiedenen Orte der selben Oberfläche in einem definierten Raster (Matrix) automatisch abgefahren und ebenfalls 400 Trennkräfte bestimmt (Bild W.5). Die Ermittlung der Homogenität der Oberfläche bezüglich Haftkraft bzw. Oberflächenbeschaffenheit ist Ziel dieser Messreihe. In der Abbildung ist auf der Abszisse die gemessene Trennkraft und auf der Ordinate die jeweilige Häufigkeit der gemessenen Kraft aufgetragen.

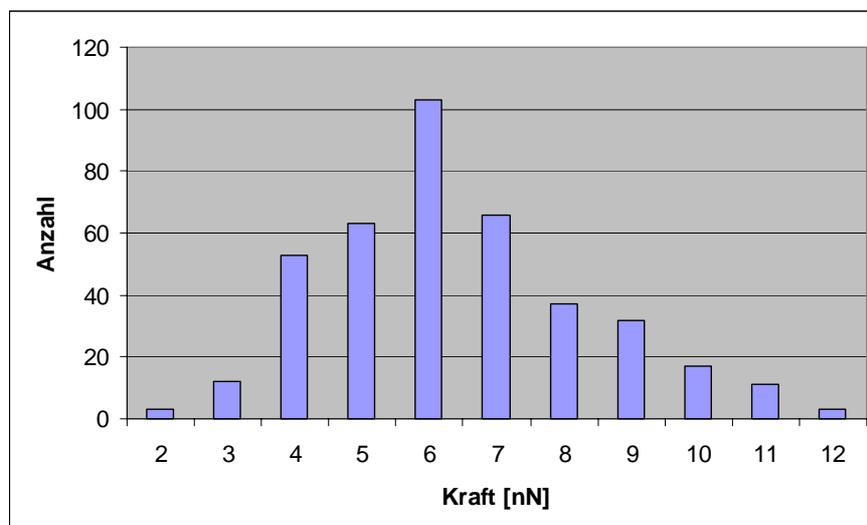


Bild W.5: Prinzip der Ergebnisdarstellung der Trennkraftmessung mit dem AFM

Sowohl bei den Messungen an einem Ort als auch bei den Messungen in der Matrix ist eine Haftkraftverteilung um einen Maximalwert zu erkennen. Da die Hefezelle bei der Matrixmessung auf verschiedene Orte der Oberfläche und somit auf verschiedene Rauheiten „trifft“ könnte die Streuung dadurch interpretiert werden. Die Streuung der Messung an einem Ort ist jedoch nur durch statistische Streuung um den Mittelwert zu erklären, da prinzipiell immer der gleiche Ort mit der Hefezelle vermessen wird. So ist zu vermuten, dass die Streuung bei der Matrixmessung ebenfalls sehr stark von der statistischen Streuung dominiert wird. Dennoch sind die Kräfte (Mittelwert und Maximalwert) in der gleichen Größenordnung, sodass die Homogenität der untersuchten Oberfläche festgestellt werden kann. Gleiches gilt für die anderen polierten Stahl- und Email sowie die PTFE-Oberflächen.

Bei den geschliffenen Stahloberflächen sind die Haftkraftverteilungen an einem Ort und bei der Matrixmessung ebenfalls gut miteinander vergleichbar, die Streuung um den Mittelwert nimmt jedoch deutlich zu.

Werden die verschiedenen Messreihen miteinander verglichen, so lässt sich auf praktisch allen Oberflächen bei der Matrixmessung eine (etwas) breitere Streuung der Trennkräfte erkennen, als bei den Messungen an einer Stelle der Probenoberfläche. Dieser Effekt wird wahrscheinlich durch die Oberflächenrauheit hervorgerufen. Die Trennkräfte unterliegen bei der Matrixmessung deutlich größeren Schwankungen. Die Trennkräfte bewegen sich jedoch trotz einer breiteren Streuung in der gleichen Größenordnung wie für die Messungen an einer Stelle der Probenoberfläche. Als Ursache dafür ist die Materialabhängigkeit der Hamaker Konstante anzusehen. Die Rauheiten scheinen keinen absolut dominierenden Einfluss zu haben. Im folgenden werden zur Charakterisierung des Haftsystems die Mittelwerte der Haftkraftverteilungen und deren Konfidenzintervall bei 95 % Vertrauenswahrscheinlichkeit miteinander verglichen.

### **Einfluß der Werkstoffe auf das Haftverhalten von Partikeln**

Der Einfluss des Werkstoffes auf die Haftkraft ist ein wesentlicher Parameter. Die Materialkonstanten gehen über die Hamakerkonstante  $H$  direkt proportional in die Haftkraft ein. Sowohl Messungen der Oberflächenenergie als auch die Trennkraftmessungen mit dem AFM zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den hochenergetischen Stahloberflächen und den niedrigerenergetischen PTFE-Oberflächen. Die PTFE-Oberflächen zeigen eine geringe Hamakerkonstanten und somit auch eine kleinere Haftkraft im Verhältnis zu den Stahloberflächen bei gleicher Rauheit und Partikelgröße. Das Verhältnis der mit dem AFM

bestimmten Trennkräfte ( $\frac{F_{\text{Stahl}}}{F_{\text{PTFE}}} = 8,5$ ) ist bei Konstanz der übrigen Einflussfaktoren nahezu

gleich dem Verhältnis der Hamakerkonstanten des Systems Oberfläche-Hefe-Wasser nach

( $\frac{H_{\text{Stahl}}}{H_{\text{PTFE}}} = \frac{7,87 \cdot 10^{-20} \text{ J}}{1,02 \cdot 10^{-20} \text{ J}} = 7,7$ ). Dies bestätigt die theoretischen Vorhersagen durch die

praktischen AFM-Messungen.

### **Zusammenhang zwischen Oberflächentopographie und Trennkraft**

Ein Vergleich der auf unterschiedlichen Oberflächen aufgezeichneten Kraft-Weg-Kurven verdeutlicht, dass auf glatten, elektropolierten Stahloberflächen höhere Kräfte nötig sind, um die Partikeln zu lösen als auf rauen (Bild W.6). Durch die glattere elektropolierte Oberfläche können die Partikeln eine größere Kontaktfläche und damit größere Haftkräfte ausbilden.

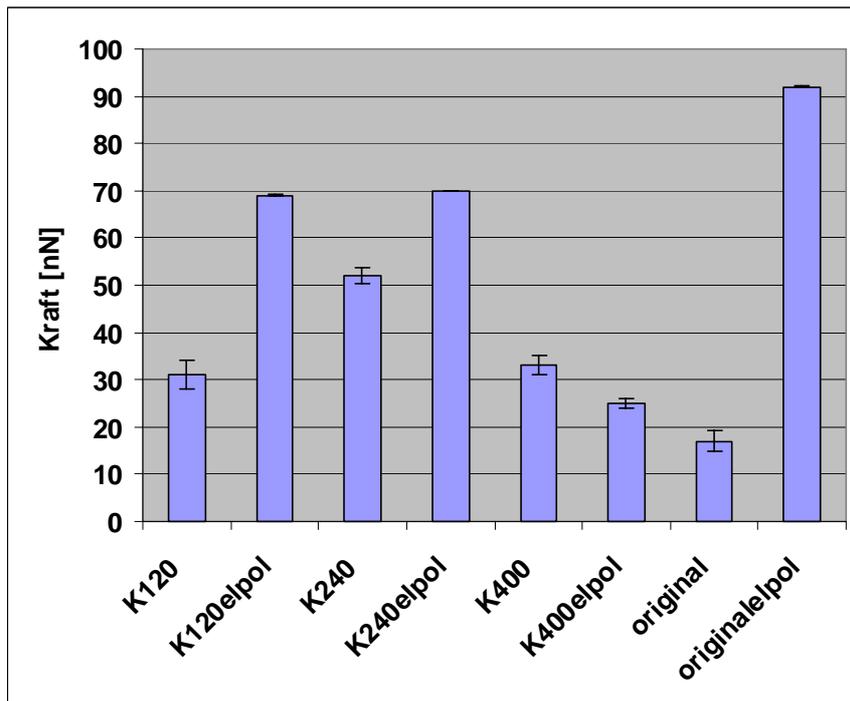


Bild W.6: Vergleich der Trennkraften von Oberflächen unterschiedlicher Rauheit (Glas-Wasser-Stahl)

Bei der geschliffenen, nicht elektropolierten Oberfläche kann das Partikel aufgrund der Rauheit nur eine relativ geringe Kontaktfläche ausbilden. Die Haftkraft verringert sich dementsprechend. Bei sehr rauen Oberflächen besteht die Möglichkeit, dass sich Partikel in den Rauheiten „verstecken“. Eine Reinigung ist deshalb ebenso nicht optimal möglich. Deshalb wäre es wünschenswert eine Oberflächentopographie, obwohl der Effekt auf weiteren Annahmen basiert, nach dem Prinzip des Lotus-Effektes zu haben.

## W.2.2 Trennkraftuntersuchungen mit der Zentrifugenmethode

Im Gegensatz zum AFM handelt es sich bei der Zentrifugenmethode um ein integrales Prinzip zur Trennkraftbestimmung. Es werden gleichzeitig viele Partikel durch die Zentrifugalkräfte abgeschleudert [19, 20]. Die Kräfte könne je nach Positionierung der Probe im Zentrifugenrotor in unterschiedlichen Winkel zur Oberfläche angreifen. Um die Probenoberflächen definiert in die Ultrazentrifuge (maximale Beschleunigung bei 90.000 U/min 692.000 g) einbringen zu können, wurden spezielle Zentrifugenadapter aus Polycarbonat gefertigt. Dieses Material besitzt hohe Festigkeit, gleichzeitig aber auch hohe Elastizität. Die Konstruktionszeichnung des Adapters ist in Bild W.7 zu sehen.

Allgemein kann die Zentrifugalkraft nach Gleichung (W.11) und (W.12) berechnet werden.

$$F_Z = m_{\text{Partikel}} \cdot r_{\text{eff}} \cdot \omega^2 = m_{\text{Partikel}} \cdot r_{\text{eff}} \cdot (2 \cdot \pi \cdot n)^2 \quad (\text{W.11})$$

$$m_{\text{Partikel}} = \rho_{\text{Partikel}} \cdot V_{\text{Partikel}} \quad (\text{W.12})$$

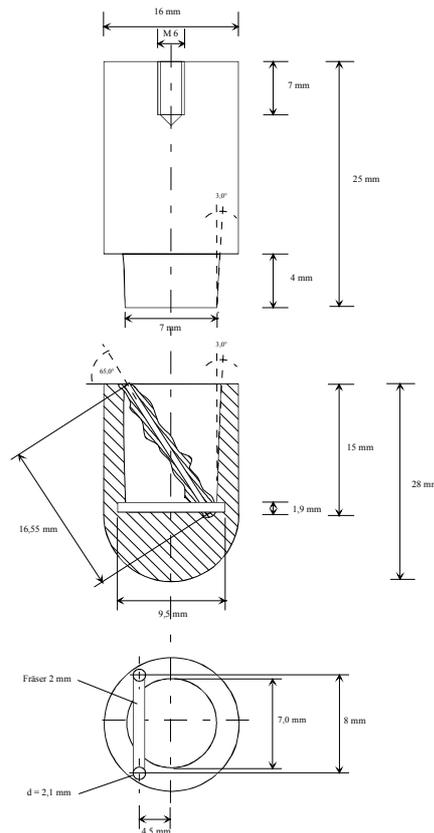


Bild W.7 Zentrifugenadapter aus Polycarbonat

Von dem Hefewürfel werden 2 g abgewogen und in ein Becherglas mit 150 ml Leitungswasser suspendiert. Anschließend werden die sorgfältig mit Ethanol und destilliertem Wasser gereinigten Plättchen in das Becherglas gegeben, welches mit einer Folie verschlossen wird. Pro Versuchsreihe werden drei Plättchen benötigt.

Nach 48 Stunden wird mit den Versuchen begonnen. Mit einer Pinzette wird ein Plättchen aus dem Becherglas entnommen. Der sedimentierte „Hefeschlamm“ wird durch einmaliges Eintauchen des Plättchens in ein Glas mit frischem Leitungswasser von diesem entfernt. Nur fest anhaftende Hefen verbleiben auf dem Plättchen. Das Plättchen wird mit Leitungswasser bedeckt. Dies verhindert ein Antrocknen der Hefezellen beim Mikroskopieren. Mit der automatischen Bildanalyse, die aus Mikroskop, Kamera, ansteuerbarem Tisch und der Auswertesoftware Image C besteht, werden pro Plättchen vor und nach dem Messen in der Zentrifuge 16 Bilder von exakt den gleichen Stellen auf der Probenoberfläche gemacht, die ausgewertet und verglichen werden. Nach der Zentrifuge wird die gleiche Anzahl Nachher-Bilder gemacht, an derselben Stelle beginnend. Durch Eingabe der Koordinaten fährt der Objektstisch an die gewünschte Stelle. Bei der Versuchsreihe mit Glaskugeln wurde ähnlich verfahren. Die Glaskugeln (als Kalibrierpartikeln) werden mit Hilfe einer Plastikimpföse auf dem Plättchen aufgebracht und verteilt sowie mit der Bildanalyse vermessen.

Mit der automatischen Bildanalyse, bestehend aus Mikroskop, Kamera, ansteuerbarem Tisch und Auswertesoftware besteht die Möglichkeit die Vorher-Nachher-Bilder von exakt den gleichen Stellen auf der Probenoberfläche anzufertigen, auszuwerten und zu vergleichen. Es könnte also prinzipiell jedes einzelne Partikel vermessen bzw. während der „Zentrifugenbehandlung“ der Testoberfläche verfolgt werden. Die gute Übereinstimmung des Originalbildes mit dem ausgewerteten Bild ist der Bild W.8 und Bild W.9 zu entnehmen.

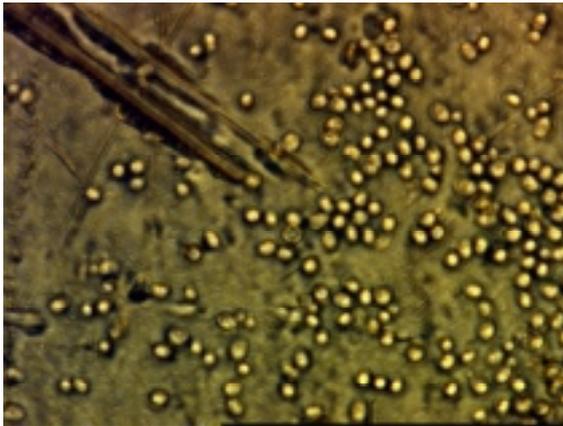


Bild W.8 Originalbild mit Hefezellen

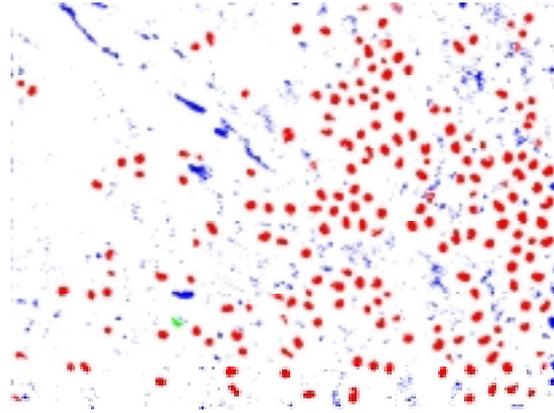
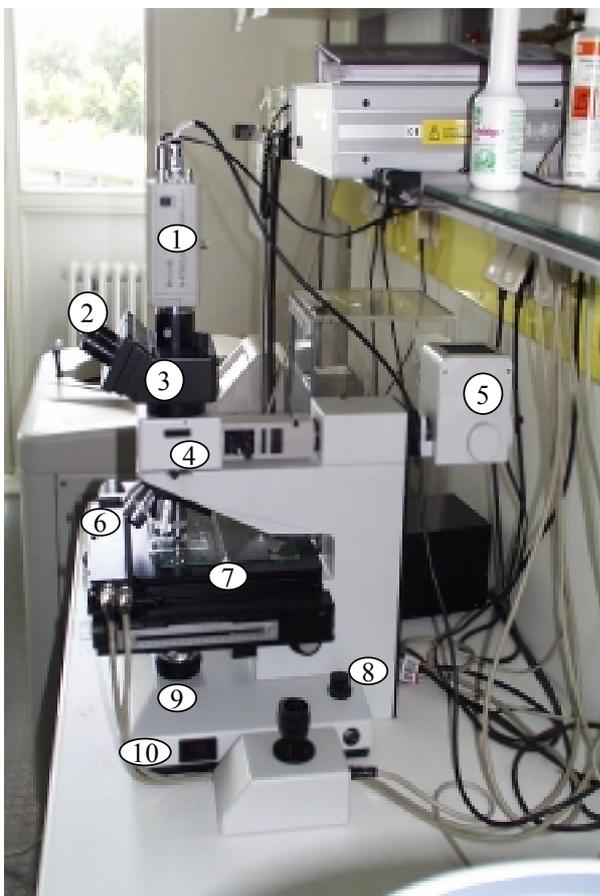


Bild W.9 Auswertung mit der Bildanalyse

Das Verhältnis aus der Anzahl der Partikel pro Bild nachher zu der Anzahl der Partikel vorher wird als Rückstand definiert. Der Rückstand hat Werte zwischen 0 und 1. In der Literatur wird die mittlere Haftkraft des Systems als der Rückstandswert bei einem Wert von 0.5 (50 % der Partikel wurden abgelöst) definiert.

Für die Versuche wurde das Mikroskop Ergolux von der Firma Leitz verwendet. Es ist u.a. mit einer Kamera, einem ansteuerbaren Tisch und einem 50-fachen Objektiv ausgestattet. Den Aufbau des Mikroskops zeigt Bild W.10. Das Mikroskop ist Bestandteil der automatischen Bildanalyse, die über die Auswertesoftware Image C der Firma Aquinto Landshut verfügt.



- 1 Kamera
- 2 Okularstutzen mit PERIPLAN GF Okularen
- 3 Binokulartubus SV
- 4 Filterschlitz für den Analysator
- 5 Lampenhaus 20 mit Halogenglühlampe 6V 20W
- 6 Fünffacher Objektivrevolver, motorisch drehbar
- 7 Objektisch
- 8 Rändelknopf zur Einstellung der Lampenhelligkeit
- 9 Leuchtfeldblendeneinsatz mit Filterauflage
- 10 Schalter für motorische Drehung des Objektivrevolvers

Bild W.10: Aufbau des Leitz-Mikroskops

Pro Haftsystm (hier: Hefe auf Stahl elektropoliert in Wasser) wurden mehrere Drehzahlen / Zentrifugalkräfte angewandt. Jeder Punkt im Bild W.11 ist aus einer Dreifachbestimmung ( $\bar{x}$  16 Vorher- und Nachher-Bildpaare). Das Konfidenzintervall ist mit einer Vertrauenswahrscheinlichkeit von 95 % berechnet worden. Mit steigender Drehzahl nimmt der Rückstand ab. In Bild W.12 ist die Abszisse in die Trennkraft / Zentrifugalkraft zur Ablösung der Partikeln transformiert worden. Auch hier ist wie beim AFM eine Haftkraftverteilung zu erkennen. Diese beruht auf den Rauheiten der Oberfläche und der Partikelgrößenverteilung.

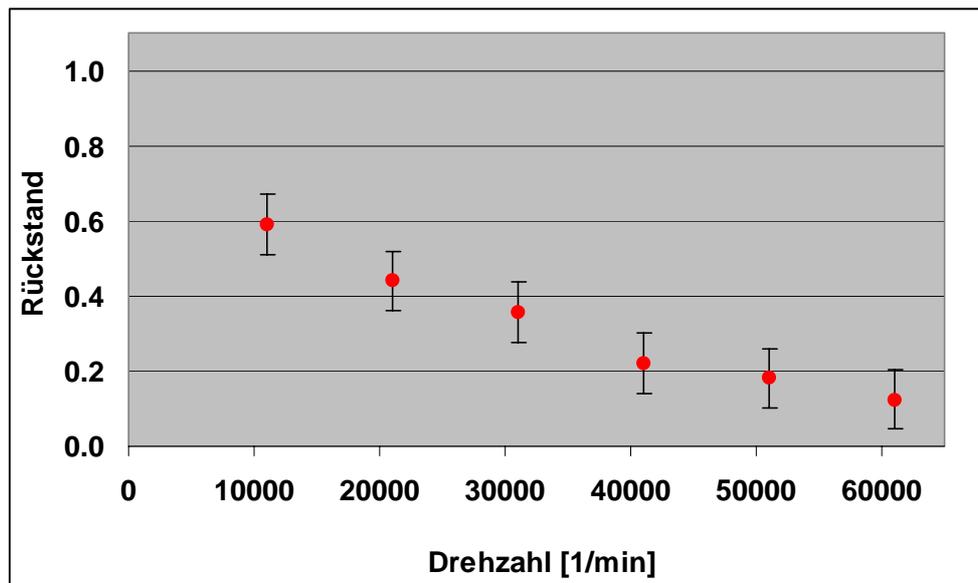


Bild W.11 Auftragung des Rückstandes über die Drehzahl

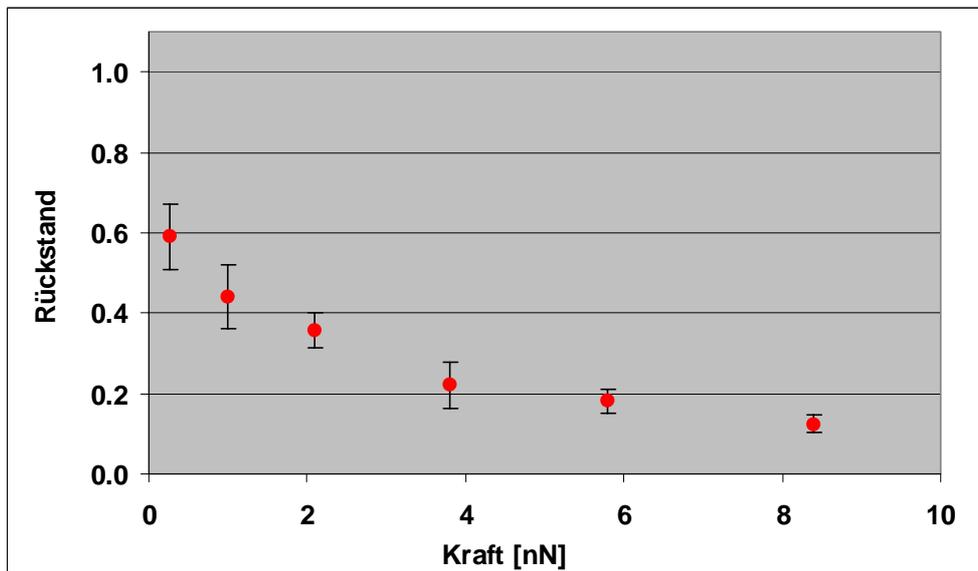


Bild W.12 Auftragung des Rückstandes über die Trennkraft

Die mittlere Haftkraft dieses Systems ist etwa 1 nN. Dieser Werte sind mit dem AFM nicht absolut vergleichbar liegen aber in der gleichen Größenordnung. Die Untersuchungen mit der Zentrifuge wurden sowohl im Trockenem als auch in wässriger Umgebung durchgeführt. Ein Vergleich der Ergebnisse im Trockenem zeigt Bild W.13. Auch hier sind die Verhältnisse der

Hamaker Konstanten (Oberflächenenergien) durch die Trennkraftmessungen bestätigt worden.

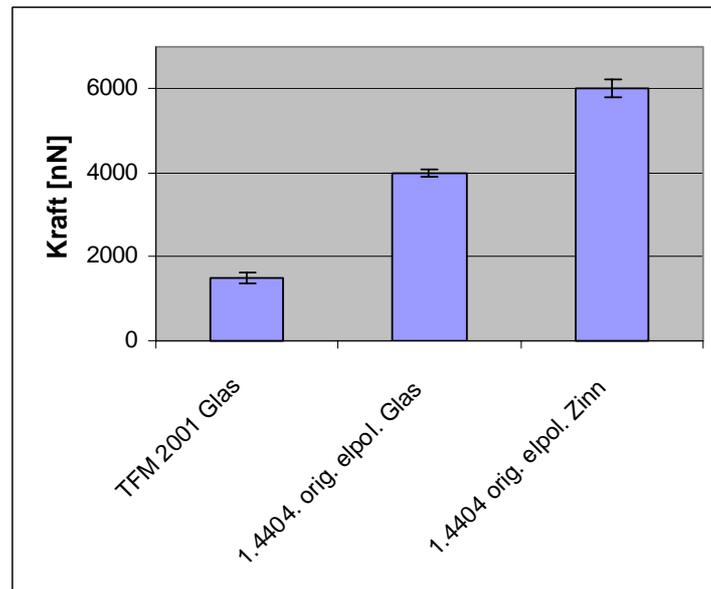


Bild W.13 Vergleich der Trennkraft unterschiedlicher Haftsysteme

Wurden die Hefezellen auf unterschiedlichen Oberflächen angetrocknet ist in Bild W.14 zu sehen, dass die Haftkräfte der Partikeln durch die zusätzlich auftretenden Kapillarkraft sogar größer als das 700.000-fache Eigengewicht sind.

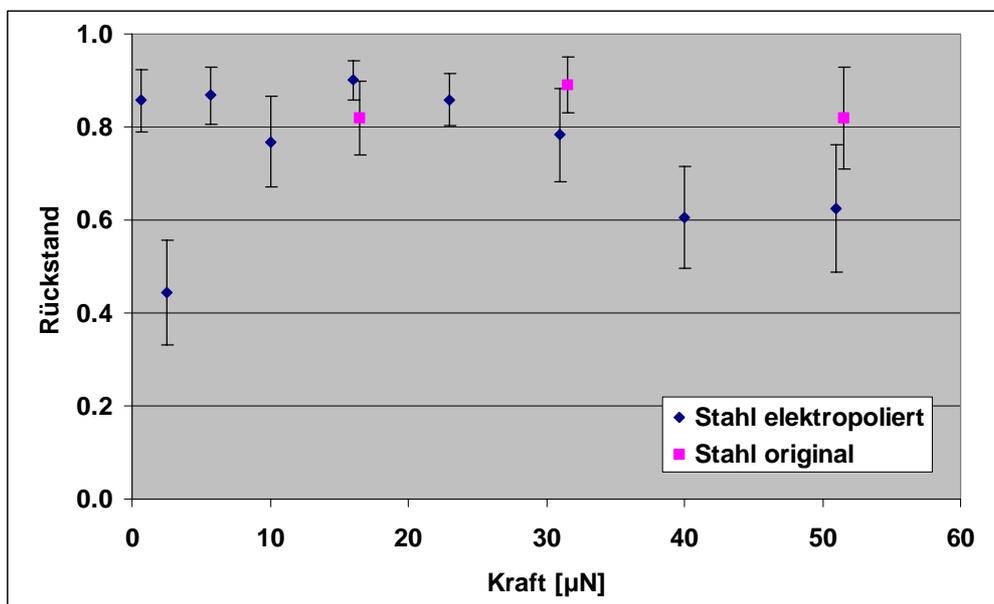


Bild W.14 Angetrocknete Hefezellen auf Stahloberflächen

Werden die Trennkraft normal und tangential zur Oberfläche miteinander verglichen, ist eine deutliche Abnahme bei den tangentialen Kräften zu sehen. Zeig die Verhältnisse von Kräften normal und tangential zur Oberfläche bei Glaskugeln und Hefezellen auf poliertem Stahl in wässrigem Medium. Grund könnte die Reduktion der Trennkraft durch eine auftretendes Drehmoment am Partikel sein, das vor der Ablösung ein Rollen induziert.

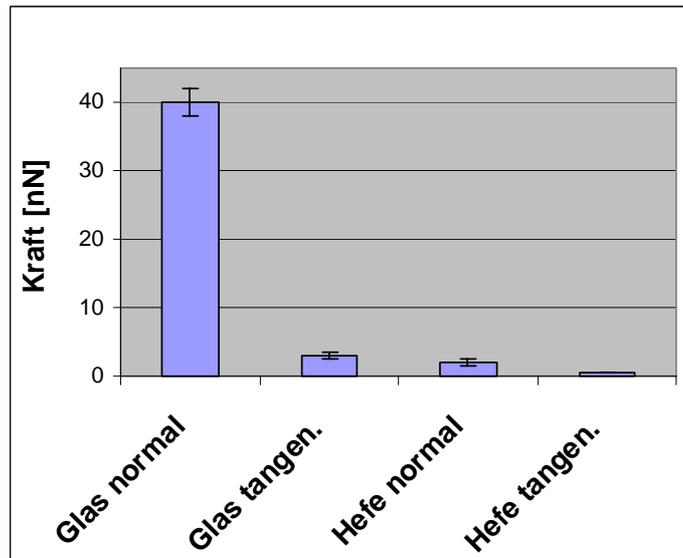


Bild W.15 Vergleich zwischen normalen und tangentialen Trennkraften

### W.2.3 Trennkraftmessung im Strömungskanal

Beim Durchströmen von Leitungen, Armaturen und Apparaten entstehen u.a. durch Wandreibung Druckverluste. Diese hängen stark vom Strömungsprofil ab. Das strömende Medium verläuft für kleine Geschwindigkeiten und für kleine Rohr- und Spaltweiten auf parallelen Bahnen. Es liegt laminare Strömung vor mit einem parabelförmigen Geschwindigkeitsverteilung. Direkt an der Wand ist die Geschwindigkeit aufgrund der Reibung null [7].

Bei höheren Geschwindigkeiten ist die Strömung turbulent und die Geschwindigkeitsverteilung bildet bei starker Turbulenz ein Kolbenprofil aus. Die Geschwindigkeit wächst in der Grenzschicht von null bis auf die Geschwindigkeit der turbulenten Kernströmung an. Unter Grenzschicht wird die trennende Schicht zwischen Wand und turbulenter Strömung verstanden.

Die dimensionslose Reynoldszahl  $Re$  ist ein Kriterium, ob die Strömung in einer Leitung laminar oder turbulent ist. Sie berechnet sich nach Gleichung (W.13).

$$Re = \frac{w \cdot d}{\nu} = \frac{w \cdot d \cdot \rho}{\eta} = \frac{\text{Trägheitskräfte}}{\text{Zähigkeits- u. Reibungskräfte}} \quad (\text{W.13})$$

- $w$  = mittlere Geschwindigkeit
- $d$  = Rohrdurchmesser- oder hydraulischer Durchmesser
- $\nu$  = kinematische Viskosität
- $\eta$  = dynamische Viskosität
- $\rho$  = Dichte des strömenden Mediums

Die kritische Reynoldszahl  $Re_{\text{krit}}$  gibt an, wann bei glatten Rohren die Strömung von laminar in turbulent umschlägt. Sie beträgt  $Re_{\text{krit}} = 2320$ . Es ist jedoch möglich, dass Wirbelbildungen schon bei wesentlich geringeren Reynoldszahlen auftreten. Dies ist bei Störung der Strömung durch Einbauten oder durch Umlenkungen im Leitungssystem der Fall. Für nicht kreisförmige Querschnitte kann ein gleichwertiger oder sogenannter hydraulischer Durchmesser berechnet werden [18].

Für viele Flüssigkeiten (u. a. Wasser) und Gasen gilt die Newton'sche Beziehung (Gleichung (W.14)).

$$\tau = \eta \cdot \frac{dw}{dy} \quad (\text{W.14})$$

Die Schubspannung  $\tau$  ist dem Geschwindigkeitsgefälle  $dw/dy$  (auch Geschwindigkeitsgradient genannt) und der Viskosität  $\eta$  proportional. Der Verlauf des Geschwindigkeitsgradienten ist im wandnächsten Bereich der Grenzschicht – der sogenannten laminaren Unterschicht – linear, da hier ausschließlich molekulare Viskositätskräfte wirken. Für die Wandreibung ist sowohl die Außengeschwindigkeit als auch die Art der Grenzströmung von Einfluss. Berechnungen der Dicke der laminaren Unterschicht zeigen, dass sich die Hefezellen auch bei vollturbulenter Strömung in der laminaren Unterschicht befinden.

Die Wandschubspannung  $\tau_w$  beeinflusst das Anhaften und Wegspülen von Produkt, Mikroorganismen und Reinigungsrückständen, die an der Oberfläche von Rohrleitungen haften, entscheidend. Eine Bewegung ist nur möglich, wenn an der Wand des Flüssigkeitskolbens mit der Fläche  $A_l$  Scherkräfte überwunden werden. Die Wandschubspannung  $\tau_w$  ergibt sich somit aus dem Verhältnis der Kraft  $F$  zur Fläche  $A_l$ .

$$\tau_w = \frac{F}{A_l} = \frac{(p_1 - p_2) \cdot A_d}{A_l} = \frac{\Delta p \cdot d_g}{4 \cdot l} \quad (\text{W.15})$$

$\tau_w$  = Wandschubspannung

$\Delta p$  = Differenzdruck

$d_g$  = gleichwertiger oder sog. hydraulischer Durchmesser

$l$  = Länge des Flüssigkeitskolbens

Die zur Berechnung der Wandschubspannung  $\tau_w$  notwendigen Größen  $l$  und  $d_g$  wurden durch Abmessen des Strömungskanals bestimmt ( $l = 0,11$  m,  $d_g = 0,025$  m). Der Differenzdruck  $\Delta p$  wurde experimentell ermittelt.

Zur Berechnung der Trennkräfte von Partikeln im Strömungskanal muss das Kräftegleichgewicht an einem Partikel ermittelt werden. Die Auftriebskraft  $F_{\text{Auf}}$  wirkt der Gewichtskraft  $F_G$  und der Haftkraft  $F_{\text{Haft}}$  entgegen. Die hydrodynamische Kraft  $F_{\text{Hydr}}$  versucht die Partikel von der Oberfläche zu trennen. Auftriebs- und die Gewichtskraft von Hefezelle sind sehr gering und werden deshalb vernachlässigt.

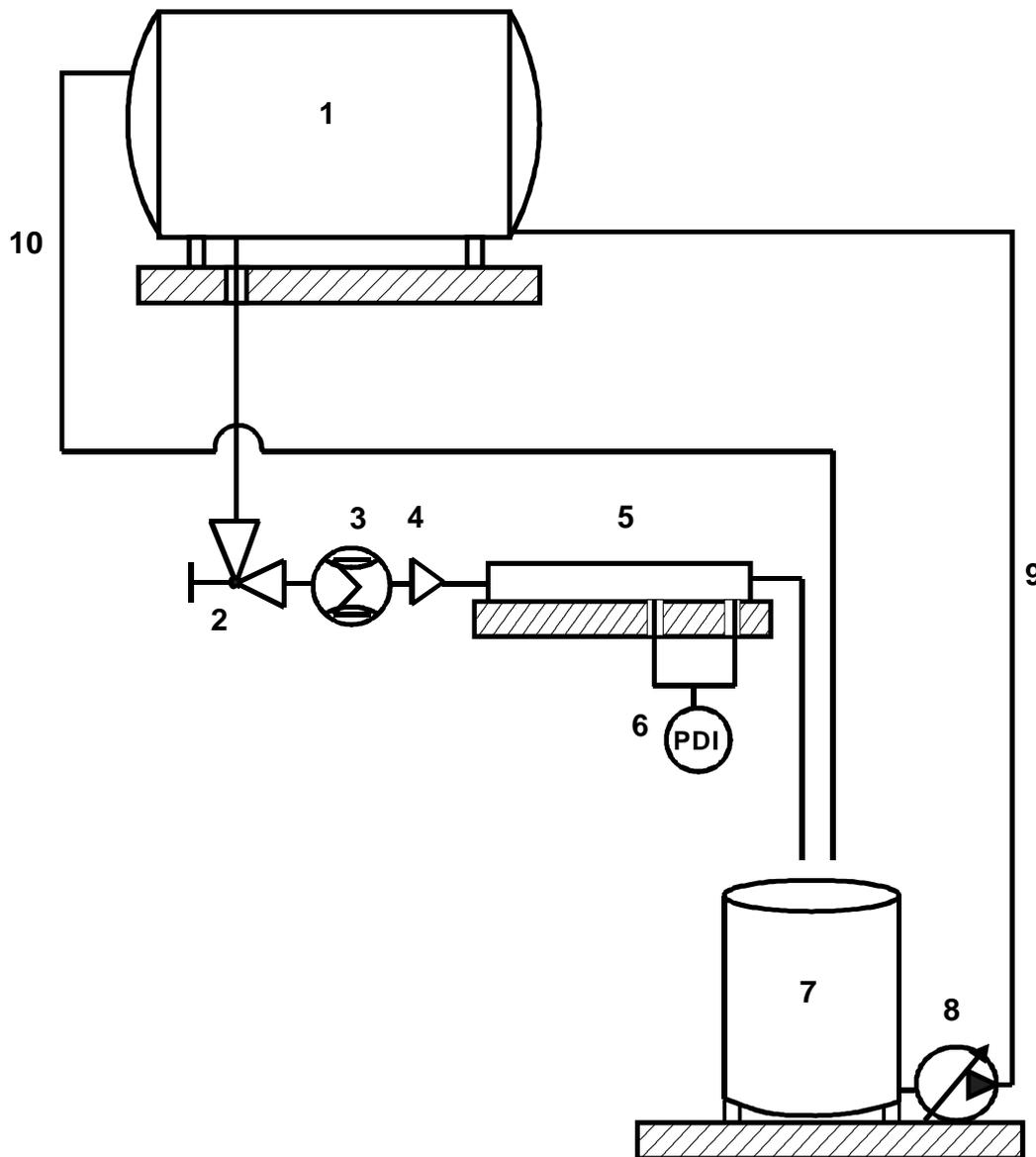
Die hydrodynamische Kraft berechnet sich nach Gleichung (W.16).

$$F_{\text{Hydr}} = 8 \cdot d^2 \cdot \tau_w \quad (\text{W.16})$$

$d$  = Durchmesser des Partikels

$\tau_w$  = Wandschubspannung

Der verwendete Strömungskanal steht im Technikum des MAK. Den schematischen Aufbau des Strömungskanals zeigt Bild W.16.



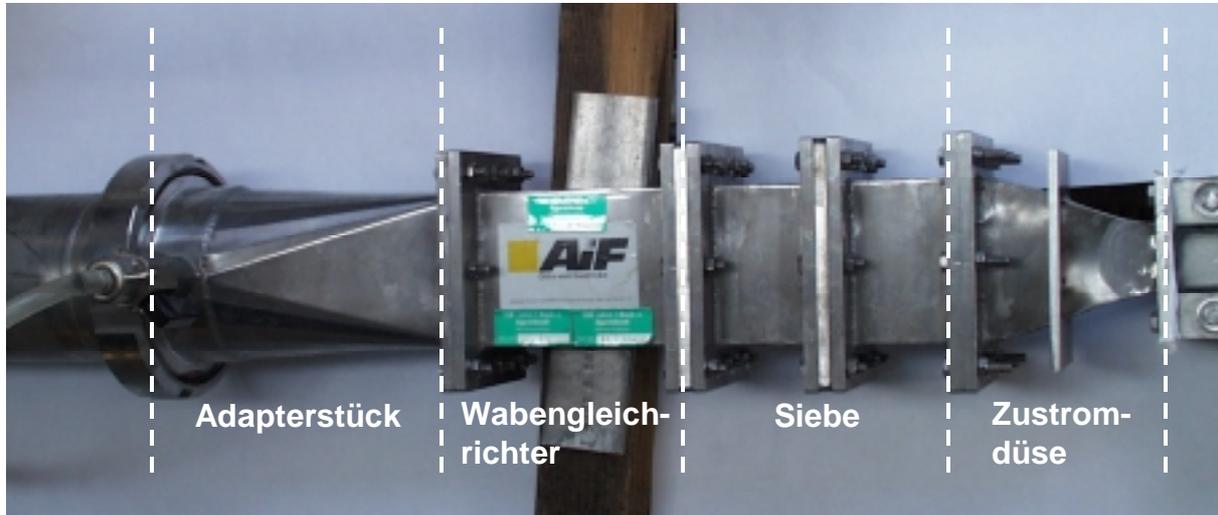
- |   |                           |    |                      |
|---|---------------------------|----|----------------------|
| 1 | Vorratstank               | 6  | Differenzdruckmesser |
| 2 | Reguliereckventil         | 7  | Auffangbehälter      |
| 3 | Massenstrommesser         | 8  | Pumpe                |
| 4 | Zustromdüse               | 9  | Rücklauf             |
| 5 | Kanal inklusive Einbauten | 10 | Überlauf             |

Bild W.16 Schematischer Aufbau des Strömungskanals

Der Kanal besteht aus einer ca. 1000 mm langen Rinne aus Edelstahl. Die Breite dieser Rinne beträgt 35 mm und die Höhe 40 mm. Der Kanal wird durch einen Plexiglasdeckel, der die Kanalhöhe auf 20 mm verringert, verschlossen. Das Wasser läuft aus einem 1000 l Tank, der sich 1,5 m über der Messstrecke befindet, durch eine Rohrleitung der Nennweite DN 100 in den Strömungskanal. Der Volumenstrom wird vor Einlauf in den Kanal mit einem SVP-Reguliereckventil M 2000 DN 100 der Firma Südmo Components GmbH reguliert.

Der Massenstrom wird nach einer Kanalstrecke von ca. 1 m mit einem Massenstrommessgerät der Firma Westphal gemessen. Nach dem Durchflussmesser wird die Strömung durch einen Wabengleichrichter und zwei Siebe geleitet. Diese dienen der Strömungsgleichrichtung. Die zylinderförmigen Waben des Wabengleichrichters haben einen Durchmesser von 3 mm und

eine Länge von 30 mm. Die Löcher der beiden Siebe sind quadratisch und haben eine Fläche von 1 mm<sup>2</sup>. Auf die Gleichrichter folgt die Zustromdüse, deren Form entscheidend die Strömungsgeschwindigkeit und das Strömungsprofil beeinflusst. Die Zustromdüse wurde nach Hussain et al. [9] berechnet. An die Zustromdüse schließt sich die Messstrecke an. Das Verbindungsstück mit Wabengleichrichter, Sieben und Zustromdüse zeigt Bild W.17.



**Bild W.17 Verbindungsstück mit Wabengleichrichter, Sieben und Zustromdüse**

Die Zustromdüse soll im Idealfall eine Flächenverringering im Verhältnis 6:1 sein. Der Übergang vom Rohr mit der Nennweite DN 100 auf den rechteckigen Strömungskanal mit dem gleichwertigen Durchmesser  $d_g = 0,025$  m wird durch ein Adapterstück ermöglicht.

Das aus dem Strömungskanal austretende Wasser läuft in einen 500 l Tank und wird von dort mittels einer Edelstahlpumpe des Typs Euro-Hygia-K-II/60a der Firma Philipp Hilge GmbH zurück in den oberen Tank gepumpt. Am oberen Tank befindet sich in ca. 2/3 Höhe eine Überlauföffnung der Nennweite DN 50. Diese Öffnung ist über eine Überlaufleitung mit dem unteren Tank verbunden. Der Überlauf gewährleistet einen konstanten hydrostatischen Druck im oberen Tank und somit einen konstanten Volumenstrom.

Im hinteren Drittel der Messstrecke (4 cm vom offenen Ende des Kanals entfernt) befindet sich eine rechteckige Vertiefung mit den Maßen 40 x 20 x 2,15 mm. In diese Vertiefung wird das Probenplättchen eingelegt. Der vor allem bei hohen Volumenströmen entstehende Unterdruck kann eventuell zu einem Herausspülen der Plättchen führen. Es ist daher nötig, die Plättchen mit doppelseitigem Klebeband, das eine Dicke von exakt 0,15 mm hat, zu fixieren. Bei der Auslegung der Tiefe der Nut wurde die Dicke des Klebebandes berücksichtigt. Die Vertiefung im Strömungskanal mit und ohne Plättchen zeigt Bild W.18.

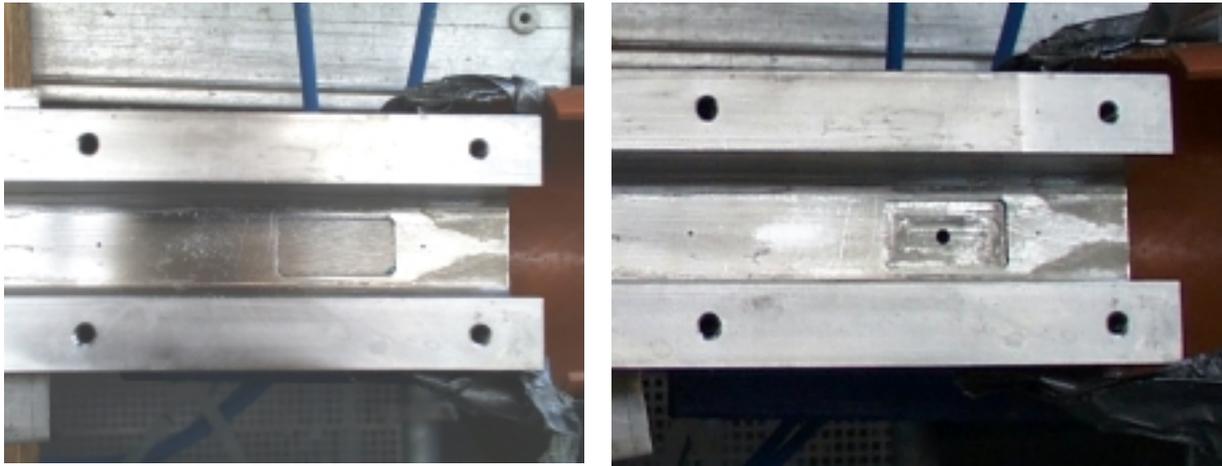


Bild W.18 Vertiefung im Strömungskanal mit (links) und ohne (rechts) Plättchen

Beim Messvorgang wird das Plättchen in die dafür vorgesehene Nut gelegt und mit doppelseitigem Klebeband fixiert. Das Plättchen wird mit einer Abdeckung vor Luftblasen, die sich beim Anfahren des Wasserkreislaufs bilden, geschützt. Die Luftblasen würden sonst bereits vor Beginn der Messung Partikel vom Plättchen reißen. Die Abdeckung hat eine Ausbuchtung, die einen direkten Kontakt der Abdeckung mit den Partikeln vermeidet. Der Kanal wird mit dem Plexiglasdeckel verschlossen. Das Entlüftungsventil wird geöffnet.

Die Pumpe wird mit ca. 16 Hz angefahren und es wird ein Gleichgewicht zwischen oberem und unterem Tank eingestellt. Gleichgewicht bedeutet, dass die Pumpe soviel Wasser in den oberen Tank befördert, dass sowohl Wasser durch den Strömungskanal als auch die Überlaufleitung in den unteren Tank abfließt. Nach Austritt aller im Kanal befindlichen Luftblasen wird das Entlüftungsventil geschlossen. Bei Einstellung konstanter Verhältnisse, d.h. es fließt eine konstante Menge Wasser über die Überlaufleitung in den unteren Tank zurück, können Keil und Abdeckung vom Probenplättchen entfernt werden.

Der Volumenstrom wird über das Reguliereckventil auf den gewünschten Wert eingestellt und über die Displayanzeige des Volumenstrommessgerätes kontrolliert. Ab Erreichen eines konstanten Volumenstroms zählt die 2-minütige Messzeit. Mit Ablauf der 2 Minuten wird das Plättchen wieder abgedeckt, das Reguliereckventil geschlossen und die Pumpe abgestellt. Nach Entfernen des Plexiglasdeckels wird das Plättchen entnommen.

Der zur Berechnung der Schubspannung und der hydrodynamischen Kraft notwendige Differenzdruck muss experimentell bestimmt werden. Dazu wurden in der Messstrecke vier Löcher gebohrt, die jeweils eine Strecke  $L = 0,11$  m voneinander entfernt sind. Dies veranschaulicht Bild W.19.

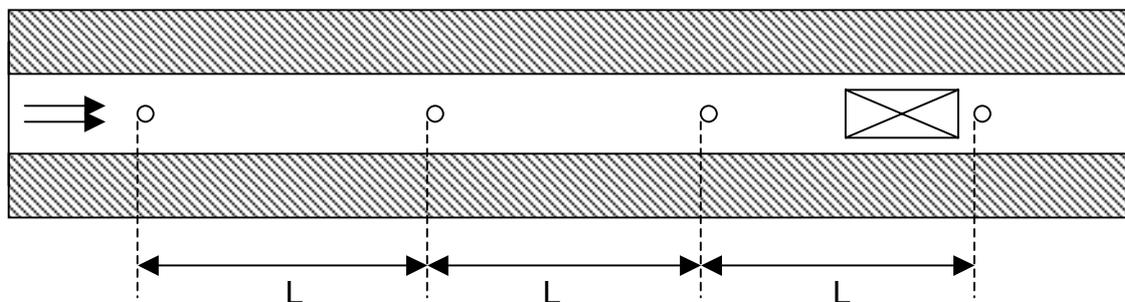


Bild W.19 Messstrecke mit den 4 Bohrungen für die Differenzdruckmessung

Jede Bohrung hat einen Durchmesser von 1,1 mm, der die Beeinflussung der Strömung möglichst gering hält und groß genug ist, um Kapillarkräfte zu vermeiden. Durch den Kapillardruck würde ein zusätzlicher Druck entstehen, der die Messung beeinflusst. In den Bohrungen befinden sich ca. 1 cm lange Röhrchen, die jeweils in einen Plastikschlauch mit einem Innendurchmesser von 5 mm münden. Die Plastikschläuche enden in einer Druckmesseinheit und können über ein dazwischengeschaltetes Ventil entlüftet werden (Bild W.20).

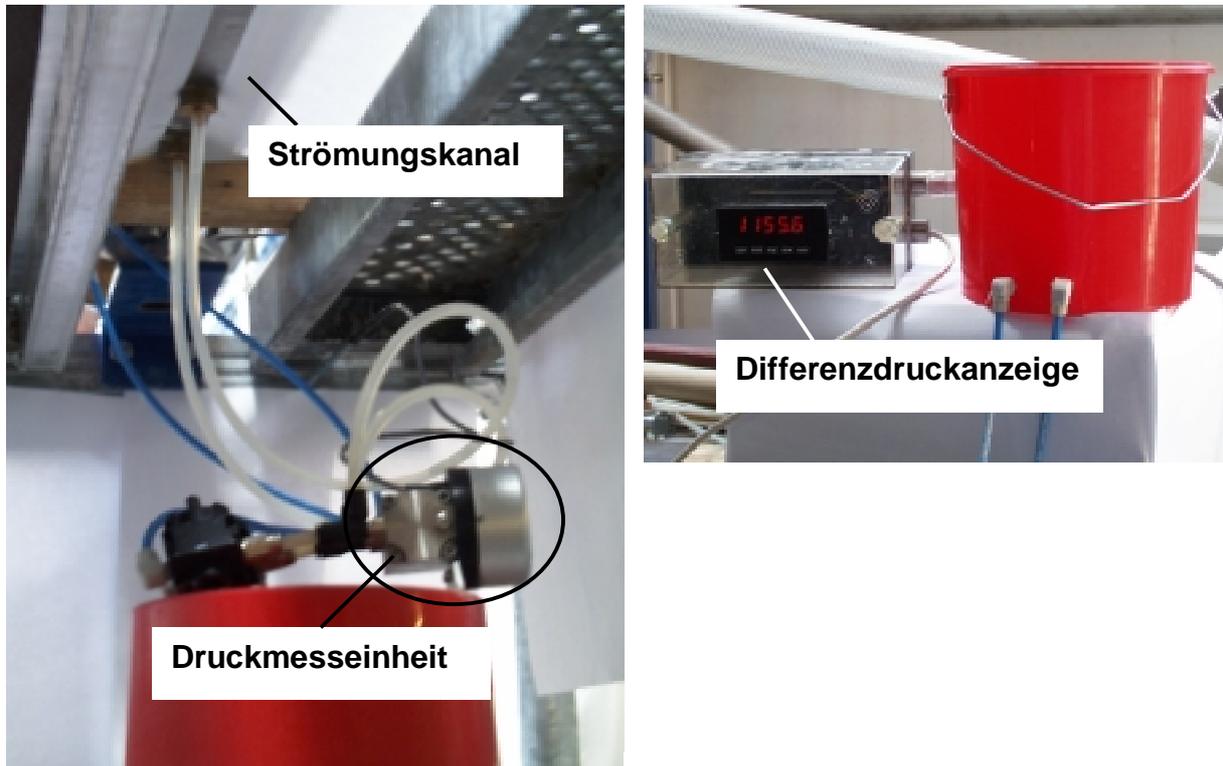


Bild W.20 Aufbau der Differenzdruckmessung

Die in der rechten Abbildung sichtbaren Schläuche sind mit einem mit destilliertem Wasser gefüllten Eimer verbunden, der etwas erhöht über der Messstrecke steht. Durch den hydrostatischen Druck der Wassersäule wird das Wasser durch die Schläuche in den Kanal gedrückt und das System somit entlüftet.

Gemessen wird immer zwischen zwei Bohrungen. Innerhalb der Versuche zur Differenzdruckbestimmung wurden alle sechs Kombinationsmöglichkeiten der vier Bohrungen vermessen. Die Bestimmung der hydrodynamischen Trennkraft auf die Partikel über Differenzdruckmessung kann nur bei voll ausgebildetem Strömungsprofil gemacht werden. Zur Prüfung, ob eine voll ausgebildete Strömung vorliegt, wurden die Messstrecke um die Nut in weitere 4 kleinere Strecken unterteilt. Innerhalb dieser kleineren Messstrecken wurden ebenfalls Differenzdruckmessungen durchgeführt. Diese lieferten auch bei den maximal möglichen Strömungsgeschwindigkeiten im Kanal (4 m/s) konstante Werte. Somit sind um das Messplättchen konstante Strömungsverhältnisse. Für die Berechnungen der Schubspannung und der hydrodynamischen Kraft wurde der Differenzdruck verwendet, der zwischen den letzten zwei Bohrungen, zwischen denen sich auch das Probenplättchen befindet, gemessen wurde. Der Differenzdruck kann an einem Display, der mit der Druckmesseinheit verbunden ist, in [Pa] abgelesen werden. Die Vorbereitung der Plättchen erfolgt wie bei der Zentrifugenmethode.

In Bild W.21 ist eine Strömungskanalmesreihe dargestellt. Beispielhaft wurden die Messungen mit Hefezellen auf Stahl K400 gegen Schleifrichtung ausgewählt. Der Rückstand der Hefezellen ist über dem Volumenstrom aufgetragen. Das Ablesen des Volumenstroms war mit geringerem Aufwand verbunden als beim Differenzdruck. Der Zusammenhang von Volumenstrom und Differenzdruck wurde in Vorversuchen hergestellt und ständig überprüft.

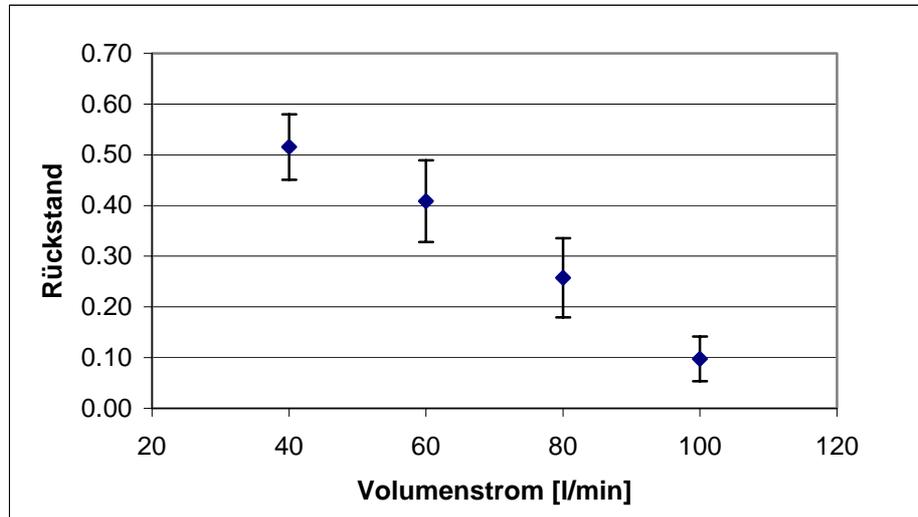


Bild W.21 Rückstand der Hefezellen auf Stahl K400 gegen Schleifrichtung über dem Volumenstrom

Der Rückstand der Hefezellen wurde für jeweils 4 Volumenströme ermittelt. Dabei wurde bei jedem Volumenstrom eine 3-fach Bestimmung durchgeführt. Aus den ermittelten Rückständen wurde der Mittelwert gebildet und das Konfidenzintervall berechnet. In Bild W.22 wurde für dieselbe Oberfläche der Rückstand der Hefezellen über der Wandschubspannung aufgetragen.

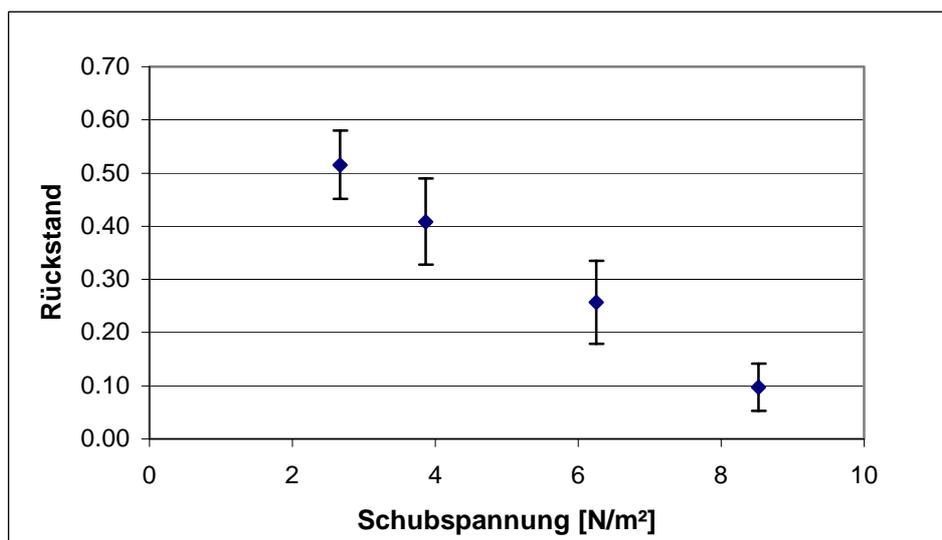


Bild W.22 Rückstand der Hefezellen auf Stahl K400 gegen Schleifrichtung über der Schubspannung

Anschließend wurde aus der ermittelten Schubspannung die hydrodynamische Kraft berechnet (Bild W.23).

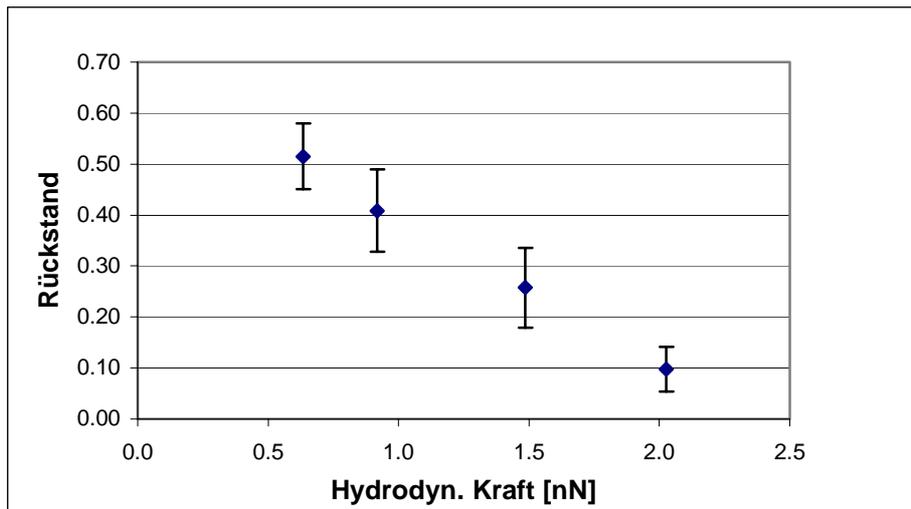


Bild W.23 Rückstand der Hefezellen auf Stahl K400 gegen Schleifrichtung über der hydrodynamischen Kraft

Die hydrodynamische Haftkraft bei einem Rückstand von Hefezellen von 50 %  $F_{hydr50}$  beträgt in diesem Beispiel 0,7 nN.

Einige Werte der hydrodynamischen Haftkraft bei einem Rückstand von 50 % sind für Hefe und Glas auf verschiedenen Oberflächen in Tabelle W.1 dargestellt.

Tabelle W.1 Werte der hydrodynamischen Haftkraft bei einem Rückstand von 50 % für Hefe und Glas auf verschiedenen Oberflächen

Oberfläche	Partikel	$F_{hydr50}$ [nN]
Stahl K 240 elpol	Glas	5,0
Stahl K 120 in Schleifrichtung	Hefe	1,1
Stahl K 120 gegen Schleifrichtung	Hefe	1,2
Stahl K 240 in Schleifrichtung	Hefe	0,8
Stahl K 240 gegen Schleifrichtung	Hefe	0,9
Stahl K 400 in Schleifrichtung	Hefe	1,5
Stahl K 400 gegen Schleifrichtung	Hefe	0,7

Die Werte für die mittlere Haftkraft für Hefe auf verschiedenen Oberflächen hat die die gleiche Größenordnung. Die in und gegen Schleifrichtung vermessenen Trennkkräfte ermittelten Werte sind vergleichbar.

Das Verhältnis wird für die tangentielle Haftkraft die praktisch ermittelte hydrodynamische Haftkraft verwendet. Die Faktoren wurden aus der praktischen hydrodynamischen Kraft bei einem Rückstand von Hefezellen von 50 %  $F_{tangential}$  und der mit dem AFM ermittelten, normalen mittleren Haftkraft  $F_{(AFM)}$  berechnet. Das Ergebnis zeigt Tabelle W.2.

Tabelle W.2 Ermittlung des Faktors aus  $F_{\text{tangential}}$  und  $F_{\text{(AFM)}}$

Oberfläche	Partikel	$F_{\text{tangential}}$ [nN]	$F_{\text{AFM}}$ [nN]	Faktor
Stahl K 120 in Schleifrichtung	Hefe	1,1	4	0,275
Stahl K 120 gegen Schleifrichtung	Hefe	1,2	4	0,300
Stahl K 240 in Schleifrichtung	Hefe	0,8	5	0,160
Stahl K 240 gegen Schleifrichtung	Hefe	0,9	5	0,180
Stahl K 400 in Schleifrichtung	Hefe	1,5	4	0,375
Stahl K 400 gegen Schleifrichtung	Hefe	0,7	4	0,175
Deckemail	Hefe	0,3	25	0,012

Die ermittelten Faktoren zwischen normaler und tangentialer Trennkraft in der liegen in der Größenordnung von 1:10 bis 1:100.

### W.3 Literatur

- [1] BORHO, K.; POLKE, R.; WINTERMANTEL, K.: Product Properties and Process Engineering. BASF-Video-Tutorial (1993), S. 14-24
- [2] BUTT, H.-J.; JASCHKE, M.: Calculation of Thermal Noise in Atomic Force Microscopy. Nanotechnology 6 (1995), Nr. 1, S. 1-7
- [3] FLEMMING, H.-C.: Biofilme, Biofouling und mikrobielle Schädigung von Werkstoffen. Stuttgart, Forschungs- und Entwicklungsinstitut für Industrie- und Siedlungswasserwirtschaft, sowie Abfallwirtschaft e.V., Habil., 1994
- [4] GABIUS, H.-J.; GABIUS, S.: Glycosciences: Status and Perspectives. London: Chapman & Hall, 1997
- [5] HAMAKER, H. C.: The London-van der Waals Attraction between Spherical Particles. Physica IV (1937), Nr. 10, S. 1058-1072
- [6] HERTZ, H.: Über die Berührung fester elastischer Körper. Journal für Mathematik XCII (1881), Nr. 2, S. 156-171
- [7] HOFFMANN, W.: Zirkulationsreinigen (CIP) von geraden Rohren in Abhängigkeit von Oberflächenrauheit und anderer Einflussfaktoren. Kiel, Christian-Albrechts-Universität, Technische Fakultät, Diss., 1983
- [8] HUBBE, M. A.: Detachment of Colloidal Hydrous Oxide Spheres from Flat Solids Exposed to Flow: 2. Mechanism of Release. Colloids and Surfaces 16 (1985), S. 249-270
- [9] HUSSAIN, A. K. M. F.; RAMJEE, V.: Effects of the Axisymmetric Contraction Shape on Incompressible Turbulent Flow. Journal of Fluids Engineering 3 (1976), Nr. 1, S. 58-69
- [10] HUTTER, J. L.; BECHHOEFER, J.: Calibration of Atomic-Force Microscope Tips. Review of Scientific Instrumentarium 64 (1993), Nr. 7, S. 1868-1873
- [11] ISRAELACHVILI, J.: Intermolecular & Surface Forces. 2. Aufl. London: Academic Press, 1998
- [12] JOHNSON, K. L.; KENDALL, K.; ROBERTS, A. D.: Surface Energy and the Contact of Elastic Solids. Proceedings of the Royal Society London 324 (1971), S. 301-313
- [13] KOGLIN, B.: Systematik der Dispergiermittel. Chem.-Ing.-Tech. 46 (1974), Nr. 17, S. 720-725

- [14] KWOK, D. Y.; NEUMANN, A. W.: Contact Angle Measurement and Contact Angle Interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science* 81 (1999), Nr. 3, S. 167-249
- [15] LYKELMA, J.: *Fundamentals of Interface and Colloid Science. Volume 1: Fundamentals*. London: Academic Press, 2000
- [16] MOSER, S.: *Van der Waals- und elektrostatische Haftkräfte*. Karlsruhe, Universität (TH), Fakultät für Chemie-Ingenieurwesen, Diss., 1976
- [17] MÜLLER, R. H.: *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis: Einführung in die Theorie, praktische Messdurchführung, Dateninterpretation*. Band 37. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1996
- [18] NITSCHKE, W.: *Strömungsmesstechnik*. Berlin: Springer, 1994
- [19] PODCZECK, F.: *Particle-Particle Adhesion in Pharmaceutical Powder Handling*. London: Imperial College Press, 1998
- [20] POLKE, R.: *Zur Haftung zwischen Festkörpern bei erhöhten Temperaturen*. Karlsruhe, Universität (TH), Fakultät für Chemieingenieurwesen, Diss., 1971
- [21] SCHMIDT, R.; WEIGL, B.; BECK, U.; REINERS, G.: *Werkstoffoberflächen, Haftung und Reinigung*. *Lebensmittelverfahrenstechnik* 48 (2003), Nr. 1+2, S. 52-53
- [22] VAN OSS, C. J.; NEUMANN, A. W.; OMENYI, S. N.; ABSOLOM, D. R.: *Repulsive van der Waals Interactions: Their Role in Various Separation Methods*. *Separation and Purification Methods* 7 (1978), Nr. 2, S. 245-271
- [23] VISSER, J.: *On Hamaker Constants: A Comparison between Hamaker Constants and Lifshitz-van der Waals Constants*. In: OVERBEEK, J.; PRINS, W.; ZETTMAYER, A. C. (Hrsg.): *Advances in Colloid and Interface Science*. Amsterdam: Elsevier, 1972
- [24] WEHLE, A.: *Messung von Bindungskräften an Rezeptor-Ligand-Paaren*. München, Ludwig-Maximilians-Universität, Fakultät für Physik, Diplomarbeit, 1999

## S Topographische Analyse steriltechnisch eingesetzter Oberflächen und steriltechnischer Kennwert

Mit Beginn des Themas war bekannt, daß für die umfangreichen Simulationen keine adhäsions-spezifischen Programme erwerbbar sind. Alle entwickelten Quellen sind somit Unikate.

### S.1 Ziele

Die Ziele dieses Forschungskomplexes sind:

- die Simulation von Modelloberflächen als Prognosegrundlage zur Oberflächenoptimierung (Verhältnis: Oberflächenberge/ Wellenlänge)
- die topographische Charakterisierung der simulierten Oberflächen und deren Vergleich mit technischen Oberflächen („scaling“)
- die Simulation der topographieabhängigen Adhäsionsfläche
- das Konzept eines „steriltechnischen Kennwertes“, der auch auf die Adhäsion an Oberflächenfehlstellen anwendbar ist
- die Unterschiede zwischen dem Rauheitswert  $R_a$  und dieser neuen Kenngröße

### S.2 Vorarbeiten

Zur Entwicklung der Programme wurde aus Gründen der Kompatibilität die Programmiersprache C<sup>++</sup> gewählt. Der Programmumfang überstieg die Leistungsfähigkeit des vormalig vorhandenen Compilers und der Hardware. Deshalb wurde der C<sup>++</sup> - Builder erworben. Zum Kennlernen dieses sehr komplexe Compiler- und Testsystem war am Anfang eine private „crash – Phase“ notwendig.

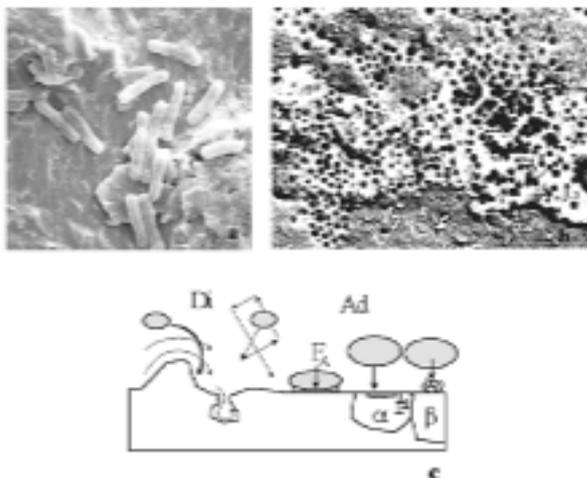
Es war abzusehen, daß die Entwicklung eines Moduls zur 3D - Darstellung beliebiger Flächen in der Themenlaufzeit nicht möglich war. Hierfür wurde das kommerziell erwerbbares Programm MARKIII (FRT) zur topographischen Analyse von Oberflächen gekauft. Dem Kauf gingen umfangreiche Testrechnungen, in enger Zusammenarbeit mit dem Anbieter (FRT), zum Datenformat und –transfer voraus.

Diese Software - Vorarbeiten waren im Juni 2001 beendet.

Gemeinsam mit der BAM wurde zur Thematik Oberflächenenergie/ Rauheit im Frühjahr 2001 recherchiert.

### S.3 Adhäsion

Im Bild 1 sind früheste Besiedelungszustände an Festkörperoberflächen und Vorstellungen für mögliche Adhäsionsprozesse an diesen dargestellt.



**Bild 1** Mikrorauheit und Adhäsion [S1, S2]

a: Polierte Stahloberfläche (1.4435) besiedelt mit *Escherichia coli*

b: Mischkultur (*Saccharomyces cerevisiae* und bakterieller Schleim) in einem Oberflächental (1.4435)

c: Mögliche Mechanismen der Bioadhäsion (Di – Diffusion, Ad – Wechselwirkungen)

Eindrucksvoll zeigt das Bild 1a die Wirkung von Mikrorauheiten auf die Besiedelung von Reinkulturen, exemplarisch dargestellt an *E.coli*. Dieser Effekt ist bereits an Korngrenzen, die infolge einer elektrochemischen Politur angeätzt werden, zu beobachten [S1, S2, S3]. Hier sei bemerkt, daß erkennbare Korngrenzen ein technologisches Kriterium für eine gute Politur sind.

Bilden sich Schleime (Bild 1b), wird die Kinetik der Biofilmbildung vollständig verändert [S1, S2, S4]. Diese extrazellulären Produkte sind aber ein wesentlicher Bestandteil natürlicher Biofilme. Hier kann es zur spontanen Adhäsion kommen und es sollten die „Regeln des Lebens mit Biofilmen“, z.B.

- Minimierung durch „Aushungern“
- Strömung und Konstruktion

angewandt werden [S5]. Eine temporäre Filmminimierung erfordert meistens den Einsatz von Bioziden.

Darüber hinaus rufen die Topographie, die Diffusion in der Grenzschicht oder Oberflächenstellen Variationen in der Oberflächenenergie hervor und verändern somit die Adhäsionsbedingungen. Eine „Kenngröße“ sollte zumindest die Möglichkeit eröffnen, mit fortschreitendem, experimentell begründetem Erkenntnisstand, diese sukzessiv erweitern zu können.

In einer sehr vereinfachten Betrachtung der Bioadhäsion, kann die hierfür aufzubringende Arbeit als die Spaltarbeit ( $\gamma$  Oberflächenenergie)

$$\Delta G = 2 \cdot \gamma \quad (1)$$

zweier gleicher Körper interpretiert werden [S1, S2]. Mit der Young - Dupré Gleichung ( $\Theta$  Kontaktwinkel)

$$\Delta G = \gamma(1 + \cos \Theta) \quad (1a)$$

bzw. der van der Waals Energie (Platte/ Platte;  $A_H$  Hamaker Konstante,  $x$  Plattenabstand)

$$\Delta G = \frac{A_H}{x^2} \quad (1b)$$

folgt

$$\Delta G = 2 \cdot \gamma = \gamma(1 + \cos \Theta) = \frac{A_H}{x^2} \quad (1c)$$

Die Veränderung der Energieanteile für reale Systeme, z.B. die Wirkung von Makromolekülen, der Zelldeformation oder einer Doppelschicht, ist ausführlich in [S1, S2, S6] beschrieben. In den nachfolgenden Betrachtungen werden exemplarisch nur die obigen Modellvorstellungen angewandt. Zur Ableitung des Kennwertes wird die Oberflächenenergie als Funktion der Rauheit dargestellt und in ihren polaren und nichtpolaren Anteil zerlegt (s.Kap.S.5.3.).

#### S.4 Oberflächensimulationen

Die Ziele der Oberflächensimulationen sind:

- „ideale“ Oberflächen als Testprogramme zur Berechnung der Adhäsionsflächen
- Standards zur Charakterisierung realer Oberflächen
- eine „simulierte Probenvielfalt für Trendaussagen, die experimentell nicht hergestellt werden können

Die Vielzahl der nachfolgenden, topographieabhängigen Kennwertvergleiche wäre ohne diese Simulationen nicht möglich gewesen. Zur Nachbildung technischer Oberflächen können auch Oberflächenstörungen simuliert werden.

### S.4.1 Software

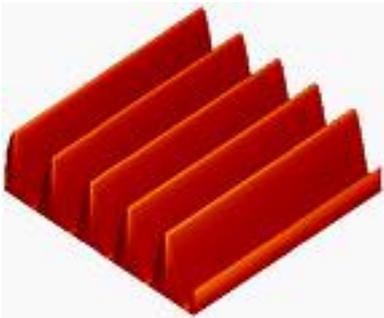
Das Programm „SimSurf“ wurde in C<sup>++</sup> geschrieben und erlaubt die Nachbildung folgender, gestörter oder ungestörter Oberflächen

- Zufallsfläche ( $R_{\max}$ ,  $R_{\min}$ )
- Sin - Oberfläche ( $R_{\max}$ , Wellenlänge)
- Rechteck (Höhe, Breite)
- Dreieck
- Trapez

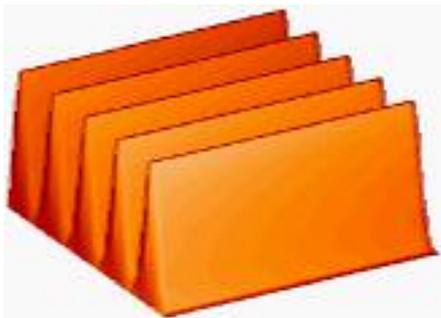
Die Störungen können vertikal und/ oder lateral, als „Random“ oder Sin, allen Oberflächen überlagert werden. Prinzipiell ist es als Klasse in einem übergeordneten Hauptprogramm implementierbar, so daß mehrere Oberflächen miteinander gefaltet werden können. Das Ergebnisfeld wird im ASCII-Code mit einem spezifischen Dateikopf abgelegt. Die Feldgestaltung ist typisch für MARKIII und dort als ASCII-File importierbar.

Das Bild 2 zeigt, daß die Spline - Interpolationen zur 3D - Darstellung in MARKIII eine größere Punktdichte erfordern. Das entwickelte Programm kann mit einer kleinen, aber auch extrem großen Punktdichte arbeiten. Die Grenzen werden nur durch die Rechnerleistung gesetzt. In allen Rechnungen wurde mit mindestens  $25 \times 10^4$  Bildpunkten gearbeitet. Es sei erwähnt, daß alle Simulationen auf einer HP Kayak XU800 (Dualprozessor, 512 MB RAM) durchgeführt wurden. Der RAM kann auf 2GB erweitert werden.

Simulierte Oberfläche

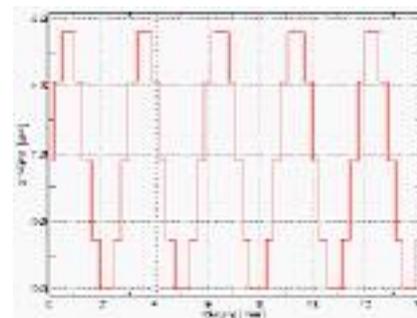
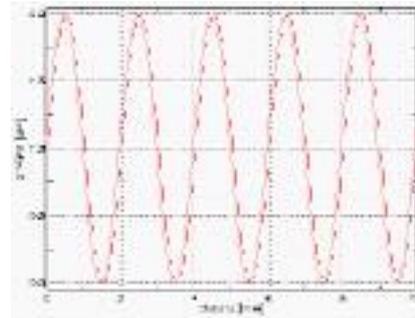


$25 \times 10^4$  Punkte



$25 \times 10^2$  Punkte

Schnittlinie

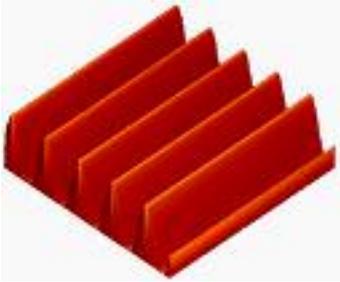
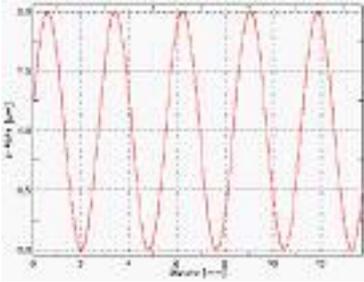
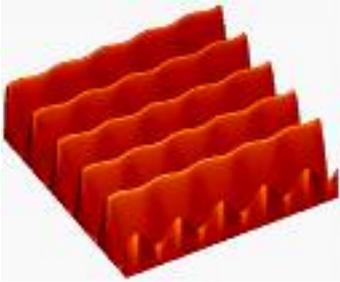
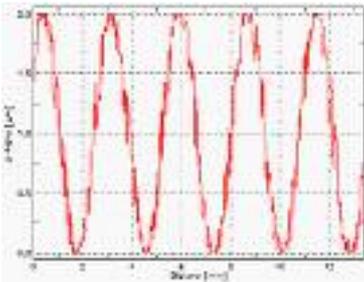
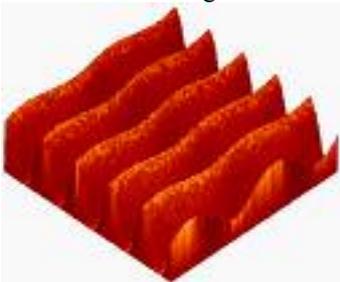
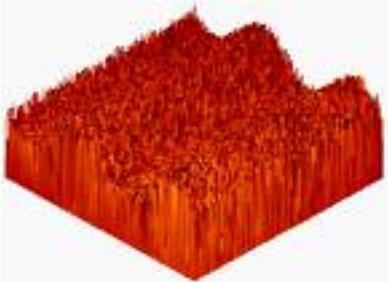
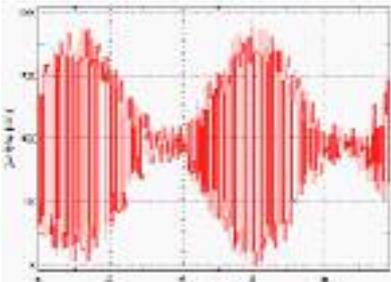
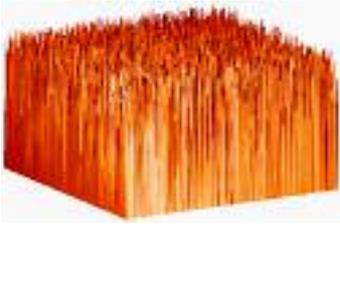
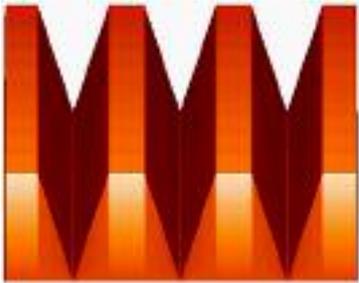
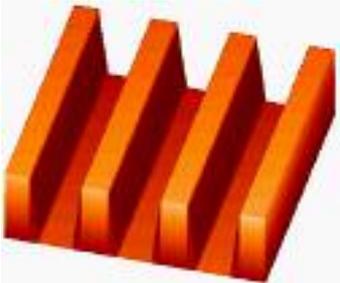
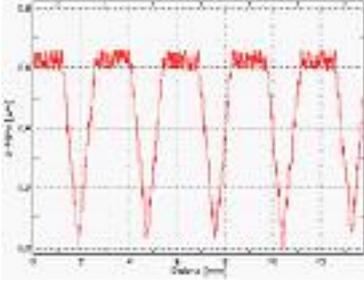
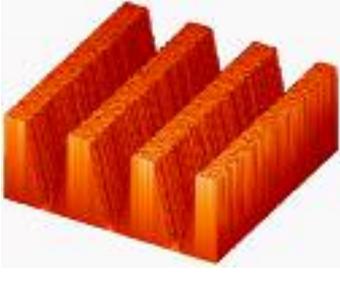


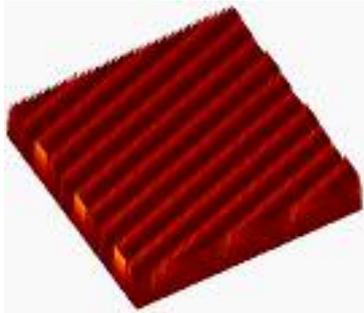
**Bild 2** Anzahl der Bildpunkte und Bildqualität

### S.4.2 Simulierte Oberflächen

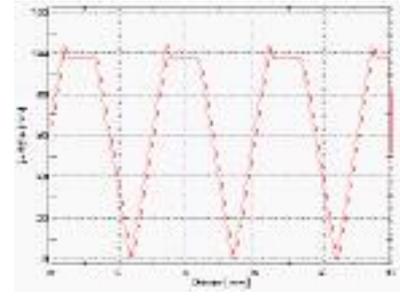
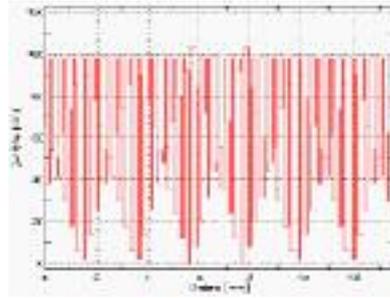
In der Tabelle 1 werden typische, simulierte Oberflächen dargestellt. Die Schnittlinien verdeutlichen die Qualität der jeweiligen Oberflächennachbildung. Die Oberflächenstörungen (Sin/ Random, lateral/ vertikal/ phasenverschoben), eindeutig an den Schnittlinien erkennbar, können wesentlich die Adhäsionsflächen beeinflussen. In der Natur herrschen bimodale Verteilungen vor [S7]. Diese simulierten gestörten Oberflächen sind ein möglicher Übergang zur Charakterisierung derartiger Verteilungen.

**Tabelle 1** Topographien, darstellbar mit dem Programm „SimSurf“  
Schnittlinien wurden parallel zur x-Achse gewählt (schneiden Profil)

<b>sin - Oberfläche</b>		
		
ungestört	Schnittlinie	laterale Sin-Störung
		
laterale Random-Störung	Schnittlinie	Vertikale und laterale Sin-Störung
<b>random - Oberfläche</b>		
		
Vertikale und laterale Sin-Störung	Schnittlinie	ungestört
<b>Andere Strukturen</b>		
		
Dreieck	Rechteck	Trapez
<b>„Dreieck exemplarisch mit verschiedenen Störungen“</b>		
		
Vertikale Random und laterale Sin-Störung	Schnittlinie	Vertikale und laterale Random-Störung



Laterale Random-Störung und Sin- Bilddiagonale Phasenverschiebung

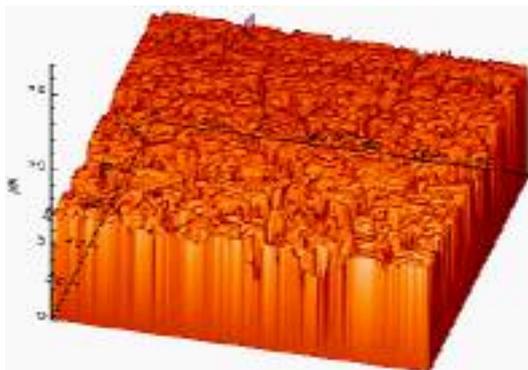


Schnittlinie

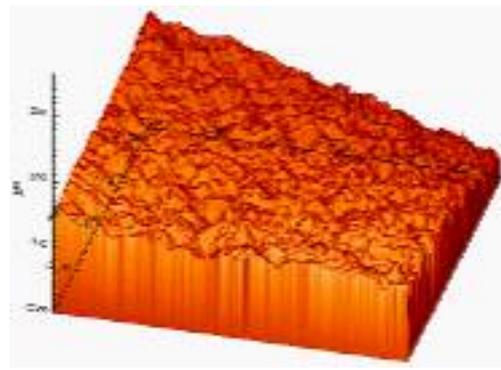
### S.4.3 MARKIII und Oberflächenvergleich

MARKIII (FRT) ist ein professionelles Programm zur Charakterisierung von Oberflächen, mit dem, neben den Kenngrößen der DIN EN, u.a. die fraktale Dimension, das Kavernenvolumen oder die Traglastkurve bestimmt werden können. Zur Vermeidung von Verfälschungen wurden alle Größen und Vergleiche mit ungefilterten Daten berechnet. Dieses Programm erlaubt auch einen Vergleich von zwei Oberflächen. Die Unterschiede können als Abweichungen, z.B. aus einer Differenzbildung, ermittelt werden. Bis zur Version 3.6.x müssen die zu vergleichenden Oberflächen (Felder) eine gleiche Bildpunktzahl haben. Dies muß bei der Vorgabe der Größe der zu simulierenden Oberflächen berücksichtigt werden. Ab den Versionen 3.7.x ist die Feldgröße in MARKIII veränderbar.

Die „praktischen“ Oberflächen werden auf dem Multisonden - Meßplatz der BAM (Forschungsstelle 1) vermessen. Wie bereits erwähnt, wurden zur Abschätzung möglicher Wertveränderungen durch die verschiedenen Software - Pakete die „wahren Rohdaten“ benutzt. Diese können, eine Spezifik des Berliner Meßplatzes, als ASCII - File exportiert werden. Der Kopf dieses Daten - Files und der File - Aufbau (nur z-Werte) ist nicht kompatibel mit dem Importkopf und dem File - Aufbau (x-, y-, z-Werte) von MARKIII. Zur Gewährleistung des Datentransfers wurde eine C<sup>++</sup> - Konvertierungsroutine geschrieben.



1.4404 (Probe 5\_original\_50, Ausgangszustand)



PTFE (Probe 5\_3009\_2,5)

**Bild 3** Mit der C<sup>++</sup> - Konvertierungsroutine abgebildete „wahre“ Proben (Multisonden - Meßplatz/ BAM)

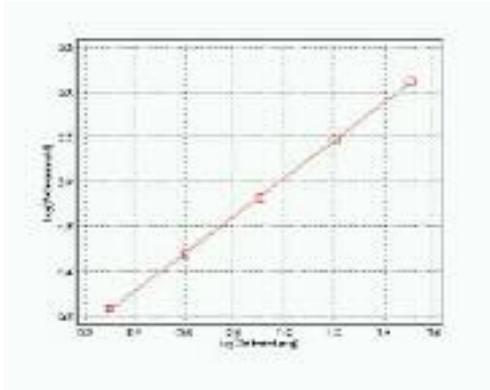
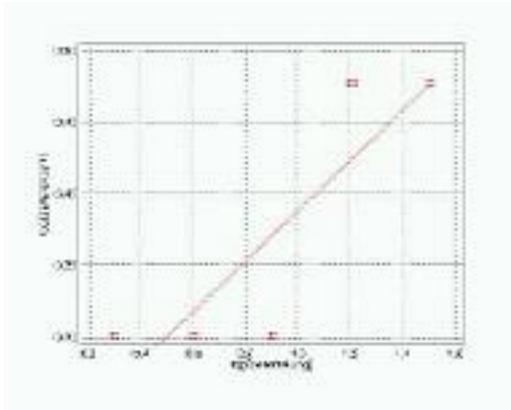
Das Bild 3 zeigt zwei Abbildungen, aufgenommen mit dem Multisonden - Meßplatz (BAM), die mittels der Konvertierungsroutine mittels MARKIII dargestellt wurden. Diese Abbildungen sind in ihren Abmessungen und ihrer bildlichen Darstellung äquivalent mit den visualisierten Ergebnissen des BAM - Meßplatzes.

Darüber hinaus ist der konvertierte Daten - File das Ausgangsformat für das C<sup>++</sup> - Programm „ParSurf“ zur Berechnung spezifischer Oberflächenparameter, wie der Höhenverteilungsfunktion. Dieses Programm wurde speziell hierfür entwickelt (Kap. S.4.4).

Die fraktale Dimension  $f$  wird in MARKIII mit der Quadratzählmethode [S10] bestimmt. Diese Größe, die die Abweichung von der topologischen Dimension beschreibt, d.h. die Störung, benötigt man u.a. zur Berechnung der Höhenverteilungsfunktion (Gleichung 3) oder zum Vergleich mit einer experimentell bestimmten Funktion, z.B. der experimentellen Höhendifferenzfunktion (Gleichung 2f). Die Genauigkeit hängt von der gewählten Kantenlänge  $\Delta x$  ab, Tabelle 2. Hierbei berechnet sich die Größe  $f$  aus dem Schätzwert

$$q_n = (c \cdot n)^{-f} \quad (2)$$

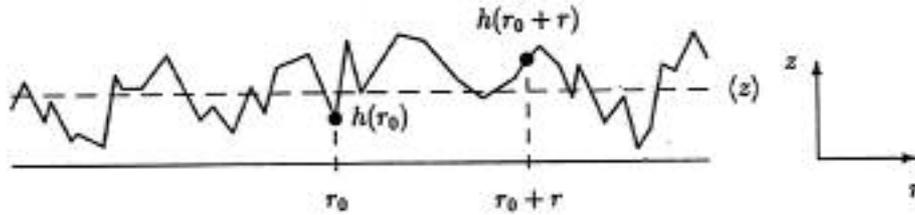
**Tabelle 2** Fraktale Dimension  $f$  der Proben des Bildes 3

1.4404 (5_original_50)		PTFE (5_3009_2,5)	
$\Delta x = 70 \mu\text{m}$	$f$ 2,019		$f$ 2,083
$\Delta x = 1 \mu\text{m}$	0,242		0,175

Die Zahl  $q_n$  ist die Anzahl der aneinander gepackten 4-er Gruppen, von denen mindestens ein Pixel der Struktur angehören muß ( $n = 1 \times 1; 2 \times 2; 3 \times 3 \dots$  Quadrante). Im Fall, daß die Ausgleichsgerade nicht mehr erfüllt ist ( $\Delta x = 1 \mu\text{m}$ , Tab. 2), liegt eine fehlerhafte Schätzung vor.

#### S.4.4 Das Programm „ParSurf“

Eine raue Oberfläche kann durch eine Höhenfunktion  $z(r)$ , Bild 4, im D-dimensionalen Raum eindeutig dargestellt werden [S8]. Mit dem Programm MARKIII sind die in der DIN EN genormten Oberflächengrößen berechenbar. Zur Überprüfung des Einflusses nichtgenormter Prozeduren und zur Ergänzung der Oberflächencharakteristika, insbesondere mit den Höhenverteilungsfunktionen und dem  $R_{\text{rms}}$  - Wert, wurde das Programm „ParSurf“ entwickelt. Die Dateneingabe der vermessenen Oberflächen erfolgt mit dem File, der mittels der bereits erwähnten Konvertierungsroutine erstellt wird (Kap.S.4.3).



**Bild 4** Definition einer rauhen Oberfläche

Die mit „ParSurf“ berechneten Größen sind

- der Mittelwert (Durchschnittshöhe)  $\langle z \rangle = \bar{z} = \frac{\sum_{i=1}^n z_i}{n}$  (3)

- die mittlere Rauhtiefe  $R_a = \left| \frac{\sum_{i=1}^n (z_i - \bar{z})}{n} \right| = \langle z(r_0) - \langle z \rangle \rangle$  (3a)

- die Grenzwerte  $R_{\text{Min}} = \text{Min}(z_i)$  und  $R_{\text{Max}} = \text{Max}(z_i)$  (3b)

- der RMS - Wert  $\sigma^2 = R_{\text{rms}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (z_i - \bar{z})^2}{n}} = \langle [z(r_0) - \langle z \rangle]^2 \rangle = \langle h(r_0)^2 \rangle$  (3c)

- der  $R_q$  - Wert  $R_q = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n z_i^2}{n}} = \langle z(r_0)^2 \rangle$  (3d)

- die Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion  $c(r) = \langle z(r_0) \cdot z(r_0 + r) \rangle - \langle z(r_0) \rangle^2 = \langle h(r_0) \cdot h(r_0 + r) \rangle$  (3e)

- die Höhendifferenzfunktion  $g(r) = \langle [z(r_0 + r) - z(r_0)]^2 \rangle = \langle [h(r_0 + r) - h(r_0)]^2 \rangle$  (3f)

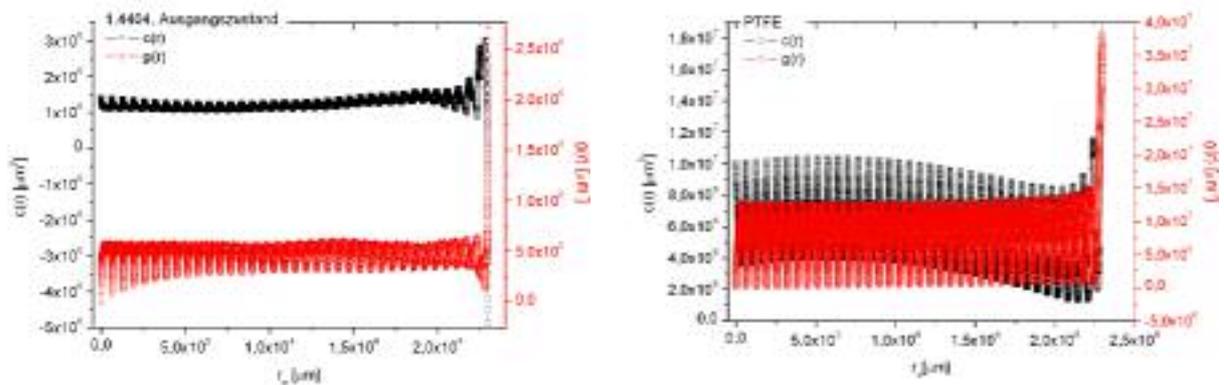
<...> Mittelung über alle lateralen Koordinatenpunkte  $r_0$

**Tabelle 3** Vergleich der Ergebnisse zwischen den Programmen „ParSurf“ und MARKIII

<b>Programm „ParSurf“</b>			
Probe	$R_{\text{Max}}$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	$\langle z \rangle$ ( $\mu\text{m}$ )
1.4404 (5_original_50)	8,539	0,40387	6,87425
PTFE (5_3009_2,5)	20,1935	1,818	11,99
<b>Programm MARKIII</b>			
Probe	$R_{\text{Max}}$ ( $\mu\text{m}$ )	$R_a$ ( $\mu\text{m}$ )	$\langle z \rangle$ ( $\mu\text{m}$ )
1.4404 (5_original_50)	8,539	0,355	6,874
PTFE (5_3009_2,5)	20,199	0,906	11,991

Das Software-Problem verdeutlicht der  $R_a$  - Wertvergleich der im Bild 3 dargestellten Oberflächen, Tabelle 3. Die übereinstimmenden Werte für  $R_{\text{Max}}$  und  $\langle z \rangle$  lassen den Schluß zu, daß die Werte  $z_i$  richtig konvertiert wurden. Die Abweichung für  $R_a$  wächst mit zunehmender Oberflächensteigung und -krümmung. Diese Abweichung begründet sich im Berechnungsverfahren. In

MARKIII werden gekrümmte und schräg liegende Flächen auf einer Ebene abgebildet und erst danach erfolgt die Berechnung. Dieses „numerische Richten“ der Oberfläche bedingt den Fehler zwischen diesen beiden Programmen. Da diese Prozedur nicht genormt ist, weichen die Ergebnisse für verschiedene Abbildungen (Ebene/ MARKIII, Zylinder/ BAM) für stark gekrümmte Flächen voneinander ab. Die Problematik verschiedener Software - Pakete verdeutlicht auch, daß beispielsweise in MARKIII immer auf den  $R_{\text{Min}}$  – Wert normiert wird.

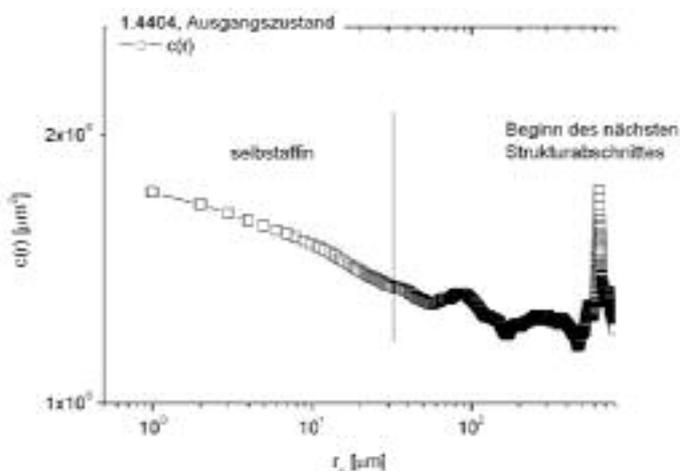


a

b

**Bild 5** Höhen – Höhen - Korrelationsfunktion  $c(r)$  und Höhendifferenzfunktion  $g(r)$  für die Proben des Bildes 3

Die mit den experimentell bestimmten Daten berechneten Verteilungsfunktionen verdeutlichen die Problematik der Interpretation bearbeiteter Flächen. Das Bild 5a zeigt, daß sich die Oberfläche aus einer Abfolge von Strukturelementen zusammensetzt. Die Topographie dieser Strukturelemente bestimmt die kurzreichweitigen Wechselwirkungen der Bioadhäsion an einer Materialoberfläche [S1, S2]. Der RMS – Wert, der u.a. zur Berechnung der Kapillarkräfte (Rumpf – Modell) in AFM – Abzugsexperimenten benötigt wird, sollte eine Auswertung dieser einzelnen Bereiche sein. Diese Verteilungsfunktionen würden direkt in der Nachfolge zum  $R_a$  – Wert stehen. Zur Zeit ist eine derartige, bioadhäsiv bezogene Datenanalyse nicht möglich. Im Bild 5b ist die starke Neigung der Oberfläche auch in der Funktion  $c(r)$  erkennbar.



**Bild 6** Ein selbstaffiner Strukturabschnitt des Bildes 5a

Das Bild 6 zeigt einen willkürlich ausgewählten Strukturabschnitt, in dem Selbstaffinität gilt. Die Abbildung verdeutlicht aber auch die Länge dieses ausgewählten Abschnittes. Dieser selbstaffine Bereich kann beispielsweise mit der Funktion [S9]

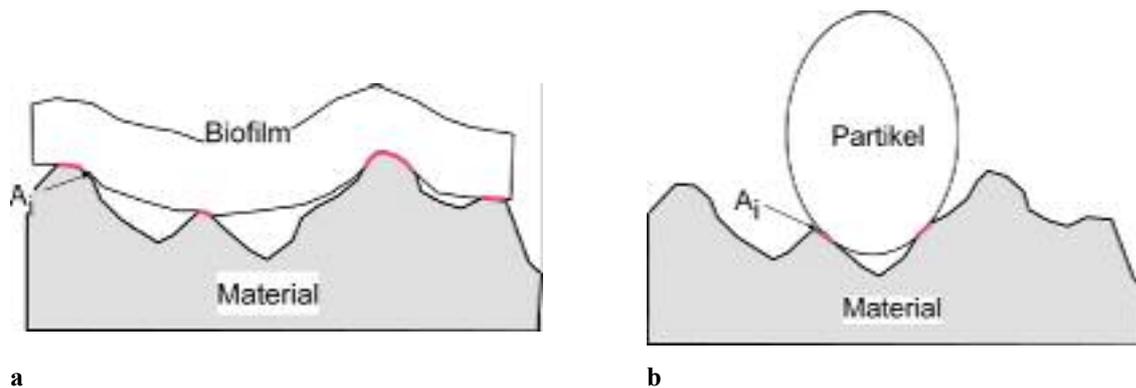
$$g(x) = [h(x_0 + \Delta x) - h(x_0)]^2 = 2\sigma^2 \left[ 1 - e^{(-x/\xi)^f} \right] = 2 \sum_{i=1}^N \frac{(Z_i - \bar{Z})^2}{N} \left[ 1 - e^{(-x/\xi)^f} \right] \quad (4)$$

$\xi$  laterale Korrelationslänge,  $Z_i$  i-ter z-Wert,  $N$  Zahl der z-Werte,  $\bar{Z}$  mittlerer z-Wert,  $f = 2 - H$  fraktale Dimension,  $H$  Rauigkeitsexponent ( $H \rightarrow 1$  glatt/ sanfte Abfolge von Hügeln und Tälern,  $H \rightarrow 0$  sehr zerklüftet)

charakterisiert werden. Die Priorität des Forschungsauftrages lag auf dem Kennwert, so daß diese spezifische Auswertung nicht weiter verfolgt werden konnte.

#### S.4.5 Das Programm „AdSurf“ zur Berechnung der Adhäsionsfläche für eine frei wählbare Schnittlinie

Ein wesentlicher Bestandteil des Kennwertes ist eine Wahrscheinlichkeit zur Charakterisierung der topographieabhängigen Adhäsionsfläche, s. Kap. S.5. Darüber hinaus hängt diese Fläche auch von den mechanischen Eigenschaften des zu untersuchenden biologischen Objektes ab. Diese Eigenschaften sollen längs einer frei wählbaren Schnittlinie im 3D - Oberflächenbild bestimmt werden können. Die nachfolgenden Berechnungen werden nur an einer Schnittlinie ausgeführt. Prinzipiell können beliebig viele, parallele Schnitte untersucht werden. Es sei bemerkt, daß dann das angewandte Verformungsmodell (Kap. S.4.5.2) nicht mehr gilt. In diesem Fall muß man zur Verformung einer Platte übergehen.



**Bild 7** Auflageflächen eines Biofilmes und eines Partikels

Das Objekt kann einzeln, z.B. als Partikel, oder in Form eines Biofilmes vorliegen, Bild 7. Die Berechnung der Adhäsionsfläche

$$A_{ad} = \sum_{i=1}^n A_i \quad (5)$$

$A_i$  die i-te der n Einzelflächen

ist für ein Einzelobjekt oder einen Film prinzipiell gleich. Beide Fälle unterscheiden sich in der Vorgeschichte, nämlich der völlig voneinander verschiedenen Objektverformung. Werden „harte“ unverformbare Einzelobjekte betrachtet, bestimmen sich die  $A_i$  aus einer Berechnung der Kontaktflächen für ein vorgegebenes Objekt; einer problemlosen numerischen Prozedur. Um ein Vielfaches kritischer ist ein sich verformendes Objekt. Hier hängen die einzelnen Kontaktflächen

$$A_i = A(\text{Topographie}, E_{ijk}) \quad (6)$$

auch von den Verformungseigenschaften  $E$  ab. Da sich die qualitativen Aussagen des Kennwertes (Kap. S.5.) nicht verändern, wurde nur der biologisch spezifischere Fall eines sich verformenden Objektes betrachtet. Als Objekt wurde ein Balken angenommen. Die Objektgeometrie

verändert nicht die qualitativen sondern nur die quantitativen Aussagen. Das Projektziel war die Schaffung der Grundlagen eines neuen Kennwertes und dessen Überprüfung mit ausgewählten Verfahren, keine Trendrechnungen, so daß die Reduzierung auf eine technisch typische Objektform, einem Biofilm konstanter Dicke, gerechtfertigt erscheint.

Das Programm „AdSurf“ muß somit zwei Programmkomplexe

- die Analyse der ausgewählten Schnittlinie und
- die Berechnung der Adhäsionsfläche nach der Verformung des biologischen Objektes

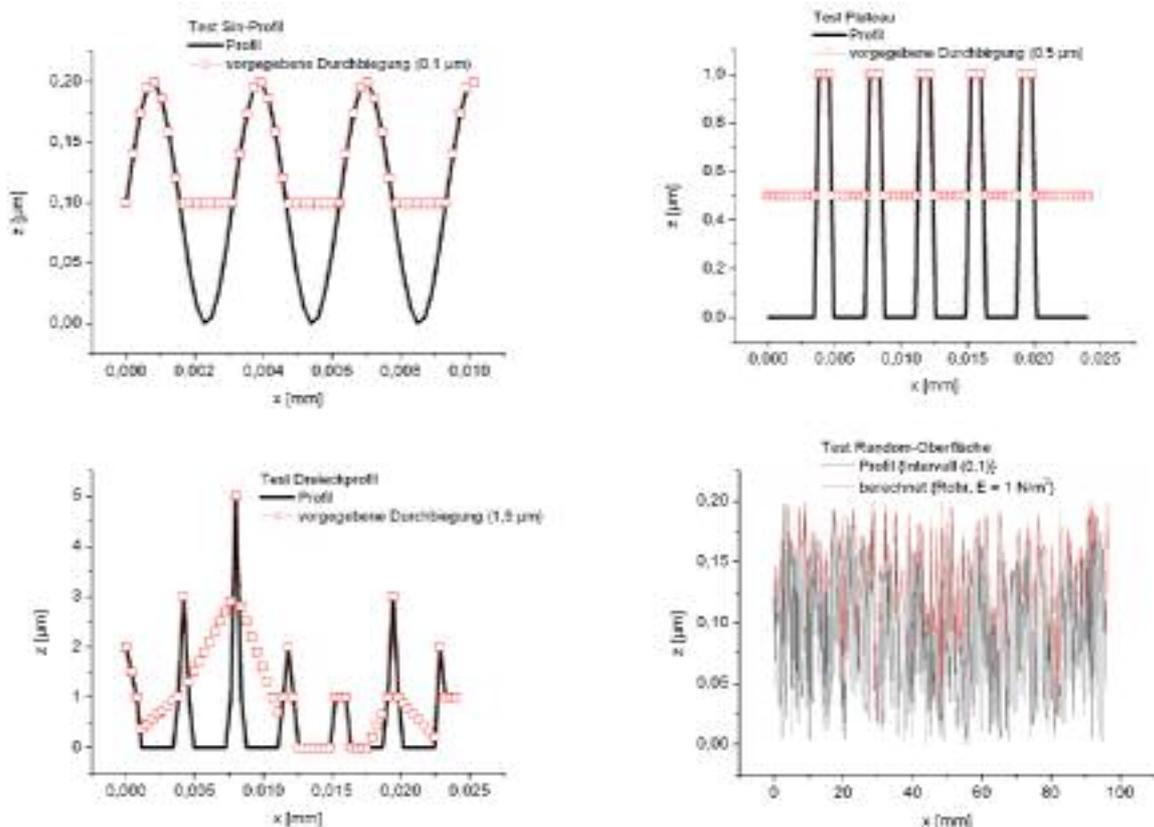
beinhalten. Ein Biofilm kann sich nur durchbiegen, wenn er auf „Stützen“ aufliegt, d.h. es müssen „Hügel und Täler“ vorhanden sein. Deshalb werden zu Beginn anfangs

- die Anzahl der Oberflächenhügel
- deren Ort und Abstand sowie
- die Lage und Ausdehnung eventueller Plateaus

des Profils ermittelt, die Schnittlinien - Analyse. Diese setzt einen Bildausschnitt voraus, in dem mindestens zwei Oberflächenhügel zu beobachten sind. Hier ist die Sondauflösung von grundlegender Bedeutung.

#### S.4.5.1 Schnittlinien - Analyse

Numerisch wird jeder Extremwert erfaßt, unabhängig vom gewählten Maßstab. Für eine bimodale Verteilung, z.B. eine im  $\mu\text{m}$  - Maßstab überlagert mit einer im  $\text{nm}$  - Maßstab, werden die „Hügel und Täler“ in beiden Maßstäben berechnet. Vergleicht man dies mit einer natürlichen bimodalen Verteilung, wie einem mit Wachspartikel bestücktem Blatt, wie dem Lotusblatt, erscheint dies sinnvoll. Auch dort ist für die Haftung die Verteilung im  $\text{nm}$ -Maßstab verantwortlich.

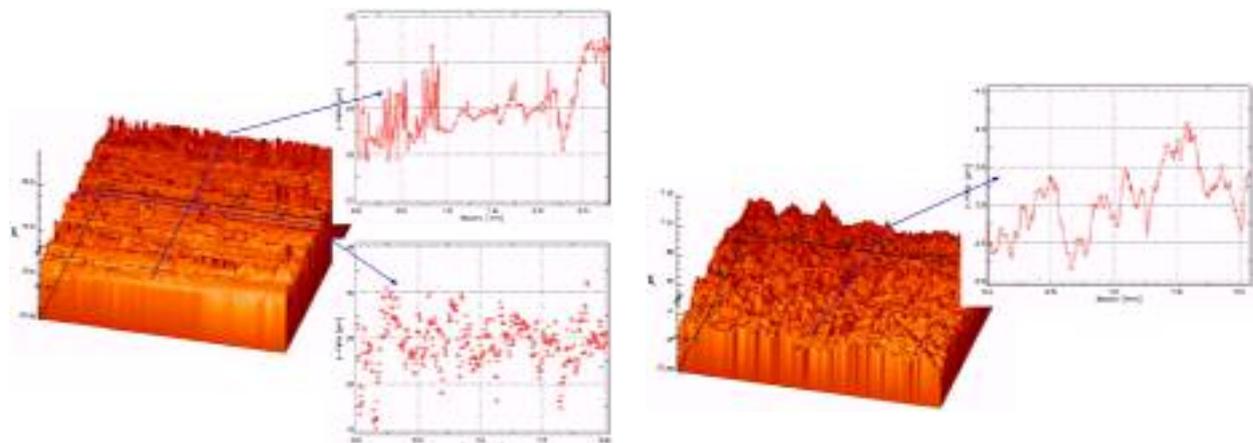


**Bild 8** Tests zur Adhäsionsfläche für ausgewählte Profillinien und vorgegebene Durchbiegungen

In der Technik interessiert aber oftmals die Wirkung der Einzelverteilungen. In diesem Fall muß man die Gesamtverteilung in diese zerlegen. Mit den dann ermittelten Verteilungsfunktionen können unter Anwendung des Programms „SimSurf“ zwei separate Oberflächen simuliert und mittels „AdSurf“ getrennt analysiert werden. Das entwickelte Programmpaket ermöglicht somit die Analyse des Gesamtsystems oder von ausgewählten Untersystemen. Mit dieser Prozedur ist, über die aktuellen Berechnungen hinaus, eine Aussage möglich, welcher Maßstab für die Bioadhäsion wesentlich ist. Hierfür wird auch die Art des Objektes und dessen Entwicklungsgeschichte verantwortlich sein.

Für die Testläufe wurden „extreme“ Oberflächen, vergleichbar mit einem Software-Standard, vorgegeben. Die Abbildung 8 zeigt, daß das Programm „AdSurf“ alle möglichen Nuancen analysiert. Insbesondere die Random - Oberfläche verdeutlicht die obigen Bemerkungen zur Verteilung.

Das Bild 9 zeigt die Schnittlinien technischer Oberflächen. Derartige Profile sind mit dem Programm „AdSurf“ problemlos analysierbar. Für stark zerklüftete Oberflächen muß aber die Frage beantwortet werden, inwieweit eine Filterung als sinnvoll zu erachten ist. Diese Antwort kann nur aus der Analyse vieler technisch hergestellter Oberflächen folgen. Letztendlich ist es die Ableitung von Filter – Standards mit dem entwickelten Programm – Paket.



a 1.4404 (Ausgangszustand mit Korn 120 geschliffen)

b 1.4404 (Ausgangszustand mit Korn 400 geschliffen und anschließend elektrochemisch poliert)

**Bild 9** Technische Oberflächen und ausgewählte Schnittlinien (Aufnahme: Multisondenplatz/BAM, anschließende Konvertierung in MARKIII und Festlegung der gewünschten Schnittlinien)

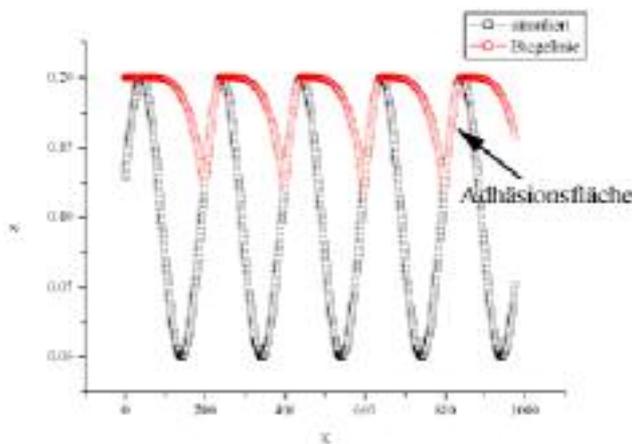
#### **S.4.5.2 Adhäsionsfläche**

Die Adhäsionsfläche ist als die Berührungsfläche des verformten Körpers mit der Materialoberfläche definiert, Glchg. (5). Die nachfolgenden Ausführungen wurden exemplarisch mit einem geschlossenen balkenförmigen Biofilm ausgeführt. Zur Ausschließung von viskoelastischen Verformungen wurde eine rein elastische angenommen. Prinzipiell können problemlos andere Verformungsmechanismen und Geometrien, z.B. eine viskoelastische Platte oder Kugel, betrachtet werden. Voraussetzung ist die Programmierung der entsprechenden Funktionsaufrufe. Die im Kapitel „Kennwert“ (Kap.S.5.) getroffenen Trendaussagen werden hiervon zwar quantitativ berührt, die qualitativen Aussagen verändern sich aber nicht.

Die Berührungslinie entspricht von Abschnitt zu Abschnitt einer anderen Funktion. Hierfür ist eine geschlossene Lösung nicht mehr möglich, so daß ein Gradientenverfahren als Iteration gewählt wurde. Die Schrittweite entspricht dem Abstand der beiden Punkte ( $i$ ;  $i+1$ ), zwischen denen der aktuelle Gradient berechnet wird. Die zugehörige Höhendifferenz ist mit diesen beiden Punkten  $i$  und  $i+1$  eindeutig bestimmt. Mit diesem Verfahren hängt die Iterationsgenauigkeit von

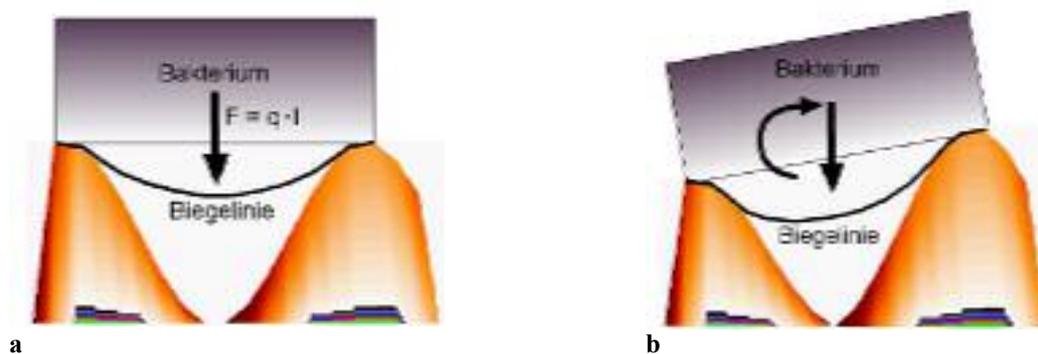
der Punktdichte ab. Für die untersuchten Oberflächen, mit ihrer hohen Gesamtpunktdichte, ist der Fehler vernachlässigbar. Für kleine Punktdichten können Zwischenpunkte nach einem Spline - Verfahren gesetzt werden, deren Anzahl evolutionsstrategisch ausgewählt wird.

Eine wesentliche Voraussetzung für eine exakte Berechnung ist, daß sich die Schnitt - (Oberfläche) und die Verformungslinie (Biofilm) berühren aber nicht durchdringen. Diese Frage erscheint trivial, muß aber mit zwei großen Feldern realisiert werden. Zum Test wurden einerseits Verformungen vorgegeben, Bild 8. Andererseits wurde der Biofilm abschnittsweise als einseitig eingespanntes Rohr angenommen und infolge seines Eigengewichtes verformt. Ein kleiner E - Modul gewährleistet eine große Durchbiegung. Das Bild 10 veranschaulicht nochmals, daß das simulierte Oberflächenprofil als Begrenzung für das sich durchbiegende Objekt richtig wiedergegeben wird.



**Bild 10** Adhäsionsfläche für einen abschnittsweise „einseitig eingespannten“ Biofilm

Im Bild 11 sind die beiden möglichen Fälle der Durchbiegung eines beidseitig eingespannten Balkens dargestellt. Dieser Belastungsfall gilt dann, wenn aus einem Biofilm ein Abschnitt „gedanklich“ herausgeschnitten wird oder die Wellenlänge der Oberfläche kleiner gegenüber der Länge eines Bakteriums ist. Die Lösungen dieses einfach statisch unbestimmten Systems sind ermittelbar. Ergänzend zeigt das Bild 11b den Fall, daß sich die benachbarten Hügel in ihrer Höhe unterscheiden. Hier tritt ein zusätzliches Moment auf.



**Bild 11** Die zwei Fälle der Durchbiegung eines beidseitig eingespannten Balkens  
Die Durchbiegung  $w_M$  für diese beiden Fälle beträgt

Alle geometrischen Größen ( $l$  Hügelabstand,  $a = x(F)$ ,  $b = l - x(F)$ ,  $\Delta z$ ) sind aus der vorangegangenen Profilanalyse bekannt. Für eine, sich periodisch nicht wiederholende, Oberfläche variieren diese Werte abschnittsweise. Die Durchbiegung  $w_M$  in Abhängigkeit vom Ort  $\xi$  berechnet sich für die beiden Fälle des Bildes 11 in der normierten Form nach

**Fall 11a**

$$w_M = \begin{cases} W\beta^2\xi^3 \frac{[3\alpha - (1 + 2\alpha)\xi]}{6} & \xi \leq \alpha \\ W\alpha^2(1-\xi)^2 \frac{[-\alpha + (1 + 2\beta)\xi]}{6} & \xi \geq \alpha \end{cases} \quad (7)$$

$W = \frac{Fl^3}{EI_y}$  Widerstandsmoment,  $\alpha = \frac{a}{l}$  und  $\beta = \frac{b}{l}$  Kraftangriffspunkte,  $\xi = \frac{x}{l}$  aktueller Ort

**Fall 11b**

$$w_M = \begin{cases} -W\beta\xi^2 \frac{(1 - 3\alpha + 2\alpha\xi)}{2} & \xi \leq \alpha \\ -W\alpha \frac{(1 - \xi^2)(2\beta\xi - \alpha)}{2} & \xi \geq \alpha \end{cases} \quad (7a)$$

$W = \frac{Ml^2}{EI}$  Widerstandsmoment, M Gesamtdrehmoment im Schwerpunkt des Abschnittes

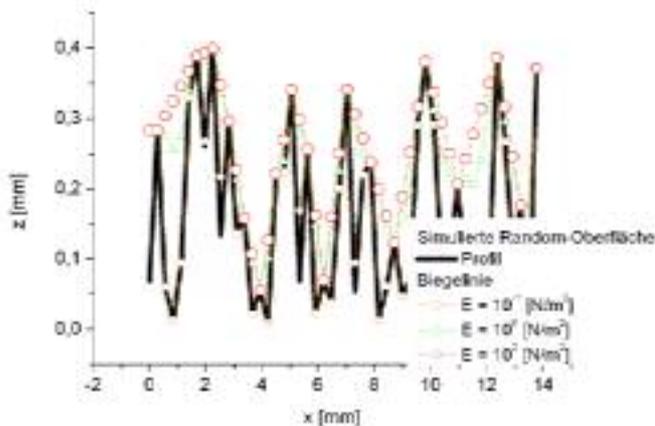
Neben den geometrischen Größen müssen für die Berechnungen die Kraft, der E-Modul und das Trägheitsmoment bekannt sein. Zur Berechnung der Kraft des i-ten Abschnittes eines balkenförmigen Biofilmes gilt

$$F_i = q \cdot l_i = m_i \cdot g = \rho \cdot V_i \cdot g = \rho \cdot h \cdot b \cdot l_i \cdot g \quad (8)$$

h Balkenhöhe, b Balkenbreite

Das Flächenträgheitsmoment beträgt

$$I = \frac{b \cdot h^3}{12} \quad (9)$$



**Bild 12** Ergebnis der Berechnungen mit dem Programm „AdSurf“ für eine Random – Oberfläche und verschiedene E-Moduli (h = 1 μm, b = 1 μm)

Ein gravierendes Problem sind die mechanischen Konstanten biologischer Objekte. In jüngster Zeit versucht man aus AFM - Abzugsexperimenten [S11] und aus der Messung der Verformung bakterieller Cluster [S12] Aussagen zum E - Modul von Bakterien oder Biofilmen zu erhalten. Da die Programmentwicklung im Vordergrund stand, wurde in den nachfolgenden Testrechnungen mit Werten gearbeitet, die in der Größenordnung von Ergebnissen aus Scherspannungsmessungen an *Pseudomonas* – Clustern liegen  $\{E \propto (1 - 150) \text{ N} \cdot \text{m}^{-2} \text{ [S12]}\}$ . Im Bild 12 ist das Ergebnis derartiger Berechnungen an einer simulierten Random - Oberfläche für verschiedene E - Moduli dargestellt.

## S.5 Steriltechnischer Besiedelungskennwert

Für diesen Kennwert gibt es kein „Vorbild“. Die nachfolgenden Betrachtungen sind einerseits grundlagenorientiert. Gleichzeitig forderte die Aufgabenstellung eine sofort technologisch anwendbare Größe. Mit Erweiterung der experimentellen Basis wird sich diese Größe, nicht in ihren Grundlagen, aber in ihrer Feinheit verändern.

Nimmt man Bezug auf die Bio - Adhäsion von Objekten an Festkörperoberflächen, dann werden diese, sehr komplexen, Prozesse von zwei Anteilen dominiert; der Oberflächentopographie und den energetischen Gegebenheiten [S1, S2]. Beide Anteile können nicht getrennt voneinander betrachtet werden. Die Energie einer gekrümmten Oberfläche beträgt

$$E = 4 \cdot \pi \cdot r^2 \gamma \quad (10)$$

( $\gamma$  Oberflächenenergie)

mit dem Krümmungsradius  $r = ds/d\alpha = f(R_a)$ . Infolge dieser Krümmung  $k = r^{-1}$  weicht die Energie  $E$  von der einer ideal ebenen Oberfläche  $E_0$  ab. Diese Differenz  $\Delta E = E - E_0$  ist u.a. für die Hysterese zwischen dem Vor- ( $\Theta_V$ ) und Rückzugswinkel ( $\Theta_R$ ) in Oberflächenenergiemessungen verantwortlich. Diese Gleichung 10 verdeutlicht, daß die Wechselwirkungsenergien zusätzlich topographisch verändert werden. Zur Berücksichtigung dieser Vielfalt werden nachfolgend diese beiden großen Anteile in ihre einzelnen Komponenten zerlegt.

Darüber hinaus können Fremdeinflüsse, wie die Strömung, Nährstoff-, Biozid- und Licht - Fluktuationen, die Bioadhäsion wesentlich beeinflussen [S1, S2]. Zur Berücksichtigung derartiger Phänomene wird ein Weg aufgezeigt, dessen Analyse bleibt aber späteren Arbeiten vorbehalten.

### S.5.1 Beschreibung

Adhäsionsphänomene sind stochastische Prozesse. Unter Bezug auf Monte – Carlo - Simulationen [S13 – S16] liegt deshalb dem Kennwert eine Wahrscheinlichkeitsbetrachtung zugrunde. Es wurden zwei voneinander unabhängige Wahrscheinlichkeiten definiert:

- die, den topographischen Anteil beschreibende, Wahrscheinlichkeit  $p(A)$
- die energieabhängige Wahrscheinlichkeit  $p(\gamma/A)$ ; gemäß Gleichung (10) ist dieser Term eine bedingte Wahrscheinlichkeit  $p(\gamma) \cdot p(\gamma')$  und kann von der Topographie  $\{\gamma' = f(A)\}$  abhängen.

Diese Teilwahrscheinlichkeiten können durch Fremdeinflüsse verändert werden. Eine übliche Charakterisierung ist die Verwendung von Gewichten  $g_i$  [S13]. Normiert man die Gesamtwahrscheinlichkeit  $p$  auf das Intervall (0,1) folgt mit der Normierungskonstanten  $C$

$$p = C \cdot \left\{ g_A \cdot p(A) + g_\gamma \cdot p(\gamma/A) \right\} \begin{cases} = 1 & \text{besiedelt} \\ = 0 & \text{nicht besiedelt} \end{cases} \quad (11)$$

Die Wahrscheinlichkeit

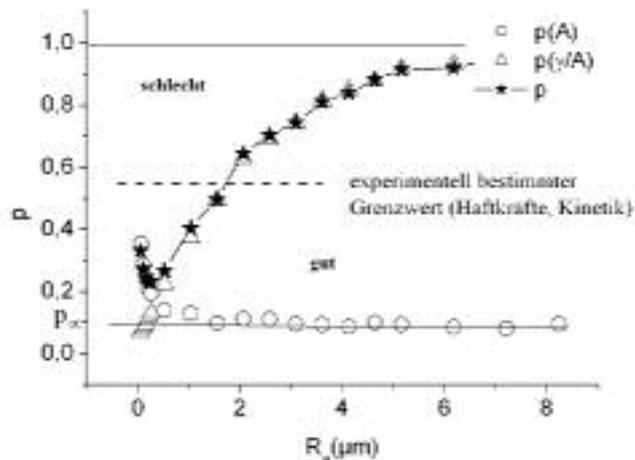
$$p(A) = \frac{A_{\text{besiedelt}}}{A_{\text{gesamt}}} \begin{cases} = 1 \\ = 0 \end{cases} \quad (12)$$

beschreibt das Verhältnis der wahren Adhäsionsfläche zur möglichen Gesamtfläche. Für den energetischen Anteil folgt nach der Boltzmann – Statistik der Ausdruck

$$p(\gamma/A) = 1 - p_0 \cdot \exp\left[-\frac{\Delta G(\gamma) + \Delta G(\gamma')}{k \cdot T}\right] = 1 - \exp\left[-\frac{\Delta S}{k}\right] \cdot \exp\left[-\frac{\Delta G(\gamma) + \Delta G(\gamma')}{k \cdot T}\right] \quad (13)$$

Hierbei sind  $\Delta S$  die Entropieänderung infolge der Adhäsion,  $\Delta G = \Delta G + \Delta G'$  die aufzubringende Adhäsionsenthalpie,  $k$  die Boltzmann – Konstante und  $T$  die Temperatur. Die Energien  $\gamma$  und  $\gamma'$  charakterisieren die rauheitsunabhängigen und –abhängigen Anteile.

In Abhängigkeit des Verhältnisses zwischen  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  weist die Summenkurve  $p$  (Gleichung 11) ein mehr oder weniger ausgeprägtes Minimum auf, Bild 13.



**Bild 13** Kennwert  $p$  als Summe seiner Anteile  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  [S17]  
 $p_\infty$  Gleichgewichtswert von  $p(A)$

Der Grenzwert für eine „gute“, d.h. den steriltechnischen Erfordernissen entsprechende, und eine „schlechte“ Oberfläche muß experimentell festgelegt werden.

### S.5.2 Die Wahrscheinlichkeit $p(A)$

In den obigen Ausführungen wurde bereits erwähnt, daß der „nichtenergetische“ Anteil der Topographie durch die Adhäsionsfläche repräsentiert wird. Entsprechend ist der Term  $p(A)$  als Flächenverhältnis eingeführt worden (Gleichung 12). Die Voraussetzung zur Berechnung dieser Größe ist die Kenntnis der, für die Adhäsion zur Verfügung stehenden, Gesamtfläche  $A_{\text{gesamt}}$ , und die Fläche nach der Adhäsion  $A_{\text{besiedelt}}$  selbst.

Der Gewichtungsfaktor  $g_A$  berücksichtigt eine mögliche Dominanz der Fläche ( $g_A > 1$ ) oder der Energie ( $g_A < 1$ ). In diesem allgemeineren Fall

$$p(A) = g_A \frac{A_{\text{besiedelt}}}{A_{\text{gesamt}}} \quad (14)$$

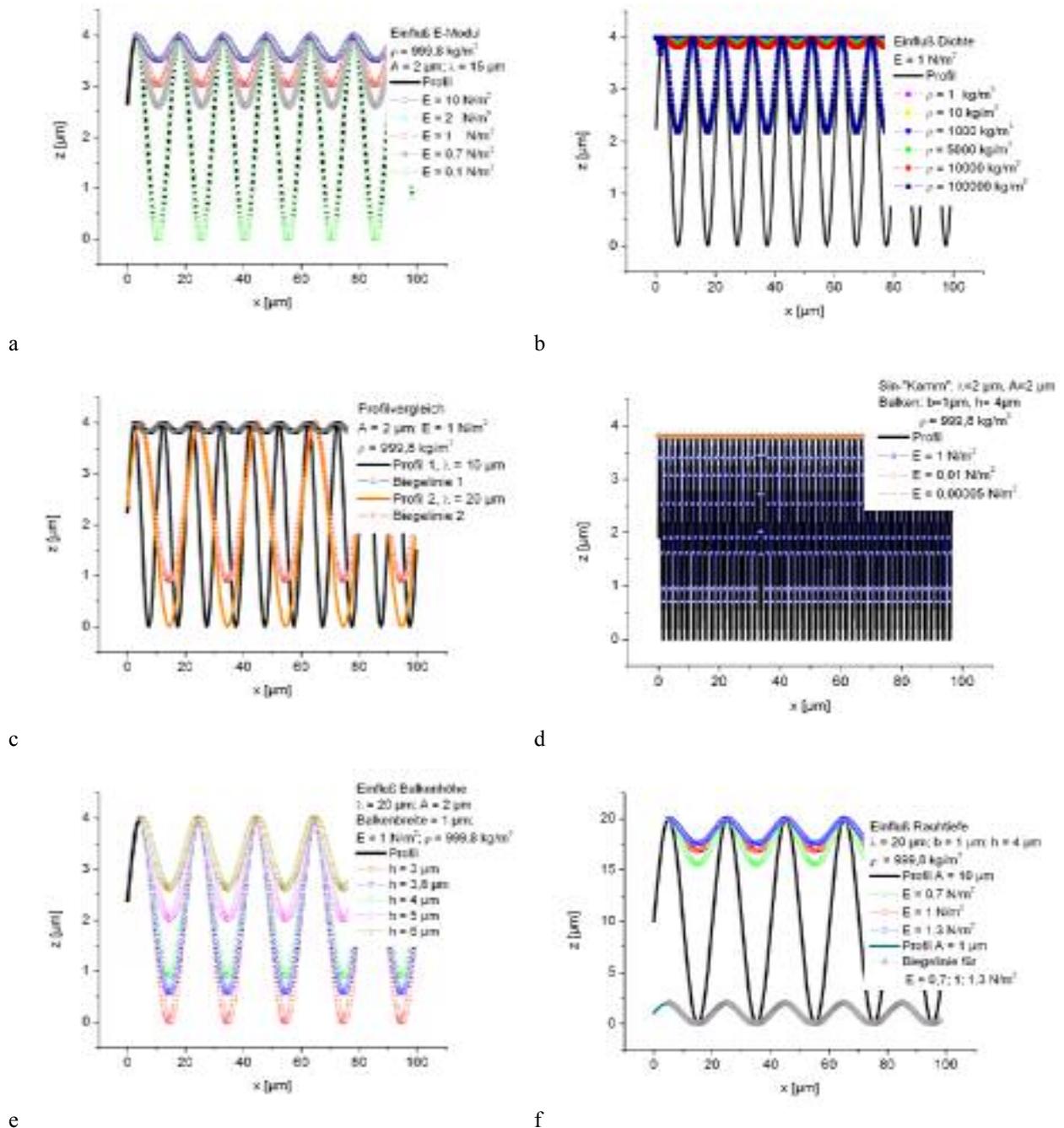
gelten die Grenzwerte der Gleichung (12) nicht mehr.

Derartige Gewichte können nur aus sehr umfangreichen, experimentellen Untersuchungen oder Simulationen ermittelt werden. Diese Frage war nicht Bestandteil des Themas, so daß nachfolgend die beiden Terme  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  als gleichwertig betrachtet werden. In diesem Fall gilt

$$g_A = g_\gamma = 1 \quad (15)$$

Die Berechnung der Gesamtfläche  $A_{\text{gesamt}}$  aus einem 3D - Bild wird nicht explizit in allen Software – Paketen bereitgestellt. Beispielsweise kann man mit MARKIII das Volumen einer vorgebbaren Grundfläche berechnen. Dies ist eine Erweiterung der Berechnung des Ölhaltevolumens. Ein anderer Weg ist ein eigenständiges Programm. Die nachfolgenden Flächen  $A_{\text{gesamt}}$  sind generell mit dem Programm „AdSurf“ berechnet worden. Hierzu wurde der „Trick“ eines Biofilmes mit einem sehr kleinen E – Modul ( $\sim 0,1$ ) angewandt. Das Oberflächenprofil ist immer die untere Begrenzung des verformten Biofilmes (Bilder 8 und 12), so daß der in diesem Fall anliegende Film die Oberfläche eineindeutig beschreibt.

Um ein Vielfaches schwieriger ist die Ermittlung der Fläche nach der Adhäsion  $A_{\text{besiedelt}}$ . Im Fall biologischer Objekte gibt es u.a. die Möglichkeit mittels der Laser - Scanningmikroskopie (LSM) den Film in Scheiben zu zerlegen [S1, S2]. Bedingung ist, daß auch unter den Film gesant werden kann, eine experimentelle Prozedur der Grundlagenforschung. Zum anderen kann man bei bestimmten Zellen das Immunsystem anregen und besonders aktive Zelloberflächen bestimmen [S18]. Es ist bekannt, daß diese Flächen prädestiniert sind für die Adhäsion [S1, S2]. Prinzipiell gilt auch hier die Aussage der LSM - Technik. Da beide Wege dem technischen Anspruch nicht entsprachen und darüber hinaus zeitlich nicht realisierbar waren, wurde die Adhäsionsfläche ebenfalls mit dem Programm „AdSurf“ berechnet (Kap. S.4.5.2).



**Bild 14** Einfluß der verschiedensten, den Film charakterisierenden, Größen auf dessen Verformung

$\rho$  Dichte; Sin: A Amplitude,  $\lambda$  Wellenlänge; Balken: b Breite, h Höhe, wenn h nicht angegeben  $h = 1 \mu\text{m}$

Die Struktur eines Körpers beeinflusst direkt den Tensor der elastischen Konstanten. Bereits für einen kubischen Kristall, mit seinen 36 Elementen, gelingt es nicht, alle zu bestimmen. Deshalb versucht man durch Symmetrien deren Zahl zu reduzieren. Der einfachste Fall ist ein einachsig belasteter, isotroper Zugstab ohne Querdehnung mit dem bekannten E - Modul als einzige elastische Konstante. Ungleich schwieriger ist die Struktur eines Biofilmes. Es gibt aus O<sub>2</sub> – Diffusionsmessungen und LSM - Untersuchungen Vorstellungen zu massiven Filmen mit einem hohen Schleimanteil [S19]. Die Frage; ‚Wie sind die mechanischen Eigenschaften eines monolagigen *S.cerevisiae* Filmes?‘ wurde bisher nicht beantwortet. Diese Eigenschaften bestimmen aber im wesentlichen die Filmverformung, somit die Adhäsionsfläche  $A_{\text{besiedelt}}$ . Im Kapitel S.4.5.2. wurde bereits darauf verwiesen, daß für die nachfolgenden Berechnungen ein, mit einem sehr großen Toleranzbereich ermittelter, Wert verwendet wird, bestimmt aus der Schubverformung von *Pseudomonas* Cluster.

Im Bild 14 ist der Einfluß aller, die Verformung beeinflussenden, Größen dargestellt. Generell ist festzustellen, daß eine höhere Steifigkeit (großer E – Modul, großes Trägheitsmoment) die Adhäsionsfläche minimiert. Ein sehr fester Biofilm, z.B. mit geringen Schleimanteilen, verformt sich geringer als ein sehr weicher. Die Rechnungen verdeutlichen, daß mit großen Schleimanteilen (kleiner E – Modul) die Oberflächen ausgefüllt werden (Bild 14a). Das Bild 14e verdeutlicht die Wirkung der Biofilmdicke. Hierbei ist zu bedenken, daß anfängliche Filme sehr dünn sind. Diese werden, vergleichbar mit einem dünnen „coating“, die Oberfläche überziehen, so daß der mechanische Effekt eines dicken Filmes nicht zum Tragen kommt. Dieses Ergebnis verdeutlicht den Einfluß der Entwicklungsgeschichte eines Filmes.

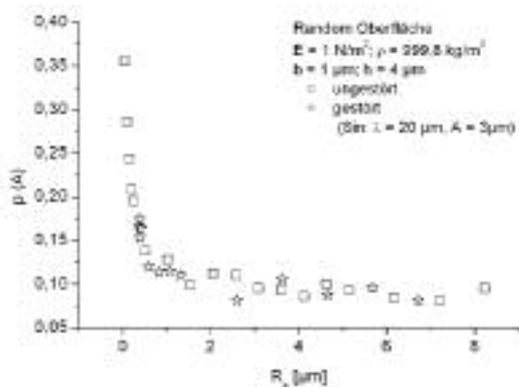
Ein Film mit einer großen Dichte, z.B. mit einem hohen Wasseranteil und/ oder Proteinen mit hohem Molekulargewicht, füllt die Oberfläche besser aus, als ein „Leichtgewicht“ (Bild 14b). Diese Anteile hängen im Wesentlichen von den Umwelteinflüssen und den beteiligten Mikroorganismen ab. Mit der Gestaltung des Oberflächenprofils kann die Auflagefläche minimiert werden (Bild 14c, d). Auf kammartigen nanoskaligen Strukturen ist mit einer geringeren Adhäsionsfläche zu rechnen gegenüber sehr hügeligen Oberflächen. Diese Aussagen sind sofort ohne Bedeutung, wenn die Rauhtiefe so gering ist, daß jeder Film, unabhängig von seinen Eigenschaften, die gesamte Oberfläche berühren kann (Bild 14f). Dieses Ergebnis ist dahingehend von Bedeutung, daß eine ideal ebene Oberfläche immer besiedelt wird. Zusammenfassend ist zu bedenken, daß die obigen Simulationen für statische Biofilme durchgeführt wurden. Prinzipiell ist eine Programmiererweiterung mit sich zeitlich verändernden Filmen möglich. Hiervon werden zwar die Grundlagen des Kennwertes nicht berührt, die besiedelte Fläche  $A_{\text{besiedelt}}$  wäre dann eine Funktion der Zeit.

Die Wahrscheinlichkeit  $p(A)$  spiegelt somit

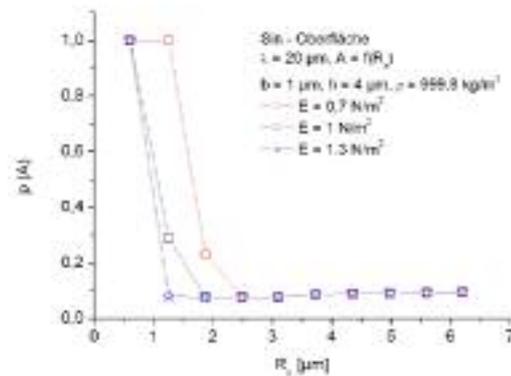
- die Topographie (Wellenlänge, Höhen) und
- die Eigenschaften des Biofilmes (E – Modul, Dichte, Dicke)

wieder, Bild 15. Für eine konstante Wellenlänge und unveränderte Filmeigenschaften (konstante Verformung) erhöht sich mit zunehmender Rauheit  $R_a$  zwar die Gesamtfläche, die besiedelte Fläche bleibt aber konstant (Bild 15a, b). Hieraus erklären sich die niedrigen  $p(A)$  – Werte für große Rauheiten. Der sehr schnelle Übergang für eine Sin - Oberfläche resultiert aus der Rauhtiefenabhängigkeit (Bild 14f). Der sich einstellende Sättigungswert  $p_{\infty}$  charakterisiert die immer vorhandene Berührungsfläche. Die Veränderung des Trägheitsmomentes (Bild 15c) über die Filmdicke beschreibt den Einfluß von Strukturveränderungen und repräsentiert ein adäquates Verhalten bei Variationen der Steifigkeit ( $E \cdot I$ ). Mit einem zunehmendem Abstand der Oberflächenberge (Wellenlänge) kann sich der Biofilm stärker verformen und schmiegt sich ab einer bestimmten Grenzwellenlänge vollständig an die Oberfläche an (Bild 15d). Das entgegengesetzte Verhalten war für kammartige Strukturen bereits beobachtet worden, Bild 14d. Dieser Kennwertanteil könnte die Vermutung nahelegen, daß eine sehr rauhe Oberfläche „antiadhäsiv“ wir-

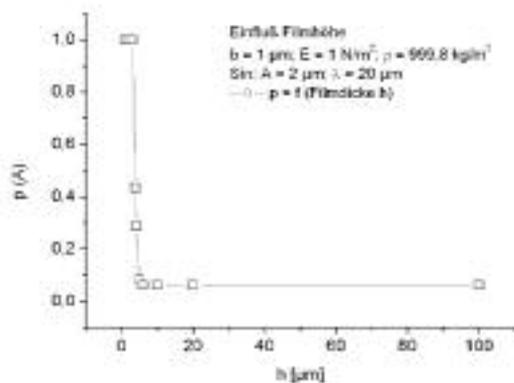
ken würde. Erst die Superposition mit dem energieabhängigen Term  $p(\gamma/A)$  relativiert dieses Bild wieder.



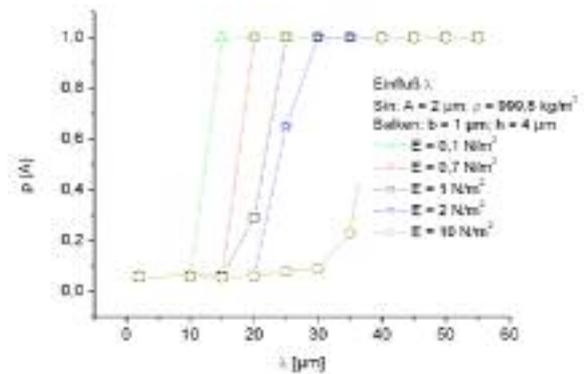
a



b



c



**Bild 15** Die Wahrscheinlichkeit  $p(A)$  wenn  $h$  nicht angegeben  $h = 1 \mu\text{m}$

### S.5.3 Die Wahrscheinlichkeit $p(\gamma/A)$

Dieser Wahrscheinlichkeitsanteil beschreibt alle energetischen Nuancen der Bioadhäsion. Hierzu müssen drei Reaktionsanteile Berücksichtigung finden [S1, S2]

- die Adhäsion mit einem entsprechendem Modell
- die Wirkung möglicher Fremdeinflüsse, z.B. einer Strömung, die Biozid – Diffusion oder Licht- und Nährstoffgradienten
- die rauheitsabhängige Beschreibung der Oberflächenenergie

Jede Reaktion stellt für sich ein eigenständiges Forschungsgebiet dar. Im Vordergrund stand die Ableitung des Kennwertes, so daß das einfache Modell der Spaltarbeit (Gleichung 1c) den Berechnungen zugrunde gelegt wird.

Mögliche Fremdeinflüsse können im Gewicht  $g_\gamma$

$$p(\gamma/A) = g_\gamma \left\{ 1 - p_o \cdot \exp \left[ - \frac{\Delta G(\gamma)}{k \cdot T} \right] \right\} \quad (16)$$

berücksichtigt werden. Dies betrifft u.a. die Abschätzung des Geschwindigkeitseinflusses im Strömungskanal. In Grenzschichten kann u.a. die Driftdiffusion dominieren und das im nachfolgenden Kapitel S.5.4 postulierte Minimum vollständig „verschmieren“. Fremdeinflüsse fanden in diesen Betrachtungen keine Berücksichtigung, so daß die Gleichung (15) gilt.

Mit dem Adhäsions - Modell der Spaltarbeit (Gleichung 1) folgt für die Enthalpie

$$\Delta G(\gamma) = 2 \cdot \gamma \quad (17)$$

$\gamma$  Oberflächenenergie

Die Young – Dupré – Gleichung (Gleichung 1a) gilt für eine ideal ebene Oberfläche. In den einführenden Bemerkungen zu diesem Kapitel S.5. wurde bereits betont, daß die Oberflächenenergie  $\gamma$  von der Krümmung, d.h. der Rauheit, abhängt. Mit der Wenzel – Gleichung [S20 – S23]

$$\cos \Theta_{\text{real}} = f \cdot \cos \Theta_{\text{ideal}} \quad (18a)$$

wobei der Wenzel – Faktor

$$f = \frac{A_{\text{gesamt}}}{A_{\text{projiziert}}} \quad (18b)$$

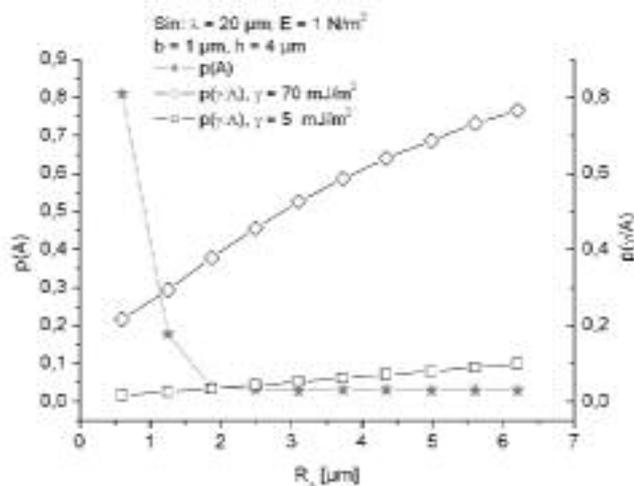
die Abweichung der realen Oberfläche  $A_{\text{gesamt}}$  von der ideal ebenen  $A_{\text{projiziert}}$  beschreibt, ist ein Zusammenhang zwischen dem Kontaktwinkel und der Topographie gegeben. Mit der Young – Gleichung gilt für kleine  $\Theta$  näherungsweise

$$\gamma_{\text{real}} \propto f \cdot \gamma_{\text{ideal}} \quad (18c)$$

womit die Gleichung (17) zu

$$\Delta G \propto 2 \cdot \gamma_{\text{ideal}} \frac{A_{\text{gesamt}}}{A_{\text{projiziert}}} \quad (19)$$

folgt. Im Abschnitt S.5.2 wurde bereits beschrieben, daß mittels der entwickelten Software – Pakete die Fläche  $A_{\text{gesamt}}$  in Abhängigkeit von der Rauheit dargestellt werden kann. Diese Beziehung (19) stellt somit einen rauheitsabhängigen Zusammenhang zur Wahrscheinlichkeit  $p(\gamma/A)$  her. Das Bild 16 zeigt die Abhängigkeit der Größe  $p(\gamma/A)$  von der Oberflächenenergie  $\gamma$  für eine simulierte Sin – Oberfläche.



**Bild 16** Wahrscheinlichkeit  $p(\gamma/A)$  in Abhängigkeit von der Oberflächenenergie  $\gamma$  (Sin – Oberfläche)

Legt man der Energiebetrachtung ein Säure – Base - Modell zugrunde, dann kann die Oberflächenenergie in einen polaren  $\gamma^p$  und nicht-polaren (dispersen)  $\gamma^d$  Anteil aufgespalten werden [S1, S2, S6]. Die polaren Anteile sind spezifische Wechselwirkungen, wie H-H Bindungen oder Di-

pol – Wechselwirkungen. Die dispersen Anteile sind vor allem von der Waalssche Wechselwirkungen. Nach Owens und Wendt [S24] gilt

$$\gamma = \gamma^p + \gamma^d \quad (20)$$

Für eine Meßflüssigkeit folgt [S1, S2]

$$\gamma^* = \frac{2\sqrt{\gamma_s^p \cdot \gamma_f^p} + 2\sqrt{\gamma_s^d \cdot \gamma_f^d}}{1 + \cos \Theta} \quad (21)$$

s Körper, f Meßflüssigkeit

Diese „modifizierte“ Oberflächenenergie  $\gamma^*$  spiegelt die Adhäsion unter Berücksichtigung spezifischer Wechselwirkungsmechanismen wider. Hiermit war es möglich, die Spezifik der einzelnen untersuchten Emailsorten im nachfolgenden Kapiteln zu analysieren.

#### S.5.4 Der Kennwert p für unterschiedliche Topographien

Setzt man die Einzelwahrscheinlichkeiten (Gleichung 14 und 19) in den Kennwert (Gleichung 11) ein, dann folgt mit der Normierungskonstanten

$$C = \frac{1}{1 + p_\infty} \quad (22)$$

$p_\infty$  berechneter Gleichgewichtswert von  $p(A)$ , Bild 13

die Kenngröße zu

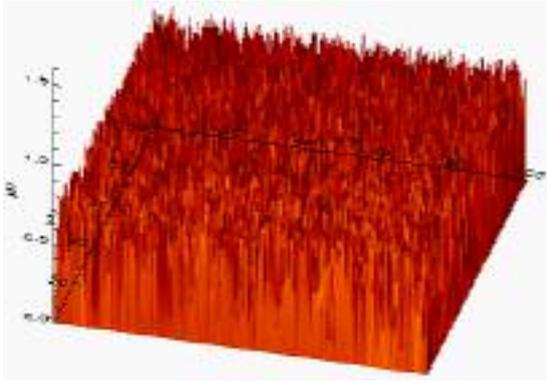
$$p = \frac{1}{1 + p_\infty} \left\{ \frac{A_{\text{besiedelt}}}{A_{\text{gesamt}}} + \left[ 1 - \exp \left( - \frac{A_{\text{gesamt}} \cdot \gamma}{A_{\text{projiziert}} \cdot k \cdot T} \right) \right] \right\} \quad (23)$$

Dieser neue Kennwert zur Charakterisierung steriltechnischer Oberflächen soll nachfolgend an zwei simulierten Oberflächen für unterschiedliche Energien exemplarisch berechnet werden. Hierbei tritt ein Minimum im  $p$  - Verlauf auf. Dieser Extremwert entspricht der niedrigsten Besiedlungswahrscheinlichkeit für das aktuelle System. Ein Minimum wird auch mit einem modifizierten Rumpf – Modell zur Berechnung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit von der RMS – Rauheit gefunden [25]. Die Oberfläche einer steriltechnischen Anlage sollte seitens der Rauheit (Oberflächenbearbeitung) und der Energie (Materialauswahl) so ausgewählt werden, daß sie diesem Minimum entspricht.

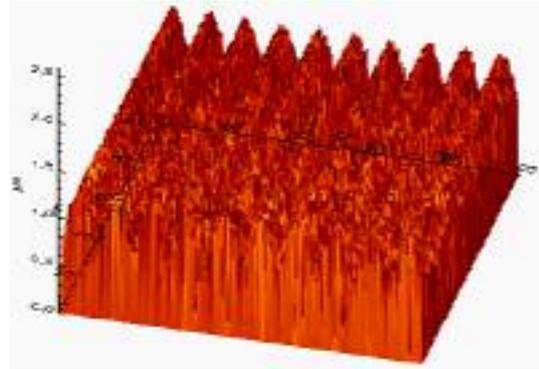
##### S.5.4.1 Random - Oberfläche

Nachfolgend werden die beiden Random – Oberflächen des Bildes 17 analysiert, eine gestörte und eine ungestörte. Im Bild 18 sind die beiden Einzelterme  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$ , Bild 18a, und die Summenkurven, Bild 18b, für die ungestörte Oberfläche dargestellt. Je niedrig – energetischer die Oberfläche ist, umso tiefer und breiter bildet sich das  $p$  - Minimum.

Berücksichtigt man die polaren Anteile, gerechnet gegen Wasser ( $\gamma^p = 51 \text{ mJ/m}^2$ ,  $\gamma^d = 21,8 \text{ mJ/m}^2$ ), dann wird das Minimum eingengt und die Oberflächen scheinen sich in ihren Eigenschaften anzugleichen, Bild 19a. Ähnliche Effekte beobachtet man beispielsweise bei der Lagerung höher energetischer Oberflächen, wie hochlegierter Stahl, an Luft.

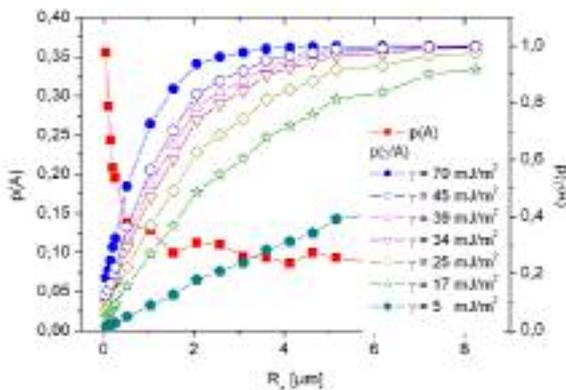


a: ungestört

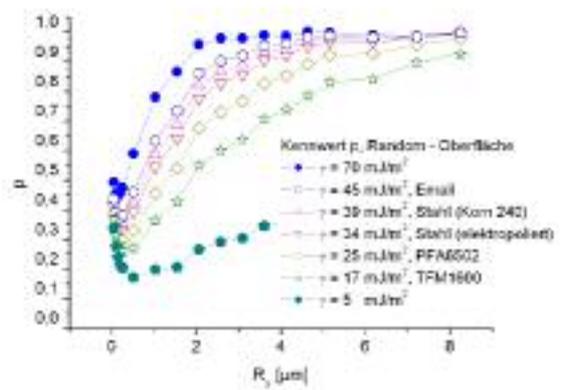


b: gestört

**Bild 17** Simulierte Random – Oberflächen für die p - Analyse



a

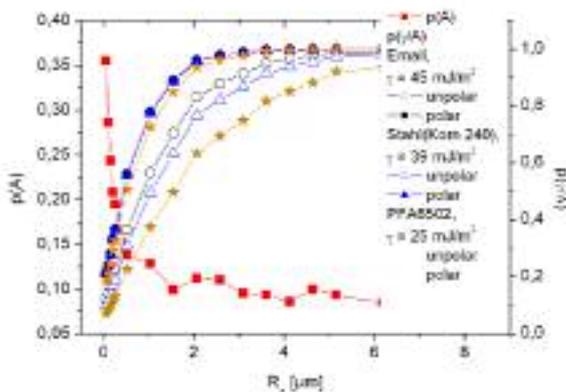


b

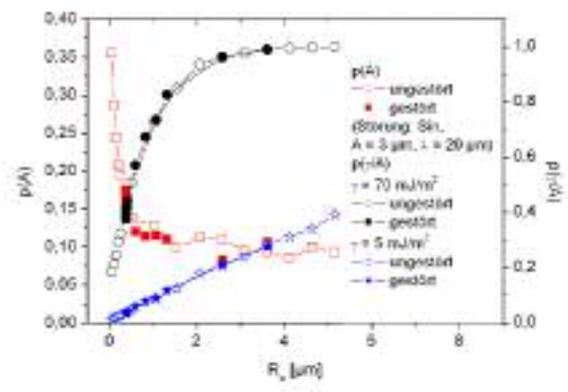
**Bild 18** Anteile  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  des Kennwertes  $p$ , Bild 18a, und der Kennwert  $p$  selbst, Bild 18b, für die ungestörte Random – Oberfläche (Bild 17a)

$E = 1 \text{ N/m}^2$ ,  $\rho = 999,8 \text{ kg/m}^3$ ,  $h = b = 1 \text{ }\mu\text{m}$

Die Berechnungen mit der gestörten Oberfläche, Bild 17b, zeigen, daß die gewählte Störung keinen bemerkenswerten Einfluß auf die Größe  $p$  hat, Bild 19b.



a



b

**Bild 19** Einfluß polar/ unipolar auf das Minimum von  $p$ , Bild 19a, und die Wirkung der Störung des Bildes 17b (Bild 19b)

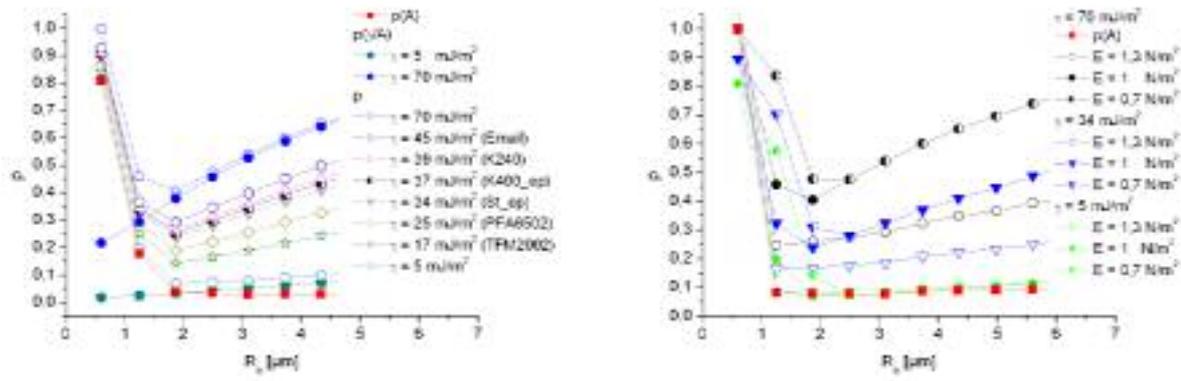
$E = 1 \text{ N/m}^2$ ,  $\rho = 999,8 \text{ kg/m}^3$ ,  $h = b = 1 \text{ }\mu\text{m}$

Die Random – Oberflächen mit ihren stochastischen Verteilungen der Höhen und geringen Hügelabstände weisen einen sehr engen Bereich einer minimierten Adhäsion für die untersuchten Oberflächen auf. Für niedrigst energetische Oberflächen kann dieses Minimum extrem erweitert werden.

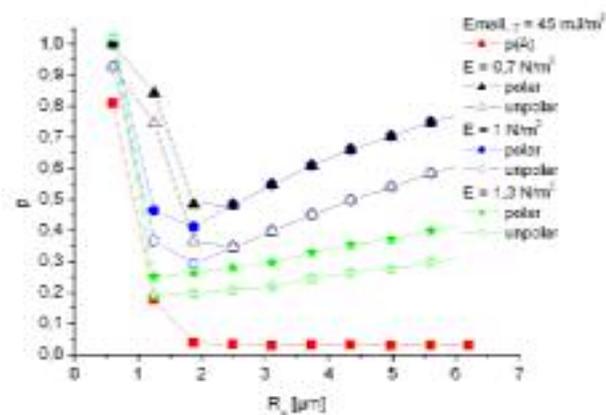
### S.5.4.2 Sin - Oberfläche

Der Einfluß der Amplitude und der Wellenlänge auf den Anteil  $p(A)$  wurde bereits ausführlich im Kapitel S.5.2 behandelt. Im Vergleich zur Random – Oberfläche ist festzustellen, daß sich das  $p$  - Minimum über einen größeren Rauheitsbereich erstreckt. Dies ist in der Geometrie der Oberfläche, mit der periodischen Abfolge von Hügeln und Tälern, begründet (vgl. Tab. 1). Der geometriedominierte Term  $p(A)$  zeigte bereits ausgeprägt dieses Verhalten (Bild 15).

Im Bild 20 sind, vergleichbar mit der Random – Oberfläche (Bild 19), die Ergebnisse der Simulationen und die Abhängigkeit der Größe  $p$  von diesen dargestellt. Ein Vergleich mit den Bildern 18 und 19 ist selbstredend und läßt den Schluß zu, daß eine antiadhäsiv wirkende Oberfläche nicht zufällig sondern definiert strukturiert sein sollte. Diesbezügliche Prognoserechnungen können insbesondere unter Berücksichtigung der anderen, nicht analysierten Strukturen (Tab. 1), mit dem entwickelten Programmpaket durchgeführt werden.



**Bild 20** Unpolare Berechnungen in Abhängigkeit von der Oberflächenenergie  $\gamma$  (Bild 20a) und dem E – Modul (Bild 20b)  
 $E = 1 \text{ N/m}^2$ ,  $h = b = 1 \text{ }\mu\text{m}$ , Sin:  $\lambda = 20 \text{ }\mu\text{m}$



**Bild 21** Vergleich polar/unpolar für Email und unterschiedliche E - Moduli  
 $E = 1 \text{ N/m}^2$ ,  $h = b = 1 \text{ }\mu\text{m}$ , Sin:  $\lambda = 20 \text{ }\mu\text{m}$

Im Bild 21 sind nochmals die Ergebnisse des polaren und unpolaren Modells, ergänzt mit unterschiedlichen E – Moduli, dargestellt. Die Aussagen sind analog zu denen, die bereits für die Random – Oberfläche erörtert wurden.

Beim Übergang zu „kammartigen“ Strukturen (Bild 14c, d) strebt die Wahrscheinlichkeit  $p(A)$  gegen null. Deshalb hängt die Besiedlungswahrscheinlichkeit derartiger Oberflächen vorrangig von den energetischen Bedingungen ab. In der graphischen Darstellung verschiebt sich das Minimum zu kleineren Rauheitswerten. Entscheidend für den technologischen Erfolg ist aber der Betrag von  $p$  und der Rauheitsbereich, in dem dieser unter dem experimentell bestimmten Grenzwert liegt. Dieser Fall ist zum Beispiel für nanostrukturierte Oberflächen von großer Bedeutung; letztendlich dem Lotus – Effekt an Luft  $\{p(A) \rightarrow 0, \text{Min}(p(\gamma/A))\}$ .

Die Problematik der polaren und dispersen Energieanteile verdeutlicht augenscheinlich die Tabelle 4. Hier sind die Oberflächenenergieanteile experimentellen Besiedlungsergebnissen gegenüber gestellt.

**Tabelle 4** Energien für Email und Besiedlungsergebnisse

*E.coli* Experimente [S26]

Email	$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$\gamma$ [ $\text{mJ}/\text{m}^2$ ]	$\gamma^p$ [ $\text{mJ}/\text{m}^2$ ]	$\gamma^d$ [ $\text{mJ}/\text{m}^2$ ]	$\Theta$ [ $^\circ$ ]	$\gamma^*$ [ $\text{mJ}/\text{m}^2$ ]	$n$ [ $t_b = 70$ h]	$F$ [nN]
2290W	0,2	66,9						8
CW4	0,2	50,6						11
ESD8	0,2	65,7						2
1010	0,25	49	19,4	29,6	44,6	66,4	140	
1350	0,23	49	19,8	29,2	46,6	67,3	128	
REA3	0,18	53,4	22,7	30,7	33,8	65,3	92	

$\gamma^p$  polare Energieanteil von  $\gamma$ ,  $\gamma^d$  disperse Energieanteil von  $\gamma$ ,  $\gamma$  Oberflächenenergie,  $\gamma^*$  modifizierte Oberflächenenergie (Gleich. 21),  $\Theta$  Kontaktwinkel,  $R_a$  Rauheitsmittenwert,  $n$  Zellzahl (*E.coli*) nach der Besiedelungszeit  $t_b$  (Messung: optische Dichteänderung),  $F$  Adhäsionskraft (AFM - Abzugsexperimente)

Insbesondere für Email traten gegenüber den einfachen Energiebetrachtungen, in denen eine niedrigere Oberflächenenergie gleichbedeutend mit einer niedrigeren Besiedlungswahrscheinlichkeit ist, Anomalien auf. Dieses Verhalten zeigt sich sehr deutlich für die Email REA3. Verwendet man aber zur Interpretation die modifizierte Energie  $\gamma^*$  (Gleichung 21), dann hat diese energetische Aussage wieder ihre Berechtigung.

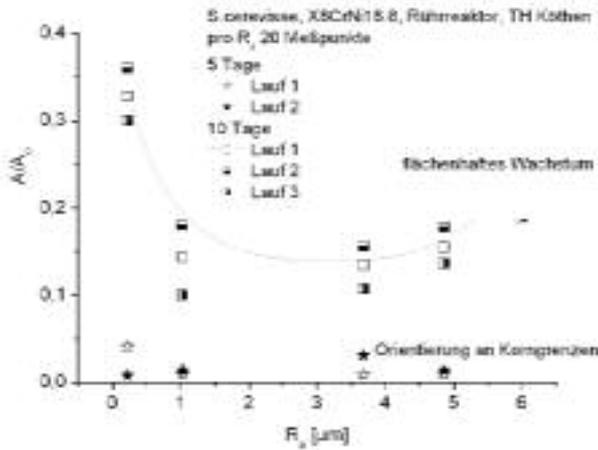
### S.5.5 Gültigkeit des Kennwertes

Obwohl es eine experimentelle Vielfalt von Besiedlungsexperimenten in der Literatur gibt, ist deren Einbeziehung in diese Kennwertbetrachtungen sehr schwierig. Oftmals beschränkt man sich dort auf die Darstellung der biologischen Ergebnisse, wobei eine Charakterisierung der Oberflächen nur unzureichend ist bzw. vollständig fehlt. Die seitens der Forschungsstelle 1 (BAM) festgestellten, meßverfahrensbedingten Fehler erschweren Vergleich zusätzlich. Deshalb werden nachfolgend die Trendaussagen an Hand der experimentellen Ergebnisse der Forschungsstelle 2 (TU München – MAK) überprüft.

Die aufzubringende Trennkraft an Einzelzellen sind proportional der Haftungswahrscheinlichkeit. Derartige Meßergebnisse in Abhängigkeit von der Rauheit dienen zur Überprüfung der getroffenen Aussagen bezüglich des Kennwertverhaltens. Es ist äusserst schwierig, die Ergebnisvielfalt der Simulationen, experimentell in einem so kurzen Themenzeitraum zu untersuchen; der Vorteil einer Modellierung. Dank der experimentellen „Fleißarbeit“ sind Aussagen möglich. Die Festlegung des technisch zulässigen Grenzwertes war nicht möglich. Der prinzipielle Zusammenhang ist nichtlinear und explizit nicht bekannt [S27]. Hierzu dienen u.a. auch die Untersuchungen mit dem Strömungskanal (Forschungsstelle 2).

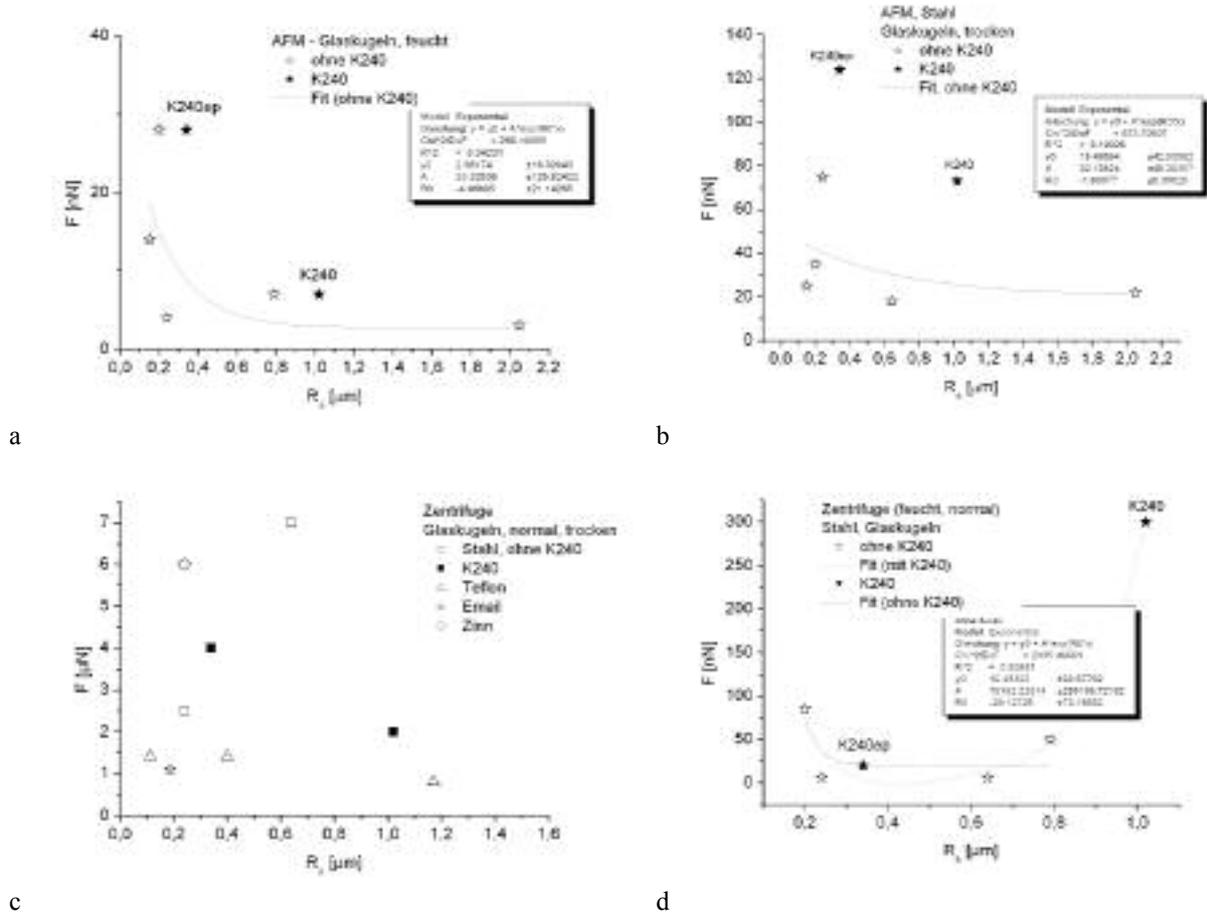
Aus älteren Messungen mit *S.cerevisae* im Rührreaktor ist bekannt, daß es ein rauheitsabhängiges Minimum gibt (Bild 22), wobei die  $R_a$  - Werte mit dem Perthometer bestimmt worden sind. Dieser Effekt trat erst nach längeren Besiedlungszeiten ein. Aus diesen Experimenten ergäbe sich das Minimum bei  $p_{\text{Minimum}} \propto 0,15$ . Hier würde man auch den Grenzwert festlegen müssen. Zu beachten ist die verhältnismäßig große Streuung zwischen den einzelnen Läufen, die aus der

Druckverteilung im Fermentor und den schwankenden Lebensbedingungen über diesen großen Besiedelungszeitraum resultieren.



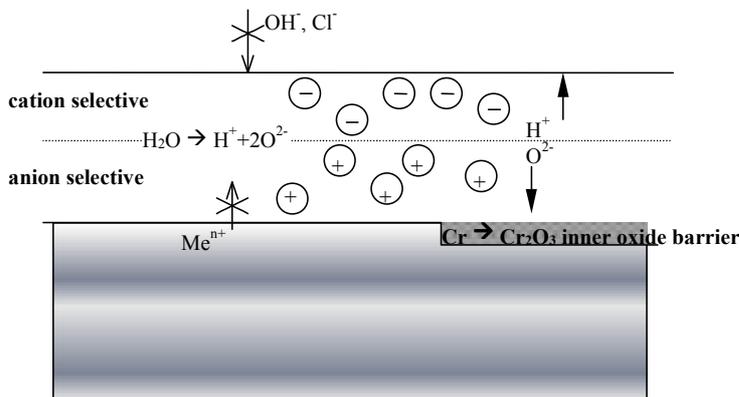
**Bild 22** Besiedelungsexperimente mit der Hefe *S.cerevisiae* [S1, S2, S3, S28]  
 $A$  ( $A_{\text{besiedelt}}$ ) besiedelte Fläche,  $A_0$  ( $A_{\text{gesamt}}$ ) Gesamtfläche

Die Messungen an Einzelobjekten zeigen ein Ansteigen der Trennkraft bei kleinen Rauheiten, Bild 23. Die größeren Kräfte im trockenen Zustand resultieren aus den Kapillarkräften infolge der Luftfeuchtigkeit. Im feuchten Zustand sind die Mikroporen mit Wasser aufgefüllt, so daß diese Kräfte an „rauen“ Oberflächen nicht wirken können.

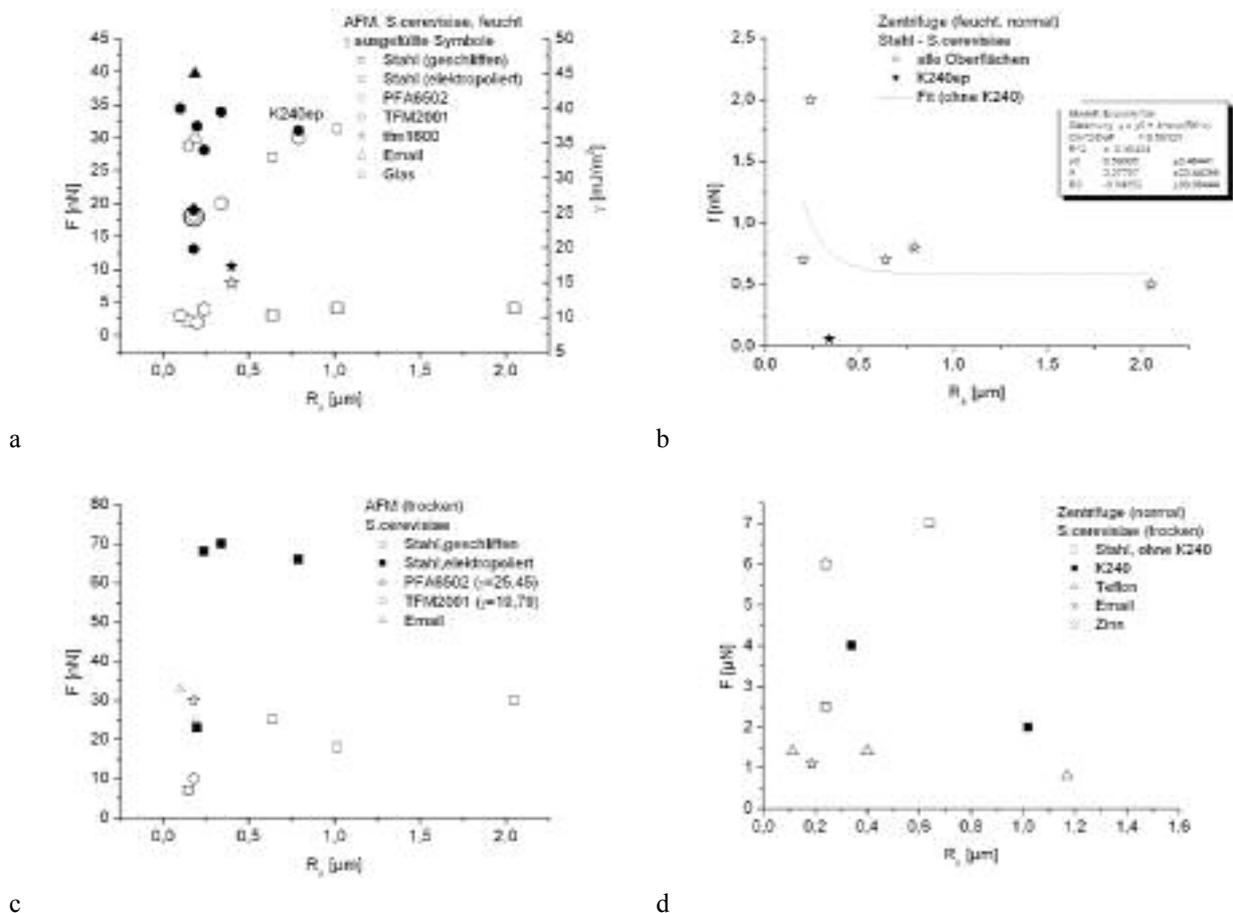


**Bild 23** Haftkraftmessungen mit Glaskugeln als Modellkörper (Forschungsstelle 2, TU München - MAK)

Das Bild 23d veranschaulicht drastisch die Wirkung unterschiedlicher Oberflächenenergien. Der mit dem Korn 240 polierte Stahl (K240) hat gegenüber den anderen Stahlproben einen großen polaren Anteil der Oberflächenenergie (Forschungsstelle 1, BAM). Möglicherweise liegt infolge der Oberflächenbearbeitung eine veränderte Oxidschicht vor. Oxidschichten hochlegierter Stähle haben eine unterschiedliche Selektivität, Bild 24. Im Fall der Dominanz der inneren Schicht ist das Szenario vorstellbar, daß die Protonen des Wassers als Brückenbildner mit den OH<sup>-</sup> - Gruppen der Oberfläche der Glaskugeln dienen. Diese Hypothese legt die Schwierigkeit derartiger Untersuchungen und Interpretationen offen, die sensible Kenntnis aller Oberflächendaten.



**Bild 24** Oxidschichtaufbau hochlegierter Stähle [S29]



**Bild 25** Haftkraftmessungen mit der Hefe *S. cerevisiae* (Forschungsstelle 2, TU München – MAK)

Die Haftkraftmessungen des Bildes 25 verdeutlichen die Problematik derartiger Messungen an lebenden Zellen. Im trockenen Zustand ist die Adhäsionskraft als unabhängig von der Rauheit anzusehen (Bild 25c, d). Messungen mit der Zentrifuge an angetrockneten Hefen zeigten, daß diese nicht mehr von der Oberfläche getrennt werden können. Dieses Verhalten beschreibt auch die Kenngröße, die Werte  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  streben gegen Eins.

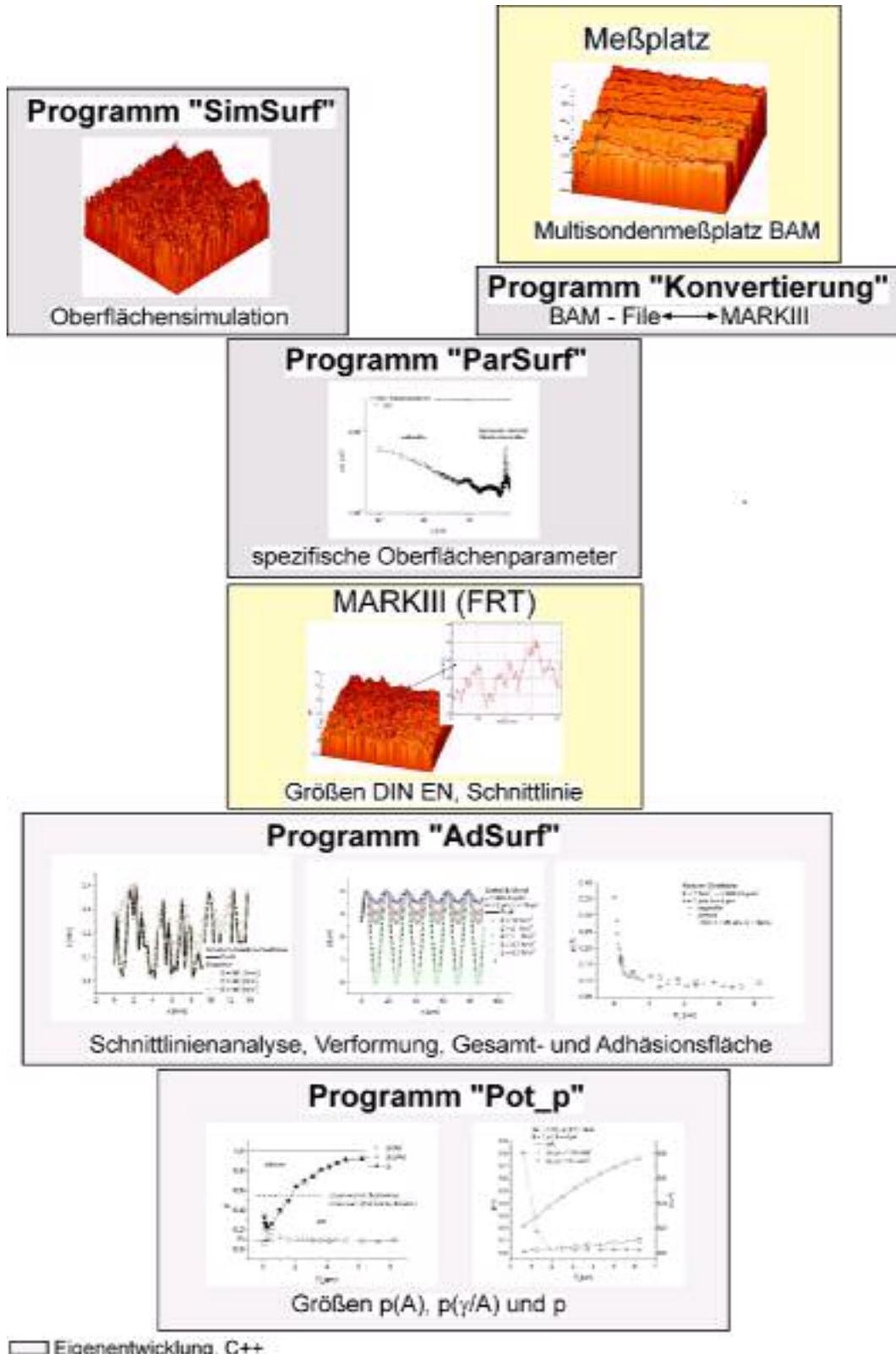
Zur Vermeidung des Trockenstresses und zur Aufrechterhaltung des Stoffwechsels von *S.cerevisiae* führte die Forschungsstelle 2 ebenfalls Messungen an Hefen in einer wäßrigen Umgebung durch. Die Messungen mit der Zentrifuge (Bild 25b) sind in ihrem Trend vergleichbar mit denen an Glaskugeln (Bild 23). Demgegenüber streuen die Ergebnisse der AFM – Messungen in einem großen Kraftbereich (Bild 25a). Dieses Meßprinzip ist sehr sensitiv auf geringste energetische Veränderungen. Darüber hinaus ist die Hefezelle sehr groß. Diese wird beim angewandten Meßprinzip „regelrecht stranguliert“. Alle möglichen Zellreaktionen verändern letztendlich den aktuellen energetischen Zustand, so daß diese großen Streuungen vermutlich von den Objekteigenschaften abhängen.

**Tabelle 5** Programmübersicht (C<sup>++</sup>: Neuentwicklungen in C<sup>++</sup>)

Nr.	Programm	Sprache	Ergebnis	Ausgabe
1	Oberflächen-simulation „SimSurf“	C <sup>++</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sin, Random, Rechteck, Dreieck, Trapez</li> <li>• vertikale und laterale Störung (Sin, Random)</li> <li>• Phasenverschiebung (Sin, Random)</li> </ul>	ASCII, File – Aufbau für MARKIII
2		C <sup>++</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konvertierung Multisonden-Meßplatz in einen MARKIII-File</li> <li>• Daten-File für „ParSurf“</li> </ul>	
3	Oberflächenparameter „ParSurf“	C <sup>++</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Berechnung von <math>R_a</math>, <math>R_{Max}</math>, <math>R_{Min}</math>, <math>R_{av}</math>, <math>R_{rms}</math>, <math>R_q</math></li> <li>• Höhen-Höhen-Korrelationsfunktion</li> <li>• Höhendifferenzfunktion</li> </ul>	Origin kompatibler File *.dat
4	MARKIII FRT		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2D und 3D Oberflächendarstellung</li> <li>• Berechnung der topographischen Kenngrößen nach DIN EN</li> <li>• Markierung (in 3D) und Ausgabe der Schnittlinie, für die die Adhäsionsfläche zu berechnen ist</li> </ul>	
5	„AdSurf“	C <sup>++</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schnittlinienanalyse (Plateaus, Maxima, Minima, Extrema-Abstände)</li> <li>• Biegelinienberechnung (Bakterium, Biofilm)</li> <li>• Berechnung der Berührungsfläche Profil – Biegelinie = Adhäsionsfläche <math>A_{besiedelt}</math></li> <li>• Berechnung der Berührungsfläche von Einzelobjekten</li> <li>• Berechnung der Gesamtfläche <math>A_{gesamt}</math></li> <li>• Konvertierung und Ausgabe für Origin 6.x und höher</li> </ul>	Origin kompatibler File *.dat
6	„Pot_p“	C <sup>++</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Berechnung der Größen <math>p(A)</math> und <math>p(\gamma/A)</math></li> <li>• Berechnung des Kennwertes <math>p</math></li> </ul>	Origin kompatibler File *.dat

## S.6 Programmüberblick

Nachfolgend werden die entwickelten Programme und deren wichtigsten Ausgaben nochmals aufgeführt. Die Tabelle 5 und das Bild 26 verdeutlichen aber auch die Komplexität der Berechnungen. Die mit C++ gekennzeichneten Programme sind Unikate, so daß andere Prognoserechnungen nur beim Auftragnehmer durchgeführt werden können.



**Bild 26** Programmabfolge zur Berechnung des Kennwertes  $p$

## S.7 Probleme und Ausblick

Zusammenfassend ist festzustellen, daß der Kennwert  $p$  die sehr komplexen Bedingungen der Biofilmbildung an technischen Oberflächen zutreffend widerspiegelt. Es mußten sehr vereinfachende Annahmen, z.B. zur Verformung, vorgenommen werden. Hier sind die Modelle problemlos erweiterbar. Die vorangegangenen Ausführungen haben gezeigt, daß sich auch bei einer Verfeinerung der Einzelmodelle die quantitativen Grundaussagen nicht verändern werden. Das Diffizile der Wirklichkeit, z.B. in einem Rohr einer Pharmaanlage, wird dann realistischer wiedergegeben.

Welche Aufgabenstellungen leiten sich hieraus ab?

- viskoelastisches Verformungsmodell
- verfeinerte Adhäsionsmodelle, insbesondere in wäßrigen Lösungen
- verbesserter Zusammenhang zwischen der Oberflächenenergie und der Rauheit
- Ergänzung des Terms  $p(\gamma/A)$  zur Berücksichtigung von Fremdeinflüssen, z.B. der Strömung, von Proteinen und der Energieveränderung durch Tenside
- Veränderung der Terme  $p(A)$  und  $p(\gamma/A)$  durch Fehlstellen

Es sei bemerkt, daß jeder einzelne Punkt äußerst komplexe Reaktionen beschreibt, deren Mechanismen separate Grundlagenthemen darstellen. Dieser erstmals kreierte Kennwert wird in den nächsten Jahren an den sich ständig verändernden Erkenntnisstand angepaßt werden müssen; eine Aufgabe, die man nicht vernachlässigen sollte. Dies schließt auch die Aufnahme dieser Kenngröße in die Normung ein.

## S.8 Literatur

- [S1] R.Schmidt: Werkstoffverhalten in biologischen Systemen. Springer, Berlin 1999
- [S2] R.Schmidt: Comportement des matériaux dans les milieux biologiques - Applications en médecine et biotechnologie. Traité des Matériaux vol.7, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR), Lausanne 1999
- [S3] R.Schmidt: Aggregation Kinetic of *Saccharomyces cerevisiae* on Solid Surfaces. Acta Biotechnologica 12 (1992) 3, p.237 - 46
- [S4] W.G.Characklis, K.C.Marshall (eds.): Biofilms. Wiley, New York 1990
- [S5] N.N: Handbuch. DECHEMA – Kurs „Mikrobielle Korrosion“. Frankfurt a.M.
- [S6] J.Israelechvili, Intermolecular Surface Forces., Academic Press, London San Diego 1992
- [S7] W.BARTHLOTT, C. NEINHUIS: Lotusblumen und Autolacke: Ultrastruktur pflanzlicher Grenzflächen und biomimetische unverschmutzbare Werkstoffe. Biona - Report 12. Proc. Int. Congress GTBB. Akad. Wiss. Lit. Mainz, Gustav Fischer, Stuttgart, 1998, S. 281-293
- [S8] C.Schug: Oberflächenstruktur dünner Sputterschichten mittels Rasterkraftmikroskopie, Röntgenreflektometrie und diffuser Röntgenstreuung, Dissertation, MPI für Metallforschung Stuttgart, 1997
- [S9] Sinha S.K., Sirota E.B. et al.: Physical review B 38 (1988) 2297 – 2311
- [S10] D.Stoyan, H.Stoyan: Fraktale, Formen, Punktfelder. Akademie Verlag Berlin 1992
- [S11] W.Pompe, F.Despang, B.Garske, M.Merttig, R.Schmidt: Atomic force microscopy of the initial stage of biofilm. Abstr. Intern.Conf.on Biofouling and Materials. DECHEMA, Frankfurt/M. 10-13-2001, pp.57-60
- [S12] Stoodley P., Jacobsen A. et.al.: Water Science and Technology **43**(2001)6, pp.113 - 120
- [S13] R.Schmidt: Ausscheidungsphänomene in Werkstoffen - Eine Einführung in die mathematische Modellierung. Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1991
- [S14] R.Schmidt: Monte - Carlo - Simulation of Bioadhesion. Intern. Biodeterioration & Biodegradation 40(1998)1, p.29 - 36
- [S15] R.Schmidt: Monte - Carlo - Experimente zur Clusterung - Anwendungen in und an Festkörpern. Freiburger Forschungshefte „Simulationstechniken in der Materialwissenschaft“, Bd. B279, TU Bergakademie Freiberg, 1996, S.145 - 167

- [S16] Berg G., Knorre W., Pompe W., Schmidt R.: „Mikrobielle Wechselwirkung mit Materialoberflächen“, DFG – Bericht Halle Jena Dresden 2000
- [S17] R.Schmidt, U.Beck, B.Weigl, N.Gamer, G.Reiners, K.Sommer: Topographische Charakterisierung von Oberflächen im steriltechnischem Anlagenbau. Chemie-Ingenieurtechnik 75(2003)4
- [S18] G.M.Hodges, K.E.Karr: Europ.Microsc.Analysis July (1990)pp.17 - 20
- [S19] P.Stoodley, J.D.Boyle, D.deBeer, H.M.Lappin-Scott: Evolving perspectives of biofilm structure. Biofouling 14(1999)1,75-90
- [S20] R.N.Wenzel, Ind.Eng.Chem. 1936, 28, 988; J.Phys.Colloid Chem. 1949, 53, 1466
- [S21] C.Huh, S.G.Mason: Effects of surface roughness on wetting. J.Coll.&Interf.Sc. 60(1977)1,11-38
- [S22] B.V.Derjaguin. C.R.Acad.Sci.URSS 51(1946)361
- [S23] R.J.Good. J.Amer.Chem.Soc.74(1952)5041
- [S24] L.H.Lee: Fundamentals of adhesion. Plenum Press, New York London 1991
- [S25] I.Rabinovich, J.A.Adler, A.Ata, K.Singh, B.M.Moudgil. Adhesion between nanoscale rough surfaces. J.Coll.&Interf.Sc. 232(2000)10-16
- [S26] R.Schmidt, F.Leonhardt, S.Blume: Einfluß von Sterilisationsmaßnahmen auf die Besiedelungskinetik von hochlegierten Stählen mit Escherichia coli. TMWFK-Projekt 95/96, Kennz. B 303-95002
- [S27] G.Berg, W.Knorre, W.Pompe, R.Schmidt: DFG-Projekt „Mikrobielle Wechselwirkung mit Werkstoffoberflächen. Halle Jena Dresden 2002/2003
- [S28] R.Schmidt, S.Haase: Besiedelung von Werkstoffoberflächen mit Hefen. Wiss. Zeitschrift TH Köthen 1 (1990) 3, S.93 - 100
- [S29] K.Buss, U.Kivisäkk, R.Schmidt: Electrochemical characterisation of stainless steels for different surface treatments. Werkstoffe und Korrosion (in Vorber.)