

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde,
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

(Direktor: Univ.-Professor Dr. Matthias Hannig)

ELLIPSOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR SCHICHTDICKE DER *IN SITU* GEBILDETEN PELLIKEL

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2012

vorgelegt von: Sabine Güth-Thiel

geb. am: 3.12.1975 in Saarbrücken

Tag der Promotion:

Dekan:

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig

2. Berichterstatter:

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	1
2	SUMMARY	3
3	EINLEITUNG	5
4	STAND DER FORSCHUNG	6
4.1	PELLIKEL	6
4.1.1	<i>Pellikelbildung</i>	7
4.1.1.1	Phasen der Pellikelbildung.....	7
4.1.1.2	Modellierung der Pellikelbildung	8
4.1.2	<i>Pellikelfunktion</i>	10
4.1.3	<i>Pellikelzusammensetzung</i>	11
4.1.4	<i>Pellikeldicke</i>	12
4.2	ELLIPSOMETRISCHE SCHICHTSTÄRKENMESSUNG.....	14
4.2.1	<i>Polarisation des Lichtes</i>	14
5	FRAGESTELLUNG	20
6	MATERIAL UND METHODE	21
6.1	SUBSTRATAUSWAHL.....	21
6.2	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	22
6.2.1	<i>Probanden</i>	23
6.2.2	<i>Vor- und Nachbereitung der Substratproben</i>	23
6.3	AUSWERTUNG.....	25
6.3.1	<i>Ellipsometrische Messungen</i>	25
6.3.2	<i>Fixationsprüfung</i>	30
6.3.3	<i>Prüfung des Einflusses von Proband, Expositionszeit, Lokalisation und Substrat</i> ..	30
6.4	STATISTIK.....	32
7	ERGEBNISSE	33
7.1	FIXATIONSPRÜFUNG	33
7.2	PELLIKELDICKE DER FIXIERTEN PROBEN	34
7.2.1	<i>Untersuchung des Einflusses der Faktoren Proband, Expositionzeit und Lokalisation auf die Pellikeldicke</i>	34
7.2.1.1	Einfluss der Probanden.....	34

7.2.1.2	Einfluss der intraoralen Expositionszeit	35
7.2.1.3	Einfluss der Lokalisation	37
7.2.1.3.1	Zusätzliche Berücksichtigung der Expositionszeit	40
7.2.1.4	Zusammenhang Expositionszeit und Proband.....	42
7.2.1.5	Zusammenhang Lokalisation und Proband.....	43
7.2.2	<i>Vergleich unterschiedlicher Substrate</i>	45
7.2.2.1	Silizium-Wafer vs. OTS-beschichtetes Silizium.....	45
7.2.2.2	Silizium-Wafer vs. Platin-beschichtetes Araldit	48
8	DISKUSSION.....	50
8.1	DISKUSSION DER METHODIK.....	51
8.1.1	<i>Substratauswahl</i>	51
8.1.2	<i>Pellikelbildung in vivo</i>	52
8.1.3	<i>Expositionsart und -dauer</i>	53
8.1.4	<i>Ellipsometrische Messungen</i>	53
8.1.5	<i>Stichprobengröße</i>	55
8.1.6	<i>Statistische Auswertungen</i>	55
8.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	56
8.2.1	<i>Einfluss der intraoralen Expositionszeit</i>	57
8.2.2	<i>Einfluss des Trägersubstrates</i>	59
8.2.3	<i>Einfluss der Lokalisation der Proben</i>	60
8.2.4	<i>Einfluss der Probanden</i>	60
8.3	SCHLUSSFOLGERUNGEN	61
9	LITERATURVERZEICHNIS	62
10	ANHANG	74
11	DANKSAGUNG.....	76
12	LEBENS LAUF.....	78

1 Zusammenfassung

Im Mundhöhlenmilieu exponierte Zahnoberflächen werden von einer azellulären Schicht aus im Speichel enthaltenen Biopolymeren, der so genannten Pellikel, bedeckt. Die Pellikelbildung findet nicht nur auf der Zahnhartsubstanz selbst, sondern auch auf Werkstoffen statt, die für die Herstellung von Implantaten oder Restaurationsmaterialien verwendet werden und in ihren physikalischen Eigenschaften von denen der Zahnhartsubstanz abweichen können. Diese Werkstoffe wurden bisher nicht erschöpfend hinsichtlich der Pellikelbildung untersucht.

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Kinetik der In-situ-Pellikelbildung unter Mundhöhlenbedingungen auf verschiedenen Substraten und unterschiedlichen Expositionszeiten sowie an verschiedenen Lokalisationen in der Mundhöhle zu untersuchen.

Dazu wurden Probekörper aus Silizium, teilweise mit Silan-Beschichtung sowie solche aus Platin-beschichtetem Araldit bei insgesamt 6 verschiedenen Probanden zwischen 3 und 120 Minuten an verschiedenen Lokalisationen intraoral exponiert. Insgesamt konnten auf diese Weise 887 Probekörper gewonnen werden, bei denen eine Messung der Pellikeldicke möglich war. Die Bestimmung der Pellikeldicken erfolgte mit Hilfe eines Ellipsometers am Fachbereich Experimentalphysik der Universität des Saarlandes, das dort für die Untersuchung der Eigenschaften dünner Filme aus einfachen und komplexen Flüssigkeiten standardmäßig verwendet wird.

Die wichtigsten Ergebnisse der Versuche waren:

Die gemessenen Pellikeldicken lagen zwischen 2,1 und 78,6 nm. Im Mittel waren $9,1 \pm 5,2$ nm gemessen worden. Die Mittelwerte der Pellikeldicken lagen bei den verschiedenen Probanden zwischen 8,7 und 10,3 nm. Statistisch signifikante Unterschiede waren nur in Einzelfällen nachweisbar.

Mit zunehmender Expositionszeit stieg die mittlere Pellikeldicke von 7,4 nm (3 Minuten) über 9,7 nm (30 Minuten) auf 10,7 nm (120 Minuten) an. Die Pellikeldicke nahm mit der Zeit bei den verschiedenen Probanden sehr unterschiedlich schnell zu, was dazu führte, dass die Unterschiede zwischen den Probanden für jeweils gleiche Expositionszeit ausgeprägter waren als für alle Probanden gemeinsam.

Insbesondere im Oberkiefer war bei den bukkal positionierten Proben der Zuwachs der Pellikeldicke deutlich größer als bei den oral positionierten Proben. Im Unterkiefer waren die Unterschiede zwischen bukkalen und oralen Proben insgesamt geringer, der Zuwachs war hier bei länger exponierten Proben oral geringfügig größer als bukkal.

Auch eine Differenzierung der Ergebnisse hinsichtlich Proband und Lokalisation ergab diverse Unterschiede. Aufgrund der dann jeweils relativ geringen Anzahl von Messergebnissen für jede Kombination von Einflussfaktoren ergaben sich hier nur wenige statistisch signifikante Unterschiede.

Für unbeschichtete Silizium-Proben waren bei kurzen Expositionszeiten und nur bei bukkaler Ausrichtung der Proben statistisch signifikant höhere Pellikeldicken gemessen worden als für Silan-beschichtete Proben. Im Vergleich mit Platin-beschichteten Araldit-Proben waren dagegen bei unbeschichteten Silizium-Proben niedrigere Pellikeldicken, insbesondere bei längeren Expositionszeiten, gegeben.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit zunehmender Expositionszeit eine generelle Zunahme der Pellikeldicke im Mundhöhlenbereich zu verzeichnen ist, dass diese Zunahme aber, abhängig vom Probenmaterial und der genauen Lokalisation in der Mundhöhle, sehr unterschiedlich sein kann. Möglicherweise ist zukünftig durch eine entsprechende Oberflächengestaltung von Implantat- und Restaurationsmaterialien eine Minimierung dieses Prozesses möglich, so dass die Bildung von Plaque im Mundhöhlenbereich insgesamt reduziert werden kann. Die in dieser Studie erheblichen individuellen Unterschiede in der Pellikelbildung machen allerdings die Suche nach weiteren möglichen Einflussfaktoren auf die Pellikelbildung notwendig.

2 Summary

Dental surfaces exposed to the oral environment are covered by an acellular layer from salivary biopolymers, the so-called pellicle. The pellicle layer is acquired not only on the hard tooth tissues, but also on solid materials used for implants or restorative dentistry, which physical characteristics vary from those of enamel. Thorough research on the kinetics of pellicle formation on artificial materials has not been performed yet.

The present study aimed to clarify the kinetics of in situ pellicle formation on various materials, at different times of intraoral exposure and in various sites in the oral cavity.

Six subjects carried specimens of either silicon wafer, partially with silane coating or platinum-coated Araldite at different intraoral locations for exposure times of 3 to 120 minutes. This way, a total of 887 specimens allowing measurement of the thickness of the pellicle was gained. Thickness of the pellicle was measured using an ellipsometer provided by the Department of Experimental Physics of Saarland University commonly used to evaluate the characteristics of thin layers of simple or complex liquids.

The main results were:

Thickness of the pellicle varied between 2.1 and 78.6 nm, with an average of 9.1 ± 5.2 nm. The 6 subjects demonstrated average thicknesses of the pellicle between 8.7 and 10.3 nm. Only few statistically significant differences in pellicle thickness were observed.

Average thickness of the pellicle increased dependent on the duration of exposure from 7.4 nm (3 minutes) to 9.7 nm (30 minutes), and 10.7 nm (120 minutes). The rate of increase in pellicle thickness varied considerably between subjects resulting in the fact that differences between subjects at any given time of exposure were more pronounced than differences between the average thicknesses of pellicle at various exposure times.

In the upper jaw, pellicle thickness increased on a larger scale on specimens placed at buccal as compared to oral locations. In the lower jaw, differences between buccal and oral specimens were overall smaller. After longer exposure times, the increase in pellicle thickness was slightly larger in orally positioned specimens.

Various differences were found analyzing the results dependent on subjects and intraoral location of specimens. Only few of these results proved to be statistically significant due to the fact that each given combination of influencing factors was based on a relatively small number of measurements.

After short exposure time and in buccal position, pellicle layers measured on uncoated silicon wafer specimens were significantly thicker than layers on specimens coated with silane. On the other hand, pellicle thickness on uncoated silicon wafer specimens was less than on specimens of platinum coated Araldite, especially after longer times of oral exposure.

The present results indicate that a general increase in pellicle thickness can be observed with increasing duration of exposure of specimens in the oral cavity. This increase varies considerably depending on specimen's surface properties and intraoral position. Improved surface engineering on materials used for implants or restorative dentistry may allow a minimization of pellicle formation in future times, resulting in an overall reduction of plaque formation in the oral cavity. The pronounced differences in pellicle formation between subjects observed in this study point to the necessity of further research concerning the process of pellicle formation.

3 Einleitung

Die im Mundhöhlenmilieu exponierten Zahnoberflächen werden von einer azellulären Schicht aus im Speichel enthaltenen Biopolymeren, der so genannten Pellikel, bedeckt. Diese setzt sich hauptsächlich aus Proteinen, teilweise auch aus Lipiden und Kohlehydraten zusammen (HANNIG, 1994). Die Pellikel stellt die Basis für die bakterielle Besiedlung und somit die Entwicklung der Plaque dar.

Während zahlreiche Studien zur Pellikelbildung auf dem natürlichen Zahnschmelz vorliegen (AL-HASHIMI und LEVINE, 1989; BENNICK et al., 1983; CARLEN et al., 1998; CARLEN et al., 2003; KOUSVELARI et al., 1980; LAMKIN et al., 2001; LI et al., 2003; SCHÜPBACH et al., 2001; YAO et al., 2001; YAO et al., 2003), sind Untersuchungen zur Pellikelbildung auf Werkstoffen, die für die Herstellung von Implantaten oder Restaurationmaterialien verwendet werden, nur begrenzt vorhanden (ELIADES et al., 1995; HANNIG, 1997; HANNIG et al., 2006; HANNIG et al., 2007b; LOCKOWANDT et al., 1991; SHAHAL et al., 1998). Es ist allerdings bekannt, dass auch auf diesen intraoral exponierten Substraten eine Pellikelbildung stattfindet, obwohl ihre Oberflächeneigenschaften von denen der Zahnhartsubstanz abweichen (CARLEN et al., 2001; HANNIG, 1997; HANNIG et al., 2004a; JENDRESEN und GLANTZ, 1981; SØNJU und GLANTZ, 1975).

Kenntnisse der initialen Bioadhäsionsprozesse auf diesen Werkstoffen sind jedoch erforderlich, um beurteilen zu können, inwieweit die Pellikelbildung auf Füllungs-, Kronen-, Brücken-, Prothesen- oder Implantatoberflächen durch werkstoffspezifische Eigenschaften bestimmt wird. Wenn die Adhäsionsprozesse durch die gezielte Auswahl von Materialien bzw. durch die gezielte Veränderung von Oberflächeneigenschaften beeinflussbar wären, könnte durch eine gezielte Modifikation von Werkstoffen die bakterielle Adhäsion gesteuert und so zum Beispiel der mikrobielle Zahnbelag reduziert werden.

4 Stand der Forschung

4.1 Pellikel

Auf Festkörperoberflächen im Mundmilieu bildet sich innerhalb kurzer Zeit durch Adsorption von Biopolymeren aus dem Speichel ein organischer Biofilm, die Pellikel (HANNIG, 1997; LENDENMANN et al., 2000). Dieser „Bioadhäsion“ genannte Vorgang findet auf allen Festkörperoberflächen statt, die in Kontakt mit proteinhaltigen Flüssigkeiten stehen. Er führt dazu, dass sich eine Schicht aus adsorbierten Biopolymeren bildet. Die Pellikel stellt einen dynamischen Biofilm dar, der als Mediator für alle Interaktionen an der Grenzfläche zwischen Zahn und Speichel fungiert (HANNIG UND JOINER, 2006).

Die Adsorption ist ein physikalischer Vorgang, der an der Grenzfläche zwischen zwei Phasen (zum Beispiel fest – flüssig) stattfindet. Dabei haften Partikel aus der flüssigen Phase an der Oberfläche des festen Substrates und bilden auf diese Weise eine Schicht auf dessen Oberfläche. Die Adsorption unterscheidet sich dabei von der Absorption, bei der Stoffe in das Innere des festen Stoffes eindringen.

Die bei der Adsorption wirkenden Kräfte sind in der Regel physikalische Kräfte, es findet also keine chemische Bindung der adsorbierten Partikel an die Oberfläche statt. Die Adsorption ist zudem reversibel, gleichzeitig mit der Adsorption findet also der umgekehrte Prozess, die Desorption, statt, bei der sich anhaftende Partikel wieder von der Oberfläche des Feststoffes lösen.

Gezielt eingesetzt wird die Adsorption in technischen Verfahren zur Trennung bzw. Reinigung von Stoffen. So werden Benzindämpfe aus der Abluft von Tankanlagen, Teer aus dem Zigarettenrauch im Zigarettenfilter oder Geruchsstoffe aus der Abluft von Produktionsanlagen mittels Adsorptionsmitteln entfernt. In der Wasseraufbereitung und der Abwasserreinigung kann das Verfahren der Adsorption für die Entfernung von schädlichen Inhaltsstoffen, wie zum Beispiel Schwermetallen, benutzt werden. Als Adsorbentien kommen dabei Stoffe mit großer spezifischer Oberfläche in Betracht. Dies sind zum Beispiel Aktivkohle, Siliziumoxid (Silicagel) oder kristalline Aluminosilikate (Zeolithe).

Der Vollständigkeit halber sei auf den Fall der chemischen Adsorption hingewiesen, bei der eine chemische Bindung zwischen anhaftenden Partikeln und Feststoffoberfläche eingegangen wird und auf diese Weise chemisch neue Stoffe entstehen können. Die Bindungskräfte zwischen Feststoffoberfläche und anhaftenden Partikeln sind bei der chemischen Adsorption höher als bei der rein physikalischen. Die chemische Adsorption spielt bei der Katalyse mit festen Katalysatoren eine Rolle, zum Beispiel bei der Abgasreinigung in Kraftfahrzeugen (BATHEN und BREITBACH, 2001).

4.1.1 Pellikelbildung

Ursache für die Adhäsion von Proteinmolekülen an intraoralen Oberflächen sind verschiedene elektrophysikalische Bindungsmechanismen. Die Moleküle sind in der Regel amphiphil (sowohl hydrophil als auch lipophil) und verfügen somit über polare und apolare Gruppen sowie charakteristische funktionelle Seitenketten (ECHTERHOFF, 2008). Alleine aufgrund dieser Eigenschaft tendieren sie zur Konzentration und Akkumulation an Grenzflächen. Da es im Bereich der Zahnoberfläche im feuchten Speichermilieu zu Ladungsverschiebungen kommt (SCHIFFNER, 1997), gehen die Calciumionen und Phosphatgruppen des Schmelzes elektrostatische Bindungen zu den polaren Gruppen der Speichelproteine sowie weiterer Makromoleküle ein. Zusätzliche Adhäsionsphänomene sind Wasserstoffbrückenbildungen, hydrophobe Interaktionen, van-der-Waals-Kräfte sowie Konformationsänderungen der Proteine (HANNIG, 1994).

4.1.1.1 *Phasen der Pellikelbildung*

Die erste Phase der Pellikelbildung beruht auf einer direkten physikochemischen Interaktion zwischen den Molekülen aus dem Speichel und der Festkörperoberfläche. So entsteht eine elektronendichte Basisschicht (GLANTZ et al., 1996; HANNIG, 1997; HANNIG, 1999; LINDH, 2002). Diese Phase dauert nur wenige Minuten (SKJÖRLAND et al., 1995).

Die zweite Phase der Pellikelbildung folgt in einem Zeitraum ab etwa 30 Minuten. Dabei nimmt die Stärke der Pellikel unter Bildung einer locker strukturierten Schicht mit deutlich erkennbaren globulären Elementen auf das Dreifache ihres initialen Zustandes der Phase 1 zu (SKJÖRLAND et al., 1995). In den nächsten Stunden dann findet ein kontinuierliches Wachstum dieser Schicht statt, die sich gleichzeitig verdichtet (HANNIG, 1999).

Dieser schnelle Anstieg der Pellikeldicke kommt nicht allein durch die Adsorption einzelner Proteinmoleküle aus dem Speichel zustande. Vielmehr spielen hier die Anlagerung von Proteinkomplexen sowie die Co-Adsorption individueller Proteine eine Rolle (IONTCHEVA et al., 1997; RYKKE et al., 1997; SCHÜPBACH et al., 2001; YAO et al., 1999; YAO et al., 2000; YOUNG et al., 1999).

4.1.1.2 Modellierung der Pellikelbildung

Für die mathematische Beschreibung der Pellikelbildung, insbesondere für den zeitlichen Verlauf der Entwicklung der Pellikeldicke, sind verschiedene Modelle entwickelt worden. Sie berücksichtigen die drei wesentlichen Schritte der Proteinanlagerung, den Transport der Moleküle an die Oberfläche des Feststoffes (1), die eigentliche Adsorption (2) und das Rearrangieren der auf der Oberfläche adsorbierten Partikel (3).

Im Fall reiner Diffusion nimmt die adsorbierte Menge und damit die Pellikeldicke unterproportional mit der Zeit zu, da mögliche Andockstellen für Proteinmoleküle zunehmend schon besetzt sind, so dass neu auf die Oberfläche auftreffende Teile keine Möglichkeit zur Adsorption finden und in die Flüssigkeit zurückdriften. Grundsätzlich wird eine Proportionalität zwischen der adsorbierten Proteinmenge und der Wurzel aus der Expositionszeit als gute Näherung an die zeitliche Entwicklung der adsorbierten Menge angenommen (de FEIJTER et al., 1978). Aufbauend darauf sind verschiedene Modelle entwickelt worden, die zusätzlich zu der beschriebenen Grundannahme weitere Aspekte in die Modellierung einbeziehen:

- Die Langmuir-Gleichungen (LANGMUIR, 1916) beschreiben den Zusammenhang zwischen der Expositionszeit und der Proteinkonzentration einerseits und der Oberflächenbelegung andererseits mit Hilfe einer Differentialgleichung, in die neben verschiedenen Konstanten die Proteinkonzentration der Lösung sowie die Zeit eingehen. Für kleine Zeiten steigt danach die Oberflächenbelegung linear an und erreicht den Sättigungsbereich dann exponentiell. Das Modell berücksichtigt nicht die Wechselwirkungen zwischen den auf der Oberfläche anhaftenden Partikeln. Trotzdem lieferte es unter bestimmten Bedingungen gute Ergebnisse bei der Modellierung der Pellikelbildung (MANTZ, 2008).
- Die so genannte „random sequential adsorption“ (RSA) ist ein Modell, bei dem Scheiben gleicher Größe zufällig auf eine Oberfläche treffen, dort irreversibel haften bleiben, wenn die Andockstelle unbesetzt ist, oder andernfalls in die Flüssigkeit zurückdriften (TALBOT et al., 2000). Erweiterungen dieses Modells betreffen die Möglichkeit der späteren Ablösung einzelner Teilchen sowie die Konformationsänderung der Partikel beim Kontakt mit der Oberfläche (MANTZ, 2008). Das Modell ist zweidimensional angelegt und somit nicht in der Lage, Wechselwirkungen mit Teilchen oberhalb der Adsorptionsschicht zu berücksichtigen.
- In einem weiteren kinetischen Modell (WAHLGREN et al., 1995) wird der Bedeckungsgrad der Oberfläche mittels partieller Differentialgleichungen modelliert, wobei zwei Zustände A (reversibel gebundenes Protein) und B (irreversibel gebundenes Protein) existieren, deren Veränderung mit der Zeit proportional zur freien Oberfläche $(1-A-B)$ angenommen wird.
- Noch weitergehend ist ein Ansatz, bei dem mit Hilfe einer Monte-Carlo-Simulation das komplexe Adsorptionsverhalten der Proteine abgebildet wird (MANTZ, 2008) und auch eine Berücksichtigung der reversiblen Konformationsänderung möglich ist (BELLION, 2006). Mit diesem Modell konnten unter verschiedenen Bedingungen die Adsorption und die Oberflächenbedeckung von Feststoffen durch Proteine modelliert werden (MANTZ, 2008).

4.1.2 Pellikelfunktion

Verschiedene Autoren untersuchten die Schutzwirkung der Pellikel für die Zahnoberfläche gegen negative äußere Einflüsse:

- Ein Schutz des Zahnschmelzes (HANNIG et al., 2004b; NEKRASHEVYCH et al., 2004) sowie des Dentins (HANNIG et al., 2007a) gegen Säureeinfluss ist vorhanden, aber nicht vollständig (BRUNE, 2003). Der Schutz entsteht eher durch die Bildung eines teilweise durchlässigen Netzwerkes von großen Molekülen als durch die Bildung einer Barriere gegen Säuremoleküle. Die Schutzwirkung gegen Säureeinflüsse ist für den Zahnschmelz stärker ausgeprägt als für das Dentin (WIEGAND et al., 2008), insgesamt aber eher als gering einzustufen (ECHTERHOFF, 2008).
- In einer Studie an Rinderzahnschmelz (HANNIG und BALZ, 2001) mit und ohne Pellikel wurde nach der Applikation von 0,1%iger und 1%iger Säure für Zeiten zwischen 30 Sekunden und fünf Minuten die Oberflächenhärte gemessen. Zusätzlich wurde zwischen lingualen, den Speicheldrüsen nahen, und bukkalen Flächen unterschieden. Außerdem wurde elektronenmikroskopisch die Schmelzoberfläche untersucht. Durch die Pellikel wurde der Zahnschmelz vor Erosionen geschützt. Es wurde eine signifikante Verminderung der durch die Erosionen verursachten Oberflächenerweichung gemessen. Zwischen den Speicheldrüsen nahen und entfernten Flächen wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt. Die elektronenmikroskopische Analyse ergab, dass die Pellikel kontinuierlich durch die Säure aufgelöst wurden, aber sogar nach fünfminütiger Exposition mit 1%iger Zitronensäure konnte noch immer eine residuale Pellikelschicht nachgewiesen werden.
- Die protektive Wirkung der Pellikel gegen Säure hält dabei nur für einen Zeitraum von wenigen Minuten an (HARA et al., 2006). Länger einwirkende Säuren zerstören offenbar die schützende Wirkung der Pellikel (NEKRASHEVYCH und STÖSSER, 2003; NEKRASHEVYCH et al., 2004). Dabei spielt es offenbar keine Rolle, ob es sich um eine neu gebildete oder bereits mehrere Stunden gereifte Pellikelschicht handelt (ECHTERHOFF, 2008). Ein Zusammenhang zwischen Pellikelalter und Säureprotektionspotenzial konnte nicht nachgewiesen werden (BRUNE, 2003).

- Auch der Schutz des Zahnschmelzes gegen mechanische Einwirkungen, zum Beispiel durch die Benutzung einer Zahnbürste, wurde mittlerweile nachgewiesen (JOINER et al., 2008). Insbesondere bei der Verwendung einer Zahnpasta mit niedrigem Abrasionswert wurde die Schutzwirkung der Pellikel deutlich.
- Ebenso wird ein Schutz gegen abrupte Temperaturschwankungen durch die Aufnahme heißer oder kalter Speisen und Getränke durch die Pellikel konstatiert (BAEK et al., 2009).
- Dabei sind Bereiche mit einer stärkeren Pellikelschicht gegen Erosion besser geschützt als solche, die lediglich eine dünne Pellikelschicht aufweisen (AMAECCHI et al., 1999).
- Der Schutz durch die Pellikel ist interindividuell sehr unterschiedlich. Möglicherweise sind ethnische Unterschiede gegeben (BRUVO et al., 2009), die auf unterschiedlicher Speichelzusammensetzung verschiedener Ethnien beruhen.
- Andererseits bietet die Pellikel die Basis für die Ansiedlung von *Streptococcus mutans*, den für die Kariesentstehung hauptsächlich verantwortlichen Mikroorganismus (GARCIA-GODOY und HICKS, 2008), und andere Mikroorganismen, wobei niedrige Konzentrationen von Kalzium und Phosphat in der Pellikel den Prozess der Kariesentstehung beschleunigen können (SHARMA und SOMANI, 2009). Die Adhäsion dieser Keime auf intraoralen Oberflächen, ihre Wechselwirkung mit Proteinen der Pellikel und die sich daraus ergebenden Konsequenzen für die Zahngesundheit nehmen in der Fachliteratur breiten Raum ein (AHN et al., 2002; HAMADA et al., 2004; HAUSER-GERSPACH et al., 2007; KAWASHIMA et al., 2003; MEIER et al., 2008; NIKAWA et al., 2006; PAPAIOANNOU et al., 2007; RUHL et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2007; VAN DER MEI et al., 2004).

4.1.3 Pellikelzusammensetzung

Verschiedene Studien konnten Speichelproteine als Hauptbestandteil der Pellikel bestätigen (HANNESSON EGGEN, 1983; SØNJU und RØLLA, 1973). Zu den in der Pellikel vor-

kommenden Speichelproteinen zählen die sauren prolinreichen Proteine, Statherin, Histatin, Cystatin, Muzin und α -Amylase (APITZ, 2004). Ein Überblick über weitere Bestandteile der Pellikel ist in Tabelle 1 enthalten. Dort sind außerdem Angaben zur molekularen Masse der Pellikelkomponenten, ihrer physiologischen Funktion, ggf. vorhandenen Rezeptoren für Mikroorganismen und ihrer Herkunft enthalten.

4.1.4 Pellikeldicke

Verschiedene Studien untersuchten die Pellikeldicke *in vivo* und *in vitro* auf natürlichem humanem Zahnschmelz (BAEK ET AL., 2009; HANNIG, 1999; HANNIG ET AL., 2004A; LIE, 1977). Dabei wurden Schichtdicken zwischen 10 und etwa 1000 nm gefunden. Die Werte sind abhängig von der Lokalisation, der Expositionszeit und der Messmethode und weisen darüber hinaus auch individuelle Unterschiede auf. In einer Studie an extraoral exponierten Probenkörpern, auf denen die Pellikeldicke mit dem Verfahren der „Optical Coherence Tomography“ nach 120 Minuten Expositionszeit gemessen wurde, war eine Pellikeldicke von durchschnittlich etwa 20 μm bestimmt worden (BAEK ET AL., 2009), mit „Multiphoton Microscopy“ eine solche von rund 10 μm . In einer anderen Studie (HANNIG, 1999) waren bei Expositionszeiten bis zu 2 Stunden Pellikeldicken von etwa 80 nm entstanden. Hier war die Pellikel intraoral auf natürlichem Zahnschmelz gewachsen. Auch LIE (1975, 1977) kam bei Messungen der Dicke von intraoral gewachsener Pellikel nach 2 Stunden auf Werte von 100 nm und mehr. Im weiteren zeitlichen Verlauf ist dann mit einer nochmals deutlichen Zunahme der Dicke bis auf 1000 nm und mehr zu rechnen (HANNIG, 1999). Die Geschwindigkeit, mit der die Pellikel gebildet wird, wird von der Grenzflächenspannung zwischen Substrat und Speichel beeinflusst. Die Größe der auf dem Substrat anhaftenden Proteinmoleküle ist dagegen weitgehend einheitlich, so dass sie keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Pellikelbildung ausübt. (HANNIG ET AL., 2004a). Deutliche Einflüsse auf die Pellikeldicke wiesen zudem die Lokalisation in der Mundhöhle sowie die Erosionsbedingungen an dieser Lokalisation auf (AMAECHI et al., 1999).

Tabelle 1: Komponenten der Pellikel und ihre Eigenschaften (alphabetisch). Modifiziert nach HANNIG und HANNIG (2007)

Name	Molekulare Masse (kDa)	Physiologische Funktion	Rezeptor für Mikroorganismen	Herkunft
Agglutinin [16]	300 – 400	Agglutination oraler Bakterien	Streptokokken, Actinomyce-ten	Speichel
Albumin	69	Carrier-Protein, reguliert kolloid-osmotischen Druck		Plasma
Amylase	54 – 57	Katabolismus von Stärke und Oligo-Sacchariden	S. sanguis S. gordonii S. mitis S. parasanguis S. christa S. salivarius	Speicheldrüsen, primär Parotis
Calgranulin B	13	Calcium-bindend		Speichel, Sulkusfluid
Carboanhydrasen (I, II, VI)	42	pH-Homeostase		Seröse, azinäre Zellen, Speicheldrüsen
Cystatin SA – 1	9	Antibakterielle und antivirale Eigenschaften		Speichel
Cystatin SN	9		Speichel	
Cytokeratin 13, 15	40 – 67	Zellproteine		Speicheldrüsen
Fibrinogen	340	Gerinnungsfaktor I		Serum, Sulkusfluid
Fibronectin	2225	Strukturprotein	T. denticola, S. mutans, S. gordonii	Plasma
Glucosyltransferasen	140	Synthese extrazellulärer Polysaccharide		Streptokokkenspezies
Histatin	3 – 5	Strukturprotein, antimikrobiell gegen Candida Spezies		Speichel
IgG		Opsonierung		Plasma, Sulkusfluid
IgM		Neutralisation, Agglutination		Plasma, Sulkusfluid
slgA	60/90	Neutralisation	Streptokokken, S. sanguinis, S. parasanguinis	Speicheldrüsen
Komplementfaktor 3/3c	210 (80 und 130)	Aktivierung der Komplementkaskade		Plasma, Sulkusfluid
Lactoferrin	80	Eisenbindung, dadurch antimikrobiell wirksam		Speichel
Lysozym	14	Antibakteriell, hydrolysiert Peptidoglycanschicht von Bakterien	S. sanguis, S. mutans	Speicheldrüsen, v.a. Glandulae sublinguales und submandibulares
Mucin MG 1	≥ 1000	Lubrikation		Speicheldrüsen
Mucin MG 2	200-250			
Neuraminidase	variabel	Freisetzung glycosidisch verbundener Sialinsäuren		Mikroorganismen, humane Lysosomen
Peroxidase	78, 80	Hydrolyse von Radikalen		Speicheldrüsen
Prolin-reiche Proteine	5 – 30	Strukturkomponente, Phosphoprotein	S. mutans, S. gordonii, S. oralis, S. intermedius, A. naeslundii, P. gingivalis, P. loescheii	Speicheldrüsen
Statherin	8	Inhibiert die Calciumpräzipitation	A. naeslundii, F. nucleatum P. gingivalis	Speichel

Eine Analyse der Proteine im Hinblick auf die vorkommenden Aminosäuren (LENDENMANN et al., 2000) zeigte, dass Glycin (GLY), Glutamin und Glutaminsäure (GLX) sowie Serin (SER) die am häufigsten vorkommenden Aminosäuren waren.

4.2 Ellipsometrische Schichtstärkenmessung

Die Ellipsometrie ist eine zerstörungsfreie Messmethode zur Bestimmung dünner, massiver dielektrischer Schichten von bis zu einigen Mikrometern Dicke. Sie macht sich die Tatsache zunutze, dass sich an der Oberfläche solcher Schichten die Polarisation von Licht verändert. Die Größe dieser Veränderung ist ein Maß für die Schichtdicke.

4.2.1 Polarisation des Lichtes

Elektromagnetische Strahlung, wie zum Beispiel das Licht, kann als Transversalwelle betrachtet werden. Diese Transversalwelle ist durch den Wellenvektor k , den Feldvektor des elektrischen Feldes E , und den Feldvektor des magnetischen Feldes B charakterisiert. Die Richtung der Schwingung des Feldvektors E bezeichnet man als Polarisation des Lichtes. Dabei werden verschiedene Arten der Polarisation unterschieden:

- Zeigt der Feldvektor immer in eine feste Richtung, dann ändert sich entlang des Wellenvektors lediglich die Auslenkung nach Vorzeichen und Betrag periodisch. Dies wird als lineare Polarisation bezeichnet. Die Spitze des Feldvektors bewegt sich in diesem Fall auf einer Geraden.
- Dreht sich der Feldvektor mit konstanter Winkelgeschwindigkeit um den Wellenvektor und ändert seinen Betrag dabei nicht, dann spricht man von zirkularer Polarisation. Die Spitze des Feldvektors ist hier ein Kreis.

- Die elliptische Polarisierung bezeichnet einen rotierenden Feldvektor mit sich periodisch änderndem Betrag. Die Spitze des Feldvektors beschreibt dabei eine Ellipse.
- Bei unpolarisiertem Licht zeigt der Feldvektor dagegen keine Gesetzmäßigkeiten, er schwingt in alle Richtungen mit der gleichen Wahrscheinlichkeit.

Allgemein kann bei polarisiertem Licht der zeitliche und räumliche Verlauf des Feldvektors E durch senkrecht aufeinanderstehende Komponenten p in der Einfallsebene und s senkrecht dazu beschrieben werden (Abbildung 1).

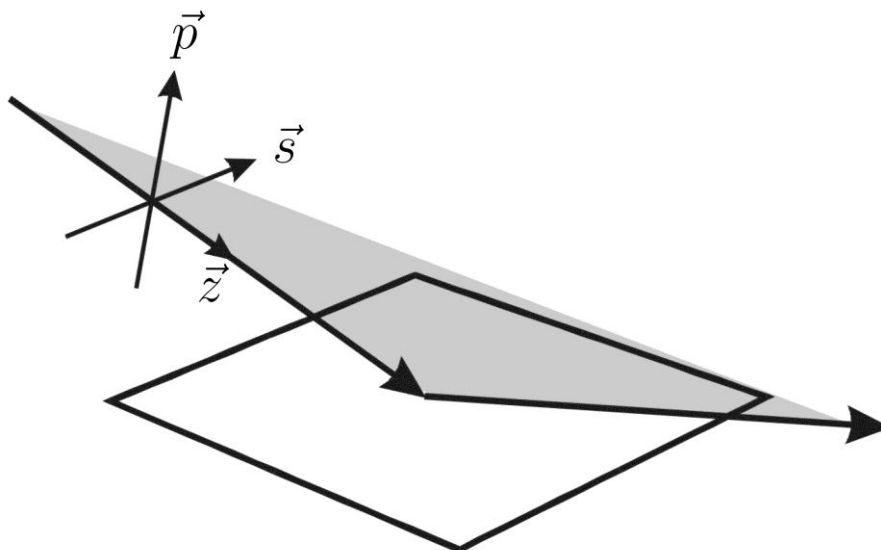


Abbildung 1: Prinzip der Beschreibung des Polarisationszustandes durch die Überlagerung zweier linear polarisierter Wellen in der Einfallsebene (p) und senkrecht zur Einfallsebene (s) (ANONYMUS, 2009)

Trifft ein Lichtstrahl unter einem Winkel α auf die Grenzfläche zweier Medien, dann wird er teilweise reflektiert, teilweise in das zweite Medium hinein gebrochen (Abbildung 2). Dabei werden sowohl der reflektierte als auch der gebrochene Strahl teilweise polarisiert. Dies geschieht dadurch, dass beim Auftreffen auf die Grenzfläche die senkrecht zur Einfallsebene stehende Komponente bevorzugt reflektiert, die parallel

dazu stehende bevorzugt in das zweite Medium hinein gebrochen wird. Daraus ergibt sich, dass sowohl der reflektierte als auch der gebrochene Strahl teilpolarisiert werden. Unter einem bestimmten Winkel („Brewster-Winkel“), bei dem reflektierter und transmittierter Strahl im rechten Winkel zueinander stehen, erfolgt eine völlige Abtrennung der parallelen Komponente, das heißt es wird linear polarisiertes Licht reflektiert (HERBERG, 2009).

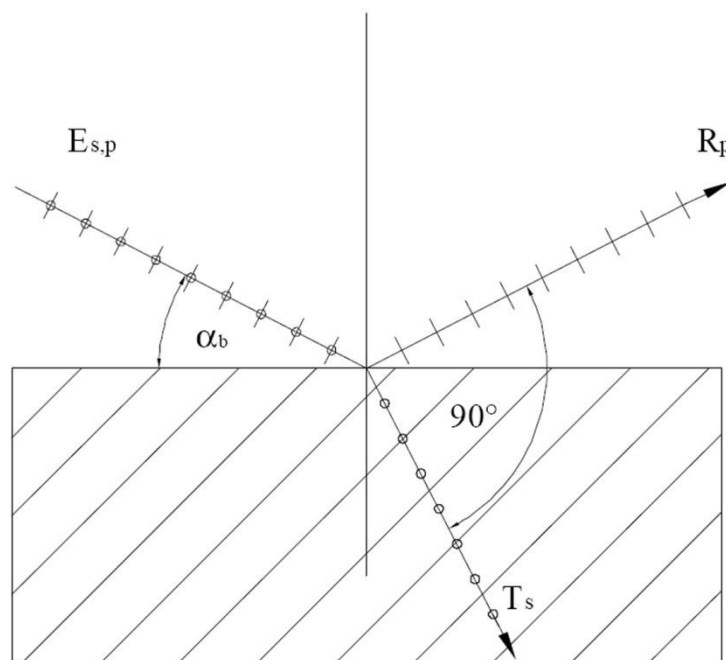


Abbildung 2: Reflexion und Brechung eines Lichtstrahles an der Grenzfläche zweier Medien (HERBERG, 2009)

An der unteren Grenzfläche des zweiten Mediums wird der Lichtstrahl ebenfalls reflektiert (Abbildung 3). Er erreicht wiederum die erste Grenzfläche, wird dort wieder gebrochen und verläuft dann parallel zum bereits initial reflektierten Strahl. Aus den unterschiedlichen optischen Weglängen beider Strahlen ergibt sich eine Phasenverschiebung, die vom Ellipsometer ausgewertet wird. Weiterhin ergeben sich Änderungen der

Amplituden beider Strahlen. Beide, Phasenverschiebung und Amplitudenverhältnis, sind abhängig von der Dicke der Schicht und deren optischen Eigenschaften.

Mit den Reflexionskoeffizienten R_p und R_s , der Phasendifferenz Δ und dem Amplitudenverhältnis ψ ergibt sich folgende Grundgleichung der Ellipsometrie:

$$e^{i\Delta} \cdot \tan \psi = \frac{R_p}{R_s}$$

Die ellipsometrischen Messungen beruhen nun darauf, die Größen Δ und ψ messtechnisch zu bestimmen. Diese hängen von folgenden Eigenschaften der Schicht, deren Dicke bestimmt werden soll, und dem Substrat ab:

- n_1, K_1 – Brechungsindex und Absorptionskoeffizient der Schicht
- W – Schichtdicke
- n_2, K_2 - Brechungsindex und Absorptionskoeffizient des Substrates
- λ - Wellenlänge des benutzten Lichtes
- φ - Einfallswinkel des Lichtes.

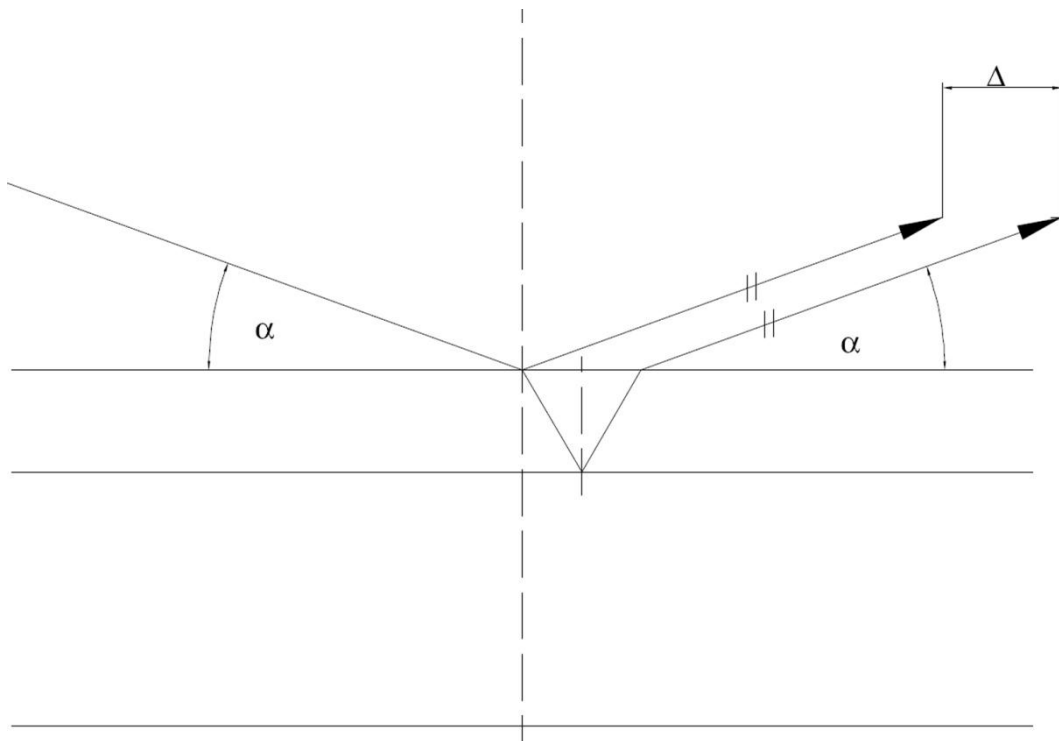


Abbildung 3: Prinzip der Phasenverschiebung des Lichtes durch den beim gebrochenen Strahl längeren Weg gegenüber dem direkt reflektierten Strahl (HERBERG, 2009)

Grundsätzlich wird bei der Messung so vorgegangen, dass linear polarisiertes Licht auf die Probe geworfen und reflektiert wird. Dieses wird durch den beschriebenen Mechanismus elliptisch polarisiert zurückgeworfen. Es wird nun durch systematische Änderung der Stellung eines Bauteils des Ellipsometers, des Kompensators (Abbildung 4), untersucht, welche Phasenverschiebung notwendig ist, um das elliptisch polarisierte Licht wieder in linear polarisiertes umzuwandeln. Dies ist genau dann der Fall, wenn der Photodetektor (Abbildung 4, ganz rechts) ein „Null-Signal“ bekommt, also ein absolutes Intensitätsminimum. Aus der Stellung des Kompensators kann dann die Phasenverschiebung Δ abgelesen werden.

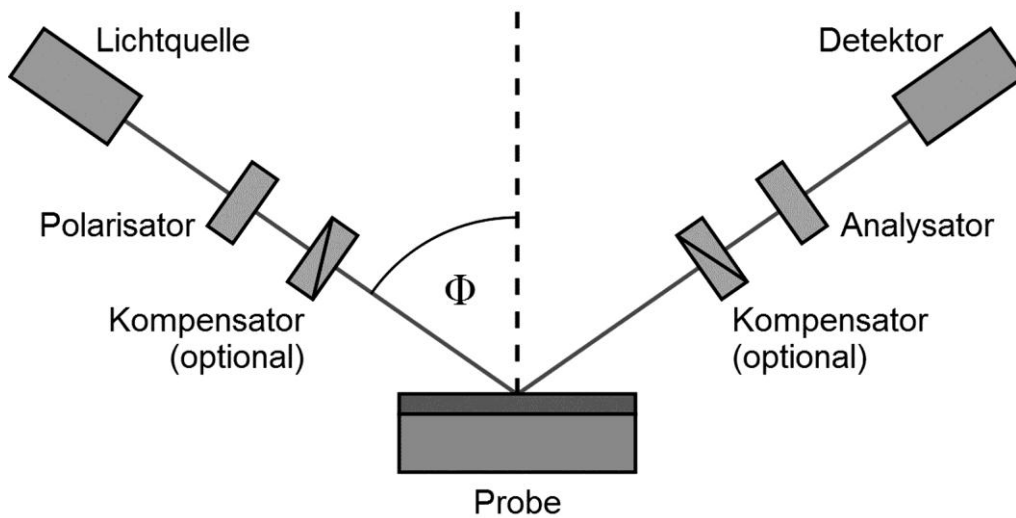


Abbildung 4: Prinzipieller Aufbau eines Ellipsometers mit Lichtquelle, Polarisator, Kompensator, Probe, Kompensator, Analysator und Detektor

Die Ellipsometrie ist als Methode zur Bestimmung der Pelliceldicke etabliert und wurde in zahlreichen Studien zu diesem Zweck verwendet (ERICSON et al., 1982; de FEIJTER et al., 1978; JOINER et al., 2004; JOINER et al., 2006; KAHLE, 2002; LINDH, 2002; MANTZ, 2008; VASSILAKOS et al., 1992).

5 Fragestellung

Studien zur Dynamik der Pellikelbildung *in situ*, die verschiedene Einflüsse auf diesen Prozess systematisch experimentell untersuchen, sind in der Fachliteratur bisher nur in begrenztem Umfang dokumentiert.

Ziel der vorliegenden Studie war es daher, die Kinetik der Pellikelbildung unter Mundhöhlenbedingungen auf verschiedenen Substraten ellipsometrisch zu untersuchen. Dabei sollten die Einflüsse der intraoralen Expositionszeit sowie des Substrates (hydrophob vs. hydrophil) untersucht werden. Weiterhin wurde der Einfluss verschiedener Lokalisationen (Oberkiefer vs. Unterkiefer, Incisivi vs. Molaren, bukkal vs. oral) bei 6 verschiedenen Probanden ermittelt.

6 Material und Methode

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden Pellikeldicken auf Substratproben ellipsoidisch gemessen, die in den Mundhöhlen von insgesamt 6 Probanden exponiert worden waren. Im Folgenden werden die verwendeten Substrate (Kap. 6.1), die Versuchsdurchführung (Kap. 6.2), Einzelheiten zur Datenerhebung (Kap. 6.3) sowie deren statistische Auswertung (Kap. 0) beschrieben. Das Versuchsdesign der vorliegenden Studie wurde der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes zur Prüfung vorgelegt und mit einem positiven Votum (AZ 238/03) beschieden.

6.1 Substratauswahl

Es war zunächst vorgesehen, im Rahmen dieser Untersuchung Materialien zu verwenden, die zur Herstellung von Zahnersatz bzw. als Füllungsmaterialien in der Zahnheilkunde benutzt werden. Vorversuche zeigten jedoch, dass an diesen Materialien in der Regel wegen ihrer großen Rauheit keine zuverlässigen ellipsoidischen Messungen möglich sind. Es wurden deshalb Silizium-Wafer mit und ohne OTS-Beschichtung sowie Platin-beschichtetes Araldit benutzt. Diese Materialien sind fast atomar eben (KAHLE, 2002), so dass nicht mit Messungenauigkeiten aufgrund unebener Substratoberflächen gerechnet werden muss.

Die Beschichtung der Silizium-Wafer mit Octadecyltrichlorsilan (OTS) erfolgte orientiert an dem von HASSELBRINK (2004) beschriebenen Verfahren (Abbildung 5). Für die Herstellung der Platin-beschichteten Aralditproben wurden aus dem Epoxidharz Araldit Prüfkörper mit 5x5 mm messender Oberfläche angefertigt und anschließend in einer Sputteranlage (Polaron Quorum Technologies, East Sussex; Typ: SC 7640 High resolution sputtercoater) mit Platin beschichtet. Weitere methodische Details zur OTS-Beschichtung und Herstellung der Platin-beschichteten Araldit-Proben finden sich in den Dissertationen von MANTZ (2008) und KRAUS (2011).

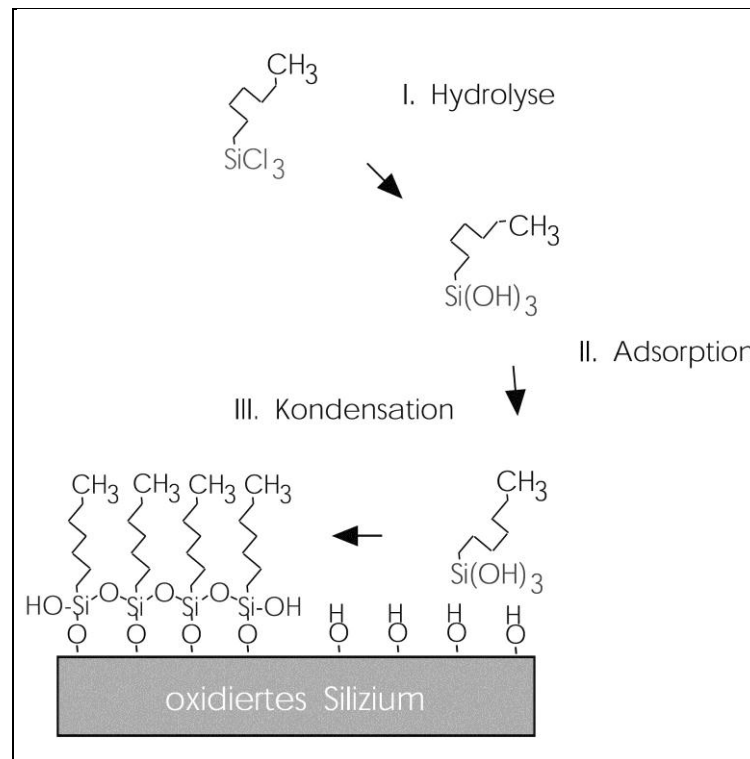


Abbildung 5: Vorgang der Oberflächenbeschichtung einer oxidierten Siliziumschicht in drei Schritten durch Octadecyltrichlorsilan (OTS), nach HASSELBRINK (2004)

6.2 Versuchsdurchführung

Insgesamt wurden im Rahmen dieser Studie Messungen der Pellikeldicke an rund 900 intraoralen Proben vorgenommen, die von 6 Probanden stammten. Alle Versuche und deren Auswertung erfolgten in der zweiten Jahreshälfte 2004.

6.2.1 Probanden

Die Probanden waren zum einen Mitarbeiter der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg / Saar. Dabei handelte es sich um 3 Frauen (KH, IK und SGT) sowie 1 Mann (FA). Die weiteren Probanden waren Mitarbeiter, 2 Männer (AQ und HM) am Lehrstuhl für Experimentalphysik, Weiche Kondensierte Materie von Frau Prof. Dr. Karin Jacobs an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. Alle Probanden wurden instruiert, am Tag der Probennahme morgens die Zähne mit Zahnbürste und Zahnpasta zu putzen, wie gewohnt zu frühstücken, anschließend nochmals die Zähne zu putzen und sich dabei den Mund gründlich mit klarem Wasser auszuspülen. Ab diesem Zeitpunkt (in der Regel etwa 7:00 Uhr) durften die Probanden bis zur Entfernung der Proben keinerlei Nahrung oder Getränke mehr zu sich nehmen. Etwa 2 Stunden nach dem zweiten Zähneputzen wurde eine Miniplastschiene mit daran befestigten Substratproben (5x5 mm) eingesetzt. Die Probanden trugen diese Schiene für die Dauer des Versuchs, also für 3, 30 oder 120 Minuten.

Die Schienen wurden individuell für jeden Probanden im Tiefziehverfahren aus dem Kunststoff Drufolon E gefertigt. Dabei wurde zur Vermeidung von Irritationen und um den Speichelfluss möglichst wenig zu behindern, die Gaumenschleimhaut durch die Schienen nicht bedeckt. Die Schienen wurden zudem an den Befestigungspunkten der Substratproben mit kleinen Löchern durchbohrt, um eine sichere Befestigung der Proben an der Schiene zu gewährleisten.

6.2.2 Vor- und Nachbereitung der Substratproben

Die Substratproben („Wafer“) wurden als runde Platten mit einem Durchmesser von etwa 12 cm von der Universität Saarbrücken zur Verfügung gestellt. Daraus wurden Quadrate von 5 mm Kantenlänge vorbereitet, im Ultraschallbad in Ethanol etwa 5 Minuten lang gereinigt und vorsichtig mit Stickstoffgas getrocknet. Dabei wurde darauf geachtet, dass keinerlei Kontamination der Substratoberfläche erfolgte. Die Proben wurden an einer Miniplastschiene (Abbildung 8) in der gewünschten Lokalisation

(Zahn 11, 21, 31, 41, 16, 26, 36 oder 46) jeweils bukkal, vestibulär, labial oder palatinal, oral, lingual befestigt. Dazu wurde das niedrigviskose Abformmaterial „Flexitime Correct Flow“ der Firma Heraeus Kulzer GmbH, Dormagen verwendet.



Abbildung 6: Miniplastschiene mit montierten Silizium-Wafern

Nach der projektierten Tragedauer von 3, 30 oder 120 Minuten wurde die Schiene wieder entfernt und vorsichtig mit destilliertem Wasser abgespült. Dabei wurde vermieden, die Proben dem direkten Wasserstrahl auszusetzen. Anschließend wurden die Testkörper mit einer Pinzette vorsichtig von den Schienen entfernt und für 40 Minuten in einem Glasbehälter in einer Fixationslösung gelagert, die wie folgt zusammengesetzt war:

- 250 μl **Glutaraldehyd** - Glutaraldehyd ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$) besteht aus einer Kette von fünf Kohlenstoffatomen mit insgesamt acht Wasserstoffatomen. An beiden Enden befinden sich Aldehydfunktionen. Es dient der Gewebefixierung.

- 150 μl **Formaldehyd** (Methanal) – Methanal (CH_2O) ist ein starkes Reduktionsmittel und dient als Konservierungsstoff.
- 960 μl **Pufferlösung** – Diese Pufferlösung dient der Einstellung eines pH-Wertes von 7. Sie wurde aus 120 mg Natriumdihydrogenphosphat sowie 890 ml Natriumhydrogenphosphat und destilliertem Wasser hergestellt.

Nach dieser Zeit wurde die Lösung unter einem Abzug vorsichtig abpipettiert und stattdessen reine Pufferlösung in das Gefäß hineinpipettiert. Dieses Vorgehen wurde 3-mal durchgeführt, wobei die Proben zwischenzeitlich jeweils 5 Minuten in der Lösung verblieben. Nach diesem Verfahren wurden die Proben vorsichtig mit Stickstoffgas getrocknet und in Probenbehältern gelagert. Die Messung der Pellikeldicke erfolgte in der Regel am selben Tag oder innerhalb weniger Tage.

6.3 Auswertung

6.3.1 Ellipsometrische Messungen

Die Bestimmung der Pellikeldicken erfolgte an allen Proben ellipsometrisch, wobei die Rohwerte auf den Brechungsindex 1,5 (Brechungsindex saliva) umgerechnet wurden. Dazu wurde ein Ellipsometer EP3 der Firma Accurion GmbH, Stuttgart verwendet (Abbildung 7), das an der Universität des Saarlandes, Fachrichtung 7.2 (Experimentalphysik, Prof. Jacobs) für die Untersuchung der Eigenschaften dünner Filme aus einfachen und komplexen Flüssigkeiten standardmäßig verwendet wird. Das Ellipsometer weist folgende Eigenschaften auf:

- Verschiedene Wellenlängen verfügbar (405, 532, 635 und 830 nm),
- Motorisiertes Goniometer für frei wählbaren Einfallswinkel (45-90 °),
- Räumliche Auflösung bis 1 μm in einem Abbildungsbereich von 0,22 mm^2 ,
2 μm räumliche Auflösung in einem Abbildungsbereich von 0,44 mm^2 ,

- Computergesteuerter x/y/z-Proben­tisch mit automatischer Justierung, geeignet für Probengrößen bis 15 cm Durchmesser,
- Flüssigkeitszelle zum Messen der Adsorption an Grenzflächen fest/flüssig, mögliche Einfallswinkel von 60 ° bzw. 65 °, bei präziser Kontrolle der Temperatur in einem Bereich bis 60 °C,
- Kinetikmessungen bis 50 Hz unter Verwendung von 'off-null'-Ellipsometrie (für Filmdicken < 5 nm) bzw. kinetische Nullellipsometrie (0,12 Hz) für größere Filmdicken,
- SPR-Zelle für Oberflächenplasmonenresonanzmessungen in einem Abbildungsbereich von 0,8 cm².

Die Arbeitsgruppe von Prof. Jacobs ist spezialisiert auf die Untersuchung der Eigenschaften dünner Filme aus einfachen und komplexen Flüssigkeiten mit Methoden der Oberflächenphysik, zum Beispiel Rasterkraftmikroskopie, Ellipsometrie, Plasmonenresonanzspektroskopie oder Lichtmikroskopie (BÄUMCHEN UND JACOBS, 2010; JACOBS 2011; SCHMITT ET AL., 2010).

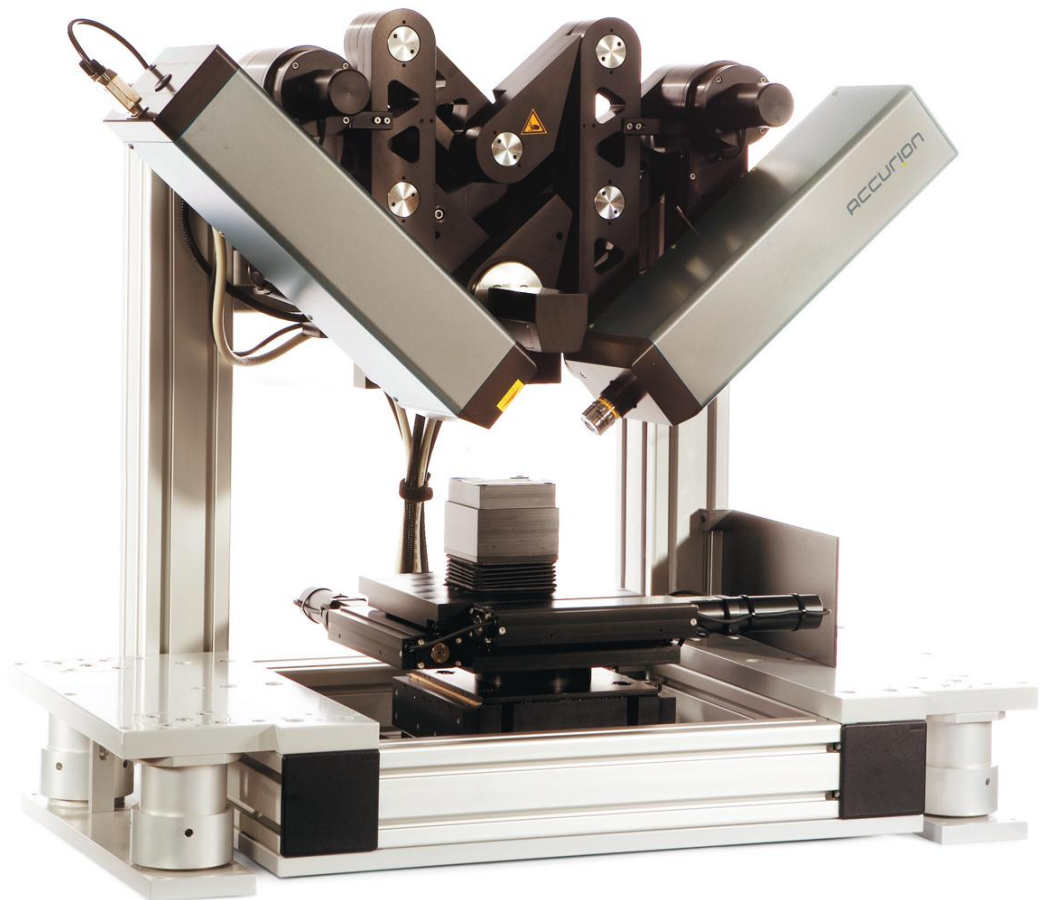


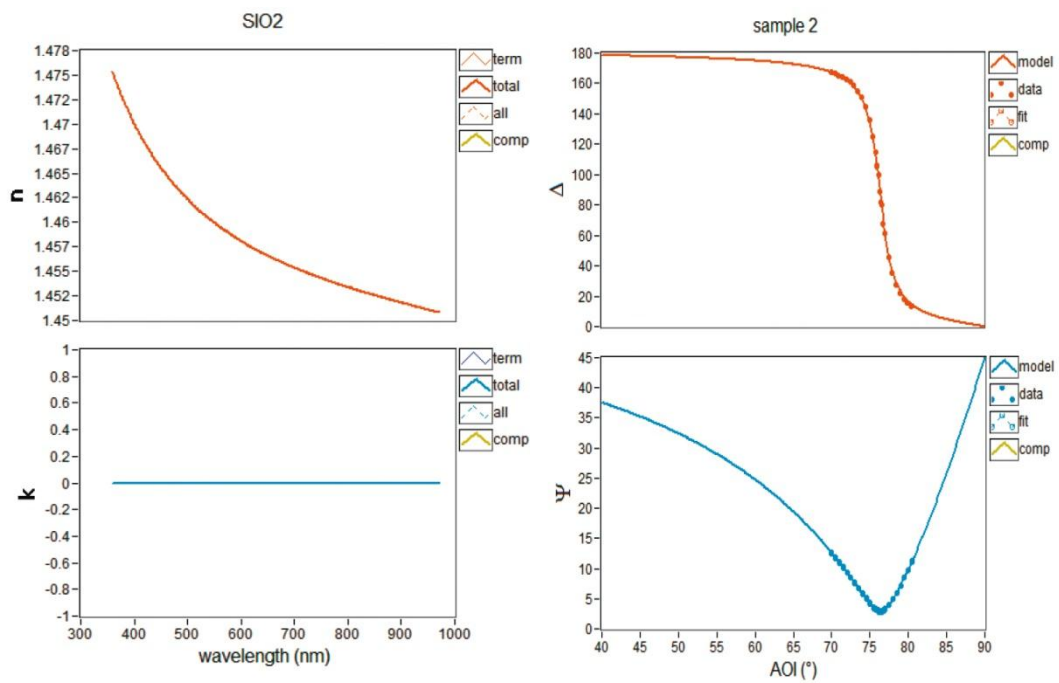
Abbildung 7: Typfoto des verwendeten Ellipsometers EP³ der Firma Accurion, Stuttgart

Die Daten aus dem Ellipsometer wurden mit Hilfe der vom Gerätehersteller gelieferten Software analysiert (Beispiel für die Resultate siehe Abbildung 8) und daraus die Pelli-
keldicken bestimmt.

MATERIALS				
	value	min	max	unit
Air				
substrate				
n_k_fix	#0			
n	4.150	1.000	5.000	
k	0.000	0.000	0.500	
SiO2				

SAMPLES				
	value	min	max	unit
sample 2				
Air				
layerstack				
SiO2	#0			
thickness	4.2	0.0	100.0	nm
substrate				

DATA & FIT				
	value	min	max	unit
spectrum		360.0	969.8	nm
AOI		40.000	90.000	°
AOI_offset	0.000	-1.000	5.000	°
datasets				
EP3data (ROI0)	sample 2	instr		enabled
Fit for:				
n	n_k_fix#0	substrate	global	enabled
k	n_k_fix#0	substrate	global	enabled
thickness	layer#0	sample 2	global	enabled
Fit settings				
iteration limit	6000			
tolerance	1E-7			
use...	Psi only			



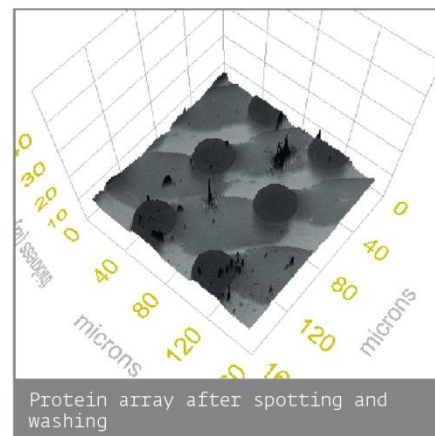
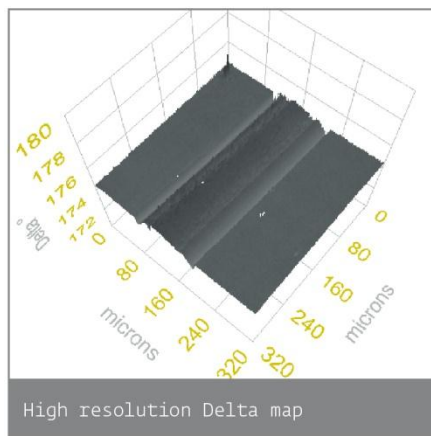
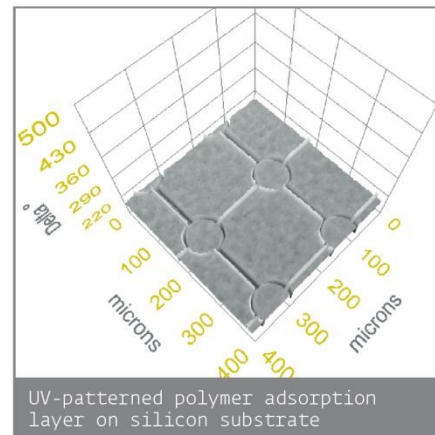
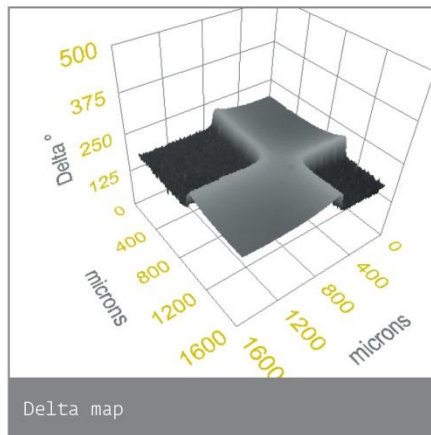
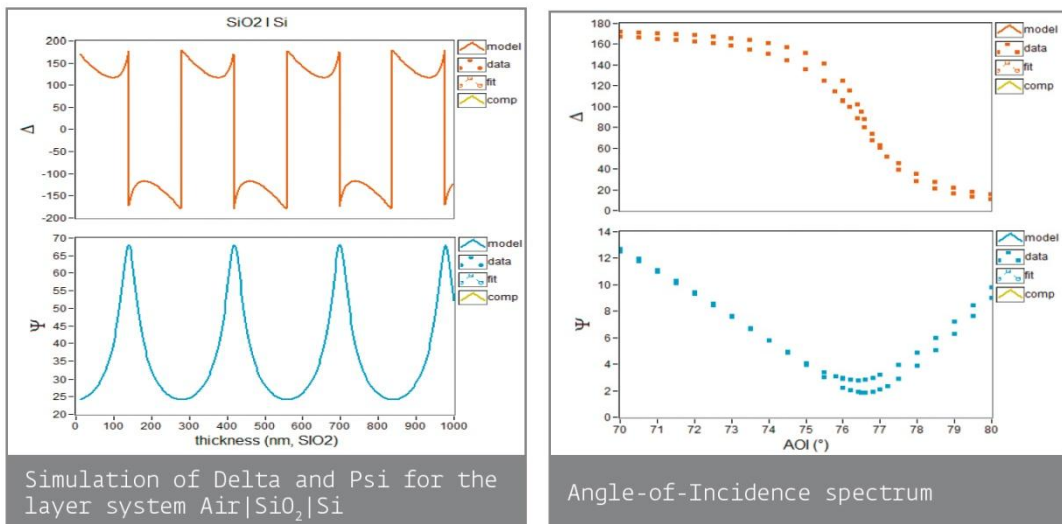


Abbildung 8: Beispiele für die Auswertung ellipsometrischer Daten des verwendeten Ellipsometers EP³ mit Hilfe der Software des Geräteherstellers

6.3.2 Fixationsprüfung

Zur Beurteilung der Auswirkung der Fixierung und des Probenalters wurden die Messergebnisse von insgesamt 42 Proben eines Probanden (HM) der Lokalisation vestibulär, Zahn 16, herangezogen. Die Messungen der Pellikeldicke erfolgten unfixiert (unmittelbar nach Entnahme der Miniplastschiene aus dem Mund) sowie fixiert nach weniger als 5, weniger als 14 und über 60 Tagen. Tabelle 2 zeigt die Anzahl der Proben in den verschiedenen Kategorien.

Tabelle 2: Anzahl der Proben, an denen der Einfluss der Fixationsdauer geprüft wurde

Fixation	Anzahl
Keine Fixation	9
Fixation < 5 d	12
Fixation < 14 d	12
Fixation > 60 d	9
Gesamt	42

6.3.3 Prüfung des Einflusses von Proband, Expositionszeit, Lokalisation und Substrat

Der Einfluss von Proband, Expositionszeit, Lokalisation und Substrat auf die Pellikeldicke wurde untersucht, indem diese Bedingungen systematisch variiert wurden. Es standen Proben von 5 Probanden, für 3 unterschiedliche Substrate, von Incisivi und Molaren aus dem Ober- und Unterkiefer sowie nach bukkal, vestibulär, labial oder palatinal, oral, lingual orientiert zur Verfügung. Einen grundsätzlichen Überblick über die Anzahl der Proben unter verschiedenen Versuchsbedingungen zeigt Tabelle 3, eine ausführliche Kreuztabellierung aller Versuchsbedingungen ist im Anhang (Kap. 10) enthalten.

Tabelle 3: Anzahl der unter verschiedenen Versuchsbedingungen gewonnenen Proben

Substrat	Häufigkeit	Prozent
Si-Wafer	710	80,0
Octadecyltrichlorsilan	144	16,2
Araldit mit Pt-Beschichtung	33	3,7
Summe	887	100,0
Proband	Häufigkeit	Prozent
IK	15	1,7
KH	162	18,3
FA	144	16,2
SGT	216	24,4
HM	206	23,2
AQ	144	16,2
Summe	887	100,0
Kiefer	Häufigkeit	Prozent
OK	531	59,9
UK	356	40,1
Summe	887	100,0
Region	Häufigkeit	Prozent
Incisivi	357	40,2
Molaren	530	59,8
Summe	887	100,0
Orientierung	Häufigkeit	Prozent
bukkal, vestibulär, labial	445	50,2
palatinal, oral, lingual	442	49,8
Summe	887	100,0
Expositionszeit	Häufigkeit	Prozent
3 min	299	33,7
30 min	296	33,4
120 min	292	32,9
Summe	887	100,0

6.4 Statistik

Zielgröße der Auswertung war die Pellikeldicke in nm, bezogen auf einen Brechungsindex von $n=1,5$. Dabei handelt es sich um eine intervallskalierte Größe, die durch die Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung charakterisiert wurde. Der Vergleich verschiedener Gruppen von Einflussfaktoren (zum Beispiel unterschiedliche intraorale Expositionszeiten) erfolgte bei zwei Gruppen (zum Beispiel Oberkiefer vs. Unterkiefer) mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben, bei mehr als 2 Gruppen mittels Varianzanalyse (ANOVA) und ggf. Post-Hoc-Tests unter Bonferroni-Korrektur des Signifikanzniveaus (BORTZ und WEBER, 2005; SACHS, 2003).

7 Ergebnisse

Alle Messungen der Pellikeldicken wurden auf einen Brechungsindex von $n=1,5$ umgerechnet.

7.1 Fixationsprüfung

Die Prüfung der Fixation der Proben erfolgte an insgesamt 42 Proben eines einzigen Probanden (HM). Die Fixationsdauern lagen bei weniger als 5 Tagen, weniger als 14 Tagen sowie mehr als 60 Tagen. Außerdem lagen Messdaten von unfixierten Proben vor. Die Tabelle 4 zeigt die deskriptiven Kennwerte der Pellikeldicken dieser 42 Proben. Im Mittel wurde eine Pellikeldicke von $8,4 \pm 5,0$ nm (Mittelwert \pm Standardabweichung) gemessen. Mit zunehmender Fixationsdauer stieg der Mittelwert der Pellikeldicke von 8,0 nm (< 5 d) bis auf 9,6 nm (> 60 d) leicht an, wobei ein statistisch signifikanter Einfluss der Fixationsdauer nicht nachgewiesen werden konnte (ANOVA, $p = 0,76$). Auch die mittlere Pellikeldicke der unfixierten Proben (8,1 nm) lag im Bereich der Messwerte mit Fixation.

Tabelle 4: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von der Fixationsdauer

Fixation	Anzahl	Pellikeldicke (nm)
		MW \pm SD
Keine Fixation	9	8,13 \pm 5,17
Fixation < 5 d	12	8,01 \pm 5,30
Fixation < 14 d	12	8,08 \pm 4,45
Fixation > 60 d	9	9,55 \pm 5,80
Gesamt	42	8,38 \pm 5,00

7.2 Pellikeldicke der fixierten Proben

Für die Auswertung der Pellikeldicke standen Messungen an insgesamt 887 Proben zur Verfügung, die unter verschiedenen Kombinationen von Versuchsbedingungen gewonnen worden waren. In Tabelle 17 im Anhang (Seite 77/78) ist die Anzahl der Fälle für die verschiedenen Kombinationen von Versuchsbedingungen enthalten. Die Messwerte der Pellikeldicken, bezogen auf einen Brechungsindex von $n=1,5$, lagen bei diesen 887 Proben zwischen 2,1 und 78,6 nm. Im Mittel wurde eine Pellikeldicke von $9,1 \pm 5,2$ nm gemessen.

7.2.1 Untersuchung des Einflusses der Faktoren Proband, Expositionzeit und Lokalisation auf die Pellikeldicke

Die folgenden Auswertungen beziehen sich auf die an Silizium-Wafern durchgeführten Messungen. Ein möglicher Einfluss unterschiedlicher Proben-Substrate auf die Ergebnisse wurde auf diese Weise ausgeschlossen. Insgesamt waren 710 Messungen an Silizium-Wafern dokumentiert. Der Vergleich zwischen verschiedenen Substraten ist in Kap. 7.2.2 (Seite 45ff) enthalten.

7.2.1.1 *Einfluss der Probanden*

Messungen der Pellikeldicken an Silizium-Wafern standen von 710 Proben zur Verfügung (Tabelle 5). Die Mittelwerte der Pellikeldicken, die bei den einzelnen Probanden gemessen wurden, lagen zwischen 8,7 nm (FA) und 10,3 nm (HM) und betragen im Mittel $9,2 \pm 4,5$ nm. Insbesondere die Messwerte des Probanden HM lagen mit durchschnittlich $10,3 \pm 5,0$ nm deutlich über denen der anderen Probanden. Die Varianzanalyse lieferte mit $p = 0,008$ für den Globalvergleich einen Hinweis auf statistisch signifikante Unterschiede. Im Post-Hoc-Test ergaben sich dann insbesondere statistisch nachweisbare Differenzen zwischen den Probanden HM (10,3 nm) und FA (8,7 nm);

$p = 0,023$), HM (10,3 nm) und AQ (8,8 nm; $p = 0,037$) sowie mit Einschränkungen zwischen HM (10,3 nm) und KH (8,9 nm; $p = 0,070$).

Tabelle 5: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit vom Probanden

Proband	Anzahl	Pellikeldicke (mm)
		(MW ± SD)
KH	144	8,86 ± 4,47
FA	144	8,67 ± 4,79
SGT	144	9,61 ± 4,82
HM	134	10,31 ± 5,03
AQ	144	8,75 ± 2,96
Gesamt	710	9,23 ± 4,50

7.2.1.2 Einfluss der intraoralen Expositionszeit

Einen deutlichen Einfluss übte die Expositionszeit auf die Messergebnisse der Pellikeldicken aus (Tabelle 6). Mit zunehmender Expositionszeit stiegen die gemessenen Mittelwerte von $7,4 \pm 3,0$ nm bei 3 Minuten auf $10,7 \pm 4,8$ nm bei 120 Minuten intraoraler Tragezeit an. Der Anstieg war zwischen den Zeitpunkten 3 Minuten und 30 Minuten deutlicher als zwischen den Zeitpunkten 30 Minuten und 120 Minuten (Abbildung 9). Die Varianzanalyse lieferte einen statistisch hoch signifikanten globalen p-Wert von $p < 0,001$. Auch die Unterschiede zwischen den Zeitpunkten 3 Minuten und 30 Minuten sowie 3 Minuten und 120 Minuten waren mit $p < 0,001$ hoch signifikant. Für den Vergleich 30 Minuten vs. 120 Minuten wurde dagegen kein signifikanter Unterschied gefunden ($p = 0,051$).

Tabelle 6: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von der Expositionszeit

Expositionszeit	Anzahl	Pellikeldicke (mm)
		(MW ± SD)
3 min	239	7,36 ± 3,01
30 min	236	9,70 ± 4,85
120 min	235	10,65 ± 4,76
Gesamt	710	9,23 ± 4,50

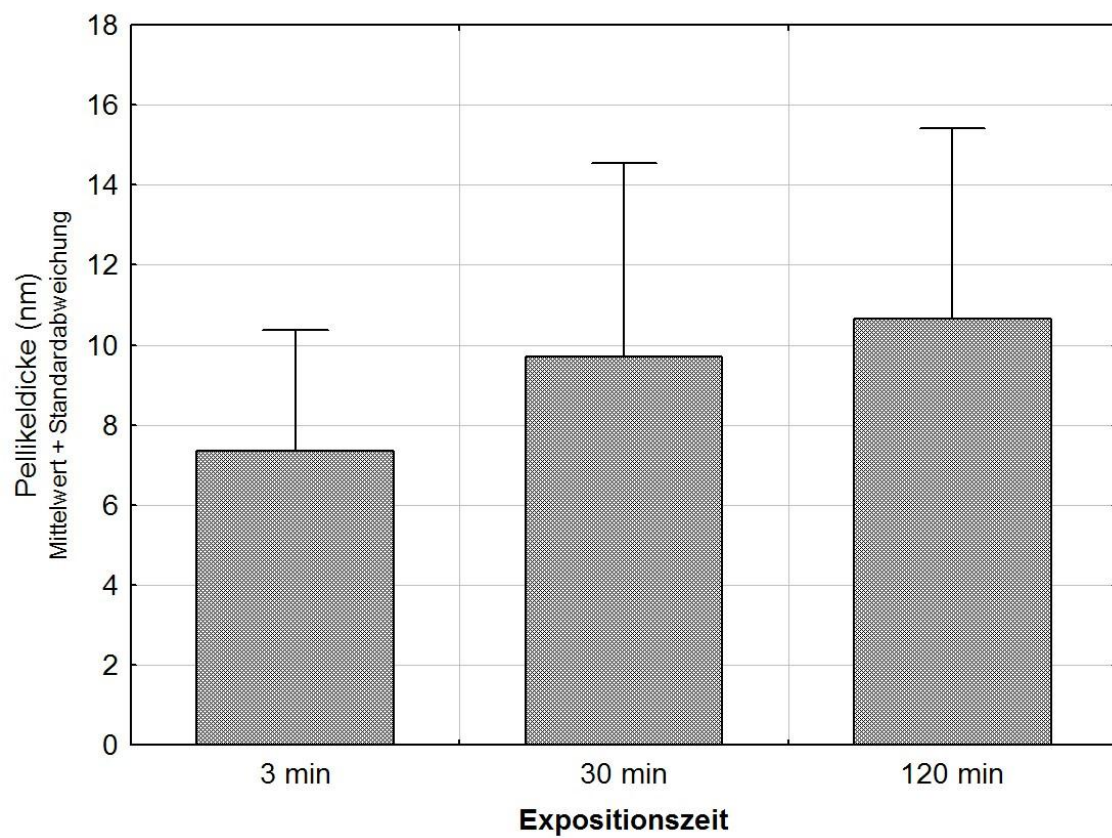


Abbildung 9: Pellikeldicken in Abhängigkeit von der intraoralen Expositionszeit

7.2.1.3 Einfluss der Lokalisation

Eine Differenzierung der intraoralen Lokalisation der Proben erfolgte nach Ober- und Unterkiefer, Incisivi (Zähne 11, 21, 31, 41) und Molaren (Zähne 16, 26, 36 46) sowie nach der Orientierung der Flächen (oral/bukkal).

Ein deutlicher Einfluss der Positionierung im Ober- bzw. Unterkiefer auf die Pellikeldicke war nicht vorhanden. Proben aus dem Oberkiefer wiesen mit $9,1 \pm 4,8$ nm eine geringfügig und statistisch nicht signifikant ($p = 0,45$) geringere Pellikeldicke auf als Proben aus dem Unterkiefer ($9,4 \pm 4,2$ nm). Die Pellikeldicke von Proben an den Incisivi war mit durchschnittlich $8,8 \pm 4,0$ nm dagegen erheblich und statistisch signifikant ($p = 0,014$) geringer als die im Bereich der Molaren mit $9,6 \pm 4,9$ nm. Noch deutlicher war der Unterschied in Bezug auf die Orientierung der montierten Proben beim Vergleich der Lokalisationen bukkal und oral. Während bei oraler Lokalisation im Mittel $8,2 \pm 3,6$ nm für die Pellikeldicke gemessen wurden, betrug dieser Wert bei bukkaler Positionierung der Proben $10,2 \pm 5,0$ nm. Auch hier war der Unterschied statistisch signifikant ($p < 0,001$).

Die Tabelle 7 und Abbildung 10 (S. 41) zeigen die nach den verschiedenen Lokalisationen aufgegliederten Messergebnisse. Daraus geht deutlich hervor, dass ein Unterschied der mittleren Pellikeldicken zwischen den Orientierungen bukkal und oral nur im Oberkiefer gegeben war. Hier waren die Messwerte im Durchschnitt auf der oralen Seite um rund 4 nm geringer als bei bukkaler Lokalisation. Im Unterkiefer war dagegen kein nennenswerter Unterschied vorhanden. Weiterhin wird deutlich, dass der Unterschied der mittleren Pellikeldicke zwischen Incisivi und Molaren weitgehend auf den Unterkiefer beschränkt war, während im Oberkiefer kaum Unterschiede im Hinblick auf die Region des Zahnbogens vorlagen.

Tabelle 7: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von der Lokalisation der Proben

Lage	Orientierung	Anzahl	Pellikeldicke (nm)
			MW ± SD
Obere Molaren	bukkal	89	10,91 ± 6,25
Obere Molaren	oral	88	7,34 ± 2,58
Obere Incisivi	bukkal	90	11,15 ± 4,92
Obere Incisivi	oral	87	6,90 ± 2,77
Untere Molaren	bukkal	89	10,17 ± 4,78
Untere Molaren	oral	87	10,15 ± 4,52
Untere Incisivi	bukkal	90	8,71 ± 3,38
Untere Incisivi	oral	90	8,43 ± 3,56
Gesamt		710	9,23 ± 4,50

Die varianzanalytische Auswertung der Pellikeldicken in Abhängigkeit von der Lokalisation der Proben zeigt die Tabelle 8. Von besonderem Interesse sind dabei die fettkursiv gedruckten p-Werte (siehe auch Abbildung 10). Sie zeigen folgende Ergebnisse:

- Zwischen den Lokalisationen oral und bukkal im Oberkiefer bestand bei beiden Zahngruppen ein statistisch signifikanter Unterschied (p jeweils kleiner als 0,001). Im Unterkiefer war ein solcher Unterschied nicht nachzuweisen.
- Der Vergleich zwischen Molaren und Incisivi, jeweils im gleichen Kiefer und mit gleicher topografischer Orientierung, ergab weder für den Oberkiefer noch für den Unterkiefer einen statistisch nachweisbaren Unterschied.
- Unterschiede zwischen Ober- und Unterkiefer im Hinblick auf die Pellikeldicke (bei sonst gleicher Lokalisation der Proben) waren bei den Molaren für die orale Orientierung ($p < 0,001$) und bei den Incisivi für die bukkale Orientierung ($p = 0,004$) statistisch signifikant.

Tabelle 8: p-Werte des Bonferroni-Post-Hoc-Tests zum paarweisen Vergleich der Lokalisationen im Hinblick auf die Pellikeldicke

p-Werte ANOVA	Probenlokalisation	OK Molare		OK Incisivi		UK Molare		UK Incisivi
		bukkal	oral	bukkal	oral	bukkal	oral	
OK Molare	oral	<0,001						
OK Incisivi	bukkal	n.s.	<0,001					
	oral	<0,001	n.s.	<0,001				
UK Molare	bukkal	n.s.	<0,001	n.s.	<0,001			
	oral	n.s.	<0,001	n.s.	<0,001	n.s.		
UK Incisivi	bukkal	0,017	n.s.	0,004	n.s.	n.s.	n.s.	
	oral	0,003	n.s.	<0,001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

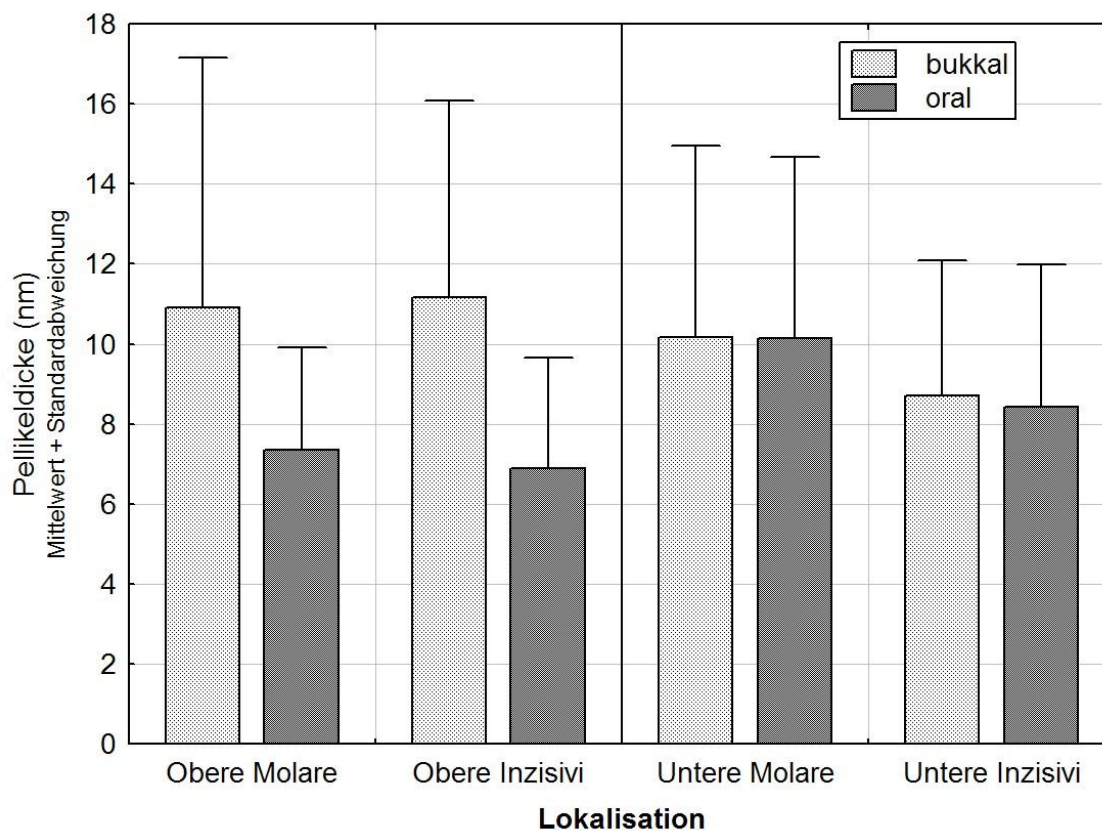


Abbildung 10: Pellikeldicken in Abhängigkeit von der Probenlokalisation

7.2.1.3.1 Zusätzliche Berücksichtigung der Expositionszeit

In der folgenden Abbildung 11 sind die Pellikeldicken in Abhängigkeit von der Lokalisation für die unterschiedlichen intraoralen Tragezeiten der Proben dargestellt.

Die Verhältnisse ähneln denjenigen aus Abbildung 10 für die Darstellung der Pellikeldicken ohne Berücksichtigung unterschiedlicher Expositionszeiten, wobei, wie nach den Ergebnissen des Kap 7.2.1.2 zu erwarten, mit zunehmender Expositionszeit die mittlere Pellikeldicke anstieg. Darüber hinaus sind vor allem zwei auffällige Entwicklungen zu erkennen:

- Der Anstieg der Pellikeldicken im Oberkiefer bukkal war deutlicher ausgeprägt als oral, im Unterkiefer war dagegen bei den oral positionierten Proben ein deutlicherer Anstieg als bei den bukkal lokalisierten zu erkennen.
- Die Pellikeldicken der oral getragenen Proben im Oberkiefer waren durchgehend geringer als die Dicke der bukkal exponierten, während dies im Unterkiefer nur für den Zeitpunkt 3 Minuten zutraf. Nach 30 Minuten waren die mittleren Dicken an beiden Lokalisationen annähernd gleich und nach 120 Minuten überstiegen die Pellikeldicken der oral positionierten Proben im Mittel diejenigen der bukkalen Proben.
- Eine varianzanalytische Auswertung der Daten erbrachte auch für die nach Expositionszeiten differenzierten Pellikeldicken einen globalen p-Wert unterhalb der Grenze zur statistischen Signifikanz (p jeweils größer als 0,05). Wegen der bei getrennter Auswertung niedrigeren Fallzahl in den verschiedenen Untergruppen wurde auf eine explizite Post-Hoc-Analyse wie in Tabelle 8 verzichtet.

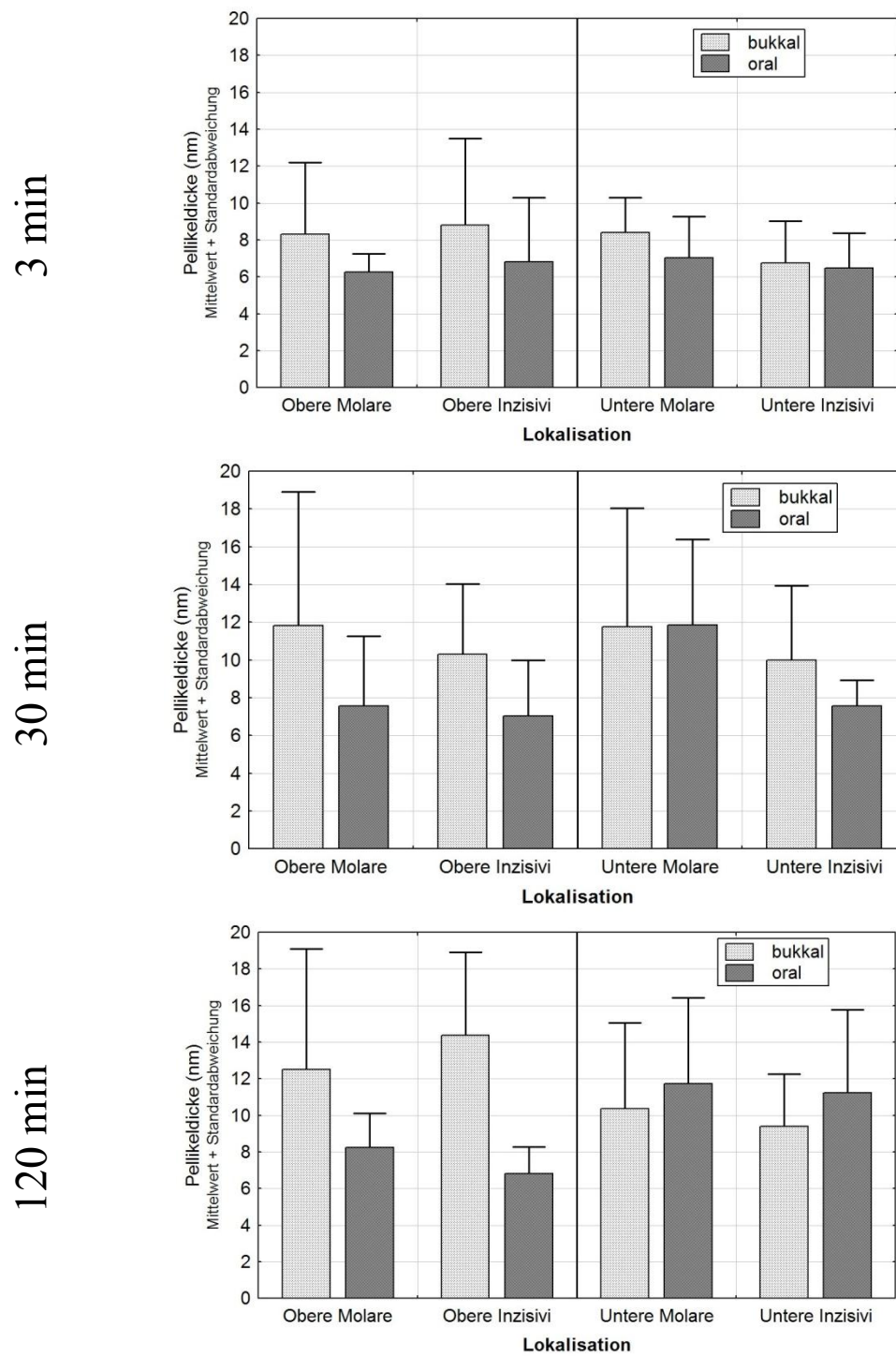


Abbildung 11: Pellikeldicken in Abhängigkeit von der Probenlokalisierung für intraorale Expositionszeiten von 3 Minuten (oben), 30 Minuten (Mitte) und 120 Minuten (unten)

7.2.1.4 Zusammenhang Expositionszeit und Proband

Die Tabelle 9 enthält die deskriptiven Kennwerte der Pellikeldicke der Proben von 5 Probanden in Abhängigkeit von der Expositionszeit. Bei den drei ersten Probanden (KH, FA, SGT) stieg die mittlere Pellikeldicke mit zunehmender Zeit stetig an. Für die beiden letzten Probanden war dagegen zunächst ein Anstieg und zwischen den Zeitpunkten 30 Minuten und 120 Minuten ein Rückgang der berechneten Mittelwerte gegeben.

Die Varianzanalyse ergab statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Probanden zu allen drei Zeitpunkten. Diese waren besonders ausgeprägt zwischen den Probanden FA einerseits und HM bzw. AQ andererseits (Pellikeldicke FA zu allen Zeitpunkten im Mittel statistisch signifikant geringer als Pellikeldicke HM und AQ). Weitere statistisch signifikante Unterschiede traten dagegen nur zu einzelnen Zeitpunkten auf (zum Beispiel 3 Minuten: SGT einerseits vs. KH und FA andererseits; 30 Minuten: HM einerseits vs. KH und SGT andererseits). Eine Auflistung der im Post-Hoc-Test als statistisch signifikant ermittelten Unterschiede enthält die Tabelle 10.

Tabelle 9: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von Proband und Expositionszeit

Proband	3 min		30 min		120 min	
	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)
		MW ± SD		MW ± SD		MW ± SD
KH	48	6,31 ± 3,23	48	9,51 ± 4,02	48	10,77 ± 4,83
FA	48	5,89 ± 2,18	48	7,18 ± 2,63	48	12,95 ± 5,41
SGT	48	8,89 ± 3,80	48	9,40 ± 5,53	48	10,55 ± 4,92
HM	47	8,09 ± 2,48	44	12,88 ± 6,04	43	10,11 ± 4,85
AQ	48	7,61 ± 1,95	48	9,81 ± 3,82	48	8,82 ± 2,40
Gesamt	239	7,36 ± 3,01	236	9,70 ± 4,85	235	10,65 ± 4,76

Tabelle 10: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für den Vergleich der Pellikeldicken zwischen den Probanden in Abhängigkeit von der intraoralen Expositionszeit. Angegeben sind der globale p-Wert der Varianzanalyse sowie ggf. vorhandene statistisch signifikante Ergebnisse der paarweisen Vergleiche mittels Post-Hoc-Test.

Intraorale Expositionszeit	ANOVA	Post-Hoc-Test
3 min	< 0,001	KH und FA < SGT, HM, AQ AQ < SGT
30 min	< 0,001	HM > KH, FA, SGT, AQ FA < SGT, AQ, HM FA < KH
120 min	< 0,001	FA > KH, SGT, HM, AQ KH < FA KH > AQ

7.2.1.5 Zusammenhang Lokalisation und Proband

Ein Vergleich der mittleren Pellikeldicken zwischen den Probanden in Abhängigkeit von der Lokalisation ist in Tabelle 11 dargestellt. Tabelle 12 enthält die zugehörigen Ergebnisse der varianzanalytischen Berechnungen.

Für die im Oberkiefer bukkal an den Molaren montierten Proben waren keine Unterschiede zwischen den Probanden gegeben (ANOVA, $p > 0,05$). Bei den oral getragenen Proben ergaben sich dagegen im Mittel größere Werte der Pellikeldicke für die Probanden FA und SGT im Vergleich zu AQ. Bei den oral an den oberen Incisivi positionierten Proben wurde die Pellikeldicke der Probanden KH, FA und AQ als statistisch signifikant größer im Vergleich zu HM klassifiziert.

Im Unterkiefer waren Pellikeldicken der bukkal orientierten Molaren-Proben der Probanden KH, HM und AQ im Durchschnitt größer als die von SGT. Für die Incisivi wiesen FA und KH (bukkal) bzw. FA und SGT (oral) im Mittel größere Werte der Pellikeldicke auf als HM.

Tabelle 11: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von Proband und Lokalisation

Proband		bukkal		oral		Gesamt	
		Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)
			MW ± SD		MW ± SD		MW ± SD
KH	obere Molaren	18	10,46 ± 6,21	18	7,43 ± 1,18	36	8,94 ± 4,66
	obere Incisivi	18	13,33 ± 7,60	18	6,06 ± 1,56	36	9,70 ± 6,55
	untere Molaren	18	9,48 ± 2,14	18	8,43 ± 3,30	36	8,95 ± 2,79
	untere Incisivi	18	7,39 ± 2,71	18	8,30 ± 2,70	36	7,84 ± 2,71
	Gesamt	72	10,17 ± 5,53	72	7,55 ± 2,49	144	8,86 ± 4,47
FA	obere Molaren	18	11,19 ± 6,11	18	6,19 ± 2,03	36	8,69 ± 5,15
	obere Incisivi	18	10,04 ± 3,87	18	5,59 ± 1,50	36	7,81 ± 3,67
	untere Molaren	18	10,41 ± 5,19	18	11,86 ± 6,51	36	11,14 ± 5,85
	untere Incisivi	18	6,79 ± 3,18	18	7,32 ± 3,15	36	7,06 ± 3,13
	Gesamt	72	9,61 ± 4,92	72	7,74 ± 4,49	144	8,67 ± 4,79
SGT	obere Molaren	18	12,31 ± 6,25	18	6,17 ± 1,80	36	9,24 ± 5,50
	obere Incisivi	18	12,45 ± 3,78	18	7,39 ± 3,52	36	9,92 ± 4,42
	untere Molaren	18	13,88 ± 6,91	18	8,82 ± 2,52	36	11,35 ± 5,73
	untere Incisivi	18	8,81 ± 2,85	18	7,07 ± 1,69	36	7,94 ± 2,48
	Gesamt	72	11,86 ± 5,45	72	7,36 ± 2,62	144	9,61 ± 4,82
HM	obere Molaren	17	12,50 ± 8,74	16	7,72 ± 3,60	33	10,18 ± 7,08
	obere Incisivi	18	11,06 ± 4,17	15	9,34 ± 3,57	33	10,28 ± 3,94
	untere Molaren	17	9,04 ± 3,07	15	10,37 ± 3,47	32	9,66 ± 3,28
	untere Incisivi	18	11,40 ± 4,20	18	10,68 ± 5,89	36	11,04 ± 5,06
	Gesamt	70	11,00 ± 5,48	64	9,55 ± 4,40	134	10,31 ± 5,03
AQ	obere Molaren	18	8,17 ± 1,60	18	9,24 ± 2,66	36	8,71 ± 2,23
	obere Incisivi	18	8,89 ± 2,91	18	6,50 ± 1,69	36	7,70 ± 2,64
	untere Molaren	18	7,95 ± 2,91	18	11,30 ± 4,94	36	9,62 ± 4,34
	untere Incisivi	18	9,17 ± 1,72	18	8,76 ± 1,70	36	8,97 ± 1,70
	Gesamt	72	8,54 ± 2,37	72	8,95 ± 3,45	144	8,75 ± 2,96

Tabelle 12: Ergebnisse der Varianzanalyse (ANOVA) für den Vergleich der Pellikeldicken zwischen den Probanden in Abhängigkeit von der Lokalisation. Angegeben sind der globale p-Wert der Varianzanalyse sowie ggf. vorhandene statistisch signifikante Ergebnisse der paarweisen Vergleiche mittels Post-Hoc-Test

Lokalisation			ANOVA	Post-Hoc-Test
OK	Molaren	bukkal	n.s.	
		oral	0,001	AQ < FA und SGT
	Incisivi	bukkal	0,045	
		oral	0,001	HM < KH, FA und AQ
UK	Molaren	bukkal	0,002	SGT < KH, HM und AQ
		oral	n.s.	
	Incisivi	bukkal	<0,001	HM < FA und KH
		oral	0,016	HM < FA und SGT

7.2.2 Vergleich unterschiedlicher Substrate

Die Auswertungen des Kap. 7.2.1 bezogen sich auf Messungen an Silizium-Wafern. Zusätzlich wurden bei einigen Probanden auch Proben aus OTS-beschichtetem Silizium sowie aus Platin-beschichtetem Araldit eingesetzt. Die Ergebnisse dieser Vergleiche werden im Folgenden beschrieben.

7.2.2.1 *Silizium-Wafer vs. OTS-beschichtetes Silizium*

Proben aus OTS-beschichtetem Silizium wurden oral und bukkal für die Lokalisation Oberkiefer-Molar bei zwei Probanden verwendet. Die Tabelle 13 zeigt die mittleren Pellikeldicken bei beiden Versuchspersonen in Abhängigkeit vom Trägersubstrat. Für den Probanden SGT waren systematische Unterschiede zwischen den Substraten nicht

zu erkennen. Teilweise waren die mittleren Pellikeldicken der SI-Wafer größer, teilweise die der OTS-beschichteten Probenkörper. Im Mittel unterschieden sich die Pellikeldicken nur geringfügig (9,3 vs. 9,8 nm). Demgegenüber ergaben sich für den Probanden HM bei längeren Expositionszeiten bei den OTS-beschichteten Proben deutlich niedrigere mittlere Pellikeldicken als bei den SI-Wafern. Dies führte auch zu einer für die OTS-Prüfkörper niedrigeren mittleren Pellikeldicke über alle Proben (6,8 vs. 10,2 nm).

Tabelle 13: Pellikeldicken (MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung) in Abhängigkeit von Proband und Trägersubstrat

Proband	Zeit	SI-Wafer		OTS		Gesamt	
		Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)
			MW ± SD		MW ± SD		MW ± SD
SGT	3min	12	7,81 ± 2,23	24	5,66 ± 1,84	36	6,37 ± 2,20
	30min	12	6,94 ± 3,11	24	12,71 ± 16,93	36	10,79 ± 14,11
	120min	12	12,96 ± 7,64	24	10,93 ± 6,84	36	11,61 ± 7,07
	Total	36	9,24 ± 5,50	72	9,77 ± 10,87	108	9,59 ± 9,40
HM	3min	11	5,63 ± 0,46	24	5,92 ± 2,20	35	5,83 ± 1,83
	30min	12	14,75 ± 9,59	24	7,94 ± 3,02	36	10,21 ± 6,75
	120min	10	9,71 ± 3,49	24	6,61 ± 1,51	34	7,52 ± 2,64
	Total	33	10,18 ± 7,08	72	6,82 ± 2,44	105	7,88 ± 4,69

Tabelle 14: Vergleich der Trägersubstrate in Bezug auf die mittlere Pellikeldicke für unterschiedliche Expositionszeiten und Orientierungen der Proben

Zeit (min)	Lokalisation	OTS		SI-Wafer		p-Wert
		Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	
			MW ± SD		MW ± SD	
3	bukkal	24	5,45 ± 2,14	11	7,57 ± 2,51	0,002
	oral	24	6,12 ± 1,85	12	6,03 ± 0,81	0,71
30	bukkal	24	8,20 ± 2,47	12	13,95 ± 9,71	0,020
	oral	24	12,45 ± 17,09	12	7,75 ± 4,44	0,13
120	bukkal	24	9,95 ± 7,31	12	15,28 ± 6,03	0,19
	oral	24	7,59 ± 1,59	10	6,93 ± 1,77	0,17
Total		144	8,29 ± 7,99	69	9,69 ± 6,27	0,20

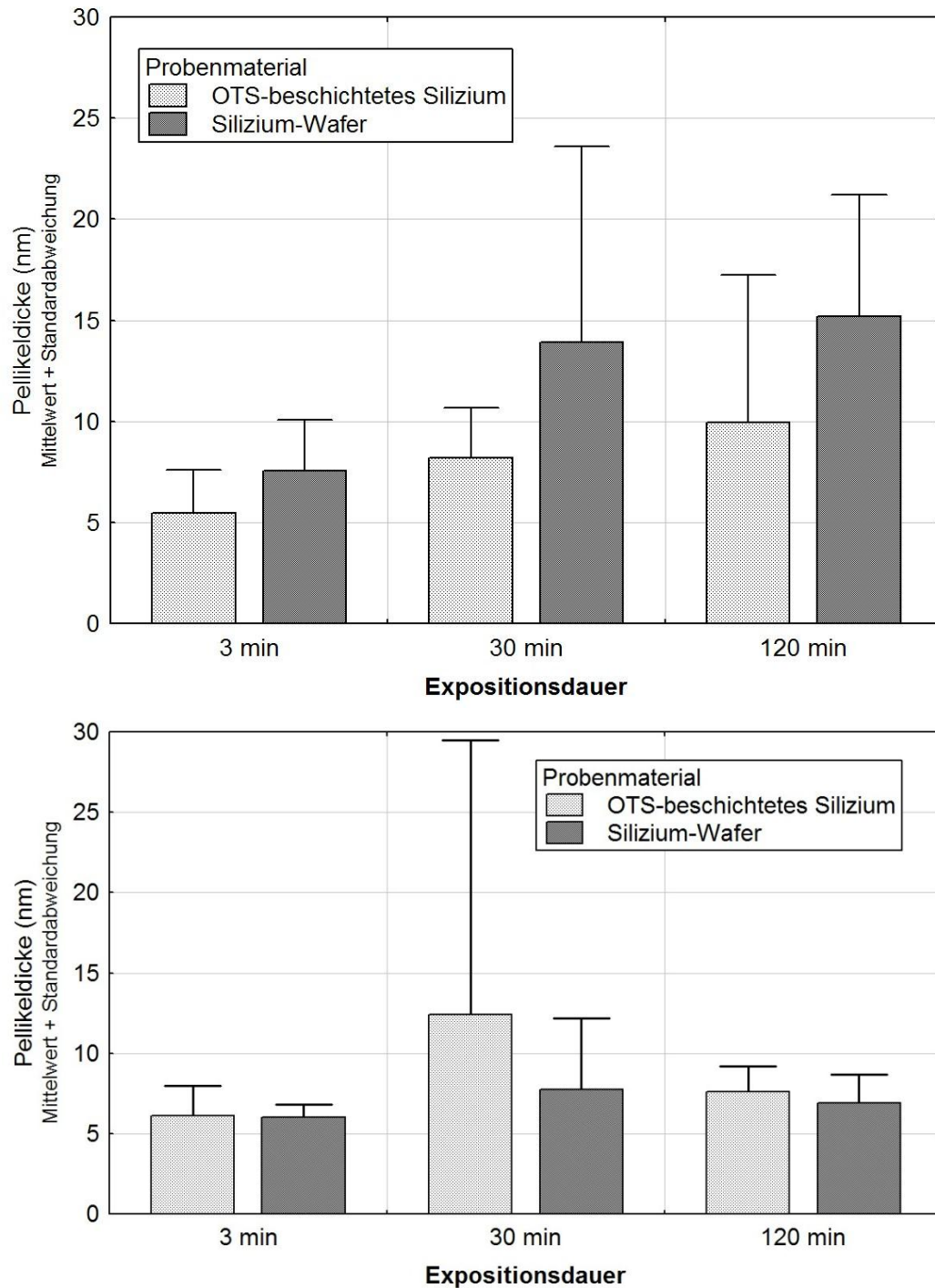


Abbildung 12: Vergleich der Pelliceldicken bei Proben aus OTS-beschichtetem Silizium und Silizium-Wafern bei bukkal (oben) und oral (unten) im Oberkiefermolarenbereich exponierten Proben

Ein Vergleich der Proben aus verschiedenen Trägersubstanzen, unabhängig vom Probanden, ist in Tabelle 14 aufgeführt. Insgesamt waren die Pellikeldicken der OTS-beschichteten Proben mit durchschnittlich 8,3 nm geringfügig und nicht statistisch signifikant ($p = 0,20$) kleiner als die der Silizium-Wafer mit 9,7 nm. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich für die bukkal orientierten Proben nach 3 Minuten (5,5 vs. 7,6 nm; $p = 0,002$) sowie für die bukkal orientierten Proben nach 30 Minuten (8,2 vs. 14,0 nm; $p = 0,020$). Alle anderen Einzelvergleiche lieferten keine statistisch signifikanten Unterschiede.

7.2.2.2 Silizium-Wafer vs. Platin-beschichtetes Araldit

Vergleiche zwischen den Materialien Platin-Araldit und Silizium-Wafer waren für 54 Proben möglich, die sämtlich von einem Probanden (KH) im Oberkiefermolarenbereich erhoben worden waren. Die Tabelle 15 zeigt die deskriptiven Kenngrößen der Pellikeldicken in Abhängigkeit von der Expositionszeit und der Probenlokalisierung (bukkal/oral).

Im Mittel waren die Pellikeldicken auf den Platin-Araldit-Proben mit durchschnittlich 11,8 nm größer als auf den SI-Wafern. Die Stichprobengröße reichte für den Nachweis der statistischen Signifikanz dieses Unterschiedes allerdings nicht aus ($p > 0,05$). Der Vergleich der einzelnen Lokalisationen zeigte, dass der Unterschied besonders deutlich für den Zeitpunkt 120 Minuten zutage trat und hier sowohl für die bukkalen ($p = 0,001$) als auch für die oralen Proben ($p < 0,001$) als statistisch signifikant nachgewiesen wurde.

Tabelle 15: Vergleich der Trägersubstrate in Bezug auf die mittlere Pellikeldicke für unterschiedliche Expositionszeiten und Orientierungen der Proben

Zeit (min)	Orientierung	Platin-Araldit		SI-Wafer		p-Wert
		Anzahl	Pellikeldicke (nm)	Anzahl	Pellikeldicke (nm)	
			MW ± SD		MW ± SD	
3	bukkal	3	6,66 ± 1,10	6	10,23 ± 7,42	0,45
	oral	3	7,50 ± 0,31	6	7,09 ± 1,33	0,62
30	bukkal	3	17,71 ± 0,77	6	14,95 ± 4,34	0,32
	oral	3	6,98 ± 0,48	6	6,92 ± 1,28	0,95
120	bukkal	3	19,89 ± 4,23	6	6,21 ± 3,33	0,001
	oral	3	12,20 ± 1,66	6	8,27 ± 0,22	<0,001
Total		18	11,82 ± 5,70	36	8,94 ± 4,66	0,31

8 Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden Daten zur Pellikeldicke an insgesamt 887 Proben gemessen, die unter verschiedenen Bedingungen durch intraorale Adsorption entstanden waren. Sie stammten von 6 Probanden, waren auf 3 verschiedenen Trägersubstraten zwischen 3 und 120 Minuten intraoral an verschiedenen Lokalisationen exponiert. Die wichtigsten Ergebnisse der Versuche waren:

- Die gemessenen Pellikeldicken lagen zwischen 2,1 und 78,6 nm. Im Mittel waren $9,1 \pm 5,2$ nm gemessen worden.
- Die Mittelwerte der Pellikeldicken lagen bei den verschiedenen Probanden zwischen 8,7 und 10,3 nm. Statistisch signifikante Unterschiede waren nur in Einzelfällen nachweisbar.
- Mit zunehmender Expositionszeit stieg die mittlere Pellikeldicke von 7,4 nm (3 Minuten) über 9,7 nm (30 Minuten) auf 10,7 nm (120 Minuten) an. Die Pellikeldicke nahm mit der Zeit bei den verschiedenen Probanden sehr unterschiedlich schnell zu, was dazu führte, dass die Unterschiede zwischen den Probanden für jeweils gleiche Expositionszeit ausgeprägter waren als für alle Probanden gemeinsam.
- Insbesondere im Oberkiefer war bei den bukkal positionierten Proben der Zuwachs der Pellikeldicke deutlich größer als bei den oral positionierten Proben. Im Unterkiefer waren die Unterschiede zwischen bukkalen und oralen Proben insgesamt geringer, der Zuwachs war hier bei länger exponierten Proben oral geringfügig größer als bukkal.
- Auch eine Differenzierung der Ergebnisse hinsichtlich Proband und Lokalisation ergab diverse Unterschiede. Aufgrund der dann jeweils relativ geringen Anzahl von Messergebnissen für jede Kombination von Einflussfaktoren ergaben sich hier vergleichsweise weniger statistisch signifikante Unterschiede.

- Für unbeschichtete Silizium-Proben waren bei kurzen Expositionszeiten und nur bei bukkaler Ausrichtung der Proben statistisch signifikant höhere Pellikeldicken gemessen worden als für OTS-beschichtete Proben. Im Vergleich mit Platin-beschichteten Araldit-Proben waren dagegen bei unbeschichteten Silizium-Proben niedrigere Pellikeldicken, insbesondere bei längeren Expositionzeiten, gegeben.

8.1 Diskussion der Methodik

8.1.1 Substratauswahl

Silizium-Wafer werden in zahlreichen Studien als Substratträger für Studien, in denen Adsorptionsprozesse untersucht werden, verwendet (BUSH et al., 2007; ERICSON et al., 1982; HANNIG et al., 2004a; HAYASHI et al., 2002; VASSILAKOS et al., 1992; WAHLGREN et al., 1995). Sie bieten den Vorteil einer geringen Oberflächenrauheit und gut definierter Oberflächenbeschaffenheit. Dadurch werden Messfehler minimiert und so eine mögliche Fehlerquelle bei der ellipsometrischen Pellikeldickenbestimmung weitgehend ausgeschlossen. Silizium-Wafer bestehen aus einem Silizium-Kern, auf den eine mehrere Nanometer starke Silizium-Oxid-Schicht aufgebracht wird. Diese Oberfläche ist in der Regel hydrophil (MANTZ, 2008).

Die Beschichtung von Oberflächen kann Vorteile in Bezug auf größere Haltbarkeit, bessere Dichtigkeit gegenüber eindringenden Fremdstoffen oder andere Materialeigenschaften eines Werkstückes bieten. Die Substanz Octadecyltrichlorsilan (OTS) wurde von verschiedenen Autoren in Hinsicht auf ihre Eignung und Verwendung als Beschichtungsmaterial untersucht (BUSH et al., 2007; HASSELBRINK, 2004; HAYASHI et al., 2002). Diese Moleküle ordnen sich auf oxidierten Siliziumoberflächen zu Monolagen mit einer einheitlichen Höhe von ca. 2,4 Nanometer, was der Länge der Moleküle entspricht, wenn die Kette der Kohlenstoffatome gestreckt ist. Beschichtungen dieser Art sind sehr dicht gegenüber Fremdmolekülen. Sie sind zudem fest mit dem Siliziumsubstrat verbunden und härter als zum Beispiel ein aufgesprühter Lack. Eine zweite molekulare Schicht kann sich auf der Basisschicht nicht stabil bilden, da Moleküle in der

zweiten Lage keine chemischen Bindungen zur unteren Schicht ausbilden könnten. In der vorliegenden Studie wurden Silizium-Wafer verwendet, die mit einer OTS-Beschichtung versehen waren. Die so gebildete Oberfläche zeigt ein hydrophobes Verhalten (MANTZ, 2008).

Als weiteres Substrat wurde in die vorliegende Untersuchung platinbeschichtetes Araldit einbezogen (KRAUS, 2011).

Im Gegensatz zu konventionellen Dentalmaterialien, die auch nach „Hochglanzpolitur“ der Oberfläche kein geeignetes Substrat für ellipsometrische Analysen der In-Situ-Pellikelbildung darstellen, hatte sich platinbeschichtetes Araldit in Vorversuchen (Dissertation Krauss 2011) als sehr gut geeignete Substratoberfläche für die reproduzierbare Messung der Pellikelschichtstärke mit Hilfe der Ellipsometrie erwiesen. Aus diesem Grund wurde platinbeschichtetes Araldit als dritte Substratoberfläche in die vorliegende Untersuchung zur Schichtdicke der In-Situ-Pellikel einbezogen.

8.1.2 Pellikelbildung *in vivo*

Für die experimentelle Bildung der Pellikelschicht besteht prinzipiell die Möglichkeit der Speichalexposition *in vitro* oder *in situ*. Da sich die unter beiden Bedingungen gebildeten Pellikel deutlich in ihrer Zusammensetzung unterscheiden (YAO et al., 2001), muss auch mit Unterschieden in der Pellikeldicke gerechnet werden. Bei einem Vergleich der protektiven Eigenschaften von *in vitro* und *in situ* gebildeten Pellikeln (KAUTSKY und FEATHERSTONE, 1993) ergab sich zudem, dass die *in vitro* gebildeten Pellikel im Gegensatz zu *in situ* gebildeten Pellikeln keine Schutzwirkung auf den Zahnschmelz ausübten.

Die komplexen Vorgänge des Pellikelwachstums scheinen also *in vitro* nicht vollständig simulierbar zu sein. Eine Ursache dafür könnte in der Reinigung und Aufbereitung der Speichelproben liegen (LENDENMANN et al., 2000). Vor allem die Aufbereitung der gesammelten Speichelproben reduziert das protektive Potential der *In-vitro*-Pellikel, vermutlich durch Separation der Speichelmuzine (NIEUW-AMERONGEN et al., 1987; MAUPOME et al., 1999). Ebenso können unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen

Proteinen *in vivo* und *in vitro* für ein unterschiedliches Adsorptionsgeschehen und eine unterschiedliche Funktion der Pellikel verantwortlich sein (YIN et al., 2006).

Die Durchführung der Studie *in vivo* war also notwendig, um eine Verfälschung der Resultate durch die beschriebenen Effekte zu vermeiden.

8.1.3 Expositionsart und –dauer

Die Prüfkörper wurden in der vorliegenden Studie an herausnehmbaren Miniplastschienen befestigt. Die Proben lassen sich auf diese Weise schnell und einfach, reversibel und nicht invasiv in der Mundhöhle platzieren (ECHTERHOFF, 2008). Die Gestaltung der Schienen erfolgte ohne Bedeckung der Gaumenschleimhaut (siehe Abbildung 8, Seite 27), um die Sekretion der palatinalen Speicheldrüsen nicht zu behindern. Ein eventueller Kritikpunkt ist die systemimmanente, teilweise Abdeckung der *Sulci gingivales*, um ausreichende Retention für die bis zu 5x5mm messenden Prüfkörper zu erhalten. Das in gewissem Ausmaß an der Pellikelbildung beteiligte Sulcusfluid (HANNIG und JOINER, 2006) hatte also möglicherweise keinen direkten Zugang zu den Proben auf der Außenseite der Schiene.

Mit zunehmender oraler Verweildauer der Prüfkörper steigt die Tendenz zur mikrobiellen Besiedelung. Nach etwa 4 Stunden ist mit einer deutlichen Zunahme der bakteriellen Besiedelung der Pellikel zu rechnen (ECHTERHOFF, 2008; LIE, 1975). Die maximale Expositionszeit wurde hier deshalb auf 2 Stunden (120 Minuten) begrenzt.

8.1.4 Ellipsometrische Messungen

Grundsätzlich führt die ellipsometrische Messung zu zwei Parametern Ψ und Δ , anhand derer auch zwei Parameter des untersuchten Schichtsystems bestimmt werden können (ANONYMUS, 2009). Typischerweise sind dies die Schichtdicke w und der Brechungsindex k einer Schicht des untersuchten Systems. Allerdings enthält das Gleichungssystem

zur Bestimmung dieser beiden Größen bereits für ein einfaches 1-Schichtsystem prinzipiell 7 Materialgrößen (KAHLE, 2002; MANTZ, 2008): Im hier vorliegenden Fall sind das Brechungsindex und Absorptionskoeffizient jeweils für Substrat, Pellikelschicht und Speichel und die gesuchte Schichtdicke. Da nur die zwei Größen Ψ und Δ gemessen werden, können auch nur zwei Unbekannte bestimmt werden. Die optischen Größen für den Speichel und das Substrat müssen deshalb bekannt sein bzw. es müssen sinnvolle Annahmen hierzu getroffen werden. Im vorliegenden Fall wurde beispielsweise der Brechungsindex für Speichel mit 1,5 angenommen. Im Allgemeinen ist dieser Brechungsindex für ein Material allerdings nicht konstant. Er kann in optisch nicht isotropen Materialien von der Richtung und von der Lichtpolarisation abhängen. Zusätzlich ist der Brechungsindex von der Temperatur und von der Wellenlänge des Lichts abhängig. Hierin sind Ungenauigkeiten bei der Messung ellipsometrischer Größen begründet.

Ein weiteres Problem in diesem Zusammenhang ist die Tatsache, dass reale Schichtsysteme von einem idealen 1-Schichtsystem abweichen. So sind Phasengrenzen in der Regel nicht atomar scharf und Schichten nicht ideal eben, so dass Messungen an verschiedenen Positionen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können. Dies betrifft hier allerdings nicht die Substratoberflächen, da für diese Studie gerade möglichst glatte Materialien gewählt wurden.

Auch die Bestimmung der beiden Parameter Ψ und Δ ist nur mit einer endlichen Genauigkeit von etwa $0,1^\circ$ möglich (KAHLE, 2002). Fehler bei deren Messung wirken sich deutlich nichtlinear auf die Berechnung der Schichtdicke und des Brechungsindex aus, was bei der Auswahl der Messbedingungen (zum Beispiel im Hinblick auf die Wellenlänge) berücksichtigt werden muss.

Die ellipsometrische Messung, die Aufstellung des optischen Modells und die Anpassung der Modellparameter sind also von der Erfahrung des Experimentators und zusätzlichen Informationen über das Schichtsystem abhängig. Diese Arbeiten wurden im Rahmen der vorliegenden Studie von erfahrenen Mitarbeitern des Fachbereichs Experimentalphysik der Universität des Saarlandes überwacht und unterstützt, so dass Fehlerquellen, die aufgrund mangelnder Erfahrung der Autorin begründet sein könnten, weitestgehend vermieden wurden.

8.1.5 Stichprobengröße

Allerdings sind nicht alle der genannten Fehlerquellen und –möglichkeiten vollständig zu berücksichtigen und zu kompensieren, so dass bei der ellipsometrischen Messung immer ein gewisses „Rauschen“, also die zufällige Abweichung der Messwerte von ihren wahren Werten, verbleibt. Diese Abweichungen können durch wiederholte Messungen mit gleichen Randbedingungen reduziert werden. Aus Tabelle 17 (Seite 74/78) geht hervor, dass in der Regel mindestens 6 Messungen (für Platin-beschichtetes Araldit mindestens 3 Messungen) unter jeweils gleichen Bedingungen durchgeführt wurden. Die Genauigkeit der Messungen (ausgedrückt zum Beispiel durch den Standardfehler des Mittelwertes) nimmt mit der Wurzel der Anzahl der Messungen zu (SACHS, 2003). Bei der Bestimmung der Pellikeldicke als Mittelwert aus 6 Einzelmessungen kann also von einer um etwa den Faktor 2,5 ($=\sqrt{6}$) (für Platin-beschichtetes Araldit um den Faktor 1,7 $=\sqrt{3}$) höheren Genauigkeit der ermittelten mittleren Pellikeldicken im Vergleich zu einer Einzelmessung ausgegangen werden.

8.1.6 Statistische Auswertungen

Zahlreiche Vergleiche von Stichprobenmittelwerten wurden im Rahmen dieser Studie mit Hilfe des t-Tests und der einfaktorischen Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Ebenso wie die Genauigkeit der Bestimmung von Mittelwerten nimmt die Teststärke (oder „Power“) eines statistischen Tests mit zunehmender Stichprobengröße zu. Als Power wird dabei die Fähigkeit eines Tests bezeichnet, zugunsten der Alternativhypothese des Tests zu entscheiden (also ein „statistisch signifikantes Ergebnis“ zu liefern), wenn diese Alternativhypothese tatsächlich richtig ist. Entscheidungen aufgrund der Ergebnisse eines solchen Tests werden mit zunehmender Power also sicherer. Neben der Stichprobengröße ist die Teststärke weiterhin von der Streuung der Werte, ihren Mittelwertunterschieden und dem gewählten Fehler 1. Art abhängig. In der Regel werden Teststärken von 80 oder 90 % gefordert, damit ein Testergebnis als gesichert angesehen werden kann (BORTZ und WEBER, 2005). Bei den in dieser Studie typischen Verhältnissen von Pellikeldicken (Mittelwertunterschiede 1 bis 5 nm, Standardabweichung ca. 5 nm) wären zwischen 20 und 100 Fälle je Stichprobe notwendig, um Unterschiede

mit einer solchen Teststärke nachzuweisen. Die folgende Tabelle 16 zeigt die für eine Power von 80 % erforderlichen Stichprobenumfänge für den t-Test für unabhängige Stichproben bei einer angenommenen Standardabweichung der Messwerte von 5 nm und einem Fehler 1. Art von 5 % bei unterschiedlichen Stichprobenumfängen. Aufgrund der aufwändigen und schwierigen Messungen konnten im Rahmen dieser Studie teilweise nur Stichprobengrößen von 3 bis 6 Fällen gewonnen werden (siehe zum Beispiel Tabelle 15, Seite 49). Hier wären Mittelwertunterschiede von 10 bis 15 nm erforderlich, um eine ausreichende Power zu gewährleisten, obwohl bereits Unterschiede von 2 oder 3 nm als klinisch bedeutsam einzustufen wären. Für die Interpretation der Ergebnisse ist hier also, insbesondere im Hinblick auf nicht statistisch signifikante Unterschiede, Vorsicht geboten.

Tabelle 16: Erforderliche Mittelwertunterschiede zum Erreichen einer Power von 80 % im t-Test für unabhängige Stichproben bei vorgegebenen Stichprobenumfängen. Fehler 1. Art: 5 %, gemeinsame Standardabweichung: 5 nm (eigene Berechnungen nach BOCK, 1998).

Stichprobengröße n1=n2	Erforderlicher Mittelwertunterschied (nm)
3	15,3
5	10,2
10	6,7
20	4,6
50	2,9
100	2,0
200	1,4

8.2 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden auf intraoral für 3 bis 120 Minuten exponierten Probenkörpern Pellikeldicken zwischen 2 und etwa 80 nm Dicke (im Mittel etwa 10 nm) gemessen. Diese Messwerte sind etwas niedriger als diejenigen, die in anderen Studien

erreicht wurden. So wurde in einer Studie mit *in vivo* auf natürlichem humanem Zahnschmelz gebildeten Pellikelschichten (BAEK et al., 2009) mit dem Verfahren der „Optical Coherence Tomography“ nach 120 Minuten Expositionszeit eine Pellikeldicke von durchschnittlich etwa 20 μm gefunden, mit „Multiphoton Microscopy“ eine solche von rund 10 μm . In einer anderen Studie (HANNIG, 1999) waren bei Expositionszeiten bis zu 2 Stunden Pellikeldicken von etwa 80 nm entstanden. Hier wurde die Pellikel intraoral auf natürlichem Zahnschmelz gebildet. Auch LIE (1977) kam bei Messungen der Dicke von intraoral gebildeter Pellikel nach 2 Stunden auf Werte von 100 nm und mehr.

Im weiteren zeitlichen Verlauf ist dann mit einer nochmals deutlichen Zunahme der Dicke bis auf 1000 nm und mehr zu rechnen (HANNIG, 1999). Dieses spätere Pellikelwachstum beruht auch auf der Ansiedlung von Mikroorganismen, die ab einer Verweildauer von etwa 4 Stunden in die Pellikel integriert werden (LIE, 1975), in dem hier untersuchten Zeitrahmen von 120 Minuten dagegen noch keine nennenswerte Rolle spielen.

In den hier untersuchten Proben war die Pellikeldicke insgesamt also etwas geringer als in den zitierten Veröffentlichungen. Dies ist möglicherweise auf die unterschiedlichen Substrate (Zahnschmelz vs. Silizium) und deren unterschiedliche Affinität zu den im Speichel enthaltenen Proteinen zurückzuführen (ERICSON et al., 1982). Ein weiterer Grund für niedrigere Messwerte kann in der Messmethodik liegen. Die Ausbildung verschiedener Schichten innerhalb der Pellikel mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften sowie die sehr unebene Oberfläche können dazu führen, dass mit mikroskopischen Verfahren andere Werte der Pellikeldicke gemessen werden als mittels Ellipsometrie.

8.2.1 Einfluss der intraoralen Expositionszeit

Die Zunahme der Pellikeldicke verlief bei den hier untersuchten Proben in etwa logarithmisch, das heißt der Zuwachs war zu Beginn der Pellikelbildung stärker und wurde mit zunehmender Zeit dann schwächer. Nach 3 Minuten wurden hier durchschnittlich 7,4, nach 30 Minuten 9,7 und nach 120 Minuten 10,7 nm starke Pellikelschichten ge-

messen. Auch in anderen Studien wird über diese initial starke und später langsamer werdende Zunahme der Pellikeldicke berichtet (ERICSON et al., 1982; LIE, 1977).

Dabei wird davon ausgegangen, dass sich innerhalb weniger Sekunden (HORBETT, 1982) nach Beginn der intraoralen Exposition eine Basalschicht mit „hoher ultrastruktureller Uniformität“ (HANNIG, 1998) auszubilden beginnt, die unabhängig von der Lokalisation, der Oberflächenbeschaffenheit oder der Struktur und Zusammensetzung der adsorbierten Materialien entsteht. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um einen kompakten Monolayer, der aus Proteinen besteht, die eine besondere Affinität zur Oberfläche des Substrates besitzen. Eine initiale Pellikelschicht ist demnach bereits nach wenigen Sekunden vorhanden (ECHTERHOFF, 2008; HANNIG, 1999; VASSILAKOS et al., 1992). Dies war offensichtlich auch in der hier durchgeführten Studie der Fall, da bereits nach 3 Minuten Expositionszeit eine Schichtdicke erreicht worden war, die etwa 70 % der Gesamtdicke nach 2 Stunden entsprach.

Nach einer gewissen Entwicklungszeit besteht die Pellikel dann aus einer elektronendichten, dünnen Basisschicht, an die sich eine aus granulären und globulären Strukturen bestehende Schicht anschließt. Die Struktur der Pellikel kann sich im weiteren Verlauf der Reifung deutlich verändern. Die Angaben zur Entstehungszeit dieser gereiften Pellikel variieren von wenigen Minuten bis zu mehreren Tagen (NIEUW-AMERONGEN et al., 1987).

In einer ähnlichen Studie zur zeitlichen Entwicklung der Pellikeldicke war nach einer Expositionszeit von einer Minute auf einem Trägersubstrat aus Rinderschmelz eine Pellikel von 10-20 nm Dicke entstanden (HANNIG, 1998, 1999), nach 30 Minuten betrug deren Dicke bis zu 200 nm.

Die hier gefundene zeitliche Entwicklung der Pellikeldicke ist prinzipiell also auch in anderen Studien in ähnlicher Weise festzustellen. Allerdings war bei den hier durchgeführten Versuchen auffällig, dass, im Gegensatz zu den zitierten Studien, bereits nach sehr kurzer Zeit (3 Minuten) ein großer Teil der endgültigen Pellikeldicke erreicht war. Auch hier kann vermutet werden, dass die ellipsometrische Messung wegen der sehr lockeren Struktur der äußeren Pellikelschicht und deren gegenüber der Basisschicht unterschiedlichen optischen Eigenschaften zu anderen Ergebnissen bei der Dickenmessung kommt als andere Verfahren. Diese Vermutung wird gestützt durch die Tatsache, dass in einer ähnlich angelegten Studie (ERICSON et al., 1982), bei der ebenfalls auf Si-

liziumboberflächen gewachsene Pellikel mittels ellipsometrischer Messung untersucht wurden, eine ähnliche Entwicklung der gemessenen Schichtdicke zu verzeichnen war wie in der hier durchgeführten Studie.

8.2.2 Einfluss des Trägersubstrates

Zwischen unbeschichteten und OTS-beschichteten Proben war bei den hier untersuchten Proben lediglich in der Anfangsphase des Pellikelwachstums und an bestimmten Lokalisationen ein Unterschied in der Dicke der Pellikel gegeben. Unbeschichtete, hydrophile Proben zeigten dabei in der Anfangsphase eine deutlichere Zunahme der Pellikeldicke. Dies stimmt gut überein mit der Studie von ERICSON et al. (1982), in der ebenfalls ein sehr schnelles Wachstum der Pellikel auf einer hydrophilen Oberfläche stattfand. Im Gegensatz dazu fanden andere Studien insgesamt und teilweise erst nach längerer Expositionszeit eine etwas stärkere Adsorption auf hydrophoben Oberflächen (LINDH, 2002; VASSILAKOS et al., 1992). Möglicherweise spielen bei den Adsorptionsvorgängen an Oberflächen unterschiedliche Grenzflächenenergien eine Rolle, die zu leichten Differenzen bei der Geschwindigkeit der Pellikelbildung führen, die Größe der angelagerten Proteine unterscheidet sich dagegen auf unterschiedlichen Flächen nicht signifikant (HANNIG ET AL., 2004a).

Zusammenfassend stellte HANNIG in verschiedenen Studien (1997; 1998) fest, dass sich die Pellikel auf üblichen Materialien in ähnlicher Weise bildet und auch in ihrer Struktur auf verschiedenen Materialien sehr ähnlich ist. Wachstumsunterschiede, die zu unterschiedlichen Pellikeldicken führen, sind dabei sehr viel stärker in der intraoralen Expositionsposition der Proben begründet als in der Art der Substratoberfläche.

8.2.3 Einfluss der Lokalisation der Proben

Intraoral exponierte Oberflächen sind einerseits unterschiedlichen Bedingungen hinsichtlich des Speichelflusses, der Einfluss auf die Entstehung der Pellikel hat, ausgesetzt. Andererseits wirken lokal unterschiedliche Scherkräfte auf diese Flächen, die zu unterschiedlich starken „Desorptionsphänomenen“ an der adsorbierten Pellikelschichten führen.

Verschiedene Studien fanden deutlich größere Pellikeldicken auf bukkal lokalisierten Proben im Vergleich zu lingual bzw. palatinal lokalisierten (HANNIG, 1997; HANNIG, 1999; HANNIG und JOINER, 2006). Dies wird erklärt mit den deutlich höheren Scherkräften, die auf der oralen Seite der Zähne durch die Zungenbewegungen wirksam sind und zum Abstreifen weniger fest mit dem Substrat verbundener Teile der Pellikel führen. Auch für die hier untersuchten Proben ergaben sich entsprechende Unterschiede, wobei die Differenzen im Oberkiefer deutlich größer waren als im Unterkiefer (siehe Tabelle 7, Seite 40). Dies ist möglicherweise auf die Tatsache zurückzuführen, dass für die im Unterkiefer montierten Proben das Dargebot an Speichelproteinen insgesamt größer ist, die hier lokalisierten Probenoberflächen sind praktisch ständig von Speichel umflossen (AMAECCHI et al., 1999). Ein weiterer Einfluss kann in der unterschiedlichen Proteinzusammensetzung des Speichels aus verschiedenen Speicheldrüsen vermutet werden (CARLEN et al., 1998), was zu lokal unterschiedlicher Verfügbarkeit von Biopolymeren für die Pellikelbildung führt (HANNIG, 1999).

8.2.4 Einfluss der Probanden

Ein möglicher individueller Einfluss der Probanden auf die Pellikeldicke betrifft die ethnische Herkunft (BRUVO et al., 2009), Ernährung (HANNIG und JOINER, 2006; LENANDER-LUMIKARI und LOIMARANTA, 2000; RYKKE und SØNJU, 1991; VACCA SMITH und BOWEN, 2000), den Hormonstatus (LENANDER-LUMIKARI und LOIMARANTA, 2000) oder Gewohnheiten in Bezug auf die Zahnpflege, aber auch die unwillkürlichen Bewegungen der Zunge. Allerdings wird die individuelle Zusammensetzung der Pellikel bei verschiedenen Probanden als sehr ähnlich beschrieben (DEIMLING et al., 2004).

In der hier durchgeführten Studie waren die Unterschiede der Pellikeldicke zwischen den verschiedenen Probanden vergleichsweise gering (im Mittel zwischen 8,7 und 10,3 nm, siehe Tabelle 11, Seite 44). Da alle Probanden im mittleren Erwachsenenalter waren und durch die Autorin im Hinblick auf die Zahnpflege vor dem Einsetzen der Probenplättchen genau instruiert und kontrolliert wurden, waren damit entscheidende Einflüsse auf die Pellikelbildung bereits von vornherein nivelliert.

8.3 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen, dass bei den hier durchgeführten Experimenten im Zeitraum bis 2 Stunden nach Beginn der Exposition eine generelle Zunahme der Pellikeldicke im Mundhöhlenbereich zu verzeichnen war. Dies stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien gut überein. Die Größe dieser Zunahme war allerdings abhängig vom Probenmaterial und der genauen Lokalisation der Probe in der Mundhöhle. OTS-beschichtete Silizium-Wafer wiesen an einzelnen Lokalisationen und zu bestimmten Zeitpunkten niedrigere Messwerte der Pellikeldicke auf als solche, die nicht beschichtet waren. Dieses Resultat gibt Anlass zu der Vermutung, dass zukünftig durch eine gezielte Oberflächengestaltung von Implantat- und Restaurationsmaterialien eine Minimierung des Prozesses der Pellikelbildung möglich sein wird, so dass auf diese Weise auch die Bildung von Plaque im Mundhöhlenbereich insgesamt reduziert werden kann. Die in dieser Studie erheblichen individuellen Unterschiede in der Pellikelbildung machen allerdings die Suche nach weiteren möglichen Einflussfaktoren auf die Pellikelbildung notwendig.

9 Literaturverzeichnis

1. Ahn SJ, Kho HS, Lee SW, Nahm DS (2002) Roles of salivary proteins in the adherence of oral streptococci to various orthodontic brackets. *J Dent Res* 81:411-415
2. Al-Hashimi I, Levine MJ (1989) Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. *Arch Oral Biol* 34:289-295
3. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A (1999) Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 78:1821-1828
4. Anonymus (2009) Schichtdickenbestimmung durch Ellipsometrie, Skript zum Hauptpraktikum Physikalische Chemie. Universität Bayreuth, Lehrstuhl für physikalische Chemie. Online verfügbar unter http://www.chemie.uni-bayreuth.de/pci/de/lehre/23489/IV_ellipsometrie.pdf, zuletzt geprüft am 10.12.2009
5. Apitz N (2004) In-vitro-Untersuchungen zur Bildung individualspezifischer Schmelzpellikel. Dissertation. Friedrich-Schiller-Universität, Jena
6. Baek JH, Krasieva T, Tang S, Ahn Y, Kim CS, Vu D, Chen Z, Wilder-Smith P (2009) Optical approach to the salivary pellicle. *J Biomed Opt* 14:44001
7. Bathen D, Breitbach M (2001) Adsorptionstechnik. VDI-Buch. Springer, Berlin
8. BAUMCHEN, O; JACOBS, K (2010): Slip effects in polymer thin films. In: *Journal of physics*, **22**, Heft 3, Seite 33102.

9. Bellion M (2006) Monte-Carlo-Simulationen zur Kinetik der Adsorption von Proteinen an fest/flüssig-Grenzflächen. Diplomarbeit. Universität des Saarlandes, Saarbrücken
10. Bennick A, Chau G, Goodlin R, Abrams S, Tustian D, Madapallimattam G (1983) The role of human salivary acidic proline-rich proteins in the formation of acquired dental pellicle in vivo and their fate after adsorption to the human enamel surface. *Arch Oral Biol* 28:19-27
11. Bock, J (1998) Die Bestimmung des Stichprobenumfangs. Oldenbourg-Verlag, München
12. Bortz J, Weber R (2005) Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. 6. Aufl. Springer, Heidelberg
13. Brune V (2003) In situ Untersuchung zur Wirksamkeit verschiedener Fluoridierungsmaßnahmen einer symptomatischen Therapie von säurebedingten Zahnhartsubstanzverlusten. Dissertation. Justus-Liebig-Universität, Gießen
14. Bruvo M, Moe D, Kirkeby S, Vorum H, Bardow A (2009) Individual variations in protective effects of experimentally formed salivary pellicles. *Caries Res* 43:163-170
15. Bush BG, DelRio FW, Opatkiewicz J, Maboudian R, Carraro C (2007) Effect of formation temperature and roughness on surface potential of octadecyltrichlorosilane self-assembled monolayer on silicon surfaces. *J Phys Chem* 111:12339-12343
16. Carlen A, Borjesson AC, Nikdel K, Olsson J (1998) Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite. *Caries Res* 32:447-455

17. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J (2001) Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 22:481-487
18. Carlen A, Rudiger SG, Loggner I, Olsson J (2003) Bacteria-binding plasma proteins in pellicles formed on hydroxyapatite in vitro and on teeth in vivo. *Oral Microbiol Immunol* 18:203-207
19. Deimling D, Breschi L, Hoth-Hannig W, Ruggeri A, Hannig C, Nekrashevych Y, Prati C, Hannig M (2004) Electron microscopic detection of salivary alpha-amylase in the pellicle formed in situ. *Eur J Oral Sci* 112:503-509
20. Echterhoff B (2008) Vergleichende Untersuchung des säureprotektiven Potentials einer innerhalb von zwei, sechs, zwölf und 24 Stunden in situ gebildeten Pellikel. Dissertation. Universität des Saarlandes, Homburg
21. Eliades T, Eliades G, Brantley WA (1995) Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 108:351-360
22. Ericson T, Pruitt KM, Arwin H, Lundstrom I (1982) Ellipsometric studies of film formation on tooth enamel and hydrophilic silicon surfaces. *Acta Odontol Scand* 40:197-201
23. Feijter de JA, Benjamin J, Veer FA (1978) Ellipsometry as a tool to study the adsorption behavior of synthetic and biopolymers at the air-water interface. *Biopolymers* 17:1759-1772
24. Garcia-Godoy F, Hicks MJ (2008) Maintaining the integrity of the enamel surface: The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 139 Suppl:25S-34S

25. Glantz PO, Baier RE, Christersson CE (1996) Biochemical and physiological considerations for modeling biofilms in the oral cavity: A review. *Dent Mater* 12:208-214
26. Hamada T, Kawashima M, Watanabe H, Tagami J, Senpuku H (2004) Molecular interactions of surface protein peptides of *Streptococcus gordonii* with human salivary components. *Infect Immun* 72:4819-4826
27. Hannesson Eggen K (1983) Adsorption of proteins onto dental enamel in vivo and hydroxyapatite in vitro. Dissertation. Universität Oslo
28. Hannig C, Becker K, Hausler N, Hoth-Hannig W, Attin T, Hannig M (2007a) Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion - an ex vivo pilot study. *Arch Oral Biol* 52:444-449
29. Hannig C, Huber K, Lambrichts I, Graser J, D'Haen J, Hannig M (2007b) Detection of salivary alpha-amylase and lysozyme exposed on the pellicle formed in situ on different materials. *J Biomed Mater Res* 83:98-103
30. Hannig C, Wasser M, Becker K, Hannig M, Huber K, Attin T (2006) Influence of different restorative materials on lysozyme and amylase activity of the salivary pellicle in situ. *J Biomed Mater Res* 78:755-761
31. Hannig M (1994) Bildung, Funktion und Bedeutung der Pellikel. I. Biochemische, bakteriologische und strukturelle Aspekte. *Oralprophylaxe* 16:39-46
32. Hannig M (1997) Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *Eur J Oral Sci* 105:422-433
33. Hannig M (1998) Elektronenmikroskopische Untersuchungen der initialen Bioadhäsionsprozesse an Festkörperoberflächen in der Mundhöhle; eine klinisch-experimentelle Studie. Quintessenz, Berlin

34. Hannig M (1999) Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig* 3:88-95
35. Hannig M, Balz M (2001) Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. *Caries Res* 35:142-148
36. Hannig M, Döbert A, Stigler R, Müller U, Prokhorova SA (2004a) Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM. *J Nanosci Nanotechnol* 4:532-538
37. Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Döbert A, Zimehl R, Nekrashevych Y (2004b) Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* 49:903-910
38. Hannig M, Hannig C (2007) Der initiale orale Biofilm – pathogen oder protektiv? *Oralprophylaxe Kinderzahnheilkd* 29:73-82
39. Hannig M, Joiner A (2006) The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci* 19:29-64
40. Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT (2006) Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res* 85:612-616
41. Hasselbrink E (2004) Superdünn und fest verknüpft. Neuartige Beschichtungen durch molekulare Monolagen. *Forum Forschung* 2003/2004:46-48
42. Hauser-Gerspach I, Kulik EM, Weiger R, Decker EM, von Ohle C, Meyer J (2007) Adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dental implant and restorative materials in vitro. *Dent Mater J* 26:361-366
43. Hayashi K, Saito N, Sugimura H, Takai O, Nakagiri N (2002) Surface potential contrasts between silicon surfaces covered and uncovered with an organosilane self-assembled monolayer. *Ultramicroscopy* 91:151-156

44. Herberg H (2009) Ellipsometrie, theoretische Grundlagen. Hochschule für angewandte Wissenschaften, FH München, FK06: Feinwerk- und Mikrotechnik, Physikalische Technik. Online verfügbar unter http://w3-o.hm.edu/fb06/professoren/herberg/texte/geraete/ellipsometer_theorie.pdf, zuletzt geprüft am 10.12.2009
45. Horbett TA (1982) Protein adsorption on biomaterials. *Adv Chem Ser* 199:233-244
46. Iontcheva I, Oppenheim FG, Troxler RF (1997) Human salivary mucin MG1 selectively forms heterotypic complexes with amylase, proline-rich proteins, statherin, and histatins. *J Dent Res* 76:734-743
47. JACOBS, K (2011): Nano- and microfluidics. Preface. In: *Journal of physics*, **23**, Heft 18, Seite 180301.
48. Jendresen MD, Glantz PO (1981) Clinical adhesiveness of selected dental materials. An in-vivo study. *Acta Odontol Scand* 39:39-45
49. Joiner A, Elofsson UM, Arnebrant T (2006) Adsorption of chlorhexidine and black tea onto in vitro salivary pellicles, as studied by ellipsometry. *Eur J Oral Sci* 114:337-342
50. Joiner A, Muller D, Elofsson UM, Arnebrant T (2004) Ellipsometry analysis of the in vitro adsorption of tea polyphenols onto salivary pellicles. *Eur J Oral Sci* 112:510-515
51. Joiner A, Schwarz A, Philpotts CJ, Cox TF, Huber K, Hannig M (2008) The protective nature of pellicle towards toothpaste abrasion on enamel and dentine. *J Dent* 36:360-368
52. Kahle O (2002) Einsatzmöglichkeiten und Grenzen der temperaturvariablen Ellipsometrie zur thermophysikalischen Charakterisierung polymerer Schichten. Dissertation. Brandenburgische Technische Universität, Cottbus

53. Kautsky MB, Featherstone JD (1993) Effect of salivary components on dissolution rates of carbonated apatites. *Caries Res* 27:373-377
54. Kawashima M, Hanada N, Hamada T, Tagami J, Senpuku H (2003) Real-time interaction of oral streptococci with human salivary components. *Oral Microbiol Immunol* 18:220-225
55. Kousvelari EE, Baratz RS, Burke B, Oppenheim FG (1980) Immunochemical identification and determination of proline-rich proteins in salivary secretions, enamel pellicle, and glandular tissue specimens. *J Dent Res* 59:1430-1438
56. Kraus, IE (2011) Untersuchung der In-Situ-Pellicelbildung auf verschiedenen Substraten mittels AFM, TEM und Ellipsometrie. Dissertation. Universität des Saarlandes, Homburg
57. Lamkin MS, Migliari D, Yao Y, Troxler RF, Oppenheim FG (2001) New in vitro model for the acquired enamel pellicle: Pellicles formed from whole saliva show inter-subject consistency in protein composition and proteolytic fragmentation patterns. *J Dent Res* 80:385-388
58. Langmuir I (1916) The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Part I. Solids. *J Am Chem Soc* 38:2221-2295
59. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V (2000) Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 14:40-47
60. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG (2000) Saliva and dental pellicle - a review. *Adv Dent Res* 14:22-28
61. Li J, Helmerhorst EJ, Corley RB, Luus LE, Troxler RF, Oppenheim FG (2003) Characterization of the immunologic responses to human in vivo acquired enamel pellicle as a novel means to investigate its composition. *Oral Microbiol Immunol* 18:183-191

62. Lie T (1975) Pellicle formation on hydroxyapatite splints attached to the human dentition: Morphologic confirmation of the concept of adsorption. Arch Oral Biol 20:739-742
63. Lie T (1977) Scanning and transmission electron microscope study of pellicle morphogenesis. Scand J Dent Res 85:217-231
64. Lindh L (2002) On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. Swed Dent J 152:1-57
65. Lockowandt P, Loges H, Wagner IV (1991) Restaurative Werkstoffe und initiale Pellikelbildung. Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl Gesamte 79:147-151
66. Mantz H (2008) Biofilmadsorption auf maßgeschneiderten Oberflächen: Dynamik und morphologische Charakterisierung. Dissertation. Universität des Saarlandes, Saarbrücken
67. Maupome G, Aguilar-Avila M, Medrano-Ugalde H, Borges-Yanez A (1999) In vitro quantitative microhardness assessment of enamel with early salivary pellicles after exposure to an eroding cola drink. Caries Res 33:140-147
68. Meier R, Hauser-Gerspach I, Luthy H, Meyer, J (2008) Adhesion of oral streptococci to all-ceramics dental restorative materials in vitro. J Mater Sci 19:3249-3253
69. Mora, M F; Wehmeyer, J; Synowicki, R; Garcia C (2009): Investigating the Adsorption of Proteins Via Spectroscopic Ellipsometry. In: Bizios, R; Puelo, D (Hg.): Biological Interactions on Material Surfaces: Springer New York, 19–41.
70. Nekrashevych Y, Stösser L (2003) Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. Caries Res 37:225-231

71. Nekrashevych, Y, Hannig, M, Stösser, L (2004) Assessment of enamel erosion and protective effect of salivary pellicle by surface roughness analysis and scanning electron microscopy. *Oral Health Prev Dent* 2:5-11
72. Nieuw-Amerongen AV, Oderkerk CH, Driessen AA (1987) Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro. *Caries Res* 21:297-309
73. Nikawa H, Egusa H, Yamashiro H, Nishimura M, Makihira S, Jin C, Fukushima H, Hamada T (2006) The effect of saliva or serum on bacterial and *Candida albicans* colonization on type I collagen. *J Oral Rehabil* 33:767-774
74. Papaioannou W, Gizani S, Nassika M, Kontou E, Nakou M (2007) Adhesion of *Streptococcus mutans* to different types of brackets. *Angle Orthod* 77:1090-1095
75. Ruhl S, Sandberg AL, Cisar JO (2004) Salivary receptors for the proline-rich protein-binding and lectin-like adhesins of oral actinomyces and streptococci. *J Dent Res* 83:505-510
76. Rykke M, Sønju T (1991) Amino acid composition of acquired enamel pellicle collected in vivo after 2 hours and after 24 hours. *Scand J Dent Res* 99:463-469
77. Rykke M, Young A, Devold T, Smistad G, Rølla G (1997) Fractionation of salivary micelle-like structures by gel chromatography. *Eur J Oral Sci* 105:495-501
78. Sachs L (2003) *Angewandte Statistik - Anwendung statistischer Methoden*. 11. Auflage. Springer, Berlin
79. Schiffner U (1997) *Der Einfluss von Speichelproteinen auf die Demineralisation von Zahnschmelz - Untersuchung in einer künstlichen Mundhöhle*. Carl Hanser, München

80. SCHMITT, Y; HAHL, H; GILOW, C; MANTZ, H; JACOBS, K; LEIDINGER, O; BELLION, M; SANTEN, L (2010): Structural evolution of protein-biofilms: Simulations and experiments. In: *Biomicrofluidics*, **4**, Heft 3, Seite 32201.
81. Schüpbach P, Oppenheim FG, Lendenmann U, Lamkin MS, Yao Y, Guggenheim B (2001) Electron-microscopic demonstration of proline-rich proteins, statherin, and histatins in acquired enamel pellicles in vitro. *Eur J Oral Sci* 109:60-68
82. Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K (1998) In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 25:52-58
83. Sharma A, Somani, R (2009) Dermatoglyphic interpretation of dental caries and its correlation to salivary bacteria interactions: An in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 27:17-21
84. Skjörland KK, Rykke M, Sønju T (1995) Rate of pellicle formation in vivo. *Acta Odontol Scand* 53:358-362
85. Sønju T, Glantz PO (1975) Chemical composition of salivary integuments formed in vivo on solids with some established surface characteristics. *Arch Oral Biol* 20:687-691
86. Sønju T, Rølla G (1973) Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis. *Caries Res* 7:30-38
87. Talbot J, Tarjus G, van Tassel PR, Viot P (2000) From car parking to protein adsorption: An overview of sequential adsorption processes. *Colloids Surf* 165:287-324

88. Teixeira EH, Napimoga MH, de Carneiro VA, Nascimento KS, Nagano CS, Souza JB, Havt A, Pinto VP, Goncalves RB, Farias WR, Saker-Sampaio S, Sampaio AH, Cavada BS (2007) In vitro inhibition of oral streptococci binding to the acquired pellicle by algal lectins. *J Appl Microbiol* 103:1001-1006
89. Vacca Smith AM, Bowen WH (2000) In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs. *Arch Oral Biol* 45:277-291
90. van der Mei HC, Rustema-Abbing M, Bruinsma GM, de Jager M, Gottenbos B, Busscher HJ (2004) Influence of weight on removal of co-adhering bacteria from salivary pellicles by different modes of brushing. *Caries Res* 38:85-90
91. Vassilakos N, Arnebrant T, Glantz PO (1992) Adsorption of whole saliva onto hydrophilic and hydrophobic solid surfaces: Influence of concentration, ionic strength and pH. *Scand J Dent Res* 100:346-353
92. Wahlgren M, Arnebrant T, Lundstrom I (1995) The adsorption of lysozyme to hydrophilic silicon oxide surfaces: Comparison between experimental data and models for adsorption kinetics. *J Colloid Interface Sci* 175:506-514
93. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T (2008) Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand* 66:225-230
94. Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG (2003) Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. *J Biol Chem* 278:5300-5308
95. Yao Y, Grogan J, Zehnder M, Lendenmann U, Nam B, Wu Z, Costello CE, Oppenheim FG (2001) Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Arch Oral Biol* 46:293-303

96. Yao Y, Lamkin MS, Oppenheim FG (1999) Pellicle precursor proteins: Acidic proline-rich proteins, statherin, and histatins, and their crosslinking reaction by oral transglutaminase. *J Dent Res* 78:1696-1703
97. Yao Y, Lamkin MS, Oppenheim FG (2000) Pellicle precursor protein crosslinking characterization of an adduct between acidic proline-rich protein (PRP-1) and statherin generated by transglutaminase. *J Dent Res* 79:930-938
98. Yin A, Margolis HC, Yao Y, Grogan J, Oppenheim FG (2006) Multi-component adsorption model for pellicle formation: The influence of salivary proteins and non-salivary phospho proteins on the binding of histatin 5 onto hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 51:102-110
99. Young A, Rykke M, Rølla G (1999) Quantitative and qualitative analyses of human salivary micelle-like globules. *Acta Odontol Scand* 57:105-110

10 Anhang

Tabelle 17: Anzahl der für die Auswertung zur Verfügung stehenden Proben differenziert nach Material der adsorbierenden Oberfläche, Zahn, Zahnfläche, intraorale Expositionszeit und Proband

Material	Zahn	Fläche	Zeit (min)	Proband						Zeile
				IK	KH	FA	SGT	HM	AQ	Gesamt
Si-Wafer	16, 26	bukkal	3	0	6	6	6	5	6	29
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	17	18	89
Si-Wafer	16, 26	oral	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	4	28	
Gesamt				0	18	18	18	16	18	88
Si-Wafer	11, 21	bukkal	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	18	18	90
Si-Wafer	11, 21	oral	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	3	27	
Gesamt				0	18	18	18	15	18	87
Si-Wafer	36, 46	bukkal	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	5	29	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	17	18	89
Si-Wafer	36, 46	oral	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	3	27	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	15	18	87
Si-Wafer	31, 41	bukkal	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	18	18	90

Material	Zahn	Fläche	Zeit (min)	Proband						Zeile
				IK	KH	FA	SGT	HM	AQ	Gesamt
Si-Wafer	31, 41	oral	3	0	6	6	6	6	6	30
			30	0	6	6	6	6	30	
			120	0	6	6	6	6	30	
Gesamt				0	18	18	18	18	18	90
Octadecyltri- chlorsilan	16, 26	bukkal	3	0	0	0	12	12	0	24
			30	0	0	0	12	12	0	24
			120	0	0	0	12	12	0	24
Gesamt				0	0	0	36	36	0	72
Octadecyltri- chlorsilan	16, 26	oral	3	0	0	0	12	12	0	24
			30	0	0	0	12	12	0	24
			120	0	0	0	12	12	0	24
Gesamt				0	0	0	36	36	0	72
Araldit mit Pt- Beschichtung	16, 26	bukkal	3	3	3	0	0	0	0	6
			30	3	3	0	0	0	0	6
			120	0	3	0	0	0	0	3
Gesamt				6	9	0	0	0	0	15
Araldit mit Pt- Beschichtung	16, 26	oral	3	3	3	0	0	0	0	6
			30	3	3	0	0	0	0	6
			120	3	3	0	0	0	0	6
Gesamt				9	9	0	0	0	0	18
Spalte Gesamt				15	162	144	216	206	144	887

11 Danksagung

*„Nicht die Glücklichen sind dankbar.
Es sind die Dankbaren, die glücklich sind.“*

(Francis Bacon)

Alle, die mich auf unterschiedlichste Art und Weise bei meiner Doktorarbeit unterstützt und begleitet haben, sind für deren gutes Gelingen mit verantwortlich. Dafür bin ich sehr dankbar und möchte das an dieser Stelle zum Ausdruck bringen.

Besonders bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Matthias Hannig, der mir neben wertvollen Ratschlägen auch viel Geduld und die notwendige Zeit gewährte, um die Arbeit während meines Berufseinstiegs erstellen zu können.

Ein großer Dank gilt Frau Dr. Karin Huber, die mir mit ihrem fundierten Fachwissen viele Anregungen für meine wissenschaftliche Arbeit gegeben hat. Ohne ihr Engagement, ohne ihre Ideen und ihre Kritik wäre mein Forschungsprojekt nicht möglich gewesen.

Hier gilt mein Dank auch Herrn Dr. Fuad Al-Marrawi, der mir schon während meines Studiums als betreuender Oberarzt mit Rat und Tat zur Seite stand.

Eine besondere Herausforderung in meiner Doktorarbeit für mich als Zahnmedizinerin war das Vordringen in die Tiefen der Experimentalphysik auf dem Fachgebiet der "Weichen Materie". Dass ich hier nicht den Mut verloren habe, liegt an der großen Unterstützung, die ich aus der Arbeitsgruppe am Lehrstuhl von Frau Prof. Dr. Karin Jacobs an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken erfahren habe. Mit großem Respekt habe ich mich an die modernen Methoden der Oberflächenphysik heran gewagt.

Herrn Dr. Anthony Quinn danke ich für seine überaus geduldige Erklärung zu dem Ellipsometer, dessen Benutzung mir während mehrere Monate zur Durchführung der notwendigen Messungen ermöglicht wurde. Hier zu jeder Tages- und Nachtzeit die Räum-

lichkeiten nutzen zu können, war ein großer Vertrauensbeweis. Herrn Hubert Mantz danke ich für die nachsichtige und ausdauernde Beantwortung jeder noch so ungeläufigen Frage zu erforderlichen Einstellungen im Umgang mit dem Ellipsometer und zu den Auswertungen der Messungen.

Darüber hinaus haben sich mir Dr. Karin Huber, Dr. Fuad Al-Marrawi, Dr. Hubert Mantz und Dr. Anthony Quinn auch als Probanden zur Verfügung gestellt.

Für ihre Zeit und Ausdauer danke ich ihnen sehr herzlich!

Um der Vielzahl der Messungen Herr zu werden, erfuhr ich tatkräftige Unterstützung durch meine Kollegin Frau Ines Kraus, wofür ich ihr sehr dankbar bin.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, ohne die ein Studium und eine Doktorarbeit niemals möglich geworden wären. Eure liebevolle Unterstützung und Euer Vertrauen in mich gaben mir Rückhalt und Antrieb. Ich danke Euch sehr!

Mein lieber Ehemann, der mich stets bestärkt hat, wenn ich an mir gezweifelt habe, hat mich immer motiviert, zugehört und auch für die erforderliche Abwechslung gesorgt. Für sein unermüdliches Korrekturlesen und Feilen an den richtigen Formulierungen bin ich ihm sehr dankbar.

12 Lebenslauf

Name: Sabine Christiane Güth-Thiel, geb. Thiel

Geburtsdatum: 03.12.1975

Adresse: Alter Stadtweg 165, 66125 Saarbrücken

Ehemann: Gerhard Güth, Diplomkaufmann, Dachdeckermeister

Kind: Felix Güth

Vater: Bodo Thiel, Forstdirektor a. D.

Mutter: Doris Thiel, geb. List, Bankkauffrau

Schwester: Ulrike Thiel-Zapp, geb. Thiel, Rechtsanwältin

Schulbildung:

1982-1986 Albert-Schweitzer-Grundschule, Dudweiler

1986-1995 Gymnasium Marienschule, Saarbrücken

Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Ausbildung:

1995-1999 Ausbildung zur Zahntechnikerin,
Abschluss: Gesellenbrief

Studium:

1998-2005 Studium der Zahnmedizin an der Universitätsklinik Homburg

Februar-Juli 2005 Staatsexamen im Fach Zahnmedizin

Beruf:

01.09.05-31.08.07 Assistenz Zahnärztin in der Gemeinschaftspraxis Dres. Jacob,
Dallinger, Birke in Saarbrücken

01.09.07-31.12.07 Angestellte Zahnärztin in der Gemeinschaftspraxis Dres. Jacob,
Dallinger, Birke in Saarbrücken

Seit 01.01.2008 Selbstständige Zahnärztin in der Gemeinschaftspraxis Dres.
Jacob, Dallinger, Birke, Güth-Thiel in Saarbrücken