

---

## 5. Deutsche Zusammenfassung

### Einführung

Biologische Materialien haben sich im Laufe der Evolution über Jahrtausende hinweg dahingehend entwickelt, dass sie den Anforderungen, die durch den Organismus und die Umwelt an sie gestellt werden, genügen. Viele dieser Materialien sind Verbundwerkstoffe mit einer stark hierarchischen Struktur. In der Wissenschaft wird immer mehr versucht, diese Strukturen bis in die kleinsten Hierarchien hinein aufzuklären und deren Funktionsweise auf technische Anwendungen zu übertragen.

Diese Dissertation beschreibt die Entwicklung und Anwendung einer Methode zur strukturellen und quantitativen mechanischen Untersuchung von biologischen Werkstoffen. Sie ermöglicht mechanische Untersuchungen von Proben im  $\mu\text{m}$ - und  $\text{sub-}\mu\text{m}$ -Bereich in Zug und Biegung. Hierzu wurde ein Focused Ion Beam (FIB) System als *in situ* Labor zur Probenpräparation und zur Durchführung mechanischer Tests verwendet.

Ein FIB funktioniert im Prinzip wie ein Raster-Elektronen Mikroskop (REM), nur werden anstelle von Elektronen Gallium-Ionen auf die Probenoberfläche beschleunigt. Diese erzeugen beim Auftreffen auf die Oberfläche sogenannte Sekundärelektronen oder Sekundärionen, die detektiert werden können. Die auftreffenden Gallium-Ionen tragen die Oberfläche der Proben durch einen Sputter-Process ab. Dies ist von Nachteil, wenn das FIB als Mikroskop genutzt werden soll. Dieser Effekt kann aber auch dazu verwendet werden, gezielt Bereiche abzutragen oder zu schneiden. Zum Schneiden wird der Ionenstrahl über einen definierten Bereich solange gerastert, bis ein entsprechendes Volumen abgetragen ist. Für die Untersuchung von biologischen Materialien wurde das FIB bis heute kaum genutzt, was hauptsächlich an der geringen Verfügbarkeit dieser Systeme für Biologen liegen mag. Die wenigen biologischen Materialien, deren Untersuchung in der Literatur beschrieben wurde, sind hauptsächlich Fliegenaugen, Darmzotten von Mäusen, Hefezellen und Zahnschmelz. Tabelle 1.1 fasst die bisher auf diesem Gebiet erschienene Literatur zusammen (siehe Kapitel 1.2). Bei den meisten Proben wurden lediglich einfache Querschnitte mit Standardeinstellungen der Geräte gemacht. Die selten beschriebenen anspruchsvolleren Anwendungen des FIB sind die Herstellung von Lamellen für die Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) und von Querschnitten von eingebetteten Proben (Hayashi *et al.*, 1998; Hoshi *et al.*, 2001; Volkert *et al.*, 2004; Burkhardt *et al.*, 2005; Gnauck *et al.*, 2005).

Das FIB hat eine Reihe von Vor- und Nachteilen für die Untersuchung von biologischen Materialien. Es bietet die Möglichkeit, Bilder mit einer hohen Vergrößerung und einer Auflösung von ~6 nm aufzunehmen, die sich durch eine besonders große Tiefenschärfe auszeichnen. Neben dem stark ausgeprägten Topographiekontrast, den man bei den Aufnahmen erzielt, erhält man zusätzlich einen starken Materialkontrast. Des Weiteren kann das FIB dazu verwendet werden, Querschnitte zielgenau zu präparieren, wie es mit konventionellen biologischen Verfahren (trocknen, einbetten, mit dem Mikrotom schneiden) nicht möglich ist. Es ist auch möglich, mit dem FIB System definiert Metalle und Isolatoren abzuscheiden, wie z.B. Wolfram, Platin oder SiO<sub>2</sub>. Dazu wird ein Precursor-Gas in die Vakuumkammer des FIB eingeleitet, das mit dem Ionenstrahl zu Wolfram oder SiO<sub>2</sub> reagiert. Die flüchtigen Bestandteile werden abgepumpt.

### **Einfluss der Gallium-Ionen auf das Probenmaterial**

Zu Beginn der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welchen Einfluss der Ionenstrahl des FIB auf biologische Proben hat. Zum Teil wurde für die Untersuchungen als Referenzmaterial Polyimid (Kapton<sup>®</sup>) verwendet, da es, von den technischen Werkstoffen, den polymeren biologischen Materialien in Struktur und Eigenschaften am meisten ähnelt. Um den Einfluss der Gallium-Ionen auf die untersuchten Materialien abzuschätzen, wurden drei Hauptpunkte untersucht. Zum einen wurden eine mögliche Temperaturerhöhung sowie die Eindringtiefe der Ionen berechnet, des Weiteren wurde experimentell die Änderung von Härte und Elastizitätsmodul durch den Einfluss des Ionenstrahles bestimmt.

### **Temperaturerhöhung durch den Einfluss der Gallium-Ionen**

Melngailis (1986) und Ishitany und Kaga (1995) veröffentlichten Modelle, mit Hilfe derer die maximale Temperaturerhöhung in einem Material unter dem Einfluss eines Gallium-Ionenstrahls berechnet werden kann. Die Parameter, die in die Gleichung einfließen sind die Beschleunigungsspannung der Ionen, die Stromdichte, die thermische Leitfähigkeit des belichteten Materials, die Strahlstromstärke und der Durchmesser, bzw. der Radius des Ionenstrahles (siehe Gleichungen [1.2] und [1.3] in Kapitel 1.6.3). Da die thermische Leitfähigkeit von Insektenkutikula nicht bekannt ist, wurde die maximale Temperaturerhöhung für Holz und Kapton<sup>®</sup> in Abhängigkeit des Strahlstromes berechnet (Tabelle 1.5 und Tabelle 1.6 in Kapitel 1.6.3). Für Holz ergab sich für typische Strahlströme von 70-150 pA, die zum gezielten Abtragen und Abscheiden verwendet wurden, eine Temperaturerhöhung von 30 K bis 93 K wenn man zur Berechnung das Modell von

Melngailis [1.2] verwendet, und 54 K bis 165 K für das Modell von Ishitani und Kaga [1.3]. Diese Werte können je nach Probengeometrie um einen Faktor von 2 bis 4 steigen. Bei der Untersuchung von biologischen Materialien ist also mit einer starken Beeinflussung und sogar der Schädigung des Probenmaterials zu rechnen. Durch die geringe thermische Leitfähigkeit biologischer Materialien ist allerdings das Volumen, in dem es zu einer starken Temperaturerhöhung und damit auch Materialveränderung kommt, begrenzt.

### **Änderung der mechanischen Eigenschaften**

Um die Änderungen der mechanischen Eigenschaften wie Härte und Elastizitätsmodul durch den Einfluss des Ionenstrahls zu quantifizieren, wurde eine 125µm dicke Kapton® Folie im FIB mit verschiedenen Fluenzen (Anzahl von Ionen pro Fläche) belichtet. Anschließend wurden mit Hilfe eines Nanoindenters die mechanischen Eigenschaften, Härte und Elastizitätsmodul, in Abhängigkeit von der Eindringtiefe des Indenters bestimmt. Das Ergebnis war, dass in einer oberflächennahen Schicht von bis zu 100 nm Eindringtiefe um bis zu 22 % höhere Werte für die Härte und den Elastizitätsmodul gemessen wurden, aber kein klarer Trend im Bezug auf die Fluenz erkennbar war (Abbildung 1.13 und Abbildung 1.14 im Kapitel 1.6.4). Ab einer Tiefe von >100 nm wurde kein signifikanter Einfluss der Gallium-Ionen auf die mechanischen Eigenschaften des Polymers festgestellt.

### **Eindringtiefe der Gallium-Ionen in die Probe**

Mit Hilfe der Monte-Carlo Simulation TRIM (Ziegler und Biersack, 2003) wurde die Eindringtiefe von Gallium-Ionen simuliert. Für die Berechnungen wurde wieder Kapton® als Referenzmaterial herangezogen, da die für die Simulation wichtigen Parameter (Elemente, Bindungsenergien, etc.) für dieses Material bekannt sind. Es ergab sich eine mittlere Eindringtiefe von 36 nm (Min. 13,6 nm, Max. 73 nm) für Gallium-Ionen, die mit einer Energie von 30 keV auf eine 125 µm dicke Kapton® Schicht beschleunigt werden (Appendix 6.1).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Ionenstrahl des FIB einen Einfluss auf die Eigenschaften der zu untersuchenden Proben hat. Dieser Einfluss ist in Kapton® auf eine Schicht von ca. 100 nm beschränkt. Für Proben, deren Durchmesser im µm-Bereich liegt, wurde daher der Einfluss des Ionenstrahles vernachlässigt.

### **Einfluss des Vakuums der Probenkammer**

In der Vakuum-Probenkammer des FIB und des REM trocknen biologische Proben aus. Dies führt dazu, dass sich durch das Austrocknen die mechanischen Eigenschaften biologischer Proben um einen Faktor zwischen 2 und 5 ändern, wenn man sie im feuchten und absolut trockenen Zustand vergleicht (Barbakadse, 2005). Der trockene Zustand kann aber auch als eine Art Referenzzustand dienen, da biologischen Proben von dem Moment an, an dem sie vom lebenden Organismus getrennt werden, anfangen auszutrocknen. Je nach der relativen Umgebungsfeuchtigkeit sowie der Dauer der Probenpräparation und der mechanischen Untersuchung, werden die Proben somit in einem undefinierten Zustand zwischen „feucht“ und „trocken“ untersucht. Der Einfluss der Feuchtigkeit wird für jede untersuchte Probe im Detail im Kapitel 3.4 diskutiert.

### **Mechanische Versuche**

Die den mechanischen Versuchen zugrunde liegende Kraftmesseinheit bestand aus einem um drei Achsen beweglichen Mikromanipulator MM3A der Firma Kleindiek (Kleindiek Nanotechnik), an dessen Arm eine piezoresistive Kraftmessspitze der Firma Nascatec (Nascatec) angebracht war. Die Kraftmessspitzen wurden mittels eines Halters an dem Mikromanipulator angebracht, der in Zusammenarbeit mit der Firma Kleindiek entworfen und hergestellt wurde. Für die Durchführung der Versuche wurden Kraftmessspitzen mit einer nominellen Steifigkeit von 270 N/m, einer maximalen auslesbaren Kraft von 1300  $\mu\text{N}$  und einer Kraftauflösung von 20  $\mu\text{N}$  verwendet. Mit Hilfe dieser Kraftmesseinheit wurden sowohl Biege- als auch Zugversuche durchgeführt.

### **Biegeversuche**

Das FIB System wurde verwendet, um Proben für die Biegeversuche herzustellen. Es ist möglich mit dem FIB aus dünnen Schichten oder Folien Biegebalken herzustellen. Dieses Verfahren wurde anhand einer Kapton<sup>®</sup> Probe demonstriert (Abbildung 2.3, Kapitel 2.3). Eine Stärke der vorgestellten Methode ist, dass sehr kleine Proben im  $\mu\text{m}$ -Bereich hergestellt und getestet werden können. Die geringe Probengröße ermöglicht z.B., die mechanischen Eigenschaften getrennt von der Struktur für die jeweiligen Komponenten von Verbundwerkstoffen aufzulösen. Dies konnte am Beispiel einer Holzzelle demonstriert werden. Es war möglich eine einzelne Zellwand aus einem Stück Fichtenholz mit dem FIB heraus zu präparieren (Abbildung 2.4 und 2.5, Kapitel 2.3.1). Proben wie zum Beispiel Fasern

oder Haare können hingegen direkt, ohne große Vorbereitung in Biegung getestet werden, was anhand eines Haares vom Schweife eines Pferdes demonstriert wurde.

Die Biegeversuche wurden in einem Rasterelektronenmikroskop (Leo 1530 VP) *in situ* durchgeführt. Mit Hilfe des Computerprogramms AutoIt Version v3.0.102 (AutoIt) wurden Makros erstellt, die sowohl die Steuerung des REM, des Mikromanipulators sowie das Auslesen der Kraftmesseinheit übernahmen und somit die Biegeversuche automatisch durchführten (Appendix 6.4). Die Makros wurden gestartet, nachdem die Kraftmessspitze gerade in Kontakt mit dem Biegebalken war. Zu diesem Zeitpunkt wurde mit dem REM ein Bild des Biegebalkens aufgenommen, dann wurde der Mikromanipulator mit einer vorher definierten Schrittgröße auf den Biegebalken zu bewegt und dadurch eine Kraft auf diesen ausgeübt. Diese Kraft wurde simultan über die piezoresistive Kraftmessspitze mit Hilfe von Hard und Software der Firma BIOPAC (BIOPAC) ausgelesen und aufgezeichnet (Aufzeichnungsrate: 500 Messpunkte/sec.). Die Kraft wurde über 705 Messpunkte gemittelt und mit der dazugehörigen REM-Bildnummer abgespeichert. Dann wiederholte sich der ganze Vorgang, bis nach der vorgegebenen Anzahl von Belastungsschritten die Entlastung nach dem gleichen Prinzip vonstatten ging.

Die Auslenkung des Biegebalkens wurde nach dem Versuch bestimmt. Sie wurde aus den Bildern errechnet, die während der Versuche zwischen jedem Be- und Entlastungsschritt aufgenommen wurden. Für die Auswertung dienten wiederum AutoIt (AutoIt) Makros. Zunächst wurden in einem Bildbearbeitungsprogramm die auszuwertenden Bilder geladen. In jedem Bild wurde ein Kasten immer um den gleichen Detailpunkt gezogen. Aus der Position dieses Kastens und der Verfolgung dieser Position war es möglich, über eine Kalibrierung der Strecken im Bild mit Hilfe des  $\mu\text{m}$ -Maßbalkens, die Auslenkung der Probe zu bestimmen. Nach den Versuchen wurde die gemessene Kraft über der Balken-Auslenkung aufgetragen und eine Gerade an die Be- und Entlastungskurve angenähert. Aus der Steigung der Geraden und mit der genauen Kenntnis der Geometrie des Biegebalkens war es möglich, den Elastizitätsmodul, unter Verwendung von Gleichung [2.4] für ein rechteckigen und [2.5] für einen runden Balkenquerschnitt (Kapitel 2.4), zu berechnen.

Entlang der Proben wurden an unterschiedlichen Stellen, also mit unterschiedlichen Balkenlängen und Steifigkeiten, Messungen durchgeführt. In der Tabelle 4.1 sind die aus den Be- und Entlastungskurven errechneten Mittelwerte der Elastizitätsmoduli aufgeführt.

Tabelle 5.1: Elastizitätsmoduli bestimmt aus den Be- und Entlastungskurven der Biegeproben.

Probe	Material	Elastizitätsmodul aus der Belastung [GPa]	Elastizitätsmodul aus der Entlastung [GPa]
Kapton <sup>®</sup>	Polyimid	3.73±0.60	3.60±0.54
Rosshaar	Keratin	6.28±0.66	6.37±0.64
Fichtenholzzelle	Cellulosefaser- Verbundwerkstoff	28.2±4.0	25.6±4.0

### Zugversuche

Mit der Kraftmesseinheit wurden auch Zugversuche an Proben im  $\mu\text{m}$ - Bereich im FIB *in situ* durchgeführt. Mit Hilfe der Wolframabscheidung des FIB Systems konnten die Proben mit dem einen Ende an der piezoresistiven Kraftmessspitze und mit dem anderen Ende an einem Metallklötzchen befestigt werden (Abbildung 2.10 im Kapitel 2.5). Durch eine schrittweise Bewegung der Kraftmessspitze weg vom Metallklötzchen wurde eine Zugkraft auf die Probe aufgebracht, bis die Zugfestigkeit der Probe oder die maximal auslesbare Kraft der Kraftmessspitze erreicht war. Zwischen jedem Schritt des Mikromanipulators nahm das FIB ein Bild der Probe auf. Ein AutoIt Makro kontrollierte die Steuerung des Mikromanipulators und das Auslesen der Kraftmessspitze (Appendix 6.4). Die Aufnahme von Bildern wurde manuell durchgeführt.

Die Dehnung der Probe wurde ebenfalls aus den Bildern, die während der Versuche aufgenommen wurden, bestimmt. Es hatte sich allerdings gezeigt, dass die bei den Biegeversuchen verwendete Methode bei den geringen Dehnungsschritten der Zugversuche zu ungenau war. Daraufhin wurde eine neue Methode entwickelt, bei der ebenfalls über ein AutoIt Makro (Appendix 6.4) unter Verwendung eines Bildbearbeitungsprogramms entlang einer definierten Linie auf der Probe die Grauwerte für jeden Pixel aus den Bildern extrahiert wurden. Durch das Anpassen eines Peaks an beiden Probenenden einer Gaußfunktion und der Aufzeichnung der Peakpositionen war es möglich, über die relative Verschiebung der Peaks untereinander, die Dehnung der Probe zu bestimmen (Abbildung 2.11 im Kapitel 2.6). Die zu erzielende Genauigkeit mit der die Dehnung der Proben bestimmt werden konnte, war durch Pixelauflösung der zugrunde liegenden Bilder gegeben (in diesem Falle 1024 x 881 Pixel) und lag in den vorgestellten Fällen bei bestenfalls 0,05% Dehnung (Auflösungsgrenze 0.04% Dehnung).

Nach den Versuchen wurden mit dem FIB System Querschnitte der Zugproben in regelmäßigen Abständen voneinander angefertigt und die Querschnittsflächen aufgenommen. Anhand der aufgenommenen Bilder wurde eine mittlere Querschnittsfläche der Proben bestimmt. Aus den Querschnittsflächen und den gemessenen Kräften konnten die Spannungen der Proben berechnet und anschließend über den aus den Bildern berechneten Dehnungen aufgetragen werden.

Die erste Probe, die untersucht wurde, war ein Haar oder Seta der haarigen Haftstruktur an den Beinen eines Ampferblatt-Käfers (*Gastrophysa viridula*). Dieser hat, wie viele Insekten und Geckos, an der Unterseite der Füße Haftstrukturen, die es ihm ermöglichen auf nahezu allen Oberflächen sogar kopfüber zu laufen. Um eine solche Haftstruktur technisch nachzuahmen benötigt man genaue Informationen über die Geometrie und die mechanischen Eigenschaften der einzelnen Haftstrukturen, genannt Seta. Mit der vorgestellten Methode war es zum ersten Mal möglich einen Zugversuch an einer einzelnen Seta durchzuführen (Abbildung 3.11 im Kapitel 3.3.1). In Abbildung 3.13 ist das Spannungs-Dehnungs-Diagramm des Zugversuches dargestellt, der Verlauf zeigt einen linear elastischen Bereich, bis hin zum Versagen der Probe durch einen spröden Bruch. Aus dem Diagramm konnten der Elastizitätsmodul, die Bruchspannung und die Bruchdehnung bestimmt werden. Die Werte aus den Zugversuchen sind in der Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Des Weiteren wurden die mechanischen Eigenschaften von natürlicher und künstlich hergestellter Spinnenseide verglichen. Spinnenseide hat unübertroffene mechanische Eigenschaften, wie zum Beispiel eine sehr hohe Bruchdehnung bei gleichzeitig hoher Bruchspannung. Der Forschungsgruppe um Dr. Thomas Seidel an der Technischen Universität München ist es gelungen im Labormaßstab Proteine der Spinnenseide in Bakterien zu erzeugen und anschließend Fäden aus diesen Proteinen zu spinnen. Sie konnten nachweisen, dass natürlich gewonnene Fäden von Gartenkreuzspinnen (*Araneus diadematus*) chemisch identisch mit den von ihnen künstlich erzeugten sind (Huemmerich *et al.*, 2005). Ein mechanischer Vergleich der beiden unterschiedlich gewonnenen Spinnenseiden fehlte noch.

Mit der neu entwickelten Testmethode wurden Zugversuche an natürlich gewonnener Seide der Sicherheitsleine einer Gartenkreuzspinne und an künstlich hergestellten Seiden durchgeführt (Abbildungen 3.17; 3.20 und 3.21). Die gemessenen Werte der mechanischen

Eigenschaften sind in der Tabelle 4.2 zusammengefasst. Der Elastizitätsmodul der natürlichen Spinnenseide war fast doppelt so hoch wie der der künstlich hergestellten Seiden. Bei der Untersuchung der Querschnittsflächen der künstlich hergestellten Spinnenseide hatte sich gezeigt, dass diese im Gegensatz zu den dichten natürlichen Spinnenfäden eine Porosität aufwiesen. Der erste Faden (Sample 1) hatte eine relative Porosität von  $4.7 \pm 1.9$  % der zweite (Sample 2) von  $2.8 \pm 0.4$  %.

Es wurden ferner Mechanorezeptoren, sogenannte Filiform Sensoren, von den Cerci von Heimchen (*Acheta domesticus*) untersucht (Abbildung 1.16). Die Filiform Sensoren bestehen aus einem bis zu 1500  $\mu\text{m}$  langem und bis zu 9  $\mu\text{m}$  breiten Wind-Rezeptor-Haar, das in einem becherförmigen Sockel steckt. Das Haar ist durch eine Art Kugelgelenk am Boden des Bechers verankert. Wie die Bezeichnung Wind-Rezeptor-Haar schon impliziert, dient der Filiform Sensor zur Wahrnehmung von Luftbewegungen. Durch Luftbewegungen werden die Haare ausgelenkt, diese Auslenkung wird durch eine Sinneszelle am Ende des Haares, am Boden des Bechers detektiert. Auf der Kutikula am Rande des Bechers befinden sich zwei gegenüberliegende campaniforme Sensillen, die, so vermutet man, die Richtung der Auslenkung detektieren (Gnatzy und Schmidt, 1971).

Das FIB System hat sich als vorteilhaft für die Untersuchung dieser komplexen biologischen Strukturen erwiesen. Die Möglichkeit gezielt Querschnitte anzufertigen sowie die hohe Tiefenschärfe kombiniert mit der hohen Auflösung des Mikroskops ermöglichten Aufnahmen, die die dreidimensionale Gestalt der Struktur zeigen, wie in Abbildungen 1.7, 1.9 b) und 1.10 in Kapitel 1.4.2 eindrucksvoll darstellen.

Für ein genaues Verständnis der Funktion der Filiform ist es notwendig, die mechanischen Eigenschaften der Wind-Rezeptor-Haare zu kennen. Mit Hilfe der neuen Methode war es möglich, Zugversuche an unterschiedlichen Wind-Rezeptor-Haaren durchzuführen. Die mechanischen Eigenschaften der Haare sind in Tabelle 4.2 dargestellt.



## 5. Deutsche Zusammenfassung

---

Tabelle 5.2: Mechanische Eigenschaften der in den Zugversuchen untersuchten Proben. Berechnet für angenommene Vollmaterialien (ohne die Poren zu berücksichtigen).

Probe	Material	Elastizitätsmodul [GPa]	Zugfestigkeit [MPa]	Bruchdehnung [%]
Seta	Chitinfaser Verbundwerkstoff	11.2±1.0	309±60	2.51±0.06
Filiform Test 1	Chitinfaser Verbundwerkstoff	16.3±1.2	396±55	2.84±0.06
Filiform Test 2	Chitinfaser Verbundwerkstoff	27.6±2.2	544±72	2.56±0.05
Natürliche Spinnenseide	Protein Faser	11.5±1.0	474±20	8.84±0.06
Künstliche Spinnenseide Test 1	Protein Faser	5.8±0.3	124±14	2.94±0.06
Künstliche Spinnenseide Test 2	Protein Faser	6.9±1.4	232±58	14.53±0.05

### Zusammenfassung und Diskussion

Die im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelte Methode zur Durchführung von mikromechanischen Tests ermöglicht, biologische Materialien und Strukturen zu untersuchen, die zuvor mit keiner anderen Methode untersucht werden konnten. Proben im  $\mu\text{m}$ -Bereich konnten im FIB zielgenau präpariert werden, ohne Artefakte durch eine mechanische Probenpräparation (z.B. während des Schneidens oder Schleifens) zu erzeugen. Durch die Verwendung des Mikromanipulators war es möglich, Proben im  $\mu\text{m}$ -Bereich zu handhaben und mit der notwendigen Kraft- und Dehnungsauflösung zu testen.

Durch die *in situ* Verwendung der Messmethode kann das Verhalten der Probe während des Versuches genau beobachtet werden. Des Weiteren ermöglicht die Dehnungsmessung anhand von Bildern, die während des Versuches aufgenommen wurden, Gradienten in der Dehnung entlang der Probe zu bestimmen. Da die Versuche im Vakuum des REM oder des FIB durchgeführt wurden, wurden immer trockene Proben untersucht. Es ist bekannt, dass bei biologischen Materialien der Feuchtigkeitsgehalt einen großen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften hat, dass mit abnehmendem Feuchtigkeitsgehalt der Elastizitätsmodul und die Bruchspannung ansteigen und die Bruchdehnung abnimmt. Da biologische Materialien sofort nach dem Entfernen vom lebenden Organismus beginnen auszutrocknen, entspricht aber auch

der in der Literatur häufig verwendete Begriff „feucht“ oder „natürlich“ keinem wohldefinierten Probenzustand mit einem bekannten Feuchtegehalt.

Der trockene Zustand der Proben während der Versuche im Vakuum hat den Vorteil, dass er ein wohldefinierter und reproduzierbarer Referenzzustand ist. Besonders für den Vergleich von Materialeigenschaften ist dies ausgesprochen wichtig.

Die vorgestellte Messmethode zeichnet sich auch durch ihre vielseitige Verwendbarkeit aus. Die Durchführung der Versuche ist nicht an ein REM oder FIB gebunden. Man kann die Versuche bei entsprechender Adaption auch unter einem Lichtmikroskop oder in einem Environmental-REM, durchführen. Dadurch wäre der Nachteil der Vakuum-Probenkammer nicht gegeben und es könnten mechanische Versuche an biologischen Proben mit unterschiedlichen Feuchtegehalten durchgeführt werden.

Die Werte der mechanischen Eigenschaften der Proben, gemessen mit der Biege- und Zugmethode, werden anhand von Literaturwerten in Kapitel 3.4 diskutiert. Die gemessenen Werte zeigen eine gute Übereinstimmung mit den Literaturwerten.