

Biofilminhibition durch Nano-Ceroxid-Komposite

Dissertation

zur Erlangung des Grades

"Doktor der Naturwissenschaften"

im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften

der Johannes Gutenberg-Universität

in Mainz

vorgelegt von:

Felix Pfitzner

geboren in Stuttgart

Mainz, den 20. Juli 2021

D77

Dekan [REDACTED]

Erster Berichterstatter: [REDACTED]

Zweiter Berichterstatter: [REDACTED]

Tag der mündlichen Prüfung: 09.07.2021

Eigenständigkeitserklärung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit Juli 2017 bis April 2021 unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Tremel im Department Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt.

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet wurden. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen übernommen wurden sind als solche gekennzeichnet.

Mainz, April 2021

X



Felix Pfitzner

Kurzfassung

Die Natur nutzt die enzymatische Bromierung von bakteriellen Signalmolekülen als Abwehrmechanismus gegen Biofouling. Durch die Halogenierung wird die Zersetzung der Signalmoleküle ausgelöst und so die Bildung eines Biofilms verhindert. Die enzymatische Bromierung kann mit Hilfe von Ceroxid-Nanopartikeln nachgeahmt werden. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf der Synthese-Entwicklung und -Optimierung von Ceroxid-Nanopartikeln für die Herstellung biofilminhibierender Oberflächen.

Es wurden Nanopartikel-Synthesen optimiert, mit denen einfach große Mengen hergestellt werden können, um reale Anwendungen zu ermöglichen. Ceroxid-Nanopartikel wurden zur biofilminhibierenden Oberflächenausstattung von Lack- und Polymeroberflächen genutzt. Die katalytische Aktivität von Ceroxid-Nanostäbchen konnte durch Austausch des Alkalikations, des korrespondierenden Hydroxids, optimiert werden. Weiterhin wurden Polycarbonat-Oberflächen mit Ceroxid-Nanostäbchen beschichtet und nanopartikelhaltige Formkörper 3D-gedruckt. Zudem konnte eine neuartige, mikrowellenunterstützte Solvothermalsynthese von CeO_2 -Nanopartikeln in Butylacetat entwickelt werden, welche sich besonders für die Einbettung von Ceroxid-Nanopartikeln in Polyurethan-Lacke eignet. Die für die Oberflächenausstattung maßgeschneiderten Nanopartikel wurden auf ihre katalytischen Eigenschaften der oxidativen Bromierung von Phenolrot und die hergestellten Oberflächen auf ihre Biofilminhibierende Wirkung untersucht. Die Zusammensetzung des Biofilms wurde mit Hilfe von Lebend-/Tod-Färbung untersucht und seine Virulenz (Ansteckungsfähigkeit) mit einem Pyocyanintest analysiert. Während sich das Verhältnis von toten zu lebenden Bakterien innerhalb des Biofilms nicht änderte, sank die Gesamtzahl angefärbter Bakterien. Des Weiteren sank die Virulenz des getesteten Biofilms. Mit Hilfe von Zytotoxizitätstests wurde eine toxische Wirkung von CeO_2 -Nanopartikeln auf humane Zellen untersucht. Im Rahmen des durchgeführten Tests konnte keine toxische Wirkung festgestellt werden. Die haloperoxidasemimetische Wirkung der Nanopartikel wurde bewiesen, indem die oxidative Bromierung von 3-oxo- C_{14} -HSL mit Hilfe von Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung nachgewiesen wurde.

Die entwickelten Methoden könnten zukünftig für die Herstellung kommerzieller, biofilminhibierender Oberflächen genutzt werden.

Abstract

Nature uses the enzymatic bromination of bacterial signal molecules as a defense mechanism against biofouling. The halogenation triggers the decomposition of the signal molecules, thus preventing the formation of a biofilm. Enzymatic bromination can be mimicked using ceria nanoparticles. The focus of this work is the synthesis development and optimization of ceria nanoparticles for the preparation of biofilm inhibiting surfaces.

Nanoparticle syntheses were optimized thus large quantities can be easily produced to enable real-world applications. Cerium oxide nanoparticles have been used for biofilm inhibitory surfaces of paint and polymer surfaces. The catalytic activity of ceria nanorods could be optimized by replacing the alkali cation of the corresponding alkali hydroxide. Polycarbonate surfaces were coated with ceria nanorods and nanoparticle-containing bodies were 3D printed. In addition, a novel microwave-assisted solvothermal synthesis of CeO₂ nanoparticles in butyl acetate was developed, which is particularly suitable for embedding ceria nanoparticles in polyurethane paint. The nanoparticles tailored for surface equipment were evaluated for their catalytic properties of oxidative bromination of phenol red and the prepared surfaces for their biofilm inhibiting activity. The composition of the biofilm was examined using live/dead staining and its virulence (infectivity) was analyzed using a pyocyanin assay. While the ratio of dead to live bacteria within the biofilm did not change, the total number of stained bacteria decreased. Furthermore, the virulence of the tested biofilm decreased. Cytotoxicity tests were used to investigate a toxic effect of CeO₂ nanoparticles on human cells. No toxic effect was detected in the conducted test. The haloperoxidase-mimetic effect of the nanoparticles was proven by detecting the oxidative bromination of 3-oxo-C14-HSL using liquid chromatography with mass spectrometry coupling.

The developed methods could be used for the preparation of commercial biofilm inhibiting surfaces in the future.

Danksagung:

[REDACTED]

[Redacted text block 1]

[Redacted text block 2]

[Redacted text block 3]

[Redacted text block 4]

[Redacted text block 5]

[Redacted text block 6]

[Redacted text block 7]

[Redacted text block 8]

[Redacted text block 9]

Inhalt

Kapitel 1	<i>Theoretische Grundlagen</i>	1
1.1	Biofilme	1
1.2	Biozide	4
1.3	CeO ₂	6
1.4	CeO ₂ als Enzymmimetikum	8
Kapitel 2	<i>Ceroxid-Nanostäbchen</i>	11
2.1	Ergebnisse	13
2.2	Zusammenfassung und Ausblick	25
2.3	Material und Methoden	26
Kapitel 3	<i>Beschichtung von Polycarbonat mit Ceroxidnanopartikeln</i>	29
3.1	Beiträge zur Autorenschaft	29
3.2	Einleitung	30
3.3	Ergebnisse und Diskussion	32
3.5	Experimenteller Teil	42
3.6	Methoden	46
3.7	Supporting Information:	48
Kapitel 4	<i>3D-Druck von Ceroxid-Nanopartikeln in Polymermatrizes</i>	52
4.1	Ergebnisse	54
4.2	Einbettung von CeO ₂ -Nanopartikeln in Folien	58
4.3	Herstellung und 3D-Druck eines ceroxidhaltigen PETG-Filaments	63
4.4	Materialien und Methoden	68
Kapitel 5	<i>Ausrüstung von PUR-Lacken mit CeO₂-Partikeln</i>	73
5.1	Ergebnisse	74
5.2	Materialien und Methoden	91

Kapitel 6	Katalytische Halogenierung von Signalmolekülen (AHLs)	95
6.1	Charakterisierung von $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -Partikeln	95
6.2	N-Acyl-Homoserinlactone	98
6.3	Ergebnisse	100
6.4	Materialien und Methoden	103
Kapitel 7	Zusammenfassung und Ausblick	105
	Literaturverzeichnis	107
	Abbildungsverzeichnis	120
	Tabellenverzeichnis	127
Anhang		128
	Pulverdiffraktogramme	128
	Thermogravimetrische Analysen	130
	Massenspektrometrie	131
	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	133
	MAS-NMR	135
	Lebenslauf	138
	Publikationsliste	139

Kapitel 1 Theoretische Grundlagen

1.1 Biofilme

Auf allen Grenzflächen, vornehmlich jedoch an Flüssig- und Festphasengrenzflächen können sich Biofilme bilden. Dabei handelt es sich um einen komplexen Vorgang: Zuerst lagern sich organische Moleküle an der Oberfläche an, die nur schwach durch Van-der-Waals-Kräfte gebunden sind. Diese dienen suspendierten Bakterien als Nahrungsgrundlage. Anfangs sind die Mikroorganismen noch reversibel gebunden und nur mit mikroskopischen Methoden nachweisbar (Abbildung 1, Phase I + II).^[1]

Liegen gute Wachstumsbedingungen vor steigt die Bakterienpopulation (innerhalb weniger Stunden) und es wird eine schützende Schleimschicht, bestehend aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), ausgebildet. Es handelt sich hierbei um ein polysaccharidhaltiges Hydrogel, welches mechanisch und chemisch nur schwer zu entfernen ist. Diese Schleimschicht wird von weiteren Mikroorganismen besiedelt. Die Eigenschaften der ursprünglichen Grenzfläche (Rauigkeit, Hydrophobizität) spielt für Sekundärbesiedler eine stetig irrelevanter werdende Rolle, da sie nur Kontakt zu dem bereits bestehenden Biofilm aufbauen (Phase III + IV).

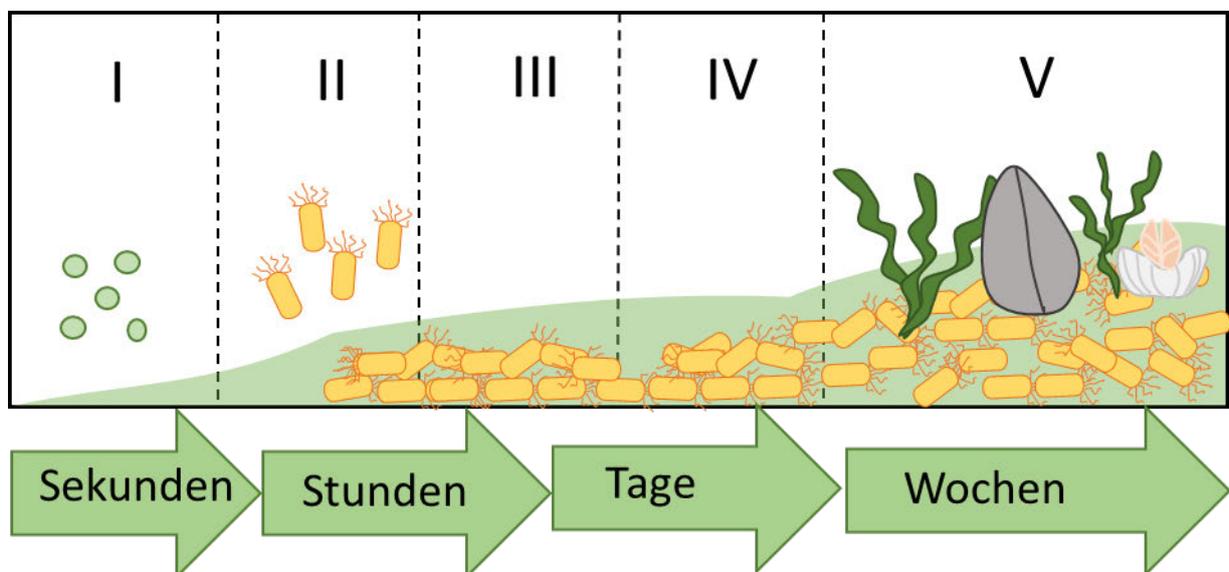


Abbildung 1.: Biofilmbildung in aquatischer Umgebung. (I) Anlagerung organischer Moleküle, (II) Reversible Anlagerung von Bakterien, (III) Ausbildung einer EPS, (IV) Besiedlung weiterer Mikroorganismen, (V) Wachstum makroskopischer Besiedlung.^{[2][3]}

Nach einigen Wochen wird ein Gleichgewicht zwischen Wachstum- und Ablöseprozessen erreicht. Dieses wird von der Menge an vorhandenen Nährstoffen und auf den Biofilm wirkenden Scherkräften bestimmt. Bei schneller, konstanter Strömung bilden sich flache, kompakte Biofilme, bei geringen Scherkräften bildet sich ein voluminöser Biofilm aus.^[4-6] (Phase V + VI).^[7,8]

Mikroorganismen steuern ihr Gruppenverhalten über Signalmoleküle, sogenannte Autoinducer. Diese Art der chemischen Kommunikation wird Quorum Sensing (QS) genannt. Quorum Sensing wurde entdeckt, da die biolumineszenten Bakterien *Aliivibrio fischeri*, die in den Leuchtorganen von Tiefseefischen leben, in Laborkulturen während des exponentiellen Wachstums kurz aufblitzen.^[9] Über Quorum Sensing wird unter anderem die Pathogenität von Bakterien, antifungale und nematozide (Fadenwurm abtötende) Eigenschaften und die Symbiose mit Pflanzen gesteuert.^[10] Auch die Biofilmbildung wird über Quorum Sensing gesteuert.^[11-13]

Es gibt verschiedene Klassen an Signalmolekülen (engl. Autoinducer), die zur Inter- und Intraspezieskommunikation genutzt werden. Gramnegative Bakterien, Bakterien mit dünner Zellwand, nutzen Acylierte Homoserinlactone (AHL), welche in der Literatur oft als AI-1-Autoinducer zu finden sind. Grampositive Bakterien, Bakterien mit sehr dicker Zellwand, nutzen vor allem Peptide als Signalmoleküle. Furanosylverbindungen, z.B. Furanosylborat werden zur Kommunikation zwischen gramnegativen und grampositiven Bakterien verwendet (AI-2).^[14,15] Nicht nur die Kommunikation unter den Bakterien läuft über Autoinducer ab, Pflanzen, aber auch der Mensch besitzen Rezeptoren, um die Konzentration von Autoinducern zu überwachen und steuern darüber unter anderem ihr Immunsystem.^[16,17]

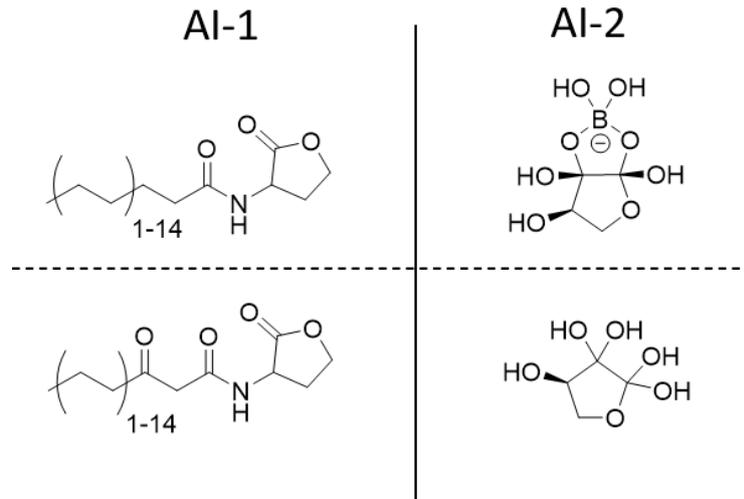


Abbildung 3.: Beispiele für Quorum-Sensing Moleküle (Autoinducer) isoliert aus der Rotalge *Delisea pulchra*.^[15]

Biofilme sind nützlich, sie werden benötigt um organische Biomasse zu zersetzen und bilden einen wichtigen Bestandteil des Lebens. In manchen Bereichen des alltäglichen Lebens sind sie jedoch unerwünscht: In der Schifffahrt sorgen sie für mehr Strömungswiderstand, Miesmuscheln, Seepocken und sulfatreduzierende Bakterien fördern die Korrosion der Schiffswand. So sorgen sie für hohe Kosten durch steigenden Treibstoffbedarf und die regelmäßig benötigte mechanische Reinigung. Als Folge dessen muss der Schiffsrumpf alle 3-5 Jahre neu lackiert werden.

In der Industrie verursachen Biofilme Probleme in Herstellungsprozessen, z.B. von Papier. Mechanische Bauteile können ihre Funktion verlieren, die Wärmeleitfähigkeit wird beeinträchtigt, es kann zu Druckverlust und zu optischen Beeinträchtigungen kommen. In Trinkwasserleitungen setzen sich Legionellen in Biofilmen ab und infizieren jährlich bis zu 30.000 Patienten mit der Legionärskrankheit. Mögliche Gegenmaßnahmen wie das Durchspülen der Rohre und Erhöhen der Temperatur töten die Bakterien nur unzureichend ab, sodass diese immer wieder auftreten. Daher muss das Trinkwasser in großen Mehrfamilienhäusern regelmäßig auf Legionellen untersucht werden.

In Krankenhäusern ist die Situation noch problematischer. Durch die exzessive Gabe von Antibiotika haben sich viele antibiotikaresistente Keime gebildet. Diese für Menschen mit normalem Immunsystem ungefährlichen Keime können bei geschwächten Patienten zu nosokomialen Infektionen (Krankenhausinfektionen, engl.: „hospital acquired infections“ (HAI)) führen, die nur sehr schwer zu behandeln sind.

Bei einem Großteil dieser Infektionen handelt es sich um gramnegative Bakterien.^[18] Der Anteil an Infektionen durch gramnegative Bakterien sowie mehrfach antibiotika-resistenten Bakterien steigt dabei an.^[19] Aufgrund ihrer komplexen Zellwand können gramnegative Bakterien den Zufluss mehrerer Antibiotikaklassen durch Porine (Transmembranproteine) in der Zellwand regulieren, was zu Resistenzen führt.^[20]

1.2 Biozide

Desinfektionsmittel können Bakterien nur zuverlässig abtöten, wenn sie in direkten Kontakt mit Ihnen kommen. Hat sich eine Schleimschicht aus EPS gebildet, kann es passieren, dass trotz des Einsatzes von Desinfektionsmitteln Bakterien überleben.^[21,22] Biofilme befinden sich oftmals an schwer zugänglichen Orten, sodass die Möglichkeiten zur Entfernung des Biofilms eingeschränkt oder kostenintensiv sind. Der Einsatz aggressiver Chemikalien birgt oft auch Gefahren für Mensch und Natur: Die in der Vergangenheit von Schifffahrtsindustrie verwendeten zinnhaltigen Biozide wie Tributylzinnhydrid (TBT) wurden 2008 wegen ihrer hormonellen Wirkung von allen Mitgliedstaaten der internationalen Seeschifffahrtsorganisation der UN verboten.^[23] Ersatzprodukte wie Cybutryn (Irgarol®) erwiesen sich ebenfalls als problematisch und wurden 2017 verboten.^[24] Aufgrund der persistenten Eigenschaften der Biozide können diese auch noch Jahre nach ihrem Verbot in Sedimenten nachgewiesen werden.^[25] Das aktuell in Schiffslacken verwendete Kupferoxid wird aufgrund der selbstpolierenden Eigenschaften des Lackes in großen Mengen im Meer verteilt und löst so zum Beispiel Korallenbleichen aus.^[26] In der San Diego Bay Area werden durch Schifffahrt jährlich 2,163 kg/Jahr Kupfer freigesetzt, wovon 2000 kg/Jahr durch Auslaugung in die Umwelt gelangen.^[27]

Die Wirkweise von Kupfer beruht auf der langsamen Freisetzung von Kupferionen.^[28] Diese können reaktive Sauerstoffspezies (ROS) freisetzen und so die DNA schädigen, Enzyme und Proteine durch Bindung an Thiolgruppen denaturieren sowie Lipide peroxidieren und so Zellmembrane schädigen.^{[29][30]} Zudem schädigen diese den Zellmetabolismus. So konnte gezeigt werden, dass *E.Coli*-Bakterien in Anwesenheit von Kupfer 25% weniger Sauerstoff und nur 64% Glucose nutzen wie die kupferfreie Referenz.^[31]

Biozide werden verwendet um den Bewuchs mit Mikroorganismen und Algen zu verhindern. In mehreren Studien konnte jedoch ein toxischer Effekt auf größere Organismen wie Schrimps, Lachs und Forellen nachgewiesen werden.^[32,33] Es wird geschätzt, dass 70% des Kupfers durch Auslaugung oder Reinigung von Antifoulingfarben in die Umwelt gelangt.^[34] Dabei wird durch selbstreinigende Lacke an Freizeitbooten im Durchschnitt ca. $8,2 \mu\text{g cm}^{-2}\text{Tag}^{-1}$ freigesetzt.^[34]

Auch außerhalb der Schifffahrt eingesetzte Biozide sind problematisch. Die aktuell vielfach in antibakteriellen Oberflächen, aber auch Textilien eingesetzten, Silber-Nanopartikel sind gesundheitsbedenklich. Die Wirkweise beruht auf der Thiophilie der freigesetzten Ag^+ -Ionen. Diese binden an Schwefelmoleküle in Proteinen und ändern so ihre Struktur. Dabei ist bei antibakteriell wirksamen Konzentrationen auch beim Menschen mit toxischen Effekten zu rechnen.^[35-37] Es gibt viele Ansätze die Biofilmbildung ohne den Einsatz toxischer Biozide zu inhibieren. Silikonbasierte Beschichtungen sind sehr effektiv gegen sogenannten harten Bewuchs (engl. „hard fouling“), dem Bewuchs von Seepocken und Miesmuscheln. Sie können jedoch das Fouling mit weichem Bewuchs (engl. „soft fouling“), Bakterien und Algen, nicht verhindern.^[38] In Trinkwassersystemen kann das Biofilmwachstum proaktiv gehemmt werden, indem der assimilierbare organische Kohlenstoff (engl. „assimilable organic carbon“, AOC) reduziert wird ($<10 \mu\text{g C/L}$).^[39,40] Dies verlangsamt die Bildung eines Biofilms. Da die Regularien für die Inverkehrbringung neuer Biozide sehr streng sind und auch die Toxizität und Permeabilität aller Abbauprodukte untersucht werden müssen, liegt der Fokus der Forschung auf biomimetischen Lösungen. Mittels mikrostrukturierten Oberflächen, inspiriert von der Struktur von Haihaut, soll der Biofilm-Bewuchs gehemmt werden.^[41] Es wird zudem daran geforscht wie die Oberflächenbeschaffenheit der Biofilme verändert werden kann, damit diese für Reinigungsmittel besser zugänglich gemacht werden.^[42] Mit superhydrophoben Oberflächen, wie in der Natur von *Salvinia molesta* benutzt, soll der Strömungswiderstand von Schiffen reduziert werden.^[43] Umweltfreundliche, oberflächenaktive Agenzien sollen die mikrobiell induzierte Korrosion stoppen.^[44] Es wird auch an der Kombination mehrerer Wirkweisen wie zum Beispiel das Aufbringen biozider Kupferhydroxid-Nanostäbchen auf superhydrophobe Oberflächen geforscht.^[45]

1.3 CeO₂

Das Element Cer ist die in der Erdkruste am häufigsten vorkommende seltene Erde. Mit einem Anteil an der Erdkruste von ca. $4,3 \cdot 10^{-3}$ % ist es ungefähr so selten wie Kupfer.^[46,47] Cer kommt in der Natur in Mineralien vor. Die wichtigsten cerhaltigen Mineralgruppen sind Bastnäsit (Ce,La,Nd,Y)(F|CO₃), Monazit (Ln[PO₄]) und Loparit ((Ce,Na,Ca)(Ti,Nb)O₃). Die geringen Unterschiede der Ionenradien dreiwertiger Lanthanide bedingt *isomorphe Vertretbarkeit*, weshalb Lanthanide stets vergesellschaftet vorliegen.^[48] Cer wird kommerziell hauptsächlich als Beiprodukt der Titan und Zirconproduktion gewonnen, da Monazit häufig gemeinsam mit Ilmenit, Zircon und Rutil vorkommt. Loparit ist für das Commonwealth unabhängiger Staaten (C.I.S.-Staaten) die Hauptquelle für seltene Erden.^[49]

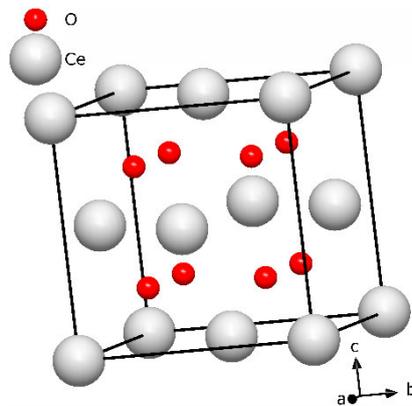


Abbildung 5.: Kristallstruktur von CeO₂. Die Struktur wurde mit Diamond Ver. 4.6.3 graphisch dargestellt.^[49,50]

Cer kann sowohl die Oxidationszahl +3 und +4 annehmen. An Luft reagiert metallisches Cer schnell zu seinen Oxiden. Ce_2O_3 ist ebenfalls anfällig für Oxidation und bildet nichtstöchiometrische Suboxide, sogenannte Magnéli-Phasen Ce_nO_{2n-2m} . Bei Raumdruck liegt der Großteil von Ceroxid als CeO_2 vor. Cer(IV)oxid kristallisiert dabei in der Fluorit Struktur (Raumgruppe Fm-3m, Nr. 225) mit einem Gitterparameter von $a=0.541$ nm, wie in Abbildung 5 dargestellt. ^[49,50]

Der Großteil der Jährlichen Cer-Produktion wird als Katalysator für Abgas-Reinigungssysteme verwendet. Dabei sorgt Ceroxid als Oxidationsmittel für eine saubere Verbrennung und weitere cerhaltige Katalysatorzusätze helfen die Schwefeloxidemissionen zu senken. Neben der Behandlung gasförmiger Emissionen werden Katalysatoren mit Cer-Anteil zur Behandlung flüssiger Abfälle und bei der Syntrolherstellung zur Dehydrogenierung von Ethylbenzol eingesetzt. ^[49] Ceroxid-Suspensionen werden zur mechanischen Politur von Mikroelektronik, Wafern, Displays und optischen Materialien eingesetzt. ^[46] In der aktuellen Forschung werden Ceroxid-Katalysatoren mit Übergangsmetallen substituiert, um die Katalysatoreffizienz zu steigern. ^[51-55]

Großer Vorteil von Cer-Verbindungen ist ihre geringe akute Toxizität. Die orale, letale Dosis von 50% (LD_{50}) der getesteten Mäuse liegt bei über 5 g/kg Körpergewicht $LD_{50}(CeO_2) > 5000$ mg/kg. ^[49] Während die meisten Anwendungen mit Bulkwaren-Ceroxid als Katalysator hohe Temperaturen benötigen, wurde in den letzten Jahren berichtet, dass Ceroxid-Nanopartikel die Funktion von zahlreichen Enzymen, unter anderem Superoxiddismutase, Catalase und Oxidase, nachahmen können. ^[56-58]

1.4 CeO₂ als Enzymmimetikum

Bei Enzymen handelt es sich aus chemischer Sicht um spezialisierte heterogene Katalysatoren, die unter physiologischen Bedingungen spezifische Reaktionen ermöglichen. Die hohe Spezifität wird durch große Bindungstaschen erreicht, die komplementär zum Substrat aufgebaut sind. Mit Metalloxidnanopartikeln ist es nicht oder nur sehr unzureichend möglich diese, im Laufe der Evolution perfektionierten, Bindungstaschen nachzuahmen. Daher ist die Spezifität von Metalloxid-Nanopartikeln im Vergleich zu den Enzymen, die sie sie nachahmen, deutlich geringer. Enzyme funktionieren aufgrund der komplexen Bindungstasche nur unter denen für sie perfekten Bedingungen. Ändern sich diese, sinkt die Enzymaktivität drastisch oder das Enzym denaturiert.^[59] Metalloxid-Nanopartikel sind über einen deutlich größeren PH- und Temperaturbereich stabil und können so andere Anwendungsfelder erschließen.

Von Herget et al wurde berichtet, dass Ceroxid-Nanostäbchen das Enzym Vanadium-abhängige Haloperoxidase nachahmen können.^[60]

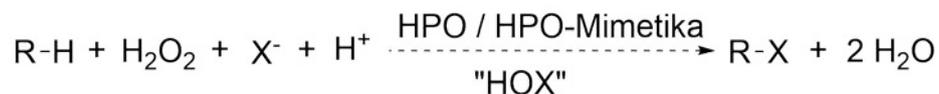


Abbildung 6.: Allgemeines Reaktionsschema von Haloperoxidase-Enzymen. ^[14]

Bei dieser Enzymklasse bindet Vanadium als Lewis-Säure Wasserstoffperoxid. Das Peroxid wird polarisiert und ist durch Halogenide nucleophil angreifbar. Es entsteht ein Hypohalogenit, welches durch Wasser protoniert wird und vom aktiven Zentrum abgespalten wird. Die entstandene hypohalogenige Säure kann geeignete organische Moleküle, wie N-Acyl-Homoserinlactone, oxidativ Bromieren. Als Nebenreaktion wird auch die Entstehung von Singulett-Sauerstoff durch die Reaktion der entstandenen hypohalogenigen Säure mit einem weiteren Molekül Wasserstoffperoxid beobachtet. Ein vorgeschlagener Mechanismus ist in Abbildung 7 dargestellt.^[61]

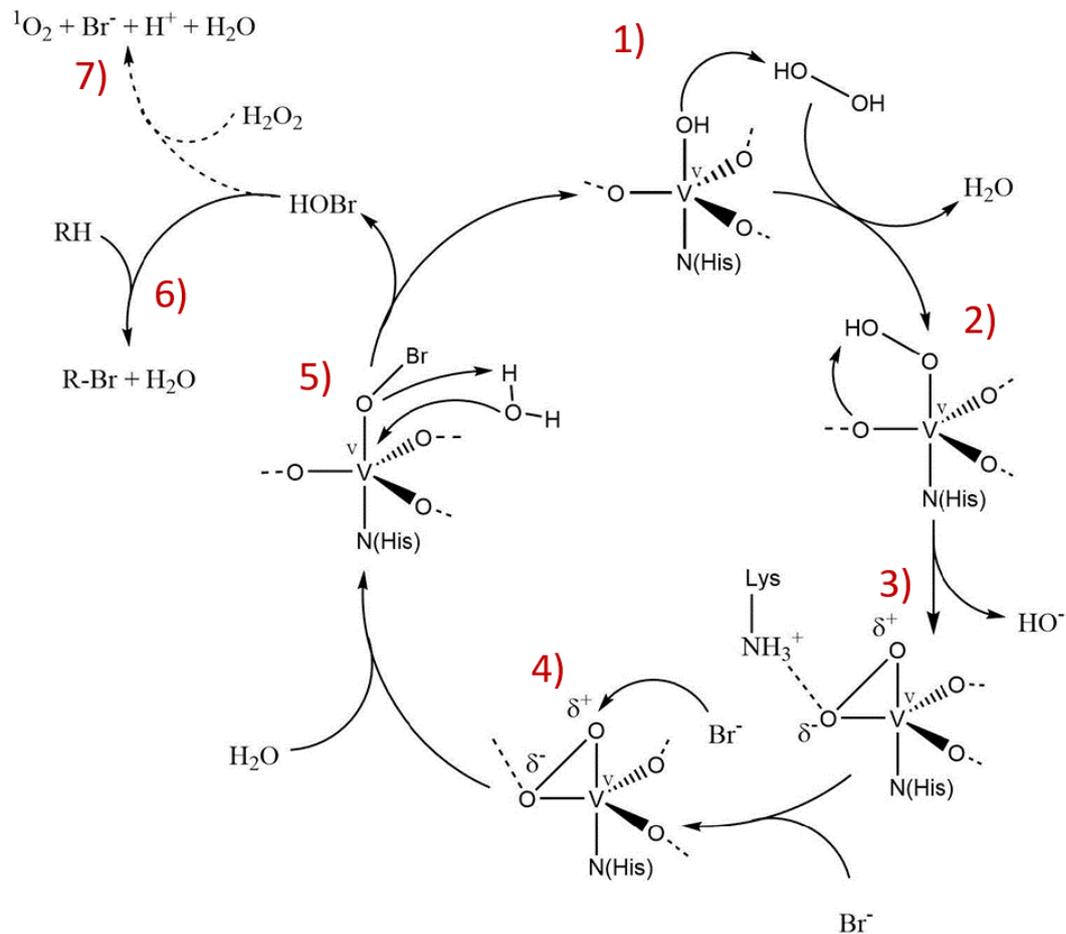


Abbildung 7.: Vorgeschlagener Mechanismus der HOBr-Bildung des Enzyms Vanadium-Haloperoxidase, welches aus dem Knotentang *A. nodosum* isoliert wurde. Es ist nur die erste Koordinationssphäre dargestellt. Es wird unter Wasserabspaltung ein Vanadium-Peroxo-Komplex (end-on) gebildet (1+2). Unter Abspaltung einer Hydroxylgruppe wird ein η^2 -Peroxo-Komplex gebildet (3). Das Peroxid wird durch Wasserstoffbrücken der zweiten Koordinationssphäre polarisiert. Durch einen nucleophilen Angriff eines Bromid-Anions wird die Sauerstoff-Sauerstoff-Bindung gebrochen (4). Das gebildete Hypohalogenit nimmt ein Proton aus Wasser auf, es entsteht Hypobromige Säure (5). Dieses hochreaktive Intermediat kann N-Acyl-Homoserinlactone oxidativ bromieren oder als Nebenreaktion mit einem weiteren H_2O_2 -Molekül zu Singulett-Sauerstoff reagieren (6+7).^[61]

Mit Haloperoxidase-Enzymen können Organismen organische Moleküle in Anwesenheit einer Peroxid- und einer Halogenidquelle oxidativ Halogenieren. Der Name des Enzyms wird durch das jeweils elektronegativste Halogen bestimmt, das mit dem Enzym halogeniert werden kann. Halogenierte Naturstoffe haben vielfältige Funktionen, sie werden zum Beispiel zum Schutz vor oxidativem Stress, Pathogenen, Fressfeinden und Bewuchs genutzt.^[62] Braunalgen nutzen vanadiumabhängige Bromoperoxidasen zum Schutz vor Bewuchs durch Biofilme.^[63] Durch die Unterbrechung des Quorum Sensing wird nicht nur die Biofilm-Bildung der Bakterien gestört, auch Sekundärbesiedler wie Sporen der Grünalge *Ulva Linza* lassen sich an Stellen mit hoher Autoinducer-Konzentration nieder.^[64] Herget et al. konnten zeigen, dass mit ceroxidhaltiger Schiffsfarbe ausgestattete Prüflinge unter Realbedingungen aquatisches Biofouling reduzieren.^[65]

Kapitel 2 Ceroxid-Nanostäbchen

Anisotropie bedingt eine bevorzugte Wachstumsrichtung und dadurch eine bevorzugte Oberfläche von Nanopartikeln. Diese Eigenschaft machen Nanostäbchen zu spannenden Kandidaten für die heterogene Katalyse.^[66]

Ceroxid-Nanostäbchen können die oxidative Bromierung von elektronenreichen Molekülen katalysieren, eine Reaktion welche in der Natur von Haloperoxidaseenzymen maritimer Organismen zum Schutz vor mikrobiellem Bewuchs genutzt wird. Hierbei werden vor allem N-Acyl-Homoserin-Lactone (AHL) halogeniert.^[60] Gramnegativen Bakterien nutzen diese Substanzklasse als Signalmoleküle (Autoinducer), um darüber ihre Populationsdichte zu bestimmen und Gruppenverhalten („Quorum Sensing“) auszulösen.^[67] Über N-Acyl-Homoserin-Lactone ist sowohl eine Inter- als auch Intraspezieskommunikation möglich.

Durch Bromierung wird die Degradierung der Signalmoleküle ausgelöst, wodurch das Quorum Sensing gestoppt wird („Quorum Quenching“).^[68] So schützen sich zum Beispiel Braunalgen vor der Besiedelung von Bakterien.^[60] Viele der halogenierten Reaktionsprodukte haben antimykotische, entzündungshemmende sowie antibakterielle Eigenschaften.^[69]

Biofilme stellen uns im Alltag vor große Herausforderungen. Prominente Beispiele sind Biofilme in Wasserrohren, die ein Reservoir für pathogene Amöben, Bakterien und Pilze bilden und zu Krankheiten führen können.^[70,71] Durch ihren Biofilm sind die Bakterien gegen Reinigungsmittel geschützt und mechanisch nur schwer zu entfernen, wodurch ihre Bekämpfung aufwendiger wird.^[72] Da es immer mehr antibiotika-resistente Keime gibt, ist die Erforschung von antibiotikafreien Alternativen von großem Interesse. Im Labormaßstab konnte bereits gezeigt werden, dass mit geringen Mengen CeO₂-Nanopartikeln versetzte Oberflächen, die Biofilmbildung unter realen Bedingungen reduzieren können.^[73] Ein Einsatz von mit CeO₂-Nanopartikeln ausgerüsteten Oberflächen ist an vielen Orten denkbar. Voraussetzung ist jedoch, dass die Edukte Wasserstoffperoxid (H₂O₂, mikromolare Mengen) und Halogenide (Cl⁻/Br⁻/I⁻, millimolare Mengen) in der Umgebung in ausreichender Menge verfügbar sind oder periodisch zugeführt werden. Dies wäre zum Beispiel durch Zusätze in Reinigungsmitteln oder durch UV-Bestrahlung zur H₂O₂-Erzeugung möglich.^[74]

Ziel dieser Doktorarbeit ist es, Prototypen mit katalytisch aktiven Oberflächen herzustellen, zu testen und falls möglich die biofilmbildende Wirksamkeit zu optimieren. In diesem Rahmen wurden zunächst Ceroxid-Synthesen für größere Maßstäbe optimiert. Diese werden zur Herstellung von Prototypen, wie zum Beispiel Kleinserien im Spritzgussverfahren oder Massenkleinteilbeschichtung mit Trommellackierung, benötigt. Dabei sind auch bei sehr geringen Anteilen von Ceroxid-Nanostäbchen an der Gesamtzusammensetzung größere Mengen Nanopartikel für die Herstellung und Erprobung nötig, da beispielsweise die in Kooperation verwendeten Extruder eine Mindestmenge von 3 kg Gesamtgemisch erfordern. Die synthetisierten Nanopartikel werden im folgenden Kapitel genauer auf Ihre Eigenschaften und Eignung für die Biofilmbekämpfung in konkreteren Anwendungen untersucht.

Da es sich bei der Synthese von CeO_2 -Nanostäbchen um eine hydrothermale Synthese handelt, stellt die Skalierung der Reaktion ein Problem dar. Bei Autoklaven handelt es sich um Druckgefäße, die benötigte Wandstärke wird über die sogenannte Kesselformel berechnet:^[75]

$$e = \frac{p \cdot d}{4 \cdot \sigma} \quad (1)$$

Die Wandstärke e hängt hierbei vom Innendruck p , dem Durchmesser und der Umfangsspannung σ ab, unter der Annahme, dass der Autoklav als einfaches Rohr vorliegt. Bei gleichbleibendem Druck muss die Wandstärke bei einem größer werdenden Innendurchmesser somit viermal stärker ansteigen, wodurch der Materialbedarf und die Kosten stark ansteigen.

Um die Synthese ohne Autoklav durchführen zu können wurde die Temperatur auf 80°C gesenkt, um so den Dampfdruck der Reaktionslösung zu senken. Dadurch ist es möglich, die Reaktion in einem abgedeckten Becherglas durchzuführen. Die Synthese konnte so von typischen Ausbeuten von 300 mg Ceroxid-Nanostäbchen (in einem 50 ml Autoklav) auf 20 g pro Synthese (in einem 1 l Becherglas) gesteigert werden. Zudem kann die Synthese durch die optimierten Bedingungen einfacher in den Technikums-Maßstab übertragen werden.

2.1 Ergebnisse

2.1.1 Einfluss der Hydroxid-Konzentration auf die Morphologie

Wie Mai *et al* berichteten, ist die Morphologie der per Hydrothermalsynthese erhaltenen Ceroxid-Partikel durch Ändern der Temperatur und des Druckes, aber auch durch ändern der Natriumhydroxid-Konzentration möglich.^[76] Da im Becherglas das Reaktionsgemisch bei höheren Temperaturen austrocknet und keine Ceroxid-Nanopartikel erhalten werden, wurde nur der Einfluss der Natriumhydroxid-Konzentration bei gleichbleibender Temperatur, untersucht.

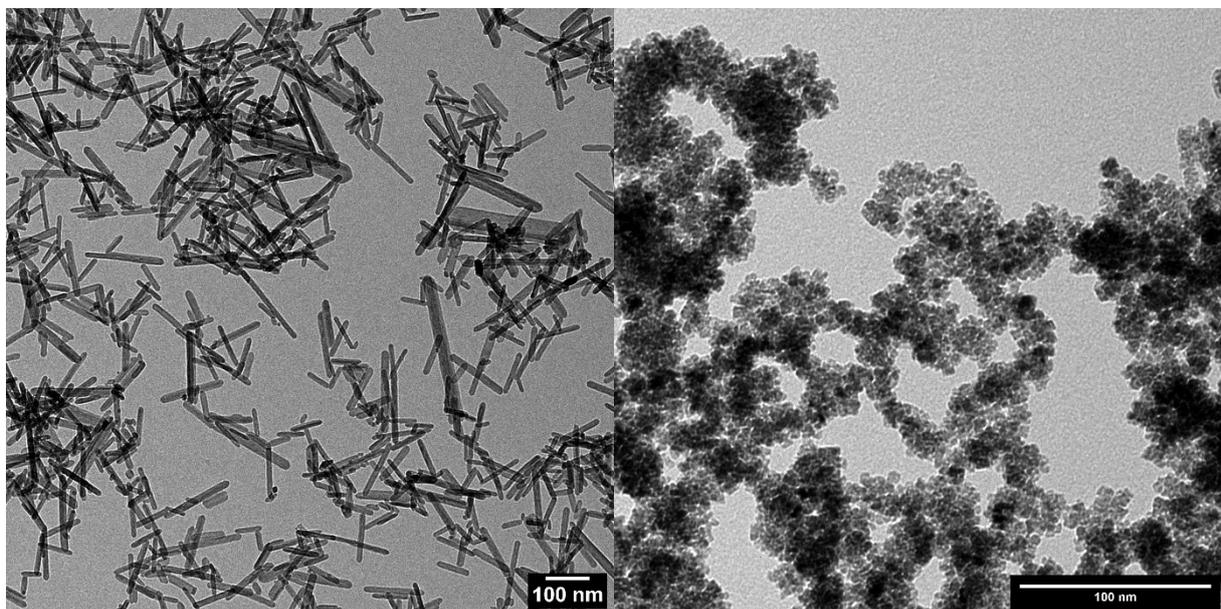


Abbildung 8.: Ceroxid-Nanostäbchen, erhalten in quasi-hydrothormaler Synthese mit hoher Natriumhydroxid-Konzentration (links). Sphärische Partikel, erhalten aus quasi-hydrothormaler Synthese mit niedriger Natriumhydroxid-Konzentration (rechts).

Wie in Abbildung 8 dargestellt, entstehen unter Normaldruck und bei niedrigeren NaOH-Konzentrationen keine Nanostäbchen, sondern annähernd sphärische Ceroxid-Nanopartikel (< 5nm). Somit ist die Möglichkeit der Morphologie-Kontrolle der Morphologie auch in Quasi-Hydrothermal-Synthesen gegeben.

2.1.2 Einfluss des Hydroxid-Kations auf das Wachstum von Nanostäbchen

Um die idealen Reaktionsbedingungen für die quasihydrothermale CeO₂-Nanostäbchen-Synthese zu finden, wurde unter Argon-Schutzatmosphäre der Einfluss unterschiedlicher Alkalihydroxide auf das Stäbchenwachstum untersucht. Alle Synthesen wurden mit derselben Hydroxidkonzentration durchgeführt, um die Ergebnisse vergleichen zu können. Die Reaktionsdauer betrug 12 Stunden bei 80°C.

2.1.3 Elektronenmikroskopie

Die Partikel wurden mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und Röntgenbeugung (XRD) charakterisiert. Mit Hilfe des Programmes *ImageJ* wurden die Stäbchen vermessen und das Aspektverhältnis bestimmt. Die Partikelgrößenverteilung und das Aspektverhältnis sind zusammen mit einem repräsentativen Übersichtsbild in den Abbildungen 7-11 dargestellt. Es sind deutliche Unterschiede zu erkennen. Ceroxid-Stäbchen, die mit LiOH hergestellt wurden, weisen hauptsächlich eine Länge von 40 ± 10 nm und ein Aspektverhältnis zwischen 5 bis 10 auf.

Mit NaOH hergestellte Stäbchen sind etwas kürzer (30 ± 10 nm, Aspektverhältnis 4 ± 1 ; siehe Abbildung 9), während mit KOH hergestellte Stäbchen eine deutlich breitere Streuung aufweisen (20-50 nm Aspektverhältnis 3-9, siehe Abbildung). Mit RbOH hergestellte Stäbchen weisen ähnliche Dimensionen auf wie mit LiOH hergestellte Stäbchen (Abbildung 11). Stäbchen, die mit CsOH hergestellt werden, weisen eine breitere Verteilung der Länge auf. Das Aspektverhältnis ist größer (10-20), als das aller anderen Proben (Abbildung 12).

Die verwendete Synthesemethode führt generell zu einer stärkeren Streuung der Partikelgrößen, als mit Methoden wie Hot Injection oder Mikroemulsion erreicht werden kann, da kein oberflächenaktives Agens eingesetzt wird und die Keimbildungsphase nicht streng von der Wachstumsphase getrennt wird.^[77,78] Die Wahl des Alkalimetallhydroxids beeinflusst die Morphologie der Stäbchen. Zudem fällt auf, dass die Proben die mit NaOH, KOH und RbOH hergestellt wurden, deutlich stärker agglomeriert sind, als Proben mit LiOH und CsOH.

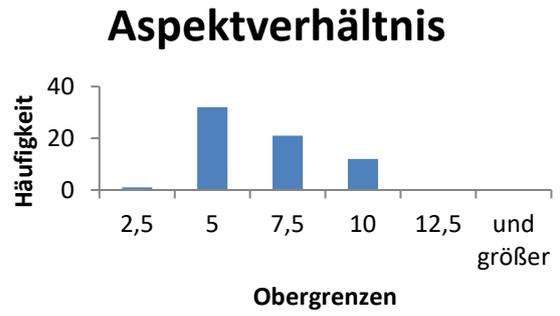
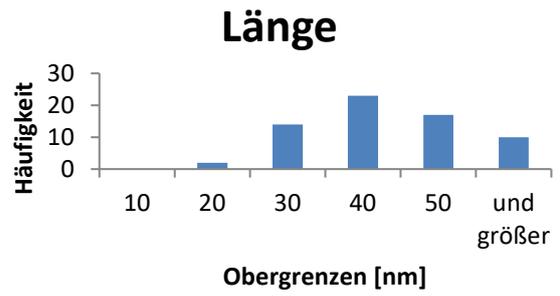
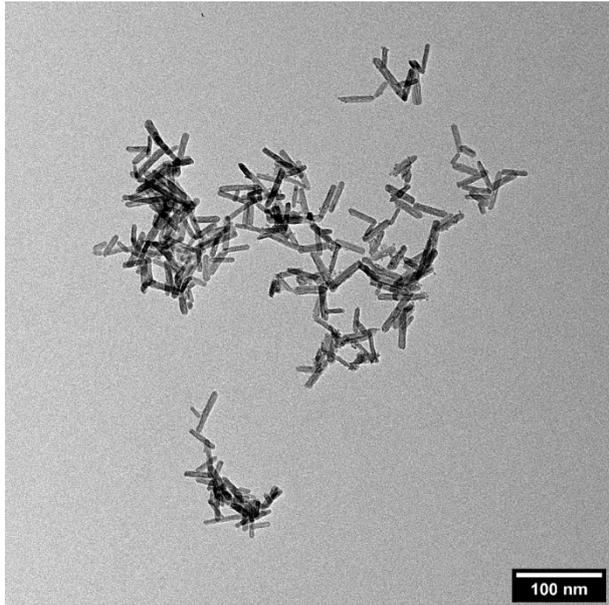
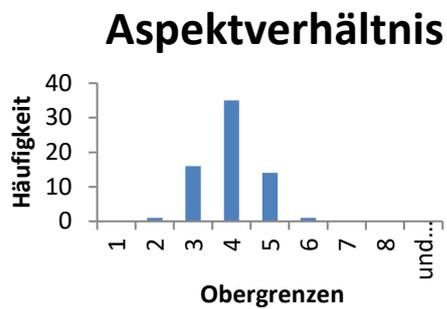
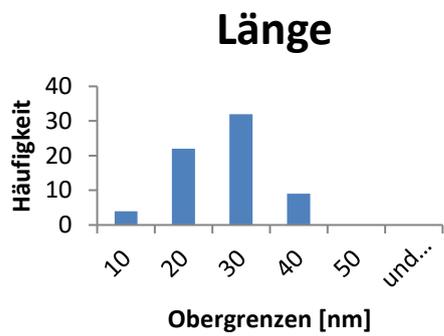
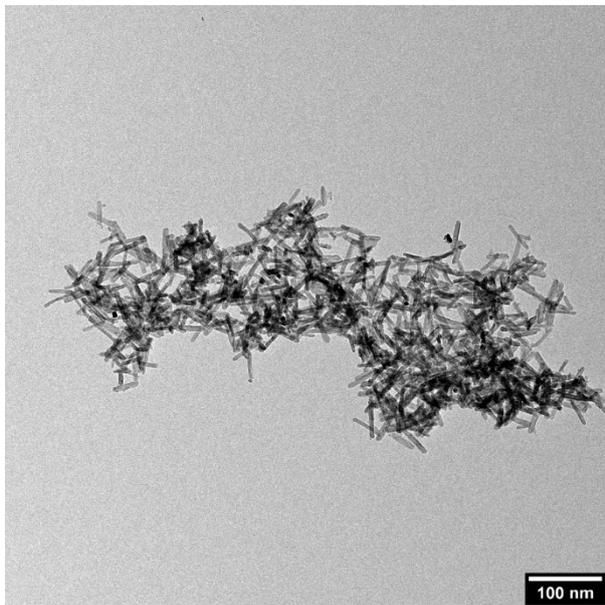


Abbildung 9.: TEM-Mikrograph von Ceroxid-Nanostäbchen, hergestellt mit LiOH (links). Mittels Image J bestimmte Länge sowie das Aspektverhältnis der Nanostäbchen (rechts).



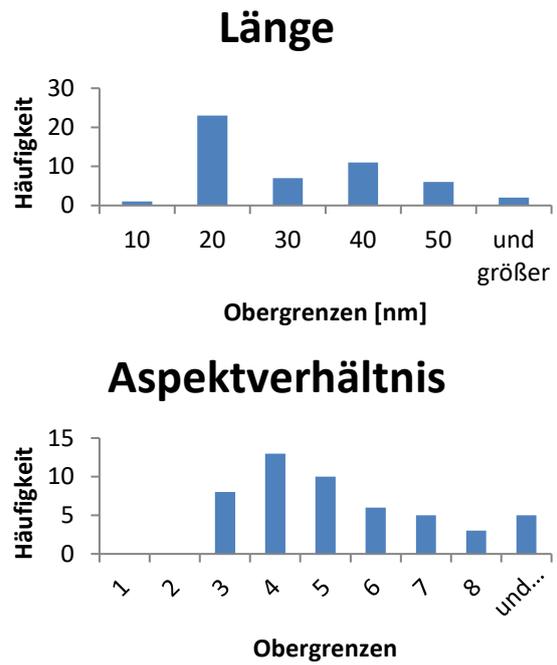
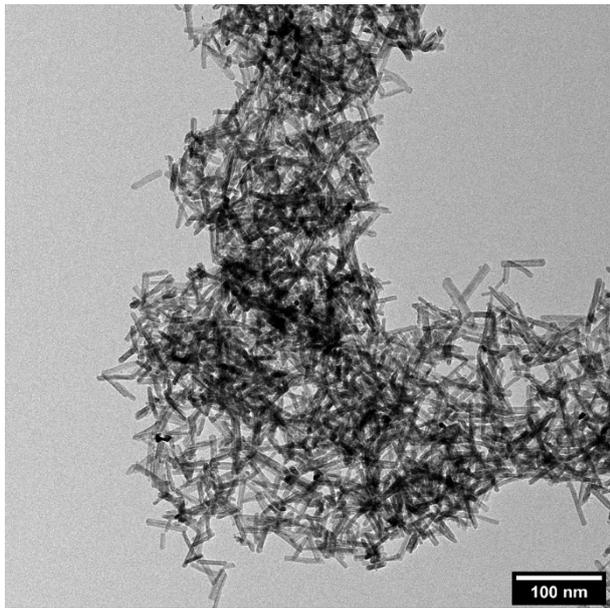


Abbildung 10.: TEM-Mikrograph von Ceroxid-Nanostäbchen, hergestellt mit KOH (links). Mittels Image J bestimmte Länge sowie das Aspektverhältnis der Nanostäbchen (rechts).

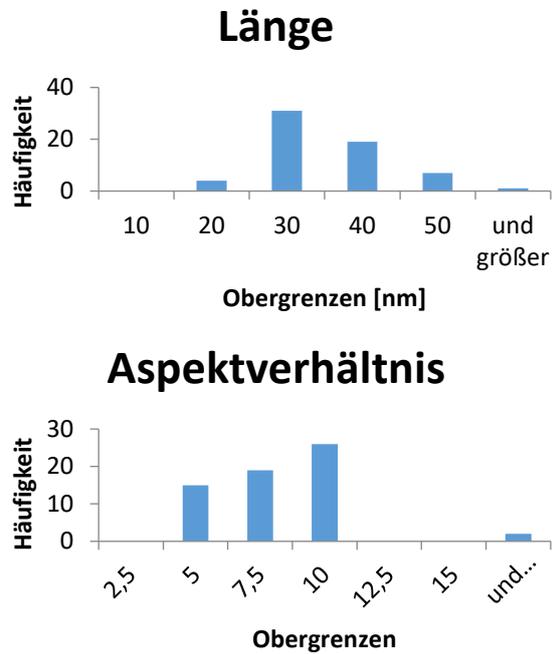
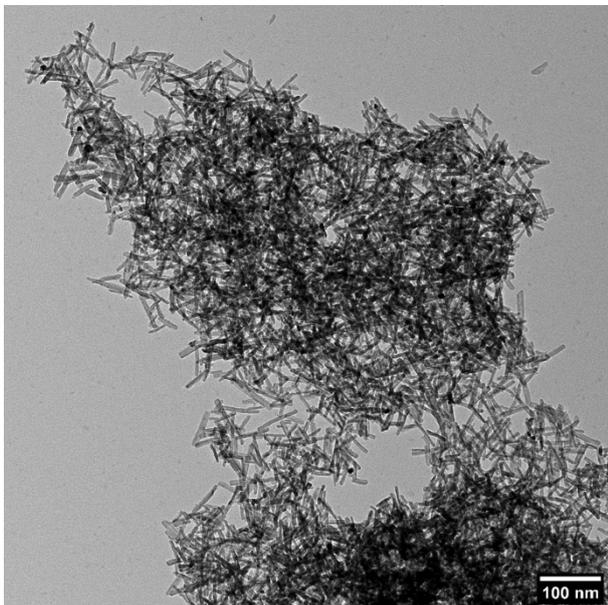


Abbildung 11.: TEM-Mikrograph von Ceroxid-Nanostäbchen, hergestellt mit RbOH (links). Mittels Image J bestimmte Länge sowie das Aspektverhältnis der Nanostäbchen (rechts).

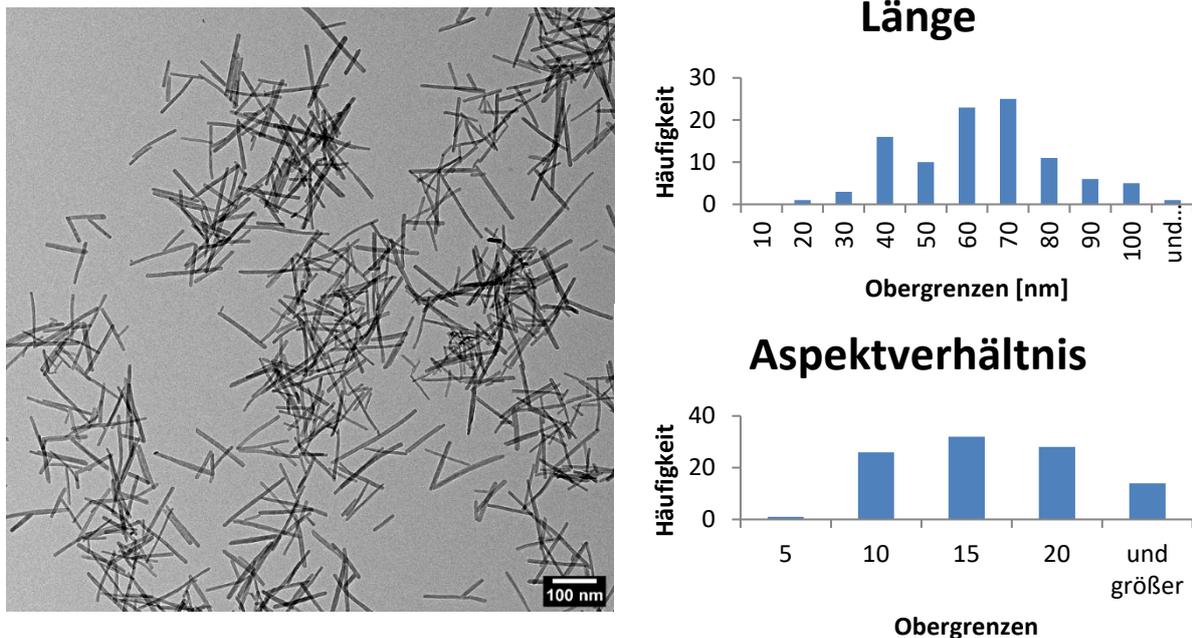


Abbildung 12.: TEM-Mikrograph von Ceroxid-Nanostäbchen, hergestellt mit CsOH (links). Mittels Image J bestimmte Länge sowie das Aspektverhältnis der Nanostäbchen (rechts).

Mittels HRTEM wurde stichprobenartig die exponierte Facette der Ceroxidnanostäbchen bestimmt. Mit *Image J* wurde ein Linienprofil des Grauwertes erstellt und die Abstände zwischen den Minima gemessen (siehe Abbildung 13, Abbildung 14, Abbildung 79, S.133, Abbildung 80, S. 134, Abbildung 81, S. 134). Bei allen Proben wurden die Abstände ($d(\text{CeO}_2\text{-Nanostäbchen}(\text{LiOH}))=0,36 \text{ nm}$, $d(\text{CeO}_2\text{-Nanostäbchen}(\text{NaOH}))=0,34 \text{ nm}$, $d(\text{CeO}_2\text{-Nanostäbchen}(\text{KOH}))=0,38 \text{ nm}$, $d(\text{CeO}_2\text{-Nanostäbchen}(\text{RbOH}))=0,36 \text{ nm}$ und $d(\text{CeO}_2\text{-Nanostäbchen}(\text{CsOH}))=0,37 \text{ nm}$) gemessen, welche am besten mit der [111] Netzebenenschar übereinstimmen.^[79,80] Eine gewisse Abweichung kann dadurch entstehen, dass die Probe relativ zum Elektronenstrahl nicht perfekt ausgerichtet war. Bei der [111] Oberfläche handelt es sich um die energetisch stabilste Oberfläche.^[49,81] Jedes Stäbchen besteht aus mehreren kristallinen Bereichen mit einer Ausdehnung von einigen Nanometern. Diese Beobachtung stimmt gut mit den berechneten Werten der Pulver-Röntgenbeugungsdaten überein (siehe Tabelle 1, S. 22).

CeO₂-Nanostäbchen (NaOH)

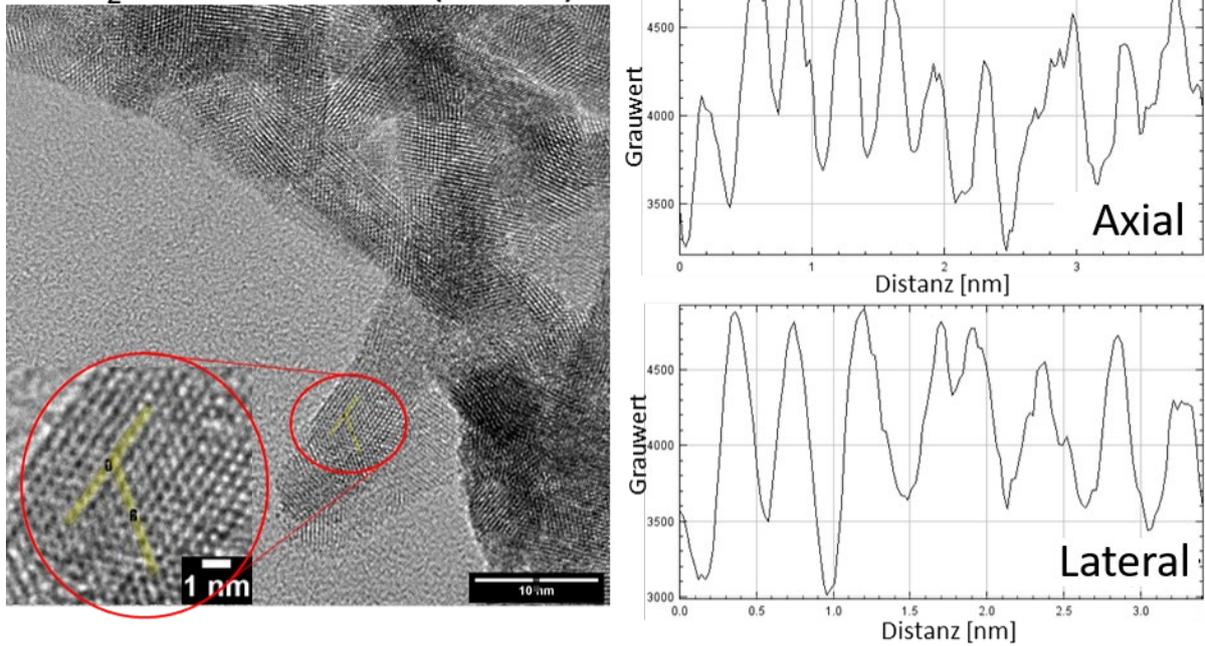


Abbildung 13.: Hochauflösende TEM-Mikrographen von Nanostäbchen, hergestellt mit NaOH. Mit gelb markiert sind die Stellen, von denen exemplarischen Bestimmung der Netzebenen ein Linienprofil des Grauwertes angefertigt wurde. Die Messungen wurden freundlicherweise von Martin Lange (Uni Mainz) durchgeführt.

CeO₂-Nanostäbchen (RbOH)

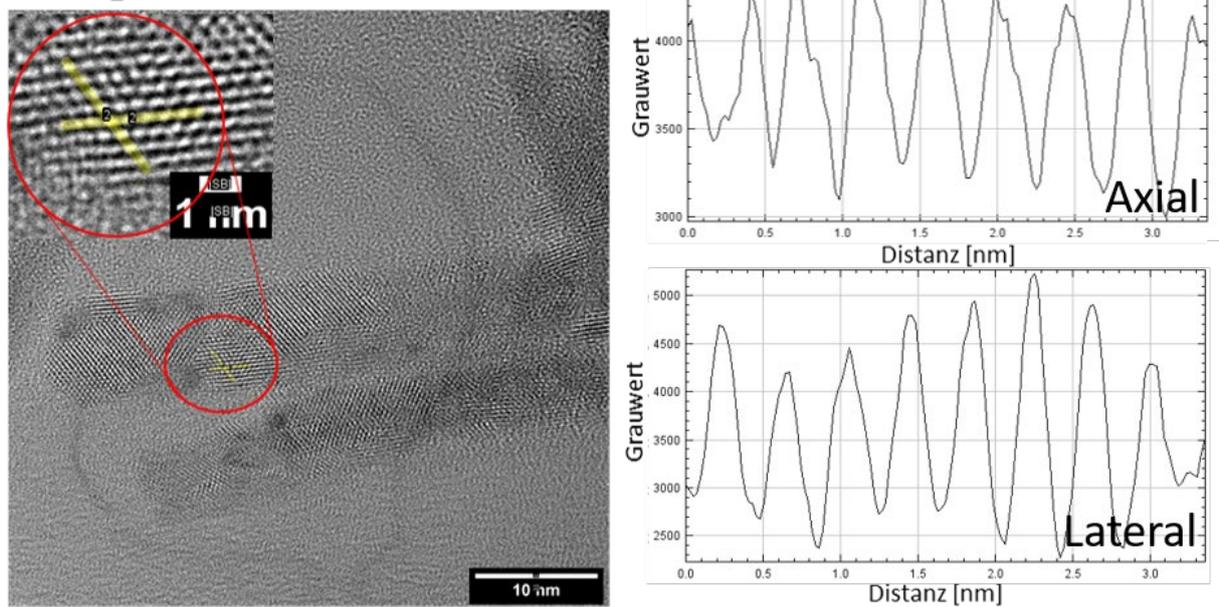
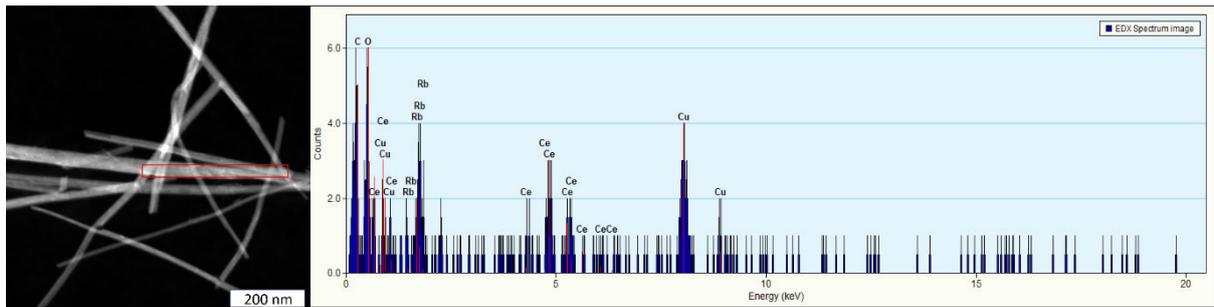


Abbildung 14.: Hochauflösende TEM-Mikrographen von Nanostäbchen, hergestellt mit RbOH. Mit gelb markiert sind die Stellen, von denen exemplarischen Bestimmung der Netzebenen ein Linienprofil des Grauwertes angefertigt wurde. Die Messungen wurden freundlicherweise von Martin Lange (Uni Mainz) durchgeführt.



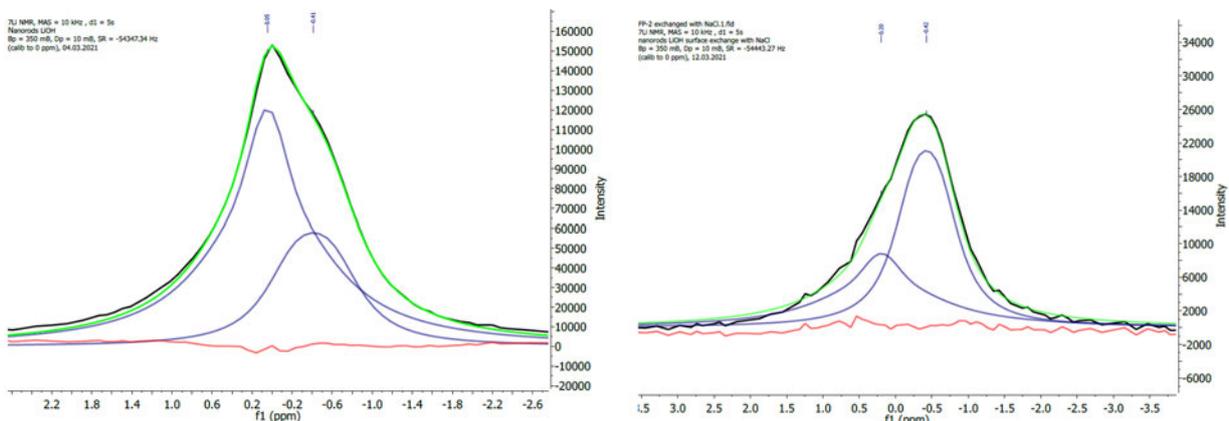
Zusätzlich wurde mittels TEM-EDX die Anwesenheit von Rubidium in mit RbOH hergestellten CeO₂-Nanorods untersucht (Abbildung 15). Es wurde diese Nanopartikelprobe gewählt, da sich die Signale von Kohlenstoff und Kupfer die EDX-Signale der leichteren Homologen überlagern könnten. Es konnten mittels EDX die Elemente Rubidium, Cer, Sauerstoff, Kohlenstoff und Kupfer gefunden werden. Kupfer und Kohlenstoff lassen sich durch das TEM-Grid erklären. Aufgrund des geringen, unregelmäßigen Durchmessers der Stäbchen konnte im Rahmen der Messgenauigkeit der Methode keine verlässliche Aussage über einen Unterschied des Rubidiumgehaltes innerhalb der lateralen Ausdehnung der Stäbchen getroffen werden.

2.1.4 MAS-NMR

Die Anwesenheit von Rubidium wirft die Frage auf, ob es sich um an der Oberfläche adsorbiertes Rb⁺ handelt oder ob das Rubidium in die Cerianit-Struktur eingebaut wurde. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Umgebung kann mittels Magic-Angle-Spinning-NMR (MAS-NMR) zwischen an der Oberfläche adsorbierten Kationen und in die Struktur eingebauten Spezies unterschieden werden. Da es sich bei ²³Na und ⁷Li um besser messbare NMR-Kerne handelt, wurden diese Proben im MAS-NMR untersucht. Mögliche Spezies, die unerwünscht auftreten könnten sind die Edukte LiOH beziehungsweise NaOH oder die Nebenprodukte LiNO₃ und NaNO₃. Die Nanostäbchen werden jedoch in der Synthese so lange gewaschen bis diese neutral reagieren, da basisches Milieu den Bromierungs-Assay aufgrund des Umschlagpunktes von Phenolrot stören würde. Die Nitrate besitzen eine höhere Löslichkeit als die Hydroxide, weshalb diese ebenfalls während der Aufarbeitung ausgewaschen werden.

Für mit NaOH hergestellte Partikel konnte ein ^{23}Na -NMR-Signal bei $-7,8$ ppm detektiert werden (für das NMR-Spektrum siehe Abbildung 85, S. 137). Damit kann eine Verunreinigung mit NaOH im Rahmen der Messgenauigkeit der Methode ausgeschlossen werden, da für NaOH ein Signal bei $12,2$ ppm erwartet wird.^[82] NaNO_3 hat hingegen eine chemische Verschiebung von $-7,3 \pm 0,2$ ppm, aufgrund der Signalbreite könnte es sich um diese Spezies handeln.^[83] Die experimentell bestimmte Signalform ist unsymmetrisch, da es sich bei ^{23}Na um einen Kern mit Quadrupolmoment handelt. Um welche Spezies es sich genau handelt lässt sich aufgrund des schlechten Signal-zu-Rausch-Verhältnisses und fehlender Referenzen nicht abschließend klären.

Es konnten für mit LiOH hergestellte CeO_2 -Nanostäbchen im Lithium-NMR zwei sich überlagernde Signale mit einer chemischen Verschiebung von $0,05$ ppm und $-0,41$ ppm gemessen werden (Ausschnitt siehe: Abbildung 16, vollständiges NMR: siehe Abbildung 82, S. 135). Die chemische Verschiebung von LiOH liegt bei $0,4$ ppm.^[84] Daher wurde das Messsignal mit dem Programm *MestReNova* dekonvuliert.



Es konnte kein Indiz dafür gefunden werden, dass ein Signal von LiOH von den bereits genannten Signalen überdeckt wurde. Bei einer chemische Verschiebung von $0,0$ ppm findet man in der Literatur Li_2CO_3 .^[84] Dies könnte eine mögliche Erklärung darstellen, da der Waschvorgang in Raumatmosphäre stattfindet. Es konnten jedoch keine ^7Li -MAS-NMR-Daten aus Literaturquellen für an Oberflächen adsorbierte Lithium-Kationen oder für Lithium-dotierte Ceroxide gefunden werden.

Um zu unterscheiden ob es sich um adsorbierte oder in die Struktur eingebaute Lithium-Spezies handelt, wurde versucht die Lithium-Spezies durch achtstündiges Rühren in 0,1 M NaCl Lösung auszutauschen. Um ungebundene Ionen zu entfernen wurden die Ceroxid-Stäbchen zwei Mal mit Milli-Q Wasser gewaschen (3000 rpm, 10 min) und gefriergetrocknet. Es konnten keinerlei Natrium-Signale im ^{23}Na -NMR detektiert werden (siehe Abbildung 83, S. 135). Das Verhältnis der beiden ^7Li -NMR-Signale änderte sich jedoch (siehe Abbildung 16, rechts). Vor den Waschschrritten betrug das Verhältnis der Integrale der dekonvoluierten Peaks zueinander 2,7:1, nach den Waschschrritten 0,7:1. Die Spezies korrespondierend zum Signal bei 0,05 ppm ist somit schwach an die Oberfläche gebunden, während das Signal bei -0,41 ppm zu einer Lithiumspezies gehört welche stark an die Oberfläche gebunden oder in die Cerianit-Struktur eingebaut ist.

2.1.5 Röntgenbeugung

Mittels Pulverröntgendiffraktometrie (PXRD) konnten alle Reflexe der Phase Cerianit zugeordnet werden (JCPDS-NR 00-034-0394, Diffraktogramme: siehe Abbildung 70, S. 129). Mittels Pawley-Anpassung über *TOPAS* wurde die Gitterkonstante berechnet, um eine mögliche Dotierung mit Alkalimetallen in die Cerianit-Phase zu untersuchen. Wie aus Tabelle 1 zu entnehmen ist, werden für die Reaktion mit LiOH, NaOH, KOH und RbOH im Vergleich zum Literaturwert größere Gitterparameter erhalten, während für mit CsOH hergestellte Nanostäbchen der Gitterparameter sehr gut mit dem Literaturwert übereinstimmt ($a(\text{CeO}_2)_{\text{Lit}}=5,4113 \text{ \AA}$).^[85] Ein größere Elementarzelle ist ein Hinweis auf Dotierung oder Substitution der Alkalimetalle in die Cerianitstruktur. Der genaue Alkalimetall-Gehalt der Proben wird von Björn Meermann (Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung) mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICPMS) bestimmt werden. Höchst wahrscheinlich findet aufgrund der Größe von Cs^{I} (Kristallradius=1,88 pm bei Koordinationszahl 8) im Vergleich zu Ce^{IV} (Kristallradius=1,11 pm bei Koordinationszahl 8) keine Substitution in die Cerianitstruktur statt.^[86] Die berechnete Kristallitgröße stimmt gut mit der Ausdehnung der im TEM beobachteten kristallinen Domänen überein.

Tabelle 1.: Pawley-Anpassungen der CeO_{2-x}-Nanostäbchen, aus den Röntgenbeugungsdaten bestimmt.

Material	CeO _{2-x} (LiOH)	CeO _{2-x} (NaOH)	CeO _{2-x} (KOH)	CeO _{2-x} (RbOH)	CeO _{2-x} (CsOH)
Gitterparameter: a [Å]	5,4288 ±0,0004	5,4240 ±0,0004	5,4257 ±0,0007	5,4287 ±0,0009	5,4113 ±0,0004
Kristallitgröße: d [nm]	8,7±0,1	6,9±0,1	5,6±0,1	8,5±0,3	8,4±0,1

2.1.6 Katalytische Eigenschaften

Die intrinsische Haloperoxidaseaktivität der Nanostäbchen wurde mittels Phenolrot-Test untersucht. In diesem Test wird Tetrabromphenolblau (Br₄PR) durch Reaktion von Phenolrot (PR), einer Bromidquelle (KBr) und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) mit Hilfe von CeO_{2-x}-Partikeln als heterogener Katalysator, hergestellt (Durchführung siehe S. 28).

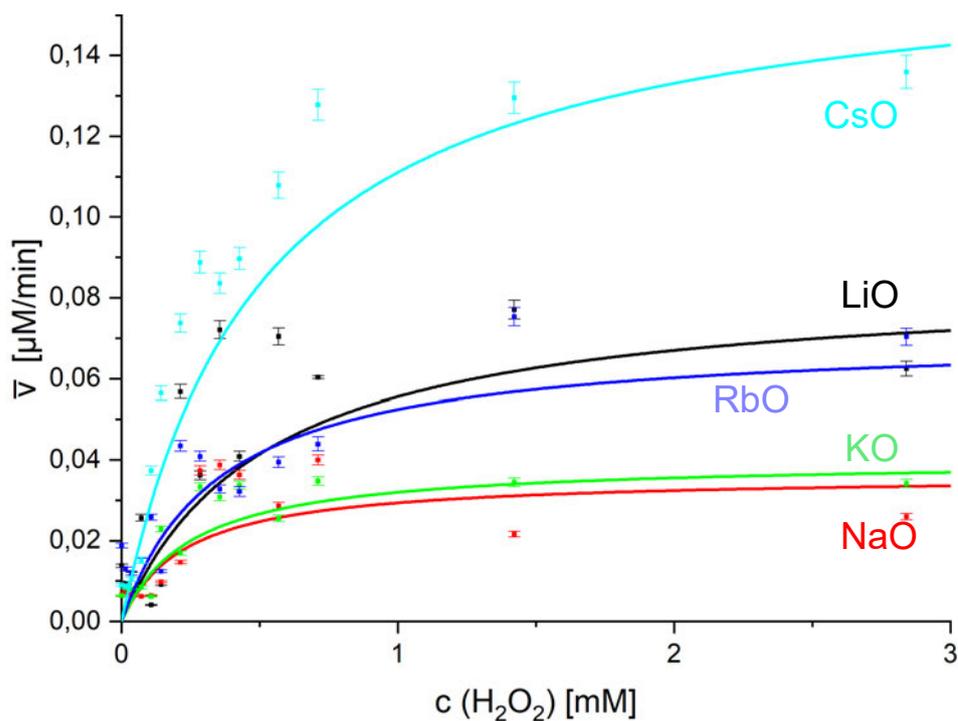


Abbildung 17.: Michaelis Menten Kinetik von CeO₂-Nanostäbchen.

Alle getesteten Stäbchen sind katalytisch aktiv (siehe Abbildung 17), jedoch existieren große Unterschiede in den absoluten Werten der Geschwindigkeitskonstanten: Wird in der Reaktion CsOH verwendet, ist die maximale Reaktionsgeschwindigkeit v_{max} , verglichen mit der Verwendung von NaOH, fünf Mal so hoch (siehe Tabelle 2, S.24).

Das während der Synthese verwendete Alkalihydroxid hat somit starken Einfluss auf die katalytische Aktivität der Ceroxid-Nanostäbchen. Es ist ein Trend innerhalb der ersten Hauptgruppe zu erkennen: $v_{\max}(\text{Na}^+) < v_{\max}(\text{K}^+) < v_{\max}(\text{Rb}^+) < v_{\max}(\text{Cs}^+)$. Einzig $v_{\max}(\text{Li}^+)$ fällt aus der Reihe, die Maximalgeschwindigkeit liegt zwischen den beiden höchsten getesteten Homologen Rb^+ und Cs^+ .

Wie durch XRD und HRTEM zu erkennen, ändert sich der Gitterparameter und der Abstand der [111] Netzebenenchar, höchstwahrscheinlich durch den Einbau von Alkalikationen in die Cerianitstruktur. Dies hat einen starken Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit der heterogenen Katalyse und wurde schon in der Dissertation von Hajo Frerichs für die Substitution von Bismut in die Cerianitstruktur ausführlich beschrieben.^[87] An der Oberfläche adsorbierte Kationen und ihre Hydrathülle könnten Einfluss auf die Edukt-Verfügbarkeit und somit die Reaktionsgeschwindigkeit haben. Der hydratisierte Ionenradius sinkt von $r_{\text{aq}}(\text{Na}^+)$ zu $r_{\text{aq}}(\text{Cs}^+)$, während $r_{\text{aq}}(\text{Li}^+)$ aufgrund mehrerer Koordinationssphären größer als der von Cs^+ ist.^[88] Anhand der vorliegenden Daten ist der Beitrag der beschriebenen Effekte nicht abschließend zu klären.

Da die Reaktionsgeschwindigkeit bei einem heterogenen Katalysator zudem abhängig von der spezifischen Oberfläche ist, wurde diese mittels Gasadsorption (BET) bestimmt. Die so ermittelten Werte der spezifischen Oberflächen weichen bis zu 15% voneinander ab und können die stark voneinander abweichenden maximalen Reaktionsgeschwindigkeiten nicht erklären. Die Reaktionsrate (ROR) kann mit der über Gasadsorption (BET) bestimmten spezifischen Oberfläche (S_{BET} [$\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$]) und der eingesetzten Massenkonzentration ($\beta(\text{Cat})$ [$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$]) berechnet werden (Gleichung 5). Diese bezieht die pro Minute entstehende Stoffmenge Bromphenolblau auf die Oberfläche.^[60]

$$\text{ROR} = \frac{v_{\max}}{S_{\text{BET}} \cdot \beta(\text{Cat})} \quad (2)$$

Wie Tabelle 2 zu entnehmen ist, folgt die Reaktionsrate dem gleichen Trend. Die spezifische Oberfläche kann ebenfalls als Grund für die unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten ausgeschlossen werden. Im Weiteren wurde das Zeta-Potential aller Proben bestimmt. Alle Proben weisen ein negatives Oberflächenpotential zwischen -5,9 mV und -18,5 mV auf.

Wie durch die NMR-Experimente gezeigt, befinden sich Alkalimetallspezies in oder an den Nanostäbchen, wobei es sich jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit nicht um die Hydroxide handelt. Die, vermutlich an der Oberfläche adsorbierten, Spezies könnten neben der unterschiedlichen Morphologie und Gitterparameter der Stäbchen einen starken Einfluss auf die katalytische Aktivität haben und somit die Hauptursache der beobachteten Unterschiede darstellen.

Tabelle 2.: Kinetische Daten für CeO_{2-x}-Nanostäbchen, hergestellt mit verschiedenen Alkalihydroxiden.

Material	CeO _{2-x} (LiOH)	CeO _{2-x} (NaOH)	CeO _{2-x} (KOH)	CeO _{2-x} (RbOH)	CeO _{2-x} (CsOH)
Vmax [$\mu\text{M}/\text{min}$]	0,08 \pm 0,02	0,036 \pm 0,007	0,040 \pm 0,005	0,07 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01
Km [mM]	0,5 \pm 0,2	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1
Spezifische Oberfläche [m ² /g]	130,3	136,6	138,8	130,5	117,2
ROR [$\mu\text{mol m}^{-2}$ min ⁻¹]	0,021	0,009	0,010	0,018	0,049
Zeta-Potential [mV]	-5,9 \pm 0,6	-8,6 \pm 0,3	-12,3 \pm 0,4	-6,9 \pm 0,3	-18,5 \pm 0,5

2.2 Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde erfolgreich eine Synthese der Ceroxid-Nanostäbchen zur Herstellung von Partikeln in größerem Maßstab modifiziert. Hierbei konnte ein signifikanter Einfluss von bislang als „innocent Bystander“ angenommenen Alkalimetallhydroxiden untersucht werden. Diese Ergebnisse können bei der Umsetzung und dem Verständnis von Ceroxidnanopartikelsynthesen, aber auch anderen Metalloxidnanopartikeln, welche als heterogener Katalysatoren Anwendung finden, eine große Hilfe sein. Letztendlich bleibt für den konkreten Anwendungsfall die Kostenfrage: CsOH ist zum jetzigen Zeitpunkt bei Alfa Aesar pro Gramm ca. 10-mal so teuer wie NaOH, liefert aber nur eine fünffach höher katalytische Aktivität. LiOH hingegen ist pro Gramm doppelt so teuer wie NaOH (bei doppelter katalytischer Aktivität), aufgrund der um 40% geringeren molaren Masse ergibt sich jedoch eine Ersparnis.

Leider sind die Ceroxid-Nanostäbchen aufgrund der oberflächenagens-freien Synthese in Wasser und gängigen organischen Lösemitteln sehr schlecht dispergierbar, nur ein kurzes Aufschlämmen ist möglich. Dies macht den Einsatz in Beschichtungen und die Einbettung in Polymermatrizes schwer bis unmöglich, weshalb in den folgenden Kapiteln alternativen zur quasihydrothermalen Synthese von CeO_2 -Nanostäbchen vorgestellt werden.

2.3 Material und Methoden

2.3.1 Durchführung

Das Alkalihydroxid wurde separiert von Cernitrat in der gleichen Menge entgastem MilliQ-Wasser gelöst. Das ebenfalls in entgastem MilliQ-Wasser gelöste Cernitrat Hexahydrat wurde langsam in die Alkalihydroxidlösung gegeben. Nach 30 min rühren (400 rpm, Magnetrührstab) wurde das Gefäß verschlossen und bei 80°C im Konvektionsofen für 12 Stunden erhitzt. Anschließend wurde das Produkt so lange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral reagierte. Bei kleinen Ansätzen Zentrifugation (3000 rpm, 10 min) eingesetzt, bei größeren Ansätzen wurde das Wasser ausgetauscht, sobald das Produkt sedimentierte. Abschließend wurde das Produkt gefriergetrocknet.

2.3.2 Ansatz^[76,89]

Tabelle 3.: Eingesetzte molare Äquivalente zur Herstellung von CeO₂-Nanostäbchen bei Normaldruck.

Edukt	Molares Äquivalent
Ce(NO ₃) ₃ · 6 H ₂ O	1
Alkalihydroxid (LiOH, NaOH, KOH, RbOH, CsOH)	106
H ₂ O	555

2.3.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie wurden in Wasser oder Ethanol (ca. 0,1 mg/ml) dispergiert und 20 µl der Dispersion auf ein TEM-Probensträger (CF300-Cu Carbon Film (5–6 nm) / 300 Mesh / Electron Microscopy Sciences) aufgetragen. Nachdem das Lösemittel verdampft war, wurden die Proben auf einem Tecnai 12 Transmissionselektronenmikroskop mit thermionischer LaB6-Quelle und Twin-Objektiv von FEI (Hillsboro, OR, USA) mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV gemessen. Das TEM ist mit einer US1000 CCD-Kamera von Gatan (Pleasanton, CA, USA) mit 2000 x 2000 Pixeln ausgestattet. Die Datenanalyse erfolgte mit der Software *ImageJ Ver 1.52q*.

2.3.4 Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM)

Die Proben für die hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie wurden in Wasser oder Ethanol (ca. 0,1 mg/ml) dispergiert und 20 µl der Dispersion auf ein TEM-Probensträger (CF300-Cu Carbon Film (5–6 nm) / 300 Mesh / Electron Microscopy Sciences) aufgetragen.

HRTEM Messungen wurden mit einem FEI TECNAI F30 S-TWIN Transmissionselektronenmikroskop, ausgestattet mit einer Feldemissions-Elektronenquelle mit einer Beschleunigungsspannung von 300 kV, gemessen. TEM-Bilder wurden mit einer CCD-Kamera (16-bit 4.096 x 4.096 pixel GATAN ULTRASCAN4000) und der Software Gatan Digital Micrograph aufgenommen. Die Datenanalyse erfolgte mit der Software *ImageJ Ver 1.52q*.

2.3.5 Röntgendiffraktometrie (PXRD)

Proben für die Röntgenbeugung wurden vor der Analyse gründlich gemörsert und auf Polyvinylacetat-Folie vorbereitet. Diffraktogramme wurden mit einem STOE Stadi P Pulverdiffraktometer, ausgestattet mit einem Mythen 1k-Detektor unter Verwendung von Mo K α 1-Strahlung aufgenommen. Pawley-Fits wurden mit Topas Academic V6 unter Verwendung des Fundamentalparameter-Ansatzes durchgeführt.^[90] Die Phasenanalyse wurde mit dem Programm EVA 10.0.1.0 von SOCABIM und der ICSD 2003 Datenbank durchgeführt.

2.3.6 Quantitativer Phenolrottest und Michaelis Menten Kinetik

Die intrinsische Haloperoxidase-Aktivität wurde mit dem Phenolrot-Assay bestimmt. Bei diesem Assay wird Tetrabromphenolblau (Br_4PR) durch Reaktion von Phenolrot (PR), einer Bromidquelle (KBr) und H_2O_2 in Gegenwart eines aktiven Katalysators (Ceroxid-Nanopartikel) erzeugt.^[91]

Für die Michaelis Menten Kinetik wurde die H_2O_2 -Konzentration variiert. Die Kinetik wurde bei $\lambda = 592$ nm gemessen, dem Absorptionsmaximum von Br_4PR . Für jede Messung wurde die gleiche Stammlösung, bestehend aus PR ($50\mu\text{M}$) gemischt mit KBr (25 mM), verwendet. Nach der Zugabe von $62.5\ \mu\text{l}$ Nanopartikelsuspension (1 mg/ml), wurde die Reaktion bei $25\ ^\circ\text{C}$ zum Temperatúrausgleich gerührt (800 rpm). Vor der H_2O_2 -Zugabe wurde ein Autozero der Absorbanz durchgeführt. Die Kinetik wurde für 10 Minuten gemessen. Alle Datenpunkte zwischen 2 und 8 Minuten wurden linear angepasst und die Konzentrationsänderung mit dem Lambert Beerschen Gesetz bestimmt. Der Extinktionskoeffizient wurde bestimmt, indem die Absorbanz von fünf Br_4PR -Lösungen unterschiedlicher Konzentration ($2\mu\text{M}$, $6\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $14\mu\text{M}$, $18\mu\text{M}$) in einer Quartz Küvette ($d=1\text{cm}$) gemessen wurde. Mit Hilfe des Lambert Beerschen Gesetztes wurde ein Extinktionskoeffizient von $32740\ \text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ für Br_4PR (freie Säure) in MilliQ-Wasser mit einem Agilent Cary 3500 UV-VIS Spektrophotometer bestimmt.

2.3.7 Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels Gasadsorption (BET)

BET-Messungen zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche wurden mit einem 3P Micro 300 Gasadsorptionsinstrument bei $77.4\ \text{K}$ mit Stickstoff als Analysegas durchgeführt. Zur Datenanalyse wurde die Software 3P Surface Area & Pore Size Analyzer System 10.03.02 verwendet.

2.3.8 Zetasizer

Mit einem Malvern Zetasizer Nano wurden Zetapotentiale bestimmt. Es wurden gefaltete Einweg-Kapillarzellen (DTS1070) für die Messungen verwendet. Die verwendeten Suspensionen ($c= 1\text{mg/ml}$) wurden mit MilliQ-Wasser hergestellt und vor der Messung mit einem Spritzenfilter ($0,45\mu\text{m}$) gefiltert. Die Datenanalyse wurde mit der Malvern Zetasizer Software Ver. 8.01.4906 durchgeführt.

Kapitel 3 Beschichtung von Polycarbonat mit Ceroxidnanopartikeln

Der Inhalt des folgenden Kapitels ist entnommen und teilweise adaptiert worden von „Transparent Polycarbonate with CeO₂ Nanozymes Repel Pseudomonas aeruginosa Biofilms“ *ACS Applied Materials & Interfaces*, **2021**, vor Einreichung. Dazu wurde der Artikel aus dem Englischen übersetzt.

3.1 Beiträge zur Autorenschaft

Konzeption oder Design der Arbeit:

Felix Pfitzner*, Olga Jegel*, Wolfgang Tremel

Aufnahme der Daten:

Felix Pfitzner*, Olga Jegel*, Athanasios Gazanis, Jennifer Oberländer, Alexander Klasen, Martin Lange, Marcus von der Au, Björn Meermann

Datenanalyse und Interpretation:

Felix Pfitzner*, Olga Jegel*, Alexander Klasen

Entwurf des Manuskriptes:

Felix Pfitzner*, Olga Jegel*, Wolfgang Tremel

Kritische Überarbeitung des Manuskriptes:

Volker Mailänder, Ralf Heermann, Wolfgang Tremel

* Geteilte Erstautorenschaft

3.2 Einleitung

Die Bakterienlast auf Oberflächen in Krankenhäusern ist ein großes Problem, besonders für Patienten. Es wird angenommen, dass Krankenhausinfektionen (HAI; engl.: „hospital aquired infections“) die Ursache für fast 99.000 Todesfälle in nur einem Jahr, allein in den USA, sind.^[92] Krankenhausinfektionen sind die sechsthäufigste Todesursache.^[93] Dabei ist die bakterielle Belastung von Oberflächen in Krankenhäusern eine der Ursachen für dieses weltweite Phänomen.^[94] Der übermäßige und falsche Einsatz von Antibiotika führt zu multiresistenten Keimen, die das Problem noch weiter verschärfen.^[95] Deshalb sind für einige multiresistente Bakterien nur noch Reserveantibiotika wirksam. Die ersten Bakterienstämme haben sogar Resistenzen gegen diese Antibiotika entwickelt und sind kaum noch behandelbar.^[96] Zudem haben einige dieser Antibiotika starke Nebenwirkungen, im Idealfall wird die Infektion verhindert.

Als Hauptursache für im Krankenhaus erworbene Infektionen gilt mangelnde Handhygiene. Viele Ansätze wie Überwachung und architektonische Veränderungen werden in Betracht gezogen, um dieses Problem anzugehen.^[97] Eine dieser Möglichkeiten ist der Einsatz antimikrobieller Oberflächen. Diese könnten dazu beitragen die Ausbreitung von Bakterien zu verhindern und so das Risiko einer Infektion zu verringern. Die Einsatzmöglichkeiten für antibakterielle Beschichtungen sind nicht auf den öffentlichen Gesundheitssektor beschränkt. Alle Oberflächen, die von mehreren Personen berührt werden, bergen das Risiko von Kontaktinfektionen. So werden aufgrund neuer Hygienestandards die Oberflächen in öffentlichen Verkehrsmitteln mit antibakteriellen Beschichtungen ausgestattet.^[98]

Es gibt verschiedene Ansätze, Polymeroberflächen für biomedizinische Anwendungen zu funktionalisieren, z.B. durch Plasmabehandlung, superhydrophobe Oberflächen, quartäre Ammoniumverbindungen, chitosanhaltige Oberflächen oder durch das Einbetten von Nanopartikeln. ^[99–104] Polycarbonate werden aufgrund ihres breiten Anwendungsspektrums für Handläufe in Krankenhäusern, als Material für Implantate, aber auch für flexible Displays eingesetzt. ^[105–107] Sie werden dort eingesetzt, wo andere Kunststoffe zu kratzempfindlich oder zu zerbrechlich sind. Aufgrund der hohen Transparenz, des geringen Gewichts und der hohen Stoßfestigkeit werden Polycarbonate oft als Glasersatz verwendet. ^[108] Zudem kann es durch Beschichtungen an das jeweilige Anwendungsgebiet angepasst werden. So werden Nanopartikel-Beschichtungen bereits eingesetzt um die Kratzfestigkeit (TiO₂-NP), die UV-

Beständigkeit (TiO₂-NP), selbstreinigende Eigenschaften (TiO₂-ZnO-NP), antibakterielle Eigenschaften (Ag-NP) zu verbessern sowie die Leitfähigkeit zu erhöhen (Ag / Carbonnanostäbchen).^[109-111] Auch für Katheter wird zur Vermeidung von Infektionen der Einsatz von superhydrophoben, antibakteriellen, polycarbonat-haltigen Beschichtungen diskutiert.^[112,113]

Eines der wichtigsten Probleme der Beschichtung von Polymeren ist deren geringe Oberflächenenergie. Dies führt zu einer geringen Oberflächenbenetzung, was eine schwache Bindung zur Folge hat.^[114] Eine schnelle und einfache Methode zur Erhöhung der Oberflächenenergie und der Haftung ist die Plasmabehandlung mit Sauerstoff (O₂) oder Argon (Ar).^[115,116] Dadurch werden sauerstoffhaltige Gruppen wie Hydroxyl-, Carbonyl- und Carboxylgruppen auf der Oberfläche eingebaut und somit die Polarität erhöht.^[117] Durch die Plasmabehandlung wird so die Benetzbarkeit erhöht und die Beschichtung mit Nanopartikeln ermöglicht.

Unser Ansatz zur Herstellung von biofilmhemmenden Oberflächen ist ungiftig und von der Natur inspiriert: Mit Hilfe von HPO-Enzymen verhindern maritime Organismen die Biofilmbildung, indem sie ubiquitäre Moleküle als Edukt nutzen, um N-Acylhomoserinlactone (AHL) zu bromieren, die Signalmoleküle gramnegativer Bakterien für das Quorum Sensing (QS). Mit diesen Molekülen messen die Bakterien die Populationsdichte von sich selbst und der umliegenden Spezies. Die Biofilmbildung als treibende Kraft für bakterielle Pathogenität beruht auf dem Quorum Sensing (QS). In Gegenwart von Br⁻ und H₂O₂ sind Ceroxid-Nanopartikel in der Lage, das Signalmolekül AHL durch oxidative Bromierung so zu verändern, dass die Kommunikation zwischen den Bakterien unterbrochen wird (Quorum Quenching). Dadurch wird die Biofilmbildung gehemmt. Verschiedene metallorganische Komplexe, V₂O₅-Nanostäbchen, CuO-Nanopartikel und CeO₂-Nanopartikel sind dafür bekannt, HPO-Enzyme zu imitieren.^[60,118,119] Ceroxid-Nanopartikel sind leicht in ihrer Handhabung: Sie sind im Gegensatz zu V₂O₅ und CuO ungiftig, stabil über einen weiten pH-Bereich und umweltverträglich. Daher sind sie für reale Anwendungen bestens geeignet.^[60,118,119]

Um Ceroxid-Nanopartikel in Oberflächenbeschichtungen einzusetzen, müssen diese hoch dispergierbar sein, um homogene Beschichtungen zu erzielen, da Agglomerate das optische Erscheinungsbild und die Oberflächenrauigkeit des Materials verändern.

Die Nanopartikel können nur dann als heterogener Katalysator wirken, wenn sie frei erreichbar an der Oberfläche liegen. Da eine geringere Menge an Partikeln für die Beschichtung benötigt wird, ist diese Methode wesentlich effektiver als die des Einbettens. Der Prozess der Synthese und Polycarbonat-Beschichtung, den wir im Folgenden vorstellen wollen, wurde im Hinblick auf ein einfaches Scale-up und eine mögliche Fließbandproduktion gewählt.

3.3 Ergebnisse und Diskussion

3.3.1 Partikelanalytik

Für die wässrige Synthese von Ceroxid-Nanostäbchen wurde eine frisch hergestellte Cerhydroxid-Suspension mit Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel und Nitrilotriessigsäure (NTA) als Capping-Agent verwendet. Dieses Capping-Agents sorgte für die Bildung einer stabilen Suspension, ohne die Haloperoxidase-nachahmende Aktivität von CeO_2 zu unterbinden. Die Verwendung eines Capping-Agent ist notwendig, um eine stabile Suspension zu erhalten, die für homogene Polycarbonatbeschichtungen verwendet werden kann.

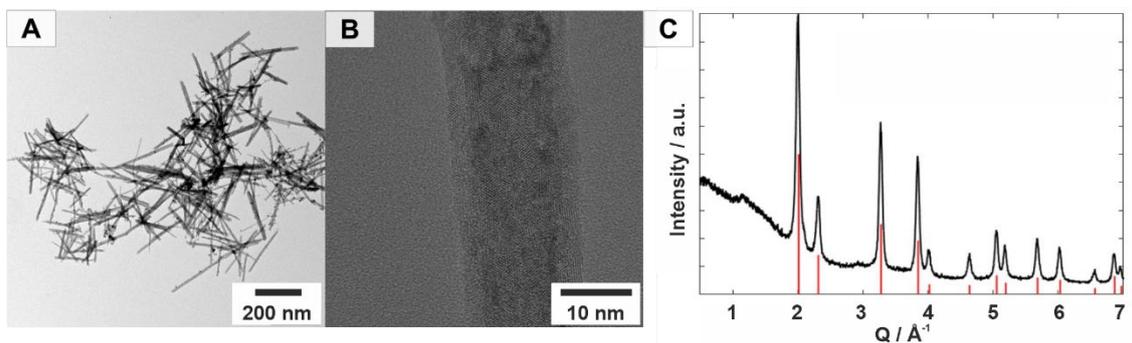


Abbildung 18.: Die Bildung der CeO_2 -Nanopartikelsynthese wurde über A,B) TEM-Bilder und B) Röntgenpulverbeugungsmuster bestätigt. Das Referenzmuster von Ceroxid ist in rot dargestellt (JCPDS# 00-034-0394).

Abbildung 18 A zeigt die wässrige Nanopartikel-Dispersion nach der Zentrifugation in einer TEM-Abbildung. Wie zu sehen ist, entstanden bei der Reaktion hauptsächlich stabchenförmige Partikel unterschiedlicher Länge, die für eine transparente Beschichtung von Oberflächen geeignet sind. Das Röntgenpulverbeugungsmuster bestätigte die Bildung von CeO_2 -Nanopartikeln (Abbildung 18 B). Die Nanopartikel wurden durch dreimaliges Zentrifugieren bei 9000 rpm für 30 min sorgfältig gewaschen.

Eine irreversible Agglomeration wurde vermieden, indem die vollständige Verdampfung des Lösungsmittels verhindert wurde. Die Nanopartikel hatten einen durchschnittlichen hydrodynamischen Radius von 115 ± 79 nm.

3.3.2 Haloperoxidase-Aktivität

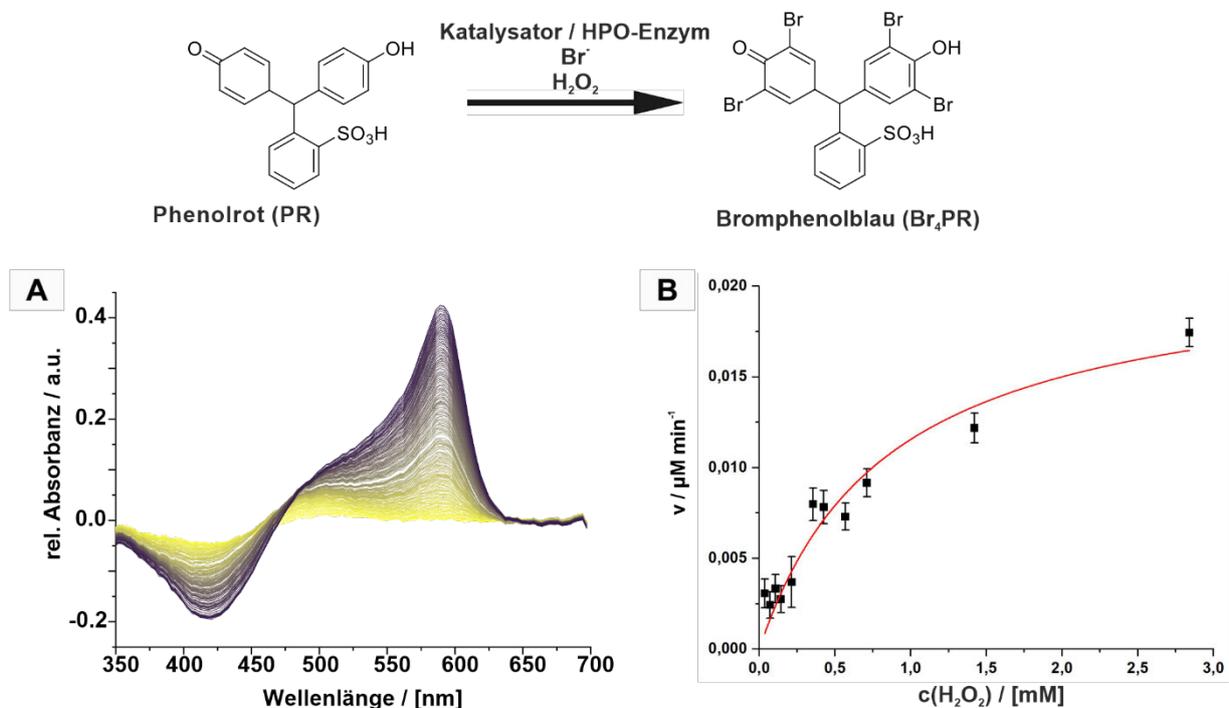


Abbildung 19.: Haloperoxidase-mimetische Aktivität von CeO₂-Nanopartikeln in einem Phenolrot-Bromierungs-Assay. (A) Zeitabhängige UV-Vis-Spektren zeigen den Wechsel der oxidativen Bromierung von Phenolrot (PR) zu Bromphenolblau (Br₄PR). (B) zeigt die Michaelis-Menten-Kinetik für das Substrat H₂O₂ für CeO₂.

Ein Phenolrot-Bromierungs-Assay wurde durchgeführt, um die haloperoxidasemimetische Aktivität von CeO₂ zu visualisieren. Dabei reagiert Phenolrot (Phenolsulfonphtalein, PR) über eine oxidative Bromierung in Gegenwart von Br⁻ und H₂O₂ in wässrigem Medium zu Bromphenolblau (3',3'',5',5''-Tetrabromphenolsulfonphtalein, Br₄PR). Die Reaktion wurde spektrophotometrisch verfolgt, da Edukt und Produkt deutlich unterschiedliche Absorptionsmaxima bei $\lambda_{\max}(\text{PR})=430$ nm und $\lambda_{\max}(\text{Br}_4\text{PR})=590$ nm aufweisen.

Es wurde eine Michaelis-Menten-Kinetik angenommen, da die haloperoxidasemimetische Aktivität von der H₂O₂-Konzentration abhängig war. Die Kinetik wurde für verschiedene Konzentrationen von H₂O₂ gemessen und mit der Michaelis-Menten-Gleichung (Gleichung 3) angepasst (Abbildung 19 B).^[120]

$$v = \frac{v_{max} \cdot [S]_0}{K_m \cdot [S]_0} \quad (3)$$

Die Michaelis-Konstante K_m ist ein Maß für die Affinität des Enzyms (in diesem Fall CeO_2) zum Substrat (H_2O_2) mit der Konzentration $[S]_0$. Der Wert K_m korreliert reziprok mit der Affinität, d.h. je höher die Konstante, desto schwächer ist die Bindung zwischen Enzym und Substrat. Für CeO_2 beträgt die Konstante 0,85 mM und weist somit eine hohe Affinität zu H_2O_2 auf. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit wird durch den Wert v_{max} beschrieben und beträgt für die Partikel $0,021 \mu\text{Mol} \cdot \text{min}^{-1}$.

Die Bromierungsrate hängt von einigen Faktoren ab wie z.B. von der Oberflächenladung, der spezifischen Oberfläche und der Anwesenheit von Surfactants. Die Partikel haben ein Zeta-Potential von $-22,5 \pm 0,9 \text{ mV}$ und eine BET-Oberfläche von $81,61 \text{ m}^2/\text{g}$. CeO_2 wurde mit Nitrilotriessigsäure (NTA) funktionalisiert, um eine bessere Dispergierbarkeit der Partikel zu erzielen. Dies ist eine Voraussetzung um eine homogene Beschichtung zu erhalten.

$$\text{TOF} = \frac{v_{max}}{[Cat]_0} \xrightarrow{[Cat]_0 \rightarrow S_{BET} \cdot \beta(Cat)} \text{ROR} = \frac{v_{max}}{S_{BET} \cdot \beta(Cat)} \quad (4)$$

Die Reaktionsrate (ROR) wurde bestimmt um die Reaktionsgeschwindigkeit in Relation zur verfügbaren Oberfläche zu setzen (Gleichung 4).^[121] Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit beträgt $v_{max}=0,144 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$. Mit der spezifischen Oberfläche wurde eine Reaktionsrate von $\text{ROR}(CeO_2)= 0,0597 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ erhalten.

3.3.3 Beschichtung von Polycarbonat mit Ceroxid-Nanopartikeln

Polycarbonat hat eine hydrophobe Oberfläche, woraus eine geringe Oberflächenenergie resultiert. Um diese zu erhöhen, wurde die Oberfläche mit Sauerstoffplasma behandelt. Abbildung 20 zeigt den Kontaktwinkel von unbehandeltem und mit Sauerstoffplasma behandeltem Polycarbonat. Der anfängliche Kontaktwinkel der Polycarbonatoberfläche betrug $86,75^\circ$, der sich nach der Plasmabehandlung deutlich verringerte. Wie Hofrichter et al. bereits in XPS-Messungen gezeigt haben, deutet die Behandlung mit Plasma auf eine Erhöhung des Sauerstoffgehalts an der Oberfläche und eine Verringerung des Kohlenstoffanteils hin,^[122] indem folgende Sauerstoffgruppen auf der Oberfläche des Polycarbonats gebildet werden: $-(C-O)-$, $-C=O-$ und $-(O-C=O)-$.^[123] Der Winkel nach 20 min Sauerstoffplasma-Behandlung betrug $26,88^\circ$.

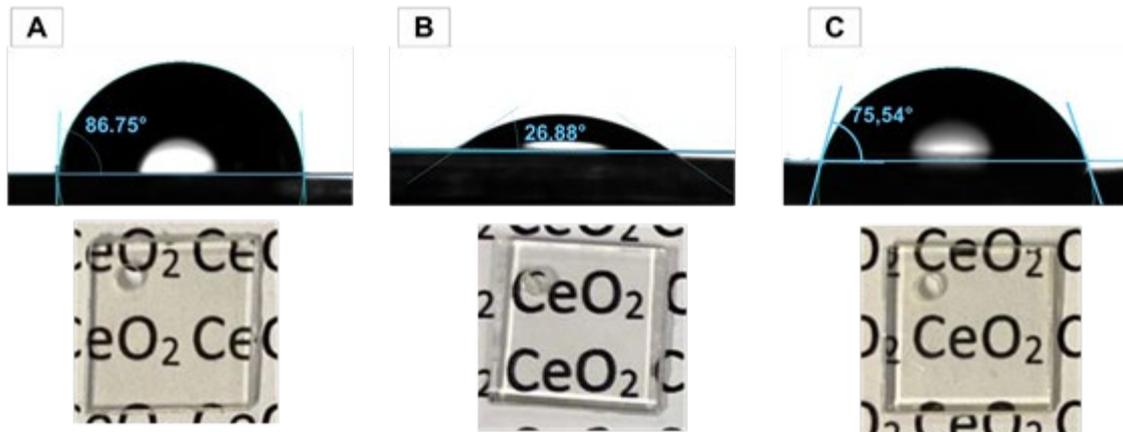


Abbildung 20.: Kontaktwinkel eines Wassertropfens auf A) unbehandeltem, B) mit O₂-Plasma behandeltem und C) mit CeO₂ beschichtetem Polycarbonat mit zugehörigem Bild der 1x1 cm großen Polycarbonatplatte.

Der geringere Kontaktwinkel von 26,88° zeigt eine deutlich höhere hydrophile Oberfläche, die den Kontakt der Suspension mit der Oberfläche des Polycarbonats erleichtert und damit die Beschichtung mit Ceroxid-Nanopartikeln ermöglicht. Für das Tauchbeschichtungsverfahren wurden sauerstoffplasmabehandelte Polycarbonatplatten in einer wässrigen Ceroxid-Suspensionen behandelt und langsam, mit konstanter Geschwindigkeit aus der Dispersion herausgezogen, um eine homogene Beschichtung zu erhalten. Es ist wichtig, die Beschichtung nach der Plasmabehandlung schnell aufzutragen, da sich die Oberfläche schnell regeneriert und wieder hydrophob wird.

Nach der Tauchbeschichtung wurden die Platten für 16 Stunden bei 110°C getempert. Überschüssiges Ceroxid wurde vor den weiteren Tests vorsichtig mit Wasser abgewaschen. Durch das hydrophile Ceroxid auf der Oberfläche hatte der Kontaktwinkel nach dem Beschichtungsprozess einen um 12,74° geringeren Winkel als die unbehandelte Polycarbonat-Probe. Der Ceroxid-Gehalt von 1,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ wurde mittels ICPMS bestimmt und Auslaugungstests zeigten nach 7 Tagen keine Spuren von Ceroxid im Wasserüberstand.

Die Oberflächenmorphologie des unbehandelten und des mit CeO_2 beschichteten Polycarbonats wurde mittels Rasterkraftmikroskop (engl.: „atomic force microscopy“, AFM) charakterisiert (Abbildung 21). Das unbehandelte PC ist glatt mit einer geringen Oberflächenrauigkeit, Root Mean Square (RMS)=11,1 nm. Die mit Ceroxid beschichtete Polycarbonatoberfläche weist mit RMS=9 nm eine etwas geringere Rauigkeit auf. (Vgl. Abbildung 29 & Abbildung 30, S.49)

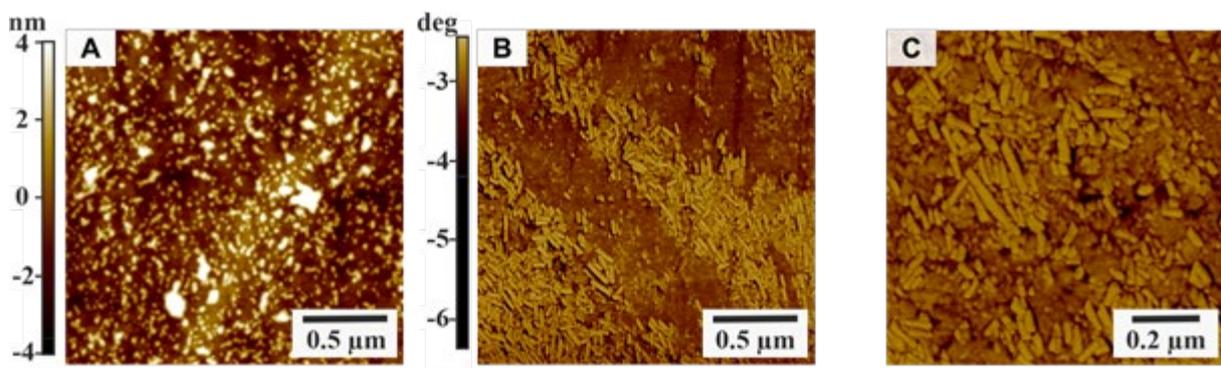


Abbildung 21.: AFM-Analyse der Oberflächenmorphologie von A) unbehandeltem Polycarbonat und B+C) mit CeO_2 -Nanostäbchen beschichtetem Polycarbonat.

Die Rasterkraftmikroskop-Aufnahmen des unbehandelten und CeO_2 -beschichteten PC sind in Abbildung 21 dargestellt. Die Bilder des unbehandelten PC weisen einen hohen Phasenkontrast auf. Dieser Kontrast könnte von Rückständen auf der Oberfläche herrühren, die eventuell dem Kleber des Abdeckbandes oder vielleicht Tensiden entsprechen. Ansonsten ist die Oberfläche glatt und eben. Das Phasenbild des CeO_2 -beschichteten PC zeigt eine sehr homogene Verteilung der Partikel. Auf dem Phasenkontrastbild ist eine Schicht von Nanostäbchen auf der Oberfläche zu sehen (Abbildung 21 B+C). Mit Hilfe des Ausschnitts einzelner Profile kann auf die Größe der Partikel geschlossen werden,^[124] wobei das Linienprofil der ungefähren Partikelgröße entspricht. Die durchschnittliche Länge der Partikel liegt zwischen 100 und 200 nm und ist nahe an der mittels TEM bestimmten Partikelgröße, die ebenfalls 100-200 nm beträgt. Die Dicke der Stäbchen wurde ebenfalls mittels AFM

untersucht. Das Linienprofil könnte auf eine Partikeldicke von 43 nm hindeuten. Dieser Wert ist jedoch aufgrund der Spitzenverformung zu hoch. Die z-Höhe wird von der Spitzenfaltung nicht beeinflusst und ergibt einen genaueren Wert von 7,4 nm, der in etwa mit den Werten der TEM-Bilder übereinstimmt (Abbildung 31, S. 50).

Die Oberfläche wurde auch mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht. Eine energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) wurde durchgeführt, um die Oberfläche genauer zu analysieren und das Vorhandensein von CeO_2 zu zeigen (Abbildung 28, S.48). Die Oberfläche wurde mit einer 1 nm dicken Goldschicht besputtert, um einen besseren Kontrast zu erzielen. Wie bereits bekannt, liegt die charakteristische Röntgenstrahlung von Cer bei $L\alpha$: 4,839 keV und korrespondiert mit dem Signal bei 4,9 eV im aufgenommenen EDX-Spektrum.^[125] Das niedrige Signalintensität kann durch eine geringe Konzentration von CeO_2 auf der Oberfläche erklärt werden. Charakteristisch ist auch das $M\alpha$ -Signal von Gold bei 2,12 keV, das mit der gesputterten Goldschicht auf der Oberfläche in Verbindung gebracht wird. Weiterhin sind die Signale von Sauerstoff (O) bei 0,53 keV ($K\alpha$) und von Kohlenstoff (C) bei 0,28 keV ($K\alpha$) zu erkennen.

3.3.4 CeO₂-beschichtetes PC hemmt Biofilmbildung

Die beschichteten Platten wurden auf ihr Potenzial zur Hemmung der Biofilmbildung von *Pseudomonas aeruginosa* getestet, einem prominenten gramnegativen Bakterium, das für bis zu 10 % aller HAI in Deutschland verantwortlich ist und durch sein Vorkommen in Trinkwasserleitungen auch das Trinkwasser verunreinigt.^[126] Aufgrund seines starken Biofilmbildungsverhaltens reicht eine einfache Oberflächenreinigung mit Desinfektionsmitteln oft nicht aus und führt zur Entstehung von antibiotikaresistenten Stämmen.

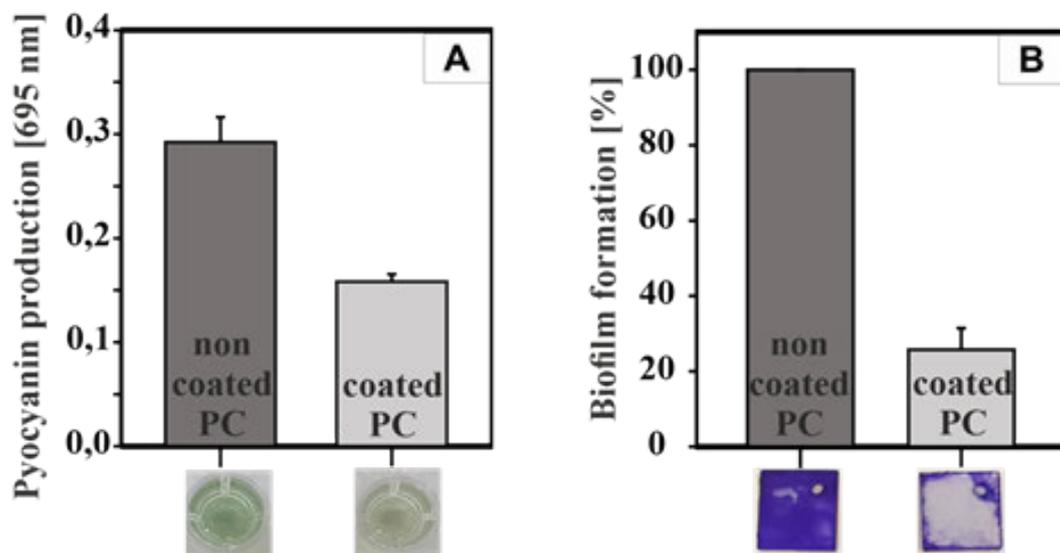


Abbildung 22.: (A) Der Effekt von CeO₂-beschichteten PC-Nanokompositen im Vergleich zu unbeschichteten auf die Pyocyanin-Produktion in *P. aeruginosa*. (B). Bakterielle Biofilmbildung auf unbeschichteten und CeO₂-beschichteten PC-Oberflächen Kristallviolett-Färbetest von *Pseudomonas aeruginosa*, gewachsen in LB-Medium. Die gefärbten Platten sind im unteren Teil der Plots dargestellt. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung von drei unabhängig voneinander durchgeführten Experimenten dar.

Pathogenität der Biofilme zu untersuchen (Abbildung 22A). Dazu wurden die Bakterien für 72 h auf unbeschichtetem und beschichtetem PC kultiviert. Anschließend wurden die Platten entfernt und die verbleibende Kulturflüssigkeit auf das Vorkommen von Pyocyanin analysiert. Das CeO₂-beschichtete PC-Nanokomposit halbierte nahezu die Pyocyanin-Produktion des auf der Oberfläche gewachsenen Biofilms im Vergleich zur unbeschichteten Probe auf nur 54 %. Neben der Bedeutung für Anwendungen im Gesundheitswesen zeigt dieses Ergebnis auch - wie postuliert -, dass die Quorum-Sensing-abhängige Pyocyanin-Produktion durch Ceroxid-Nanopartikel gehemmt wird.

Wie in Abbildung 22 B zu sehen ist, wurde die Biofilmbildung durch die Ceroxid-Beschichtung um ungefähr 75 % im Vergleich zu einer nicht beschichteten Polycarbonatprobe reduziert.

3.3.5 Bakterienviabilitäts-Tests:

Für ein besseres Verständnis des Biofilminhibierungsprozesses ist es von großer Bedeutung, zu untersuchen, ob die Biofilmbildung durch Abtöten der Bakterien oder durch Unterdrückung des Gruppenverhaltens reduziert wird.

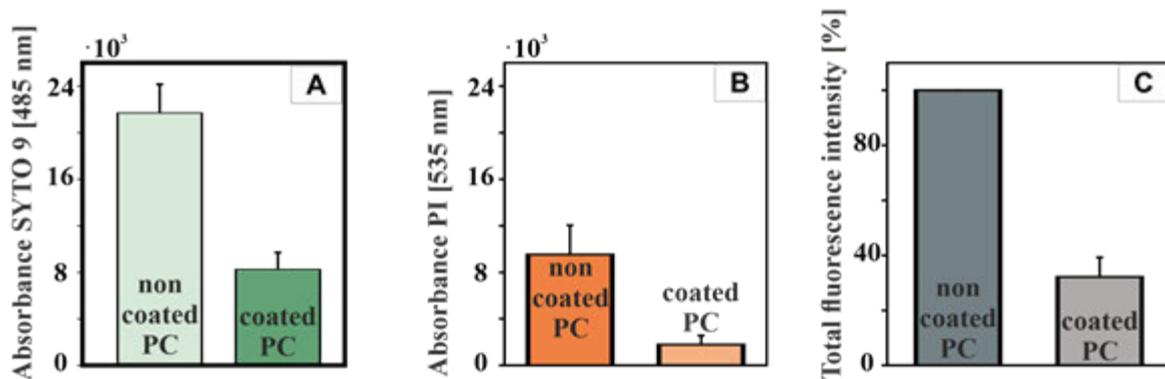


Abbildung 23.: Quantifizierung der Biofilmbildung von *P. aeruginosa* auf unbeschichtetem PC und CeO₂/PC-Komposit. Die Bakterien wurden für 72 h unter leichtem Schütteln (150 U/min) bei 30 °C auf unbeschichteten und CeO₂-beschichteten PC-Platten kultiviert. Die leeren Platten dienten als Positivkontrolle. Die planktonischen Zellen wurden entfernt und die verbleibenden Bakterien, die sich auf den Platten befanden, wurden mit SYTO 9 (A) und Propidiumiodid (B) für 30 Minuten bei 30 °C gefärbt. Schließlich wurde die Wirkung der inkorporierten CeO₂ NPs auf die bakterielle Biofilmbildung durch Messung der Absorption bei 485 nm für SYTO9 bzw. 535 nm für Propidiumjodid quantifiziert (C).

Dazu wurde ein Lebend-/Tot-Fluoreszenz-Assay mit den Farbstoffen SYTO9 und Propidiumiodid (PI) durchgeführt. Während SYTO9 lebende Zellen anfärbt, durchdringt Propidiumiodid nur tote oder beschädigte Zellen.^[127] Daher kann die Biofilmmzusammensetzung analysiert werden. Wie Abbildung 23 zeigt, ändert sich das Lebend-/Tot-Verhältnis für das CeO₂/PC-Nanokomposit und die nicht beschichtete Referenz nicht signifikant, während die Gesamtmenge der Bakterien abnimmt. Wir haben Lebend-/Tot-Fluoreszenztests mit Syto9/PI-Farbstoff durchgeführt.

Zusätzlich wurde die antibakterielle Aktivität von CeO₂-NPs auf Polycarbonat-Oberflächen mittels Rasterkraftmikroskop (AFM) für *P. aeruginosa*-Kulturen untersucht.

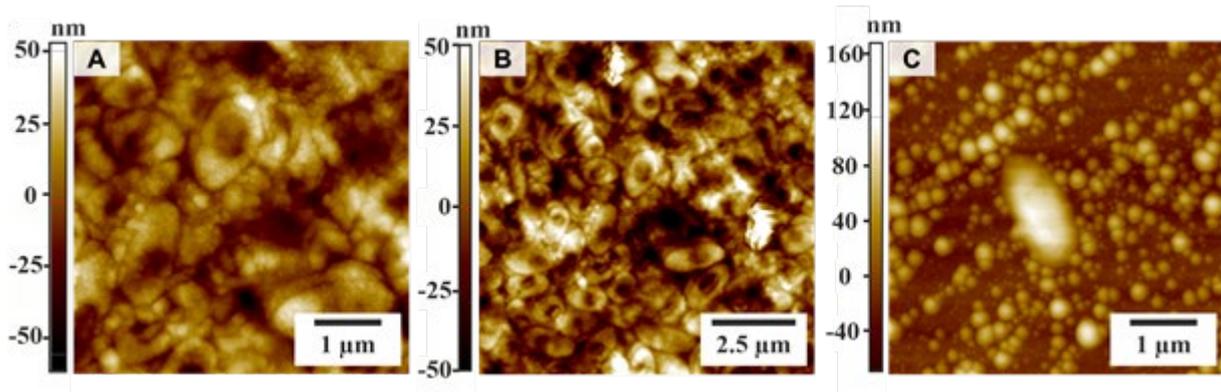


Abbildung 24.: Rasterkraftmikroskopische (AFM) Aufnahmen von unbeschichtetem (A + B) und CeO₂-beschichtetem PC mit *Pseudomonas aeruginosa* Kultur (C).

Abbildung 24 A+B zeigt den Biofilm mit Bakterien auf der unbeschichteten Polycarbonatoberfläche. Aufgrund der möglichen Kommunikation (Quorum Sensing) zwischen den Bakterien konnten diese eine EPS-Matrix (extrazelluläre polymere Substanzen) bilden und auf der Oberfläche einen Biofilm bilden. Es lässt sich ein homogener Belag aus Bakterien erkennen, die eine Größe von 1-1,5 µm haben. Die Beschichtung mit CeO₂ hatte den Effekt, dass die Bakterien an der Biofilmbildung gehindert wurden (Abbildung 24 C). Hier sieht man ein einzelnes Bakterium auf der Oberfläche, das aufgrund der Ceroxid-Nanostäbchen nicht in der Lage ist, mit anderen Bakterien zu kommunizieren. Vermutlich wird das Signalmolekül, das zur interbakteriellen Kommunikation dient, durch CeO₂ in Gegenwart des Halogenids Br⁻ und H₂O₂ durch oxidative Bromierung so verändert, dass es von anderen Bakterien nicht mehr erkannt wird. Dadurch wird die Bakterienkommunikation unterbrochen, wodurch sich kein Biofilm bilden kann. Die Negativkontrolle wurde auch in Anwesenheit des Halogenids und H₂O₂ durchgeführt, so dass diese nicht für die Wachstumshemmung von Biofilm verantwortlich sind.

3.3.6 CeO₂-beschichtetes PC zeigt keine Zytotoxizität

Ein zusätzlicher Zellviabilitätstest wurde durchgeführt, um die Fähigkeit der Zellen zu bestimmen, in Gegenwart der Nanopartikel zu überleben. Die Zytotoxizität von CeO₂-Nanopartikeln wurde in HeLa- und RAW 264.7-Zellen mittels Lumineszenz-Zellviabilitätstest untersucht. Selbst bei einer Konzentration von bis zu 300 µL/mL zeigten die Partikel nach 24 Stunden Inkubation keine Zytotoxizität (Abbildung 25).

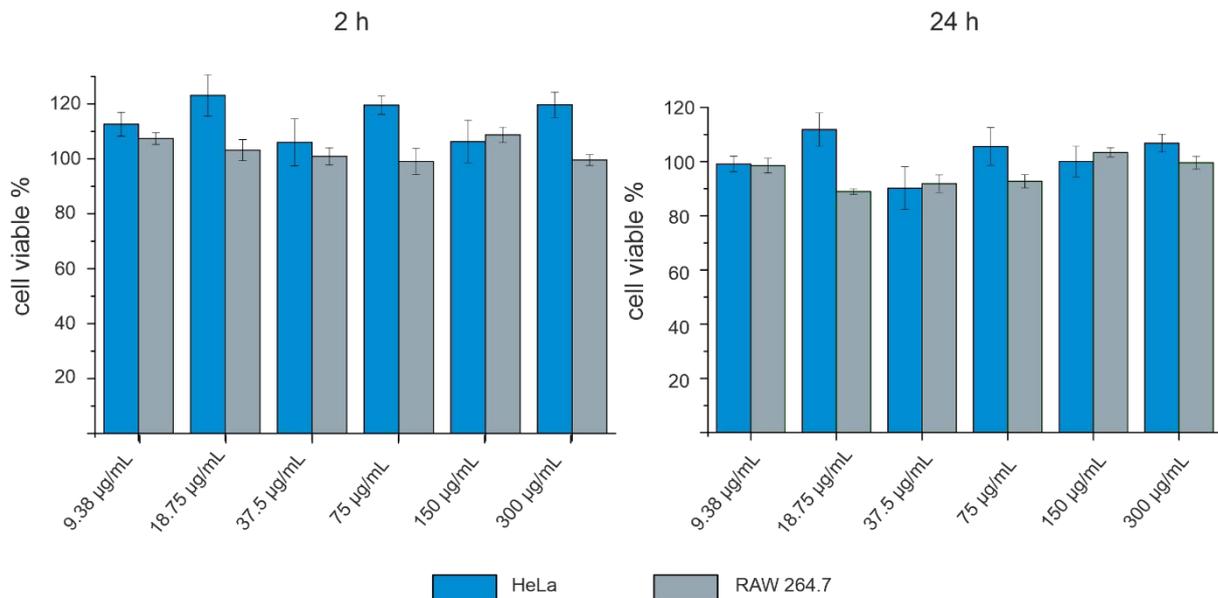


Abbildung 25.: Wirkung von CeO₂-NTA-Nanopartikeln auf die Zellviabilität von HeLa- und RAW 264.7-Zellen nach 2 h und 24 h bei unterschiedlichen Konzentrationen.

Die Lebensfähigkeit der HeLa-Zellen liegt auch bei hohen Konzentrationen nach 2 und 24 Stunden konstant bei 100 %. Ebenso bleibt die Lebensfähigkeit von RAW 264.7-Zellen mit steigender Konzentration der Partikel konstant bei 100 %.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde erfolgreich ein Nanokomposit aus CeO₂ und Polycarbonat im Tauchverfahren mit nur 1,6 µg/cm² Nanopartikel auf der Oberfläche entwickelt, das in der Lage ist, die Biofilmbildung von *Pseudomonas aeruginosa* auf der Polycarbonatoberfläche um 75% zu reduzieren. Durch zusätzliche Zytotoxizitäts-Assays sowie Live/Dead-Assays konnte gezeigt werden, dass die Ceroxid-Beschichtung die Adhäsion von Bakterien mit einer ungiftigen Wirkungsweise verhindert.

3.5 Experimenteller Teil

3.5.1 Materialien & Synthese

Cer (III)-nitrat Hexahydrat, Nitrilotriessigsäure (NTA, 99%) und Natriumnitrilotriacetat (Na_3NTA , 99+%) wurden von Acros Organics bezogen. Wasserstoffperoxid (35%) wurde von Carl Roth bezogen. Ammoniumhydroxidlösung (25%) wurde von VWR bezogen. Alle Chemikalien wurden ohne weitere Aufbereitung verwendet. Reinstwasser ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) wurde für alle Experimente verwendet. Polycarbonat (1 mm Dicke, $15 \times 15 \text{ cm}$ Platten) wurde von GoodFellow bezogen.

3.5.2 Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln

Die besten Ergebnisse wurden mit einer Synthese erzielt, die von Ramon Leiza et al. adaptiert wurde.^[128] In zwei Zentrifugenröhrchen wurden insgesamt $10 \text{ g} \cdot \text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in $80 \text{ ml H}_2\text{O}$ aufgelöst. Anschließend wurden $8 \text{ ml NH}_4\text{OH}$ -Lösung zugegeben. Nach leichtem Schütteln wurde das ausgefallene $\text{Ce}(\text{OH})_{3/4}$ zentrifugiert (3000 rpm , 10 min), um überschüssiges Wasser zu entfernen. Das farblose Pulver wurde in 500 ml Wasser redispersiert, auf 60°C vorgewärmt und sowohl mit Magnetrührer als auch mit Ultra-Turrax[®]-Rührer (15000 rpm mit S 25 EC-T-C-18G ST Homogenisator) gerührt. Nach Erreichen einer homogenen Suspension wurden $1,4 \text{ g}$ NTA und $0,7 \text{ g Na}_3\text{NTA}$ zugegeben. Nach 15 Minuten kontinuierlichem Rühren färbte sich die grauweiße Suspension bei langsamer Zugabe von $3 \text{ ml H}_2\text{O}_2$ rot. Während 45 min Ultra-Turrax[®]-Rühren wurde die Temperatur langsam auf 72°C erhöht. Unter Magnetrühren ließ man die Reaktion anschließend auf Raumtemperatur abkühlen. Um entstandenes NH_4NO_3 zu entfernen, wurde die Suspension dreimal mit H_2O (9000 rpm , 20 min) gewaschen.

3.5.3 Phenolrot-Assay

Die intrinsische Haloperoxidase-Aktivität wurde mit dem Phenolrot-Assay bestimmt. Bei diesem Assay wird Tetrabromphenolblau (Br_4PR) durch Reaktion von Phenolrot (PR), einer Bromidquelle (KBr) und H_2O_2 in Gegenwart eines aktiven Katalysators (Ceroxid-Nanopartikel) erzeugt.^[91] Die Reaktion wurde mit einem Agilent Cary 3500 im Wellenlängenbereich von 350 bis 700 nm bei 25°C beobachtet. Die Basislinie wurde mit einer gerührten (800 rpm), temperaturäquilibrierten Mischung aus NPs ($36,3 \mu\text{mol}$), KBr ($50 \mu\text{mol}$) und PR ($0,1 \mu\text{mol}$) in 2 ml Reinstwasser ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) vor der Zugabe von H_2O_2 ($6 \mu\text{mol}$) gemessen.

3.5.4 Michaelis-Menten-Kinetik

Für die Michaelis-Menten-Kinetik wurde die Menge an H_2O_2 variiert. Die Kinetik wurde bei $\lambda=592$ nm, dem Absorptionsmaximum von Br_4PR , durchgeführt. Für jede Messung wurde die gleiche Stammlösung, bestehend aus von $50 \mu\text{M}$ PR $50\mu\text{M}$ und 25 mM KBr , verwendet. Nach der Zugabe von $62,5 \mu\text{l}$ Nanopartikelsuspension ($1\text{mg}/\text{ml}$) wurde die Reaktion für 2 min unter Rühren (800 rpm) zur Temperaturäquilibration (25°C) belassen. Vor der H_2O_2 -Zugabe wurde die Extinktion auf Null gesetzt. Die Kinetik wurde für 10 Minuten gemessen. Alle Datenpunkte wurden von 2-8 Minuten linear angepasst. Die Konzentration wurde über das Lambert-Beersche Gesetz berechnet. Der Extinktionskoeffizient wurde durch Messung der Absorption von fünf verschiedenen Br_4PR -Lösungen ($2\mu\text{M}$, $6\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $14 \mu\text{M}$, $18\mu\text{M}$) in einer Quarzküvette ($d=1\text{cm}$) bestimmt. Mit Hilfe des Lambert-Beer-Gesetzes wurde für BR_4PR (freie Säure) in Reinstwasser mit einem Agilent Cary 3500 UV-VIS-Spektrophotometer ein Extinktionskoeffizient von $32740 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ermittelt.

3.5.5 Synthese der CeO_2 -Beschichtung.

Polycarbonatplatten (1 mm Dicke) mit einer Größe von $1\text{x}1 \text{ cm}$ wurden mit MQ-Wasser und Ethanol gewaschen, um Oberflächenverunreinigungen zu entfernen. Zur Aktivierung der Oberfläche wurden die Platten 20 min im Sauerstoffplasma behandelt (290 W , $0,1 \text{ mbar}$). Die behandelten Polycarbonatplatten wurden in eine CeO_2 -Dispersion ($9,5 \pm 0,1 \text{ mg}/\text{ml}$) in MQ-Wasser mit einer Tauchgeschwindigkeit von $60 \text{ mm}/\text{min}$ eingetaucht, 60 s in der Dispersion gehalten und mit der gleichen Geschwindigkeit herausgezogen. Das CeO_2 -beschichtete Polycarbonat wurde an der Luft bei 110°C für 16 h getrocknet. Zuletzt wurden die Platten mit MQ-Wasser gewaschen, um überschüssiges CeO_2 von der Oberfläche zu entfernen.

3.5.6 Bakterienstämme und Wachstumsbedingungen

P. aeruginosa PA14 wurde aus dem Labor von Dr. Max Schobert (Technische Universität Braunschweig, Deutschland) bezogen. *P. aeruginosa* wurde aerob in Lysogenie-Brühe (LB-Medium) [1% (w/v) NaCl ; 1% (w/v) Trypton; $0,5\%$ (w/v) Hefeextrakt] bei 30°C kultiviert. Zur Herstellung von Agarplatten wurde dem Medium $1,5 \%$ (w/v) Agar zugesetzt.

3.5.7 Biofilm-Assays.

Für die Quantifizierung der bakteriellen Biofilmproduktion wurde eine modifizierte Methode früher veröffentlichter Protokolle verwendet.^[129] *P. aeruginosa* wurde in LB-Medium über Nacht bei 30 °C aerob kultiviert. Die Kulturen wurden dann in LB in einem Volumen von 1 ml pro Vertiefung einer 24-Well-Polystyrol-Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nürnberg) auf eine endgültige optische Dichte von 0,5 bei 600 nm (OD600) verdünnt. Zusätzlich wurden KBr (Roth, Karlsruhe, Deutschland) und H₂O₂ (Roth, Karlsruhe, Deutschland) mit einer Endkonzentration von 32 mM bzw. 0,8 mM in die Vertiefungen gegeben. Dann wurden die leeren Wellplatten und die CeO₂/PC-Komposite unterzogen. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte für 72 h unter leichtem Schütteln (150 rpm) bei 30°C inkubiert. H₂O₂ wurde schrittweise mit einer Endkonzentration von 0,8 mM alle 24 h zugegeben. Anschließend wurden die Platten mit Wasser gespült, um die planktonischen Zellen zu entfernen. Nach dem Trocknen für 5 min wurde 1 ml [1% (w/v)] Kristallviolett (Merck, Darmstadt) in die Wells gegeben. Nach 30 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde ungebundenes Kristallviolett durch zweimaliges vorsichtiges Eintauchen der Platten in Wasser entfernt. Anschließend wurde die Platte über Nacht bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet. Zur Quantifizierung wurde 1 ml 30%ige (v/v) Essigsäure (Roth, Karlsruhe) auf die Platten gegeben, um das Kristallviolett aus dem Biofilm zu lösen. Nach 15 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Absorption in einem Plattenlesegerät (Tecan, Salzburg) bei 575 nm quantifiziert.

3.5.8 Fluoreszenzquantifizierung des bakteriellen Biofilms.

P. aeruginosa wurde in LB-Medium über Nacht bei 30 °C kultiviert. Die Kulturen wurden dann in LB verdünnt, in einem Volumen von 1 ml pro Vertiefung einer 24-Well-Polystyrol-Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nürnberg) bei einer endgültigen OD600 von 0,5. Zusätzlich wurden KBr (Roth, Karlsruhe, Deutschland) und H₂O₂ (Roth, Karlsruhe, Deutschland) in einer Endkonzentration von 32 mM bzw. 0,8 mM in die Vertiefungen gegeben. Anschließend wurden die nicht beschichteten Platten und CeO₂/PC-Verbundstoffe in die Vertiefungen gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde dann für 72 h unter leichtem Schütteln (150 U/min) bei 30 °C inkubiert. H₂O₂ wurde schrittweise mit einer Endkonzentration von 0,8 mM alle 24 h zugegeben. Anschließend wurden die Platten mit Wasser gespült, um die planktonischen Zellen zu entfernen. Anschließend wurden die Platten in 1 ml einer kombinierten SYTO 9- und Propidiumiodid-Lösung (Thermo Fisher, Pittsburgh, USA) gegeben und 30 Minuten bei 30 °C inkubiert. Dann wurden die Platten erneut mit Wasser gespült und in die Vertiefungen einer

24-Well-Polystyrol-Mikrotiterplatte gelegt. Schließlich wurde die Biofilmfluoreszenz in einem Plattenlesegerät (Tecan, Salzburg) bei einer Wellenlänge von 485 nm und 535 nm für die Fluorophore SYTO 9 bzw. PI quantifiziert.

3.5.9 Pyocyanin-Analysen

Für die Pyocyanin-Produktion wurde eine alternative Methode zu bereits veröffentlichten Protokollen verwendet.^[130] Dazu wurde *P. aeruginosa* in LB-Medium über Nacht bei 30°C kultiviert. Die Kulturen wurden dann in LB verdünnt, in einem Volumen von 1 ml pro Vertiefung einer 24-Well-Polystyrol-Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nürnberg) bei einer finalen OD600 von 0,5. Zusätzlich wurden KBr (Roth, Karlsruhe, Deutschland) und H₂O₂ (Roth, Karlsruhe, Deutschland) in einer Endkonzentration von 32 mM bzw. 0,8 mM in die Wells gegeben. Anschließend wurden die nicht beschichteten Platten bzw. CeO₂/PC-Verbundstoffe in die Vertiefungen gegeben. Die Mikrotiterplatte wurde dann für 72 h unter Schüttelbedingungen (350 rpm) bei 37 °C inkubiert. Alle 24 h wurde schrittweise H₂O₂ in einer Endkonzentration von 0,8 mM zugegeben. Anschließend wurden die Komposite aus den Vertiefungen entfernt und der verbleibende Überstand wurde in einem Mikroreaktionsgefäß (Eppendorf, Deutschland) aufgefangen. Die Zellen wurden durch Zentrifugation bei 16 × 1000 g für 15 min von der Kulturflüssigkeit getrennt. Danach wurde der Überstand durch 0,22 µm Filter (Merck, Darmstadt) geleitet. Abschließend wurden die zellfreien Kulturflüssigkeiten auf Absorption bei 695 nm analysiert und somit in einem Plattenlesegerät (Tecan, Salzburg) auf Pyocyanin quantifiziert.

3.5.10 Zellkultur

RAW 264.7-Zellen und humane Zervixkarzinom-Zellen (HeLa) wurden in Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), ergänzt mit 10 % FBS, 100 U ml⁻¹ Penicillin, 100 mg ml⁻¹ Streptomycin und 2 mM Glutamin, kultiviert. Die Zellen wurden in einem befeuchteten Inkubator bei 37 °C und 5 % CO₂ gezüchtet. Die Zellpassage und -ernte wurde mit 0,25% Trypsin-EDTA für 5 min bei 37 °C, 5% CO₂ durchgeführt (alle Reagenzien von Thermo Fisher, Deutschland). Zellviabilität und Zellzahl wurden mit Trypanblau und durch Messung mit einem automatischen Zellzähler (TC10, Bio-Rad, Deutschland) bestimmt.

3.5.11 Zellviabilität

Die Zellviabilität wurde mit dem CellTiter-Glo® Luminescent Assay gemäß der Anleitung des Herstellers (Promega, USA) bestimmt. Nach der Zellernte wurden HeLa- oder RAW264.7-Zellen in 96-Well-Platten (Art.-Nr.: 655083, Greiner BioOne, Österreich) mit einer Zellzahl von 5.000 Zellen pro Well ausgesät. Die Zellen wurden über Nacht bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert, um die Zellablösung zu ermöglichen, anschließend wurde das Medium entfernt. Nanopartikellösungen wurden in FBS supplementiertem DMEM hergestellt und zu den Zellen gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 2 bzw. 24 Stunden wurde das gleiche Volumen des CellTiter-Glo® Reagenz zugegeben und das Lumineszenzsignal mit einem Infinite M1000 Platerader (Tecan, Schweiz) gemessen. Die Zellviabilität wurde als Prozentsatz der Zellviabilität im Vergleich zu unbehandelten Zellen angezeigt.

3.6 Methoden

3.6.1 Elektronenmikroskopie

Die Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurden vorbereitet, indem ein Tropfen einer verdünnten NP-Dispersion ($\approx 1\text{mg/ml}$) in Ethanol auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfergitter gegeben wurde. TEM-Bilder wurden mit einer FEI Tecnai 12 TWIN LaB6 bei 120 kV zusammen mit einer Gatan US1000 CCD-Kamera (16-bit, 2048 x 2048 Pixel) unter Verwendung der Gatan Digital Micrograph Software aufgenommen.

Die Proben für die Rasterelektronenmikroskopie (REM) wurden mit Kohlenstofffilm-Pads auf Aluminiumhaltern präpariert. Ein Silizium-Wafer wurde für die Probenpräparation verwendet und auf dem Kohlenstoff-Pad fixiert. Eine Polycarbonatplatte wurde auf dem Kohlenstoff-Pad fixiert und mit Gold besputtert (Dicke 1 nm). Die REM-Bilder wurden mit einem FEI Nova NanoSEM 630 aufgenommen, das mit einem EDAX-Pegasus X4M-Gerät für die EDX-Messungen ausgestattet war. Die Beschleunigungsspannung wurde auf 5 kV eingestellt. Die elementare Zusammensetzung wurde mit der EDAX Genesis Software Suite berechnet.

3.6.2 Pulver-Röntgendiffraktometrie

Röntgenbeugungsmuster wurden mit einem STOE Stadi P Diffraktometer, ausgestattet mit einem Dectris Mythen 1k Detektor, im Transmissionsmodus unter Verwendung von Mo K α 1 Strahlung aufgenommen. Die kristallinen Phasen wurden mit der PDF-2-Datenbank und dem Programm AXS EVA 10.0 (Bruker) identifiziert.

3.6.3 Zetasizer

Zetapotentiale und hydrodynamische Radien wurden auf einem Malvern Zetasizer Nano unter Verwendung von Einweg-Kapillarzellen (DTS1070) und Einweg-Polystyrol-Küvetten gemessen. Die Datenanalyse wurde mit der *Malvern Zetasizer Software 8.01.4906* durchgeführt.

3.6.4 BET

BET-Messungen wurden mit dem Gasadsorptionsgerät 3P Micro 300 unter Verwendung von Stickstoff als Analysegas bei 77,4 K durchgeführt. Die Software *3P Surface Area & Pore Size Analyzer System 10.03.02* wurde zur Analyse der aufgezeichneten Daten verwendet.

3.6.5 ICPMS

Zur Bestimmung des Cerdioxidgehalts der beschichteten Polycarbonatplatten wurden die Platten in CHCl_3 gelöst, dann bei 45°C getrocknet und bei 600°C verbrannt. Die Asche wurde mit abgekochtem HNO_3 (65 %) gelöst und mit Reinstwasser verdünnt und mit iCAP™ RQ ICP-MS (Thermo Scientific™) gemessen.

3.6.6 Rasterkraftmikroskopie

AFM-Messungen wurden mit einem Park Systems NX10 unter Verwendung des True Non-Contact™-Modus und des Tapping-Modus durchgeführt. OMCL-AC160TS Cantilever ($k=26$ N/m, $f \approx 300$ kHz) wurden für die Abbildung von Polycarbonat-Substraten und CeO_2 -Beschichtung verwendet. Für die Abbildung von Bakterien wurden SD-R30-FM Cantilever ($k=2,8$ N/m, $f \approx 75$ kHz) verwendet. Für die Auswertung wurde die XEI-Software von Park Systems verwendet. Alle Messungen wurden bei Raumbedingungen durchgeführt.

3.6.7 Plasma-Reiniger

Die Platten wurden mit Sauerstoffplasma in einem Plasmaprozessor 200G der Firma TePla Technics Plasma GmbH bei 0,1 mbar und 290 W für 20 min behandelt.

3.6.8 Kontaktwinkel

Der Kontaktwinkel wurde mit dem Kontaktwinkelmesssystem OCA35 gemessen und der Wassertropfen wurde mit einer Hamilton-Spritze (100 μL) mit einer hydrophoben Nadel aufgetragen.

3.7 Supporting Information:

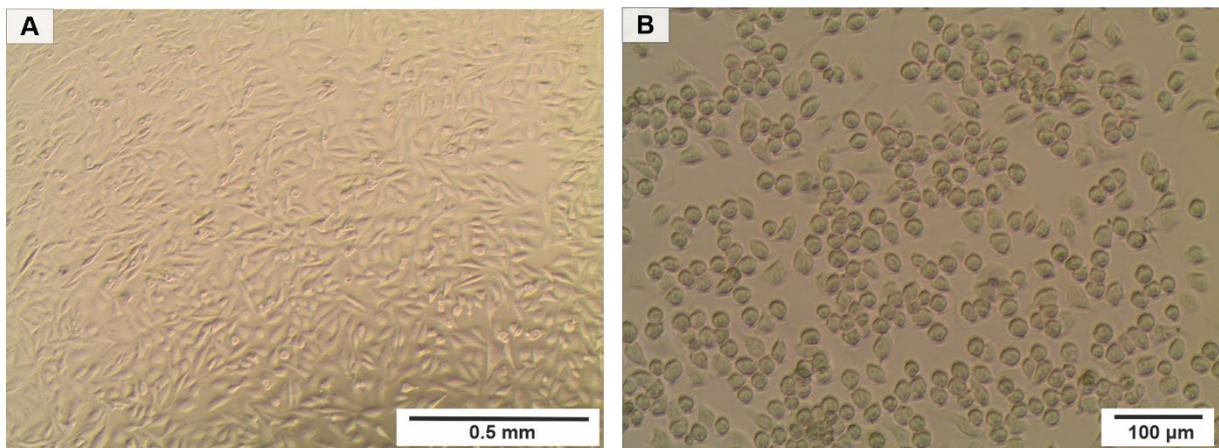


Abbildung 26.: Mikroskopische Aufnahme von HeLa- (A) und RAW-Zellen (B) auf der Oberfläche einer CeO_2 -beschichteten Polycarbonat-Oberfläche.



Abbildung 27.: Wässrige Suspension von CeO_2 -NTA-Nanostäbchen.

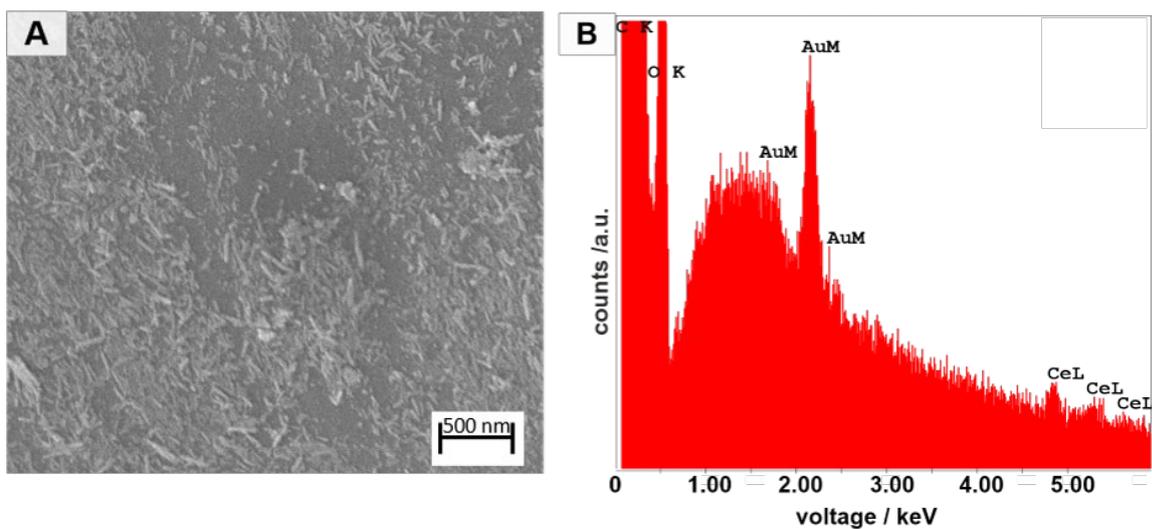


Abbildung 28.: Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahme (A) und energiedispersives Röntgenspektrum (EDX) (B) der CeO_2 -beschichteten Oberfläche von Polycarbonat.

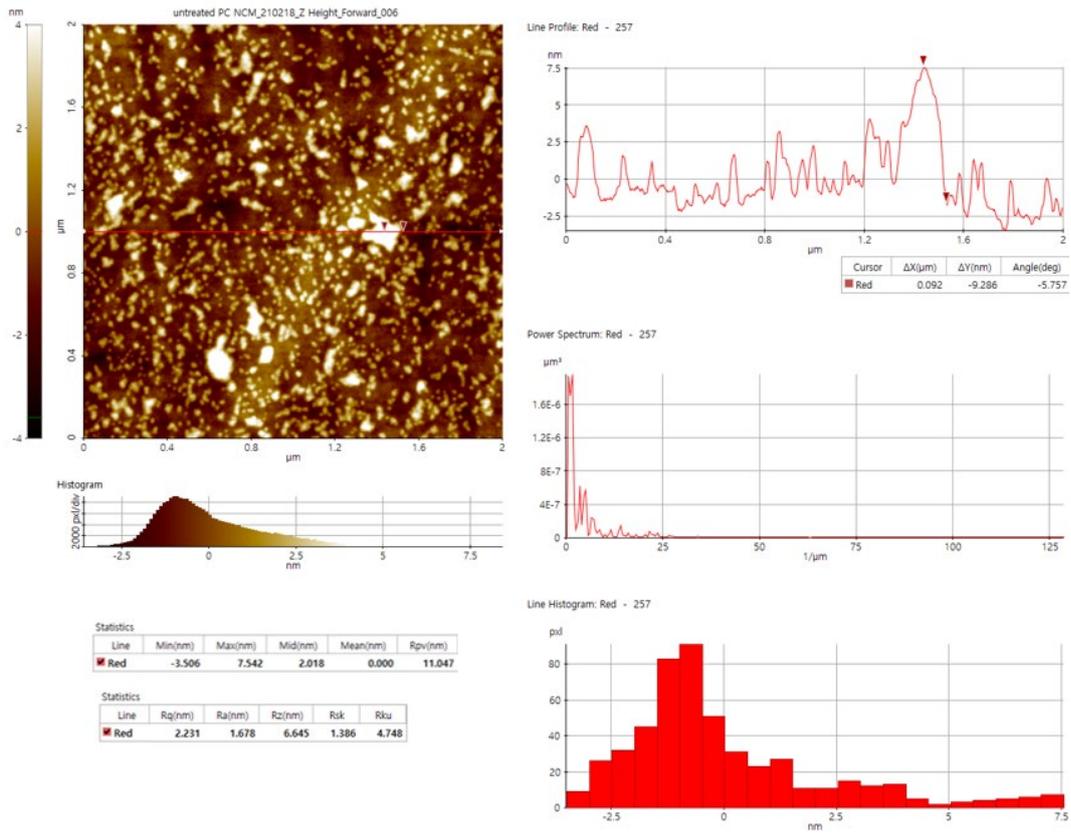


Abbildung 29.: AFM-Analyse der nicht beschichteten Polycarbonatplatte.

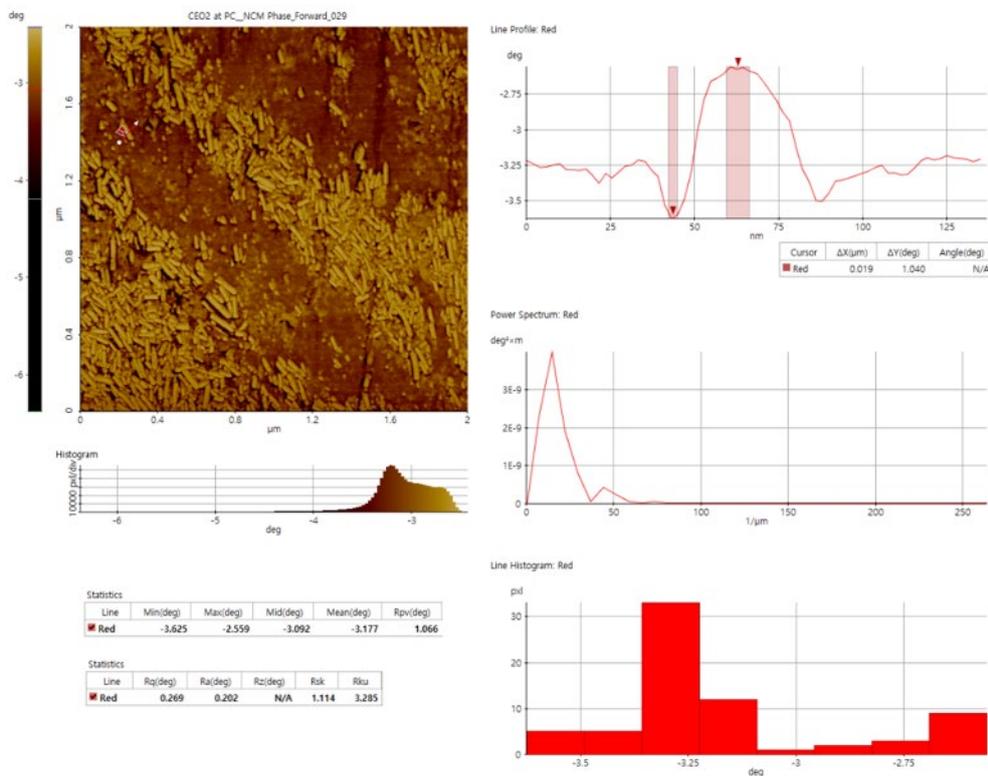


Abbildung 30.: AFM-Analyse der CeO₂-beschichteten Polycarbonatplatte.

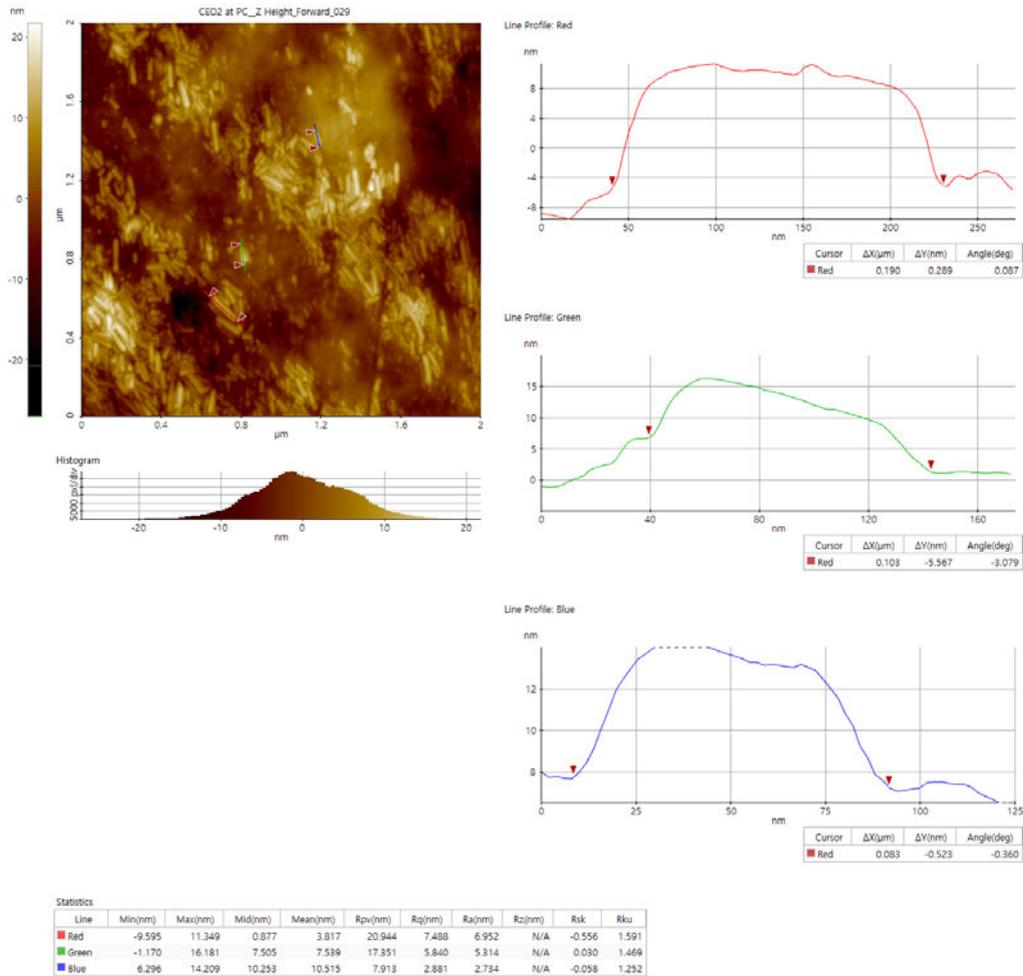


Abbildung 31.: AFM-Nanopartikelgrößenanalyse der CeO₂-beschichteten Polycarbonatplatte.

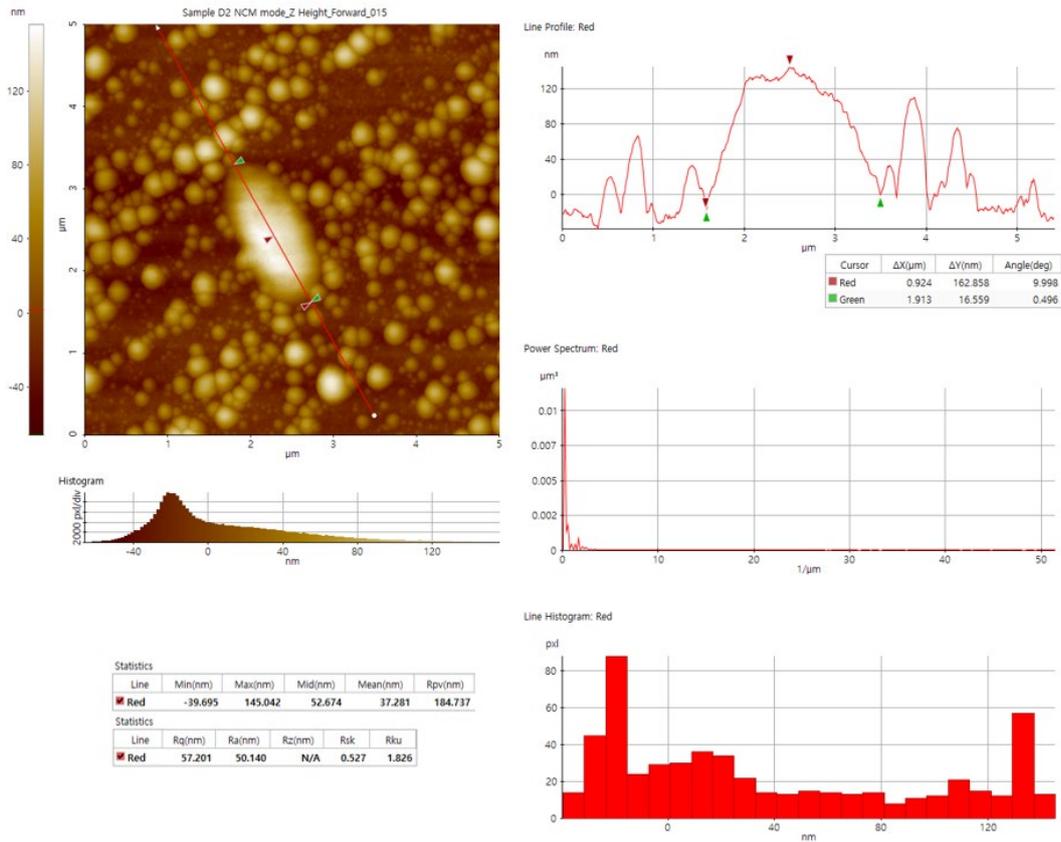


Abbildung 32.: AFM-Analyse der CeO_2 -beschichteten Polycarbonatplatte mit *P. aeruginosa*-Bakterienfilm.

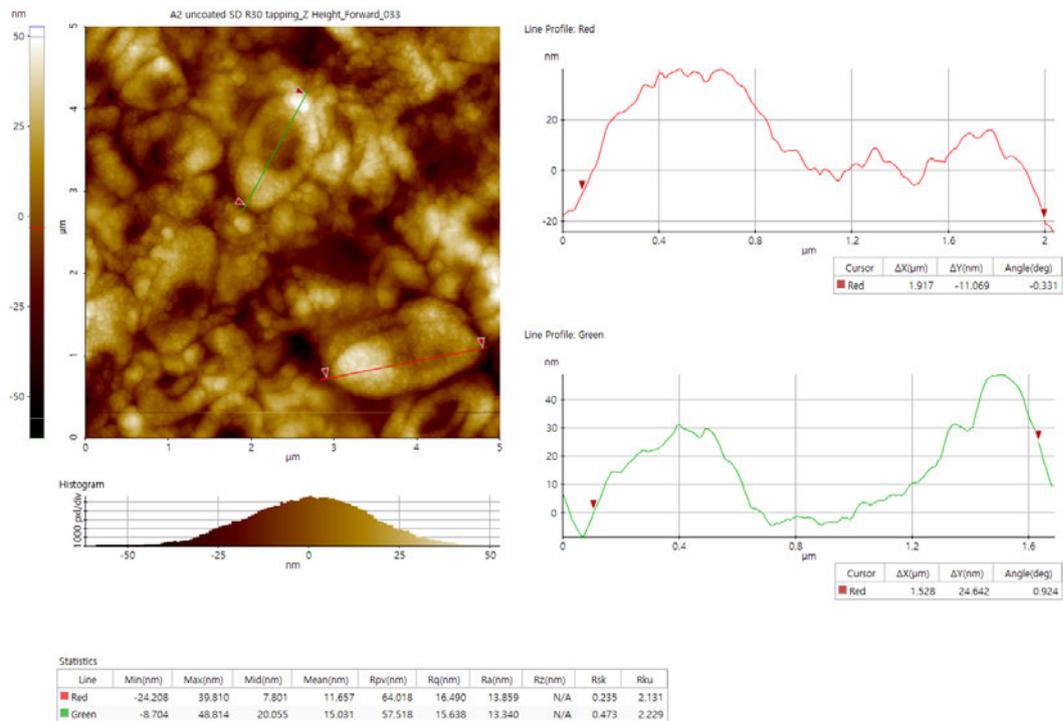


Abbildung 33.: AFM-Analyse der unbeschichteten Polycarbonatplatte mit *P. aeruginosa*-Bakterienfilm.

Kapitel 4 3D-Druck von Ceroxid-Nanopartikeln in Polymermatrizes

In den letzten Jahren fanden 3D-Drucker große Verbreitung, da die Kosten sinken und die Handhabung einfacher wird. Ebenfalls konnten neben den klassischen Werkstoffen wie Polymilchsäure (PLA), Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymer (ABS) und mit Glykol funktionalisiertes Polyethylenterephthalat (PETG), spezielle Druckverfahren für Holz, Metall oder Beton entwickelt werden.^[131–133]

Eine Studie des Polytechnikums Mailand kam schon 2015 zu dem Schluss, dass der 3D-Druck von Häusern nachhaltig sei, die Arbeitssicherheit erhöhe und eine Revolution des Konstruktionsprozesses auslösen könne.^[134] Das Druckverfahren für Beton ist inzwischen Marktreif, 2020 wurde das erste Haus von der HeidelbergCement Aktiengesellschaft in Deutschland gedruckt.^[135]

In der Industrie werden 3D-Druck-Verfahren aufgrund Ihrer hohen Flexibilität insbesondere für Prototyping, maßangefertigte Einzelstücke und Anwendungen, für die keine Großserienprodukte zur Verfügung stehen, verwendet.^[136] Das Unternehmen Heraeus Additive Manufacturing hat sich auf den 3D-Druck von Refraktärmetallen (4., 5. sowie 6. Nebengruppe) und Edelmetallen spezialisiert, da sich mit 3D-Druck Formen herstellen lassen, die mit herkömmlichen Verfahren nicht realisierbar sind. Gedruckte Bauteile aus Wolfram, Molybdän, Tantal und Niob können inzwischen erworben werden, der 3D-Druck von Zirkonium ist ein Fokus der aktuellen Forschung.^[137–139]

Aktuell wird im Bereich der Medizintechnik intensiv an druckbaren Hybridmaterialien geforscht, im Fokus sind hier Knochenersatzmaterialien, Dentalimplantate und der Druck von personalisierten Herztransplantaten.^[140,141] Im Bereich 3D-gedruckter Dentalimplantate gibt es schon bereits kommerzielle Anbieter. Um das Verfahren Massentauglich zu machen, muss jedoch noch viel geforscht und die Kosten gesenkt werden, bis 3D-Druckverfahren zum Standard werden.^[142,143]

Der Markt für 3D gedruckte Medizinprodukte ist schon jetzt ein stark wachsendes Milliardengeschäft mit einer prognostizierten jährlichen Wachstumsrate von 17,5% bis 2022.^[144] Für Anwendungen wie individuell angepasste Schienen oder Prothesen könnten zukünftig antibakterielle, 3D-gedruckte Formkörper vermehrt zum Einsatz kommen.^[145]

Die Flexibilität und der Nutzen des 3D-Drucks konnte während der Covid-19 Pandemie in Italien bewiesen werden. Innerhalb weniger Stunden wurden Ventile für Intensivbeatmungsgeräte gedruckt und eingesetzt, wodurch die Versorgung von Intensivpatienten sichergestellt werden konnte.^[146] Dabei wurden die Herstellung von Prototypen, aber auch die erste Versorgung von Patienten mit einem Schmelzschichtungs-Drucker (FDM-Drucker) durchgeführt. Als sich die Funktionsfähigkeit der Ventile im Praxistest bestätigte, wurde auf selektive Lasersinterdrucker (SLS-Drucker) umgestellt, um größere Stückzahlen zu produzieren.

Im FDM-Druckverfahren wird ein Polymer-Faden „(Filament“), mit einer heißen Spitze („Hotend“) auf die vorherige Schicht des Formkörpers gespritzt. Im SLS-Verfahren wird ein Polymerpulver Schicht für Schicht aufgetragen und das Polymer durch einen Laser geschmolzen. Da das Pulver eine Stützfunktion („Support“) für das gesinterten Polymer bietet, können Formen gedruckt werden, die nicht die unteren Schichten berühren. Das SLS-Verfahren ist jedoch einige Größenordnungen teurer als das FDM-Verfahren.

Während das Spritzgussverfahren für Großserien deutliche Vorteile bei Preis und Stückzahlen bietet, muss zu Produktionsbeginn eine teure Gussform entwickelt werden.^[147] 3D-Druckverfahren können durch ihre flexiblen Anwendungsmöglichkeiten in Kleinserien oder bei begrenzter Logistik zum Einsatz kommen. Es wird nur ein Konstruktionsplan eines CAD-Programms (engl. „computer aided design“) und ein Drucker benötigt. Die Druckgeschwindigkeit ist jedoch aktuell noch ein stark limitierender Faktor.

Aufgrund ihres geringen Anschaffungspreises finden aktuell FDM-Drucker immer weitere Verbreitung und werden für viele der beschriebenen Anwendungen eingesetzt. Immer mehr Hersteller lassen ihre Filamente für den Einsatz im Gesundheitssektor zertifizieren.^[148] Mit Active PLA® von Copper 3D befindet sich bereits ein erstes, lebensmittelechtes, antibakterielles Filament für FDM-Drucker auf dem Markt. Die antibakterielle Wirksamkeit wird durch nanopartikuläre Kupferzusätze realisiert und wird z.B. von der NASA bezüglich eines möglichen Einsatzes in Langzeitraummissionen untersucht.^[149]

Die mangelnde Langzeitstabilität der eingebetteten Kupfernanopartikel könnte jedoch problematisch werden. Durch Stoffwechselprozesse sowie Korrosion kann es langsam in die direkte Umgebung freigesetzt werden und je nach Einsatzgebiet eine Gefahr darstellen.

Eine Alternative zu nanopartikulären Kupferzusätzen könnten ungiftige, nicht auslaugende Ceroxid-Partikel darstellen. In diesem Kapitel soll daher die Synthese, Charakterisierung und Einbettung von Ceroxid-Nanopartikeln in druckbares Polymer (Filament) für den 3D Druck beschrieben und Ergebnisse der fertigen Prototypen vorgestellt werden.

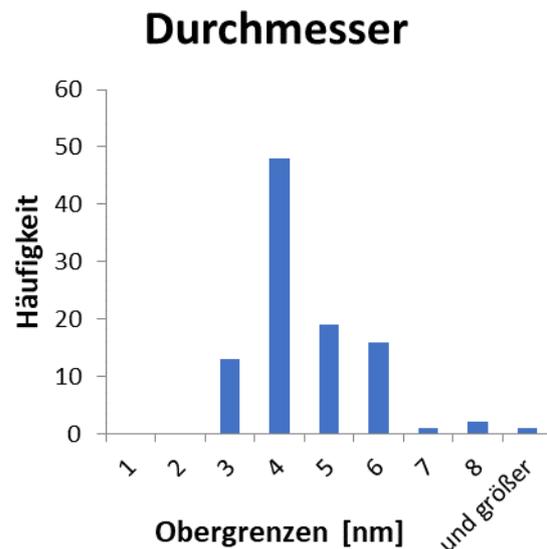
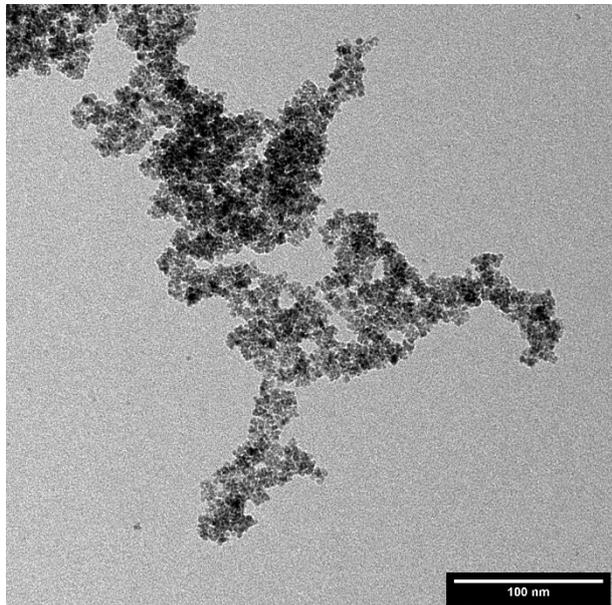
4.1 Ergebnisse

Es wurde sich für die Einbettung in Polymermaterialien für kleine, gut dispergierbare Ceroxid-Nanopartikel, hergestellt in einer Fällungsreaktion mit Ethylenglykol als oberflächenaktives Agens, entschieden. Die Reaktion wurde verwendet, da es sich um eine sehr einfach skalierbare Reaktion handelt, welche ohne teures Equipment durchgeführt werden kann. Über diese Route ist die maximale Menge des Produktes nur durch die Kolbengröße limitiert. Für eine mögliche Skalierung in Technikums-Maßstab scheint die Reaktion geeignet. So konnten für alle in diesem Kapitel gezeigten Einbettungsversuche dieselbe Charge Partikel verwendet werden. Es wurden 50 g CeO_{2-x} -Nanopartikel in einer Synthese hergestellt, da der im Labor verwendete Extruder ein großes Totvolumen (ca. 30 g) besitzt.

4.1.1 Transmissionselektronenmikroskopie und Röntgenbeugung

Die Partikel wurden mittels Röntgenpulverdiffraktion (Diffraktogramm siehe Abbildung 68, S. 128) und Transmissionselektronenmikroskopie charakterisiert. Im TEM-Mikrographen sind sphärische, leicht agglomerierte Nanopartikel zu erkennen. Mit dem Programm Image J wurden die Größe von 100 Partikeln des gezeigten Bildes bestimmt. Das erhaltene Histogramm in Abbildung 34 dargestellt. Es wurden Größen im Bereich von 3 bis 10 Nanometern gemessen. Die Partikelgröße beträgt hauptsächlich 3-6 nm. Nur 4 % der gemessenen Partikel lagen nicht in diesem Größenbereich. Es wurden vermutlich aufgrund des schwachen Kontrastes und der geringen Partikelgröße mehrfach zwei Partikel als ein Partikel vermessen. Etwa die Hälfte der vermessenen Partikel hatte eine Größe von 4 nm.

Die mit Hilfe von Topas per Pawley-Anpassung aus XRD-Daten bestimmten Kristallitgröße ($7,4 \pm 0,1$ nm) ist etwas größer als die per TEM bestimmte Partikelgröße (siehe Tabelle 4). Jeder Partikel besteht daher vermutlich aus einem Kristallit.



Der bestimmte Gitterparameter von $5,415 \text{ \AA}$ stimmt gut mit dem Literaturwert überein.^[150,151] Es wurde zudem eine Phasenanalyse durchgeführt. Es konnten alle Reflexe der Phase Cerianit (JCPDS-Nummer 00-034-0394) zugeordnet werden (Diffraktogramm siehe S. 128).

Tabelle 4.: Pawley-Anpassungen der CeO_{2-x} -Partikel aus der Ethylenglykol-Synthese, aus den Röntgenbeugungsdaten bestimmt.

Material	CeO_{2-x} (aus der Ethylenglykol-Synthese)
Gitterparameter: a [\AA]	$5,415 \pm 0,002$
Kristallitgröße: d [nm]	$7,4 \pm 0,1$

4.1.2 Thermogravimetrische Analyse

Es wurde zudem eine Thermogravimetrische Analyse durchgeführt (Abbildung 72, S. 130). Die Probe verliert bis zu sechs Prozent Gewicht oberhalb einer Temperatur von $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Dabei handelt es sich höchst wahrscheinlich um Ethylenglykol auf der Partikeloberfläche. Durch weitere Waschschriffe oder Kalzinierung könnte der Ethylenglykolanteil reduziert werden und die Eigenschaften als Katalysator gesteigert werden. Für Einbettungsversuche in eine Polymermatrix ist jedoch eine gute Dispergierbarkeit notwendig, die hauptsächlich durch den

Ethylenglykolgehalt bestimmt wird. Die hier präsentierten Partikel stellen einen guten Kompromiss zwischen katalytischen Eigenschaften und Dispergierbarkeit dar.

4.1.3 Katalytische Eigenschaften

Wichtige Voraussetzung für eine antibakterielle Aktivität der Oberfläche ist die enzymmimetische Aktivität der eingebetteten Partikel. Dazu wurden die Partikel im Phenolrot-test untersucht.

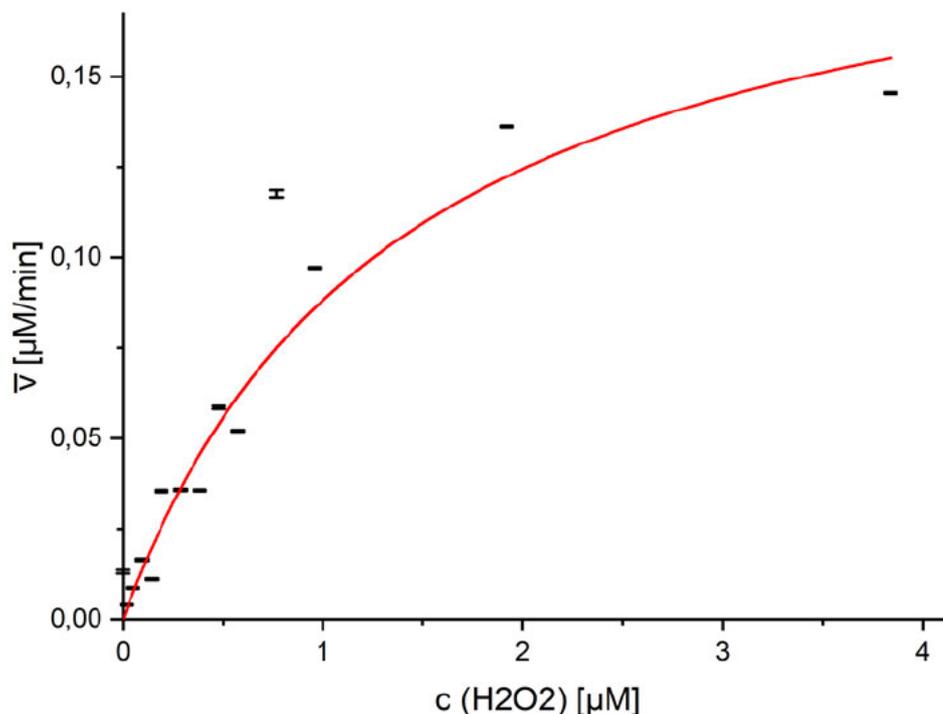


Abbildung 36.: Substratkinetik von Wasserstoffperoxid bezogen auf die oxidative Bromierung von Phenolrot ($c(\text{Phenolrot}) = 50 \mu\text{M}$, $c(\text{KBr}) = 25 \text{ mM}$, $\beta(\text{CeO}_2\text{-Partikel aus Ethylenglykolsynthese}) = 29.6 \mu\text{g ml}^{-1}$).

Hierfür wird der Farbstoff Phenolrot (Phenolsulfonphtalein, PR) durch katalytisch gebildete Hypobromige Säure (HOBr) vierfach zu Bromphenolblau (3',3'',5',5''-tetrabromphenolsulfonphtalein, Br4PR) elektrophil bromiert.^[152] Die Bildung des Produkts wird photospektrometrisch anhand der Intensität des Absortionsmaximum ($\lambda = 592 \text{ nm}$) beobachtet. Da die Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von der Wasserstoffperoxidkonzentration ist, wurden mehrere Reaktionskinetiken bei unterschiedlichen H_2O_2 -Konzentrationen gemessen und mit Hilfe der Michaelis Menten Gleichung die maximale Umsatzgeschwindigkeit (V_{max}) und die Michaeliskonstante K_m bestimmt (Tabelle 5).

Tabelle 5.: Kinetik-Daten der Michalis-Menten-Kinetik von CeO_{2-x}-Nanopartikeln aus der Ethylenglykolsynthese sowie die Spezifische Oberfläche der Partikel und die Reaktionsrate (ROR).

Vmax [μM/min]	0,21 ± 0,02
Km [mM]	1,0 ± 0,2
Spezifische Oberfläche [m ² /g]	123,3
ROR [μmol m ⁻² min ⁻¹]	0,0576

Die Reaktionsrate von Phenolrot zu Bromphenolblau ist abhängig von der Oberfläche der Nanopartikel, da nur hier die Reaktion stattfindet. Die Reaktionsrate (ROR) kann mit der durch Gasadsorption (BET) bestimmten spezifischen Oberfläche (S_{BET} [m²·g⁻¹]) und der Massenkonzentration ($\beta(\text{Cat})$ [g·l⁻¹]) berechnet werden (Gleichung 5). Diese gibt die Stoffmenge Bromphenolblau an, die bezogen auf die Oberfläche pro Minute entsteht.^[60]

$$\text{ROR} = \frac{v_{\text{max}}}{S_{\text{BET}} \cdot \beta(\text{Cat})} \quad (5)$$

Die Reaktionsrate von per Ethylenglykol-Route hergestellten Nanopartikeln beträgt 0,0576 μmol m⁻² min⁻¹ und liegt somit über denen der Nanostäbchen (Vgl. Tabelle 2, S. 24) und der Partikel aus der Mikrowellensynthese (Tabelle 12, S.79). Dies zeigt, dass die Herstellung von bromperoxidase-mimetischen Nanopartikeln auch mit guter Aktivität im großen (Labor-) Maßstab möglich ist.

4.2 Einbettung von CeO₂-Nanopartikeln in Folien

Für die antibakterielle Wirksamkeit der 3D gedruckten Formkörper ist die Kompatibilität der Ceroxid-Nanopartikel mit der Polymermatrix ausschlaggebend. Nur so kann ein druckbarer, ceroxidhaltiger Faden („Filament“) hergestellt werden. Wichtige Kriterien sind die Dispergierbarkeit der Partikel in gelöstem Filament, die Verarbeitbarkeit zum Filament sowie die chemische Stabilität des Filaments gegenüber der Partikel. Besonders während der Extrusion des Filaments könnten Ceroxid-Nanopartikel, begünstigt durch die hohe Temperatur, oxidativen Stress auf das Polymer ausüben und so zersetzen. Ein weiteres wichtiges Kriterium ist die Benetzbarkeit des eingesetzten Polymers mit Wasser, da die Katalyse nur bei direktem Kontakt mit Ceroxid funktioniert. Um eine geeignete Polymermatrix zur Herstellung eines ceroxidhaltigen Filaments zu finden wurden in einem ersten Schritt ceroxidhaltige Folien aus verschiedenen kommerziell erhältlichen Filamenten hergestellt. Die Folien wurden jeweils auf die katalytische Aktivität mittels Phenolrot-Schnelltest und anschließend auf die Biofilminhibierung untersucht.

Neben der Verwendung als 3D-Druckmaterialien könnten Ceroxid-Nanopartikeln auch in anderen Verfahren wie zum Beispiel dem Spritzguss-Verfahren Verwendung finden. Dafür sind jedoch andere Polymermatrizes notwendig. In Kooperation mit Marcel Fickenscher (Ak Frey, JGU Mainz) wurde daher ein CeO₂-PS-Komposit mit einem Microextruder hergestellt und derselben Testung unterzogen. Die Folien wurden hergestellt, indem 1g Filament in einem geeigneten Lösemittel gelöst wurden welches Anschließend mit verschiedenen Mengen CeO₂ (bis zu 20 Gew. %) versetzt wurde. Abschließend wurde die Lösung in tarierte Petrischalen (Durchmesser: 80 mm) gegeben und mit geschlossenem Deckel mehrere Tage trocknen gelassen. Es wurden Folien mit ca. 8 cm Durchmesser und einer Höhe von 150 ± 10 µm Höhe erhalten.

Tabelle 6.: Liste mit hergestellten Folien, ausgestattet mit CeO_{2,x}-Nanopartikeln:

Trägermaterial	Lösemittel	Ceroxidanteil
Polyethylenerephthalat-Glycol (PETG)	Chloroform	2 Gew. % + Referenz
Polymethylmethacrylat (PMMA)	Chloroform	2 Gew. % + Referenz
Nylon	Ameisensäure	2 Gew. % + Referenz
Polylactid (PLA)	Chloroform	2 Gew. % + Referenz
Polystyrol (PS)	Chloroform	2 Gew. % + 20 Gew. % + Referenz

Aufgrund der langen Trocknungszeit sedimentierten die Partikel, sodass die Unterseite (-) der Folien eine hohe Partikelkonzentration aufwies, während die Oberseite (+) eine geringere Konzentration aufwies. Dies ist auch visuell wahrnehmbar (siehe Abbildung 36).

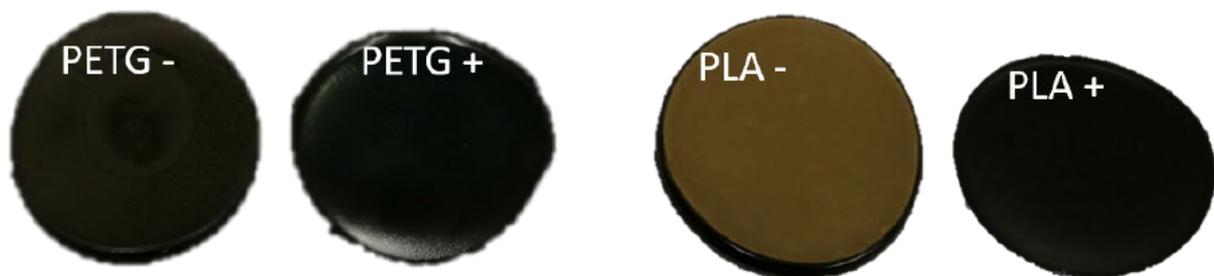


Abbildung 37.: Hergestellte Folien (Durchmesser 60 mm) mit 2 Gew. % Ceroxid-Nanopartikelgehalt. Durch die lange Trocknungsdauer bedingt, befinden sich mehr Nanopartikel an der Unterseite (-) der Folien und verursachen einen gelblichen Farbeindruck.

4.2.1 Qualitative Testung der katalytischen Eigenschaften

Der Phenolrot-Schnelltest wurde mit einem ca. 5 mm breiten Streifen dieser Folien in 5 ml Schnappdeckelgläsern durchgeführt um zu testen, ob die eingebetteten Nanopartikel noch katalytisch aktiv sind (für experimentelle Details siehe S.71). Nur bei den ceroxidhaltigen PETG und PLA-Folien konnte eine geringe katalytische Aktivität im qualitativen Bromphenolrot-Test nach mehreren Tagen Reaktionsdauer festgestellt werden. Während dieser Zeit zeigten die Referenzreaktionen keine Blaufärbung. Aufgrund der geringen Reaktionsgeschwindigkeit wurde auf eine quantitative Analyse verzichtet.



Die im Vergleich zu den Suspensionen niedrigere Reaktionsgeschwindigkeit lässt sich dadurch erklären, dass viele Partikel in der wasserundurchlässigen Polymermatrix eingeschlossen sind, die Edukte nicht an ihre Oberfläche gelangen und daher nicht reagieren können.

4.2.2 Biofilmtests

Anschließend wurden die Folien von Athanasios Gazanis (AG Heermann, Mainz) mit *Pseudomonas aeruginosa* für 72 Stunden bei 30 °C inkubiert und anschließend der entstandene Biofilm mit Kristallviolett angefärbt.



Abbildung 39.: Mit *Pseudomonas aeruginosa* inkubierte Polystyrol-Fäden. Der Biofilm wurde mit Kristallviolett angefärbt und zur Quantifizierung mit Essigsäure eluiert. Die Größe der Fäden beträgt jeweils ca. 2 cm Länge und 0,5 cm Breite.

Das Kristallviolett wurde im Folgenden mit Essigsäure eluiert. Durch Analyse der Absorbanz bei 575 nm und Vergleich mit einer ceroxidfreien Referenz, ist so eine semiquantitative Analyse der Biomasse möglich. Die besten Ergebnisse wurden mit PETG und PLA erzielt. Das von Marcel Fickenscher (AK Frey, Uni Mainz) mit mittlerer Kettenlänge (ca. 150 kDa) hergestellte Polystyrol zeigte ähnliche Ergebnisse wie die kommerziellen Filamente. Die Herstellung eines per Spritzguss gefertigten Prototypen steht noch aus.

Tabelle 7.: Ergebnisse der angefärbten Biofilmmasse von Polymerfolien mit 2 % CeO₂-Nanopartikelanteil im Vergleich zur jeweiligen ceroxidfreien Referenzfolie.

Trägermaterial	Mit Kristallviolett angefärbte Biomasse im Vergleich zur Referenz
Polyethylenterephthalat-Glycol (PETG)	29 ± 5 %
Polymethylmethacrylat (PMMA)	48 ± 13 %
Nylon	40 ± 2 %
Polylactid (PLA)	23 ± 21 %
Polystyrol-Faden (PS), 2 Gew. % CeO ₂	24 ± 11%
Polystyrol-Faden (PS) 20 Gew. % CeO ₂	19 ± 9 %

Eine PS-Probe mit 20 Gew.% eingebettetem Ceroxid zeigte im Vergleich zu einer Probe mit 2 Gew.% nur 5 % weniger angefärbte Biomasse. Daher wurde ein Anteil von 2 Gew. % für nachfolgende Versuche gewählt.

4.2.3 Kontaktwinkelmessungen

Mit Kontaktwinkelmessungen wurde untersucht, ob die unterschiedliche Benetzbarkeit der Polymere Einfluss auf die antibakterielle Wirkung hat. Dies entspricht den theoretischen Erwartungen, da die antibakterielle Wirkung auf der katalytischen Bromierung der N-acyl-Homoserinlactone beruht, die von gramnegativen Bakterien als Signalmoleküle verwendet werden. Dies ist nur möglich, wenn die zur Reaktion benötigten Edukte durch Diffusion die Oberfläche der Nanopartikel erreichen können.

Tabelle 8.: Kontaktwinkelmessung von Polymerfolien aufgetragen auf einem Objektträger.

Verwendetes Trägermaterial	Kontaktwinkel θ° Referenzfolie ohne CeO ₂	Kontaktwinkel θ° Folie mit 2% CeO ₂
PETG	87,9 ± 2,1	88,5 ± 0,9
PMMA	75,0 ± 0,7	75,8 ± 3,7
Nylon	64,0 ± 5,4	66,0 ± 1,9
PLA	76,2 ± 1,1	74,5 ± 4,0
PS	93,3 ± 2,7	89,9 ± 1,9

Anhand der Messergebnisse kann, entgegen der Erwartung, kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Benetzbarkeit des Trägermaterials und antibakterieller Wirksamkeit festgestellt werden (siehe Tabelle 8). Während die Trägermaterialien Nylon und PMMA die niedrigsten Kontaktwinkel aufweisen und somit die hydrophilsten Proben sind, weisen CeO₂-Nanopartikel, eingebettet in PETG, PLA und Polystyrol eine deutlich geringere Biofilmbildung auf. Die Benetzbarkeit der Folien mit Wasser hat somit keinen messbaren Einfluss auf die Biofilminhibierung. PETG und PLA nehmen jedoch über einen längeren Zeitraum Wasser aus der Luft auf. Daher könnte sich die Benetzbarkeit in den wässrigen Versuchen langsam ändern. Dies kann jedoch durch die wenigen Sekunden dauernde Kontaktwinkelmessung nicht abgebildet werden.

4.2.4 Größenausschluss-Chromatographie (GPC)

Die molare Masse der Polymere wurde mittels Größenausschluss-Chromatographie (GPC) bestimmt. Da Nylon nicht in den Analytlösungen aus Dimethylformamid (DMF), Tetrahydrofuran (THF) oder Hexafluorisopropanol (HFIP) löslich ist, konnte für diese Probe keine Messung durchgeführt werden.

Tabelle 9.: Mit Größenausschluss-Chromatographie bestimmte Molmassen der verwendeten Filamente. Es wurde DMF als Lösemittel und ein RI Detector verwendet.

Filament	Zahlenmittlere Molmasse M_n [g/mol]
PETG	11060
PLA	74520
PMMA	49820
PS	197200

Es lässt sich kein Zusammenhang zwischen Kettenlänge (siehe Tabelle 9) und antibakterieller Wirksamkeit aus den vorliegenden Daten ableiten. PETG hat die geringste molare Masse ($M_n = 11060$ g/mol), PS die höchste ($M_n = 197200$ g/mol). Jedoch liefern beide Proben vergleichbare Ergebnisse bei der Biofilminhibierung (siehe Tabelle 7). Es ist vielmehr davon auszugehen, dass die Kompatibilität der Nanopartikel mit den im Polymer enthaltenen funktionellen Gruppen in Verbindung steht. So können sich die mit Ethylenglykol funktionalisierten Partikel in Glykol-modifizierten PET, höchstwahrscheinlich besonders homogen verteilen und so reproduzierbare Ergebnisse liefern. Diese These wird durch die deutlich stärkere Sedimentation von CeO_{2-x} -Nanopartikeln in PLA gegenüber PETG unterstützt (Abbildung 36). In Polystyrol und PLA eingebettete Partikel wiesen ebenfalls auch eine gute antibakterielle Wirkung auf, welche jedoch starken Schwankungen unterliegt. Die Untersuchung des Einflusses von anderen oberflächenaktiven Agenzien, wie zum Beispiel der Einsatz von Glycolthern verschiedener Kettenlänge, in der Partikelsynthese steht noch aus. So könnten die Kompatibilität der Nanopartikel in verschiedenen Polymermatrizes weiter gesteigert werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass CeO_{2-x} -Nanopartikel in mehreren Polymermatrizes in der Lage sind, die Biofilmbildung zu inhibieren. Eine Optimierung der Nanopartikel, der Polymermatrix sowie des Einbettungsprozesses ist jedoch für jeden konkreten Anwendungsfall individuell durchzuführen. Dies übersteigt den Rahmen dieser Doktorarbeit. Aufgrund der besseren Reproduzierbarkeit und der einfachen Handhabung wurde PETG zur Herstellung eines druckbaren Filaments gewählt.

4.3 Herstellung und 3D-Druck eines ceroxidhaltigen PETG-Filaments

Für die Einbettung wurde kommerzielle Polyethylenterephthalat-Glycol (PETG-Filament von Filamentworld)^[153] in Chloroform gelöst, anschließend 2 Gew.% Ceroxid-Nanopartikel dispergiert und *in vacuo* bei 40°C getrocknet. Im Anschluss wurde es mit einem haushaltsüblichen Standmixer (WMF Kult Pro 1,8L) auf höchster Stufe zerkleinert und mittels eines Filamentextruders bei 150°C Spitzentemperatur und 6 rpm zu einem druckbaren Filament verarbeitet.

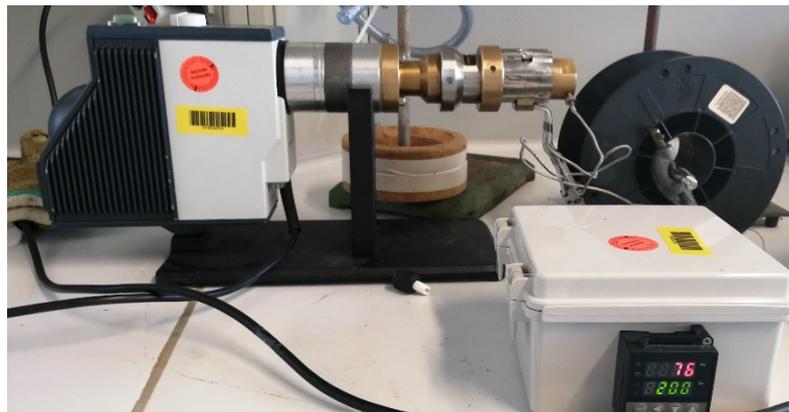
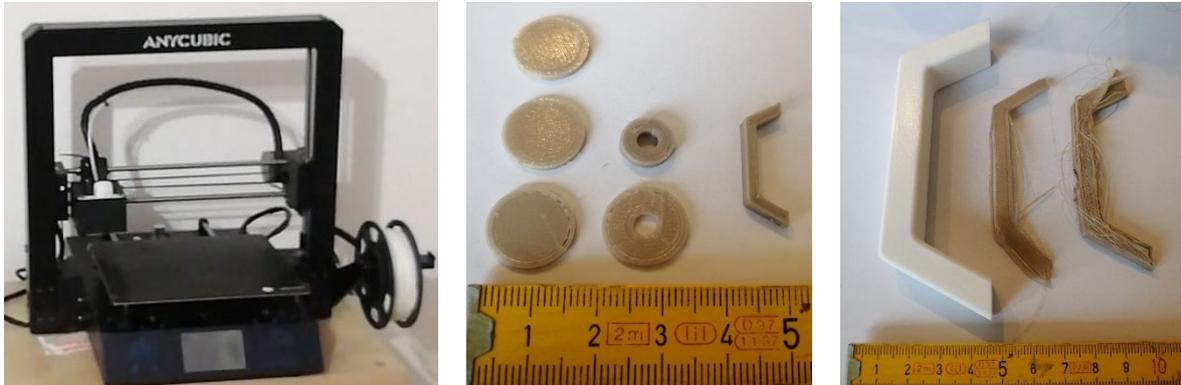


Abbildung 40.: Selbst hergestelltes PETG-Filament mit 2 Gew. % Ceroxid-Nanopartikel-Zusatz (links). Filament-Extruder, gefertigt von der Chemie-Werkstatt der Uni Mainz unter Anleitung von Dr. Tobias Johann (AK Frey, JGU Mainz), nach dem Vorbild des Lyman-Extruders. (rechts).^[186]

Der Durchmesser des Filaments betrug ca. $1,4 \pm 0,4$ mm. Da kommerzielle Filamente einen Durchmesser von $1,75 \pm 0,05$ mm haben, waren große Formkörper aufgrund der starken Schwankungen des Durchmessers nicht realisierbar.^[154] Durch die Schwankungen kam es bei größeren Bauteilen häufig zum Abbruch des Druckvorgangs, da die Förderung des Filament an sehr dünnen Stellen stockte (siehe Abbildung 40). Durch Erhöhung der Spitzen- und Druckbetttemperatur um 10 °C konnte für kleine Bauteile eine zufriedenstellende Druckqualität erreicht werden. Mit dem Programm *Fusion 360* wurden 3D-Modelle kleiner, runder Probenkörper ($\varnothing = 1,5$ cm, $h = 1,5$ mm) erstellt. Anschließend wurden die Testkörper mit einem *Anycubic i3 Mega S* Schmelzschichtungsdrucker unter Verwendung der Slicer-Software *Cura* mit einer Spitzentemperatur von 230 °C und einer Betttemperatur von 90°C gedruckt.

4.3.1 Glätten mit Ethylacetat-Dampf

Bedingt durch das Schmelzschichtungs-Verfahren haben 3D-gedruckte Materialien eine raue, poröse Oberfläche, an der sich Bakterien ideal anlagern können.^[155]



Dabei wird das Filament aus dem runden Druckkopf (engl. Hotend) mit einem Durchmesser von $400\ \mu\text{m}$ und einer Temperatur von über 230°C auf die darunter liegende Schicht gespritzt. Durch die Geometrie des Fadens entsteht dabei ein Wellenmuster. Aber auch durch Spuren von Wasser, die während des Druckvorgangs verdampfen sowie Lufteinschlüsse im Filament entstehen Bläschen an der Oberfläche des gedruckten Formkörpers (vgl. Abbildung 41). Daher wurden die Formkörper 5 min in Ethylacetat-Dampf geglättet. Ethylacetat wird dabei vorsichtig erwärmt, die Proben befinden sich knapp über dem flüssigen Lösemittel. Die Ethylacetat-Atmosphäre löst dabei die Oberfläche. So werden dünne Erhebungen mit großer Oberfläche gelöst und fließen in Vertiefungen. Nach dem Trocknen an Luft wird eine glatte Oberfläche erhalten. Die Formkörper wurden vor und nach dem Glätten mit dem Lasermikroskop untersucht (siehe Abbildung 41). Vor dem Glätten sind Bläschen und Rillen zu erkennen. Die Erhöhungen in $400\ \mu\text{m}$ Abstand sind auf den Durchmesser des Druckkopfes und auf das Druckverfahren zurückzuführen. Eine längere Verweilzeit in Ethylacetat-Dampf führt zu weiterer Glättung dieser Unebenheiten, jedoch auch gleichzeitig zu starker Deformation der Plättchen und Einsinken der Oberfläche, sodass die gezeigten Ergebnisse den besten Kompromiss darstellen.

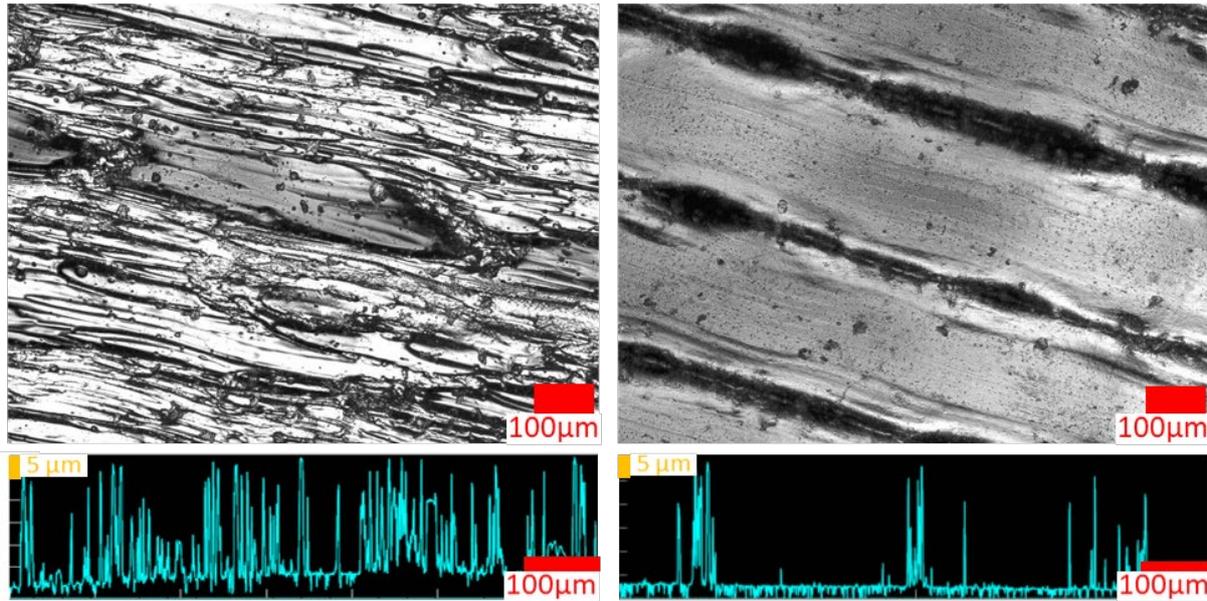


Abbildung 42.: 10x-Mikroskopie-Aufnahme von im Schmelzschichtungs-Verfahren 3D gedruckten PETG (Filamentworld, glasklar) mit 2% Ceroxid-Nanopartikel-Anteil. Ohne weitere Verarbeitung ist die Probe bedingt durch das Verfahren sehr rau ($+30\mu\text{m}$). Es sind viele Lufteinschlüsse und Unebenheiten zu erkennen. (links oben). Vertikales Linienprofil des unglätteten PETG mit 2% Ceroxid-Nanopartikel-Anteil. Durch das Fertigungsverfahren bedingt sind viele Unebenheiten zu erkennen (links unten). 10x-Mikroskopie-Aufnahme von im Schmelzschichtungs-Verfahren 3D gedruckten PETG (glasklar) mit 2% Ceroxid-Nanopartikel-Anteil. Zu erkennen sind Agglomerate von Ceroxid. Die Probe wurde 5 min mit Ethylacetat-Dampf geglättet (rechts oben). Vertikales Linienprofil des geglätteten PETG mit 2% Ceroxid-Nanopartikel-Anteil. Durch das Fertigungsverfahren bedingt sind im Abstand der Druckkopfbreite ($400\mu\text{m}$) Erhöhungen von ca. $30\mu\text{m}$ zu erkennen (rechts unten). Die roten Skalenleiste zeigen $100\mu\text{m}$ an, die gelben Skalenleisten $5\mu\text{m}$.

4.3.2 Phenolrot-Tests

Die Plättchen wurden so dimensioniert, dass sie in 24 Well-Plates passen. Die Bestimmung der katalytischen Aktivität, als auch die Biofilminhibierung kann so komfortabel untersucht werden. Um den Strahlengang des Plate Readers nicht zu unterbrechen wurde für die Durchführung von Phenolrot-Tests eine Bohrung in der Mitte der Plättchen hinzugefügt. Da durch die Erfahrungen mit Phenolrot-Schnelltests mit ceroxidhaltigen Folien lange Reaktionszeiten erwartet wurden, sollten die Proben täglich gemessen werden und in der Zwischenzeit durch Verschluss des 24 Well-Plates mit *Parafilm* eine Verdunstung der Reaktionslösung minimiert werden.

So sollte auch eine quantitative Aussage über die verbliebene Reaktionsgeschwindigkeit der eingebetteten Partikel gegenüber einer wässrigen Suspension erzielt werden. Leider war dies nicht möglich, da sich die Reaktionslösung nicht verfärbte, sondern das entstandene Bromphenolblau auf den Probenkörpern anhaftete (siehe Abbildung 42, rechts). Die Bildung von Bromphenolblau konnte deshalb nur visuell gezeigt werden. Ceroxidfreie PETG-Proben zeigten im selben Zeitraum weder eine Färbung der Lösung noch des Formkörpers (Abbildung 42, links). Es wurden nicht geglättete Plättchen (Abbildung 42, rechts oben), sowie mit Ethylacetat geglättete Plättchen (Abbildung 42, rechts unten) untersucht. Der Farbeindruck der Plättchen unterscheidet sich deutlich.

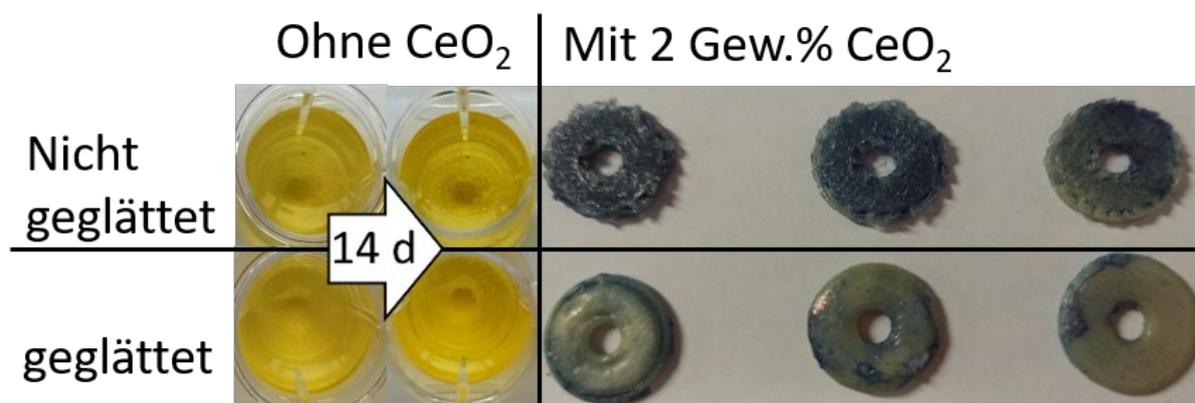


Abbildung 43.: PETG-Plättchen während des Phenolrottests vor und nach 14 Tagen Reaktionszeit (links) Getrocknete, ceroxidhaltige PETG-Plättchen nach zwei Wochen Reaktionszeit. Es wurden uneglättete (oben) und geglättete Plättchen (unten) getestet. Auf beiden Probenarten ist gut die Blaufärbung durch Bromphenolblau zu erkennen (rechts).

Ursache dafür könnte die größere Oberfläche der nicht geglätteten Materialien haben, welche eine höhere Reaktionsgeschwindigkeit ermöglicht. Es könnte aber auch eine höhere Affinität des Farbstoffs, an die größere Oberfläche zu adsorbieren, bewirken. Die geglätteten Plättchen zeigten eine geringere Adsorption von Bromphenolblau. Mit denselben Materialien hergestellte ceroxidhaltige Folien zeigten keine Adsorption des Farbstoffs. Aufgrund der beschriebenen Phänomens musste auf eine quantitative Analyse verzichtet werden. Die im Vergleich zu den Suspensionen niedrigere Reaktionsgeschwindigkeit lässt sich dadurch erklären, dass viele Partikel in der wasserundurchlässigen Polymermatrix eingeschlossen sind, die Edukte nicht an ihre Oberfläche gelangen und daher nicht reagieren können.

4.3.3 Biotests

Da die Blaufärbung der Proben jedoch eine gewisse katalytische Aktivität implizierte, wurden weitere Plättchen auf die Inhibierung der Bildung eines bakteriellen Biofilms untersucht.

Für diese Untersuchungen wurden geglättete, durchgängige Plättchen (siehe Abbildung 40, S. 64) verwendet und mit einer ceroxidfreien Referenz verglichen. Zur besseren Einordnung der Ergebnisse wurden die Experimente auch mit Plättchen aus PLA Active® durchgeführt, welches als aktives Agens nanopartikuläre Kupferzusätze enthält. Alle Experimente wurden als Triplikate durchgeführt.

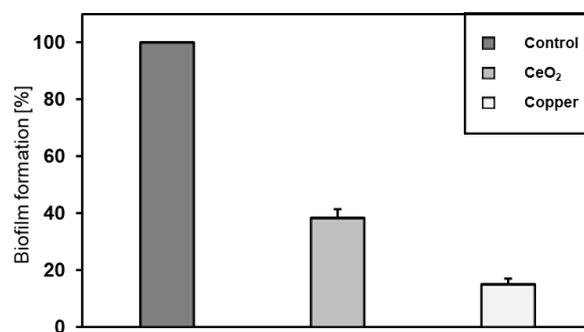


Abbildung 44.: Semiquantitative Bestimmung des Biofilmwachstums. Die Biomasse von *Pseudomonas aeruginosa* wurde mit Kristallviolett angefärbt, anschließend zur Quantifizierung mit Essigsäure gelöst und die Absorbanz bei 575 nm im Plate Reader gemessen.

Die PETG-Probe mit eingebettetem CeO₂ hatte 35 ± 5 % Biomasse im Vergleich zur biozidfreien Referenz. Im Vergleich dazu hatte Active PLA® 15 ± 2 % Biomasse. Durch weitere Optimierung des Filaments, der Nanopartikelmenge und des Einbettungsverfahrens könnte ein konkurrenzfähiges Produkt entwickelt werden. Da PETG eine im Vergleich zu PLA bessere mechanische Belastbarkeit und höhere Glasübergangstemperatur besitzt, sind auch andere Anwendungsmöglichkeiten denkbar. So könnte zum Beispiel die Haltbarkeit von Prothesen erhöht werden. Ein Einsatz in der Medizintechnik ist auch denkbar, da (ceroxidfreie) Formkörper aus PETG im Gegensatz zu PLA beständig gegenüber Desinfektionsmitteln und biologisch kompatibel nach DIN EN ISO 10993-5 und DIN EN ISO 10993-10 sind.^[156]

4.4 Materialien und Methoden

4.4.1 Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln in Ethylenglykol

In einem Dreihalskolben wurde das Ethylenglykol vorgelegt und auf 70°C erhitzt. Anschließend wurden darin die Metallnitratre gelöst und das Wasser zugegeben. Hatte die Lösung wieder 70°C erreicht, wurde unter Rühren (KPG, 400 rpm) die konzentrierte Ammoniaklösung zugetropft.^[87,157]

Es wurde solange weiter unter Rühren erhitzt, bis die violette Lösung sich gelb färbte. Bei großen Ansätzen dauerte dies typischerweise bis zu 8 Stunden. Es wurden bis zu 50 g CeO_{2-x}-Nanopartikel in einer Synthese hergestellt. Das Austreiben des Ammoniaks kann durch Einleiten von Druckluft mithilfe einer P2-Filterkerze beschleunigt werden. Anschließend wurde das Produkt solange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral reagierte. Bei kleinen Ansätzen wurde dies mittels Zentrifugation (9000 rpm, 5 min) durchgeführt, bei größeren Ansätzen wurde das Wasser ausgetauscht, sobald das Produkt sedimentierte. Anschließend wurde das Produkt gefriergetrocknet.

Tabelle 10.: Eingesetzte molare Äquivalente zur Herstellung von CeO₂-Nanopartikel in Ethylenglykol

Edukt	Molares Äquivalent
Ce(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	(1-y)
M _x (NO ₃) _x	y
25% NH ₄ OH-Lösung	40,5
Ethylenglykol (98%)	154

4.4.2 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie wurden in Wasser oder Ethanol (ca. 0,1 mg/ml) dispergiert und 20 µl der Dispersion auf ein TEM-Probenträger (CF300-Cu Carbon Film (5–6 nm) / 300 Mesh / Electron Microscopy Sciences) aufgetragen. Nachdem das Lösemittel verdampft war, wurden die Proben auf einem Tecnai 12 Transmissionselektronenmikroskop mit thermionischer LaB₆-Quelle und Twin-Objektiv von FEI (Hillsboro, OR, USA) mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV gemessen. Das TEM ist mit einer US1000 CCD-Kamera von Gatan (Pleasanton, CA, USA) mit 2000 x 2000 Pixeln ausgestattet. Die Datenanalyse erfolgte mit der Software *ImageJ Ver 1.52q*.

4.4.3 Röntgendiffraktometrie (PXRD)

Proben für die Röntgenbeugung wurden vor der Analyse gründlich gemörsert und auf Polyvinylacetat-Folie vorbereitet. Diffraktogramme wurden mit einem STOE Stadi P Pulverdiffraktometer, ausgestattet mit einem Mythen 1k-Detektor unter Verwendung von Mo K α 1-Strahlung aufgenommen. Pawley-Fits wurden mit Topas Academic V6 unter Verwendung des Fundamentalparameter-Ansatzes durchgeführt.^[90] Die Phasenanalyse wurde mit dem Programm EVA 10.0.1.0 von SOCABIM und der ICSD 2003 Datenbank durchgeführt.

4.4.4 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die Thermogravimetrische Analyse (TGA) erfolgte an einem Perkin Elmer Pyris 6-Thermogravimetric Analyzer. Die Proben wurden gemörsert und im Vakuum bei 60 °C getrocknet und direkt im Gerät abgewogen. Für eine Messung wurden zwischen 2 und 4 mg Partikel benötigt. Die Messung erfolgte unter Sauerstoffatmosphäre. Zur Datenanalyse wurde die Software Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.13530.20054) 32 Bit verwendet.

4.4.5 Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels Gasadsorption (BET)

BET-Messungen zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche wurden mit einem 3P Micro 300 Gasadsorptionsinstrument bei 77,4 K mit Stickstoff als Analysegas durchgeführt. Zur Datenanalyse wurde die Software 3P Surface Area & Pore Size Analyzer System 10.03.02 verwendet.

4.4.6 Kontaktwinkelmessung

Die Kontaktwinkelmessungen wurden mit einem Contact Angle System OCA 20 der Firma Dataphysics durchgeführt. Die Messungen wurden mit einem Tropfen MilliQ-Wasser auf von zuvor von Staub befreiten Oberflächen durchgeführt. Zur Datenanalyse wurde die Software *SCA20 Ver 1.22* verwendet.

4.4.7 Größenausschluss-Chromatographie (GPC)

In Zusammenarbeit mit Marcel Fickenscher (JGU Mainz, AK Frey) wurde Größenausschluss-Chromatographie mit einem Agilent 1100 Chromatographen, ausgerüstet mit HEMA Säulen (300/100/40, 95 cm Länge, 0,8 cm Breite, 50 °C) und einem RI Detektor, durchgeführt. Als Lösemittel wurde Dimethylformamid (DMF), als interner Standard Toluol verwendet. Das Gerät wurde mit Polystyrol kalibriert.

4.4.8 Lichtmikroskopie

Die Lichtmikroskopie wurde mit einem Keyence 8710 Laser-Scanning-Mikroskop durchgeführt. Es wurde ein CF Plan 10x/0.30 ∞ /U Objektiv (Nikon Japan) verwendet. Zur Datenanalyse und zur Erstellung der Höhenprofile wurde die Software *VK Analyzer Ver.2.2.15* verwendet.

4.4.9 Quantitative Phenolrottest und Michaelis Menten Kinetik

Die intrinsische Haloperoxidase-Aktivität wurde mit dem Phenolrot-Assay bestimmt. Bei diesem Assay wird Tetrabromphenolblau (Br_4PR) durch Reaktion von Phenolrot (PR), einer Bromidquelle (KBr) und H_2O_2 in Gegenwart eines aktiven Katalysators (Ceroxid-Nanopartikel) erzeugt. ^[91] Für die Michaelis Menten Kinetik wurde die H_2O_2 -Konzentration variiert. Die Kinetik wurde bei $\lambda = 592$ nm gemessen, dem Absorptionsmaximum von Br_4PR . Für jede Messung wurde die gleiche Stammlösung, bestehend aus PR ($50\mu\text{M}$) gemischt mit KBr (25 mM), verwendet. Nach der Zugabe von $62.5\ \mu\text{l}$ Nanopartikelsuspension (1 mg/ml), wurde die Reaktion bei $25\ ^\circ\text{C}$ zum Temperatenausgleich gerührt (800 rpm). Vor der H_2O_2 -Zugabe wurde ein Autozero der Absorbanz durchgeführt. Die Kinetik wurde für 10 Minuten gemessen. Alle Datenpunkte zwischen 2 und 8 Minuten wurden linear angepasst und die Konzentrationsänderung mit dem Lambert Beerschen Gesetz bestimmt. Der Extinktionskoeffizient wurde bestimmt, indem die Absorbanz von fünf Br_4PR -Lösungen unterschiedlicher Konzentration ($2\mu\text{M}$, $6\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $14\mu\text{M}$, $18\mu\text{M}$) in einer Quartz Küvette ($d=1\text{cm}$) gemessen wurde. Mit Hilfe des Lambert Beerschen Gesetztes wurde ein Extinktionskoeffizient von $32740\ \text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ für Br_4PR (freie Säure) in MilliQ-Wasser mit einem Agilent Cary 3500 UV-VIS Spektrophotometer bestimmt.

4.4.10 Qualitativer Phenolrottest

Für den qualitativen Phenolrottest wurden die Probenkörper in eine Lösung aus Phenolrot und KBr mit einer Endkonzentration von $50\mu\text{M}$ und 25 mM gelegt, sodass diese bedeckt waren. H_2O_2 wurde Schrittweise mit einer Endkonzentration von 3 mM alle 24 Stunden zugegeben.

4.4.11 Bakterienstämme und Wachstumsbedingungen

Für Biofilmtests wurden *P. aeruginosa* PA14 aus dem Labor von Dr. Max Schobert (Technische Universität Braunschweig) erhalten. *P. aeruginosa* wurde aerob in LB medium ([1% (w/v) NaCl; 1% (w/v) Tryptone; 0.5% (w/v) Hefeextrakt]) bei 30°C kultiviert. Für die Präparation von Agarplatten wurde 1,5 % (w/v) Agar zum Medium hinzugegeben.

4.4.12 Biofilmtests

Die Biofilmtests wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Heermann (JGU Mainz) von Anthasios Gazanis durchgeführt. Zur Quantifizierung der bakteriellen Biofilmproduktion wurde eine modifizierte Methode von zuvor veröffentlichten Protokollen benutzt.^[129] *P. aeruginosa* wurde aerob in LB medium über Nacht bei 30°C kultiviert. Die Kulturen wurden anschließend mit LB Medium auf ein Volumen von 1 ml pro Well einer 24 Well Polystyrol Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nürnberg) mit einer finalen optischen Dichte bei 600 nm von 0.5 verdünnt. Zusätzlich wurden KBr (Roth, Karlsruhe) und H₂O₂ (Roth, Karlsruhe) mit einer finalen Konzentration von 32 mM beziehungsweise 0.8 mM zu den Wells gegeben. Dann wurden die Referenzplatten, die CeO₂ Komposite und die Kupfer Komposite hinzugegeben. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte bei leichtem Schütteln (150 rpm) für 72 Stunden bei 30°C inkubiert. H₂O₂ wurde schrittweise mit einer Endkonzentration von 0.8 mM alle 24 Stunden zugegeben. Im Anschluss wurden die Plättchen mit Wasser gewaschen um planktonische Zellen zu entfernen. Nach einer Tocknungszeit von 5 min wurde 1 ml einer 1% (w/v) Kristallviolettlösung (Merck, Darmstadt) zu den Wells, die die Plättchen enthielten, zugegeben. Nach 30 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde nicht gebundenes Kristallviolett entfernt, indem die Proben sanft zwei Mal in Wasser eingetaucht wurden. Die Platte wurde an Luft über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Quantifizierung wurde 1 ml 30% (v/v) Essigsäure (Roth, Karlsruhe) zu den Plättchen gegeben, um das Kristallviolett vom Biofilm zu lösen. Nach 15 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Absorbanz in einem Plate Reader (Tecan, Salzburg) bei 575 nm quantifiziert.

Kapitel 5 Ausrüstung von PUR-Lacken mit CeO₂-Partikeln

Während mit 3D-Druck individuelle Einzelstücke angefertigt werden können wie zum Beispiel personalisierte Prothesen, werden im Alltag viele Dinge, wie zum Beispiel Türknäufe, von vielen verschiedenen Menschen benutzt. Diese Alltagsgegenstände können so ein potenzielles Infektionsrisiko darstellen. Der Markt für Dinge des alltäglichen Bedarfs ist deutlich größer als 3D-gedruckte Spezialanfertigungen, was die Entwicklung universell einsetzbarer Lacke deutlich attraktiver macht. Für die simultane Oberflächenveredelung von vielen Kleinteilen wird die sogenannte Massenkleinteilbeschichtung benutzt. Bei diesem, auch Trommellackierung genannten Verfahren, werden die Kleinteile in eine sich drehende Trommel gegen und mit Lack besprüht. Dieses ist sehr kosteneffizient, da der Prozess vollautomatisch stattfinden kann und sehr dünne Schichten aufgetragen werden (0,15 µm). Neben tongenauer Farbgebung sind auch Funktionsbeschichtungen möglich. 2K-Polyurethanlacke zeichnen sich dadurch aus, dass die Lacke durch Kontakt mit Wasser nicht aufquellen.^[158] Eingeschlossene Partikel können deshalb nicht per Diffusion durch den Lack mit den für die Katalyse benötigten Edukten reagieren. Durch die dünne Schichtdicken gibt es weniger vollständig von Lack eingeschlossene, katalytisch inaktive Partikel. Geringe Schichtdicken der Lacke, gefertigt mit der Massenkleinteilbeschichtung, eignen sich daher ideal für die Ausstattung mit Nanopartikeln als heterogener Katalysator.

Im Rahmen des Projektes „Biozide Nanopartikel“ (Entwicklung innovativer biozider Nanopartikel zur Anwendung in der Kunststofftechnik) soll in Kooperation mit KIMW Kunststoff Instituts Lüdenscheids (BMBF-Förderung: 03INT505CD) die Ausrüstung von Polyurethan-Lacken (PUR) mit CeO₂-Nanopartikeln erforscht werden. Die Ergebnisse dazu werden im folgenden Kapitel vorgestellt. Um eine homogene Beschichtung zu ermöglichen, müssen die eingesetzten Nanopartikel im eingesetzten Lack gut dispergierbar sein, da sich sonst durch Agglomerate die Oberflächenrauigkeit und die Farbe ändert. Verdüner für Polyurethan- und Acryllack bestehen aus bis zu 50 Gew.% Butylacetat.^[159] Bei Verdünnern handelt es sich um flüchtige Anteile, die den Lacken beigemischt werden um die Verarbeitung zu erleichtern. Zudem sind es gute Lösemittel für den verwendeten Lack, ohne seine Eigenschaften nach dem Trocknen zu beeinflussen. Um eine große Kompatibilität zu gewährleisten, wurde daher ein Herstellungsverfahren für Ceroxid-Nanopartikel entwickelt, die sich gut in Butylacetat dispergieren lassen.

5.1 Ergebnisse

5.1.1 Mikrowellenunterstützte solvothermale Synthese von CeO_{2-x} -Nanopartikeln
Für die Einbettung von CeO_{2-x} -Nanopartikeln in 2K-PUR-Lacke wurde aufgrund der besonderen Anforderungen an die Nanopartikel eine mikrowellenunterstützte, solvothermale Synthese in Butylacetat entwickelt (Durchführung siehe S. 91). Die Mikrowellen-Hydrothermalsynthese von Ceroxid-Nanopartikeln in wässriger Umgebung wurde bereits untersucht, jedoch wurde noch keine mikrowellenunterstützte solvothermale Synthese in Butylacetat oder vergleichbaren Lösemitteln berichtet.^[160,161]

Dies ist dadurch bedingt, dass der Energieübertrag von Mikrowellenstrahlung zu Molekülen mit hohem Dipolmoment deutlich besser funktioniert. Durch den Einsatz von HalSiC-R Heizstäbchen (rekristallisierten Siliziumcarbid Heizstäbchen) konnte dieses Problem jedoch umgangen werden und im Vergleich zur klassischen Solvothermalsynthese deutlich kürzere Reaktionszeiten realisiert werden. Die schnellere Synthese lässt sich dadurch erklären, dass zeitgleich das gesamte Reaktionsvolumen geheizt wird und die Wärme nicht erst zum Reaktionsort fließen muss.^[162] Ein weiterer Vorteil ist, dass mehrere Reaktionen parallel gefahren werden können.

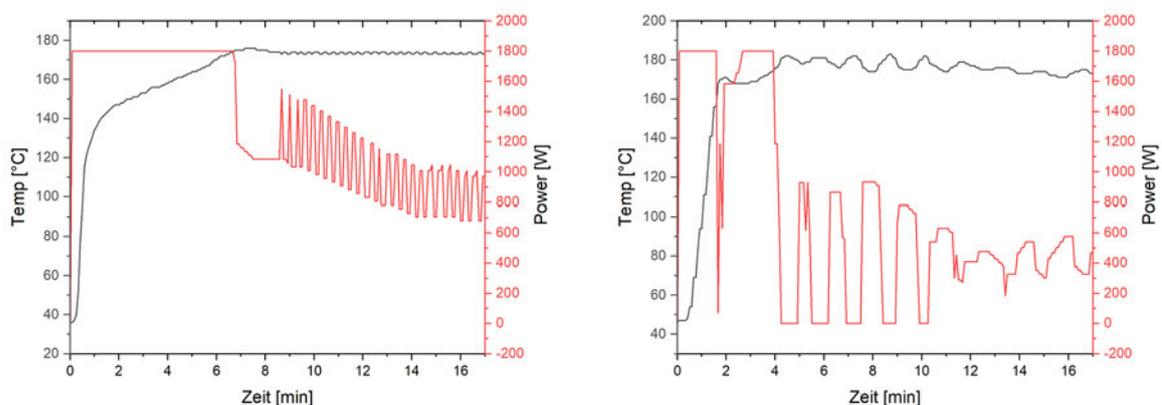


Abbildung 46. Darstellung des Temperaturverlauf und der Leistungsaufnahme während der mikrowellenunterstützten Solvothermalsynthese. Die Reaktion wurde mit (links) und ohne (rechts) SiC-Heizstab mit sonst gleichen Reaktionsbedingungen durchgeführt. Die Zieltemperatur beträgt in beiden Fällen 175°C, die Reaktionsdauer 17 min.

Auf diesem Weg können bis zu 12 g Ceroxid-Nanopartikel innerhalb von 17 Minuten hergestellt werden. Wird die Reaktion ohne SiC-Stäbchen durchgeführt, kann maximal ein Mikrowellenautoklav pro Durchlauf benutzt werden. Andernfalls bricht die Mikrowelle die Reaktion ab, da die Temperatur in den Autoklaven zu stark voneinander Abweicht.

Durch den Einsatz der Heizstäbchen werden alle Autoklaven gleichmäßig erhitzt. Die Mikrowelle kann zudem die Temperatur genauer regulieren (siehe Abbildung 45).

Die Nanopartikel-Synthese verläuft mit einer Temperatur von ca. 175°C quantitativ ohne Zugabe eines Oxidationsmittels innerhalb von 15 Minuten. Bei tieferen Temperaturen sind die Ausbeuten deutlich geringer. Dies liegt vermutlich an der Zersetzung von Ce(III)-nitrat Hexahydrat, welche ab 140°C beginnt.^[163] Während der Reaktion steigt die Temperatur ab ca. 140°C bei gleichbleibender Leistungszufuhr deutlich langsamer an (siehe Abbildung 45, links). Der Siedepunkt des Lösemittels Butylacetat (126°C) scheint hingegen einen deutlich kleineren Einfluss zu haben.

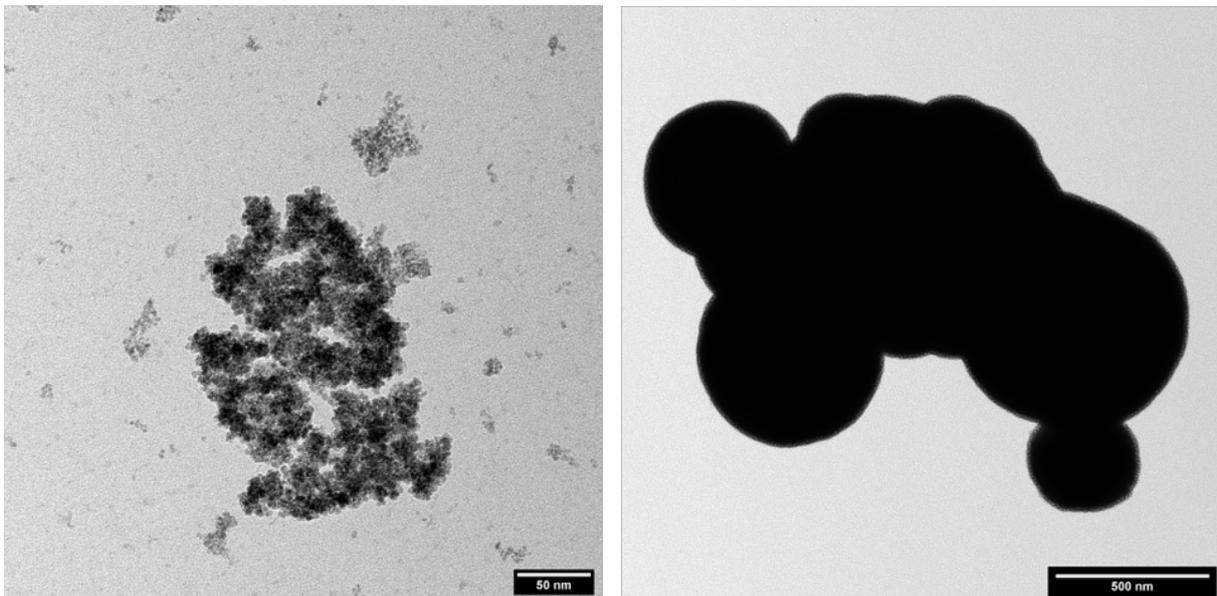
Versuche Ceroxid-Nanopartikel im Kolben herzustellen, benötigen wesentlich längere Reaktionszeiten (mindestens 3 Stunden) und die Zugabe eines Oxidationsmittels (H₂O₂, 35%). Das dabei freigesetzte Kristallwasser sowie das über H₂O₂ zugegebene Wasser wurden mit einem Wasserabscheider entfernt. Die Bildung von Nitrosen Gasen konnte nicht beobachtet werden. Bei Normaldruck ist die Zersetzungstemperatur von Cernitrat Hexahydrat bedingt durch die niedrige Siedetemperatur von Butylacetat nicht zu erreichen. Die erhaltenen Ausbeuten konnten daher 10% nicht übersteigen (TEM-Abbildung: siehe Abbildung 78, rechts, S.133).

Versuche, die Reaktion solvothermal ohne Mikrowellenunterstützung als „klassische Autoklavenreaktion“ durchzuführen schlugen aufgrund der Zersetzung des gewählten Lösemittels fehl und es wurde ein schwarzes Rohprodukt erhalten. Das entstandene Ceroxid konnte nur durch Kalzinierung, jedoch nicht durch Waschen mit Lösemitteln gereinigt werden. Die so erhaltenen Partikel (TEM-Abbildung siehe Abbildung 78, links, S.133) konnten jedoch nicht in Butylacetat redispergiert werden, eine Einbettung in PUR-Lack ist somit nicht möglich. Mit der mikrowellenunterstützten Solvothermalsynthese können im Vergleich zur klassischen Solvothermalsynthese deutlich kürzere Reaktionszeiten und eine höhere Parallelisierung erreicht werden. Somit können größere Mengen Ceroxid-Nanopartikel in kürzerer Zeit erhalten werden, die geeignet sind in PUR-Lacke eingearbeitet zu werden.

5.1.2 Transmissionselektronenmikroskopie

Die Partikel wurden zunächst mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und Rasterelektronenmikroskopie (REM) charakterisiert. Im TEM-Mikrographen sind sphärische, leicht agglomerierte Nanopartikel zu erkennen (Abbildung 47, links).

Wie beschrieben kann die mikrowellenunterstützte Solvothermalsynthese auch ohne HalSiC-R-Heizstäbchen durchgeführt werden, jedoch verändert sich dadurch die Morphologie des Produktes. Werden Heizstäbchen in der Synthese eingesetzt entstehen Nanopartikel, ohne Heizstäbchen jedoch einige Mikrometer große Partikel (siehe Abbildung 47, rechts).



Die Mikrowellenstrahlung erhitzt den Heizstab sehr stark, während Butylacetat aufgrund seines geringen Dipolmoments durch die Mikrowellen nur schlecht erwärmt wird. Es kommt vermutlich an der SiC-Oberfläche zum thermischen Schock, wodurch viele Keime erzeugt werden und folglich kleine Nanopartikel entstehen. Die Reaktion findet wahrscheinlich hauptsächlich an der Oberfläche des Heizstabes statt.

Durch die hohe Mikrowellen-Leistung von 1800 W ist es auch möglich das Butylacetat ausreichend direkt zu erwärmen. Ohne Heizstab wird das Lösungsmittel gleichmäßig erhitzt und die entstehenden Keime haben mehr Zeit zu reifen, wodurch große Partikel entstehen. Die HalSiC R-Heizstäbchen, bestehend aus rekristallisiertem Siliciumcarbid (SiC), zeigten auch nach mehrmaliger Nutzung keine Abnutzungserscheinungen.

Das Material Siliziumcarbid ist beständig gegenüber starken Säuren, Laugen und Temperaturen bis 1600 °C unter oxidierenden Bedingungen.^[164] Die SiC-Heizstäbchen agieren daher vermutlich nicht als Edukt in der Synthese. Die genaue Oberflächeninteraktion während der Synthese wurde hier nicht weiter untersucht und kann Gegenstand weiterführender Forschung sein, da es den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde.

5.1.3 Rasterelektronenmikroskopie

Erhaltene Mikropartikel wurden aufgrund ihrer Größe zusätzlich im Rasterelektronenmikroskop (SEM) untersucht (Abbildung 49). Die mikrometergroßen, unregelmäßige geformte Partikel weisen eine nanostrukturierte Oberfläche auf. Die kugelartige Morphologie deutet darauf hin, dass die Partikel während der Synthese entstanden sind und durch Agglomeration nach der Synthese entstanden.

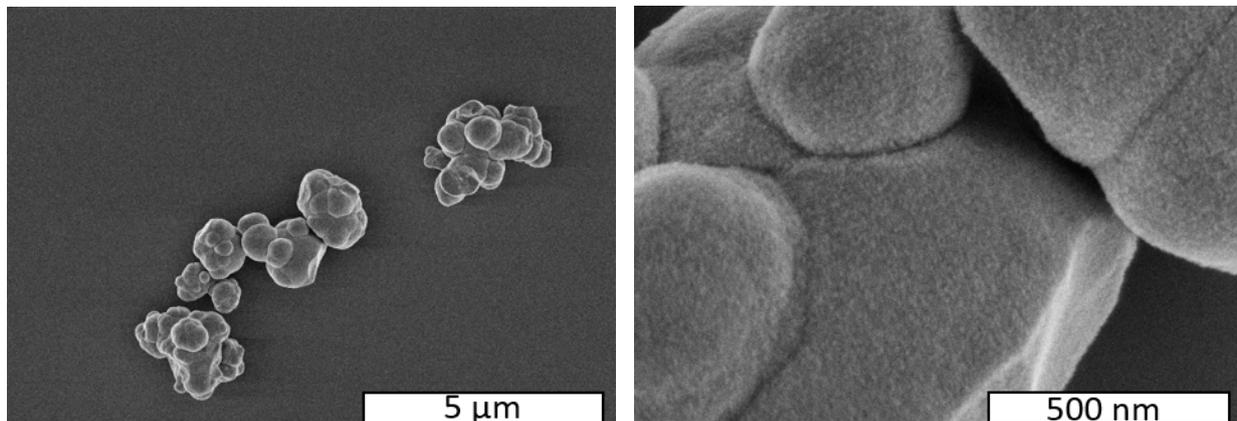


Abbildung 50.: SEM-Aufnahmen der CeO₂-Mikropartikel. Die Partikel sind mehrere Mikrometer groß, zeigen jedoch eine Nanostrukturierung der Oberfläche (rechts).

5.1.4 Röntgenbeugung

Alle per Röntgenpulverdiffraktion erhaltenen Reflexe konnten der Phase Cerianit zugeordnet werden (Diffraktogramme siehe Abbildung 71, S. 129). Die per Pawley-Anpassung erhaltenen Werte des Gitterparameter (siehe Tabelle 10) stimmen gut mit den Literaturwerten für Ceroxid überein. Die Kristallitgröße liegt für beide Proben im einstelligen, nanoskaligen Bereich. Dies stimmt mit den Beobachtungen im TEM, bzw. SEM überein und unterstützt die These, dass die ohne Heizstab hergestellten Ceroxid-partikel eine nanostrukturierte Oberfläche aufweisen.

Tabelle 11.: Pawley-Anpassungen aus Röntgenpulverdiffraktion gewonnenen Daten von CeO_{2-x}-Partikeln, welche per mikrowellenunterstützter Solvothermalsynthese hergestellt wurden.

Material	CeO _{2-x} (mit SiC-Heizstab)	CeO _{2-x} (ohne SiC-Heizstab)
Gitterparameter: a [Å]	5,418 ± 0,001	5,41 ± 0,03
Kristallitgröße: d [nm]	8,8 ± 0,1	5,7 ± 0,2

5.1.5 Thermogravimetrische Analyse

Es wurde zudem eine Thermogravimetrische Analyse (TGA) durchgeführt (siehe Abbildung 73, S. 130). Die Probe verliert circa fünf Prozent Gewicht oberhalb einer Temperatur von 100 °C. Dabei handelt es sich höchst wahrscheinlich um Butylacetat auf der Partikeloberfläche. Durch weitere Waschschrte oder Kalzinierung könnte der Butylacetatanteil reduziert werden und die Eigenschaften als Katalysator gesteigert werden. Für Einbettungsversuche in PUR-Lacke ist jedoch eine gute Dispergierbarkeit der Partikel notwendig, die hauptsächlich durch den Butylacetatanteil bestimmt wird. Die hier präsentierten Partikel stellen einen guten Kompromiss zwischen katalytischen Eigenschaften und Dispergierbarkeit dar.

5.1.6 Katalytische Eigenschaften

Die intrinsische Haloperoxidaseaktivität wurde mittels Phenolrot-Test untersucht. In diesem Test wird Tetrabromphenolblau (Br₄PR) durch Reaktion von Phenolrot (PR), einer Bromidquelle (KBr) und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) mit Hilfe von CeO_{2-x}-Partikeln als heterogener Katalysator hergestellt (Durchführung siehe S. 104).

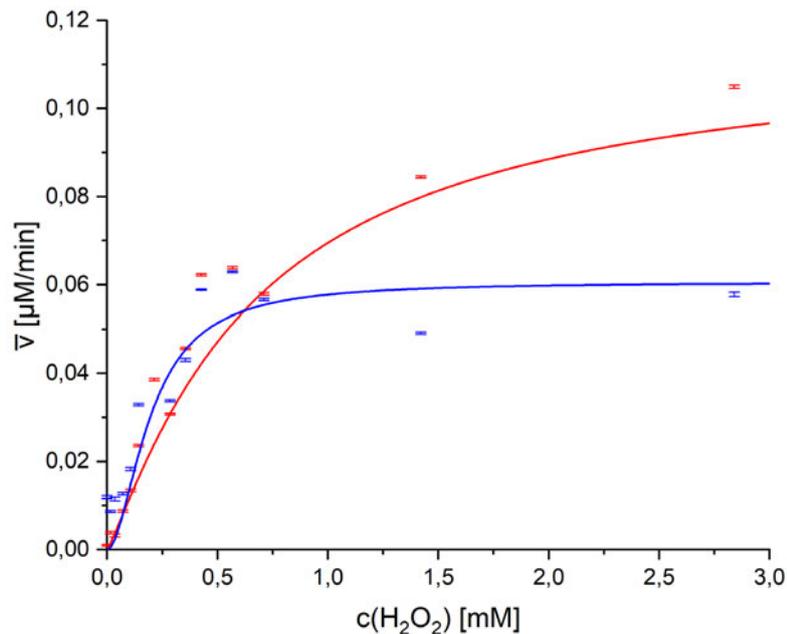


Abbildung 51.: Michaelis Menten Kinetik der CeO₂-Mikropartikel (blau) und der CeO₂-Nanopartikel (rot), hergestellt in der mikrowellenunterstützter Solvotherrmalsynthese.

Da die Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von der Wasserstoffperoxidkonzentration ist, wurden mehrere Reaktionskinetiken bei unterschiedlichen H₂O₂-Konzentrationen gemessen und mit Hilfe der Michaelis Menten Gleichung die maximale Umsatzgeschwindigkeit (V_{max}) und die Michaeliskonstante K_m bestimmt. Um die katalytische Aktivität besser beurteilen zu können wurde zudem die spezifische Oberfläche beider Partikelsorten mittels Gasadsorption (BET, Durchführung siehe S. 104) bestimmt und die Reaktionsrate (ROR), berechnet (Tabelle 12).

Tabelle 12.: Kinetische Parameter der Menten Kinetik von CeO_{2-x}-Partikeln hergestellt per mikrowellenunterstützter Solvotherrmalsynthese

Partikel	V_{max} [$\mu\text{M min}^{-1}$]	K_m [mM]	S_{BET} [$\text{m}^2 \text{g}^{-1}$]	ROR [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{min}^{-1}$]
Mikropartikel	$0,07 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,1$	88,8	0,027
Nanopartikel	$0,13 \pm 0,01$	$0,6 \pm 0,1$	130,8	0,003

Wie aus Tabelle 12 zu entnehmen, sind beide Partikelsorten katalytisch aktiv. Dies entspricht für Mikropartikel nicht den Erwartungen, da „bulk“-Ceroxid nicht katalytisch aktiv ist, kann jedoch durch die Nanostrukturierung der Oberfläche erklärt werden.^[60]

Dies erklärt auch die für Mikropartikel große gemessene Oberfläche von 88,8 m²/g. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (v_{\max}) der Nanopartikel ist fast doppelt so schnell wie die der Mikropartikel. Normiert auf die spezifische Oberfläche der Partikel, haben die Nanopartikel eine ca. 25% höhere katalytische Aktivität als die Mikropartikel, bedingt durch eine höhere Affinität zu H₂O₂ (K_m -Werte). Durch den Einsatz von SiC-Heizstäbchen und einer gleichmäßigeren Heizleistung lässt sich somit ein effektiverer Katalysator herstellen, wodurch sich der Materialeinsatz optimieren lässt. Die Mikropartikel könnten zukünftig dennoch für andere Anwendungen von Interesse sein, da sie aufgrund ihrer Größe anderen Zulassungskriterien nach REACH entsprechen.

5.1.7 Einbettung der Partikel in PUR-Lack

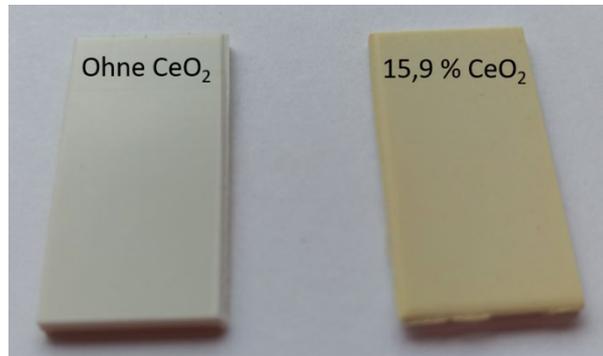
Für die folgenden Einbettungsversuche in PUR-Lacke wurden die Nanopartikel verwendet, da durch die höhere katalytische Aktivität mit weniger Material ein antibakterieller Effekt zu erwarten ist. Die Nanopartikel wurden in Zusammenarbeit mit C. Holtmann, Iacolor Lackfabrikation GmbH in einen Polyurethan-Klarlack eingearbeitet. Dieser bietet aufgrund seiner Lebensmittelechtheit ein breites Anwendungsfeld und lässt sich auf viele Oberflächen auftragen. Es wurde ein Klarlack gewählt, da so die Einbettung der Nanopartikel am besten beurteilt werden kann. In ersten Versuchen wurden gefriergetrocknete Nanopartikel in den Lack eingerührt.



Abbildung 53.: In hochglänzenden, farblosen PUR-Lack eingebettete Ceroxidnanopartikel. Es wurden jeweils 0,5 Gewichtsprozent Ceroxid-Nanopartikel in Lack eingerührt. Das Cerdioxid wurde als gefriergetrockneter Feststoff zugegeben (links) und als Suspension in Butylacetat (rechts). Der Farblose Lack wurde auf schwarze Prüfkörper aufgetragen.

Die getrockneten Nanopartikel ließen sich mit einem Dissolver auch in hochviskosem Medium nicht durch Scherkräfte zerkleinern und man erhielt einen sehr inhomogenen Lack mit großen Ceroxideinschlüssen (Abbildung 52, links). Durch die Verwendung von Butylacetat als Lösemittel, einem Hauptbestandteil von Verdünner für PUR-Lacke, konnten CeO_2 -Suspensionen erfolgreich in PUR-Lack eingebettet werden.

Zur Lackherstellung wurden die CeO₂-Suspensionen (in unterschiedlichen Konzentrationen) für ca. 15 Minuten mit einem Dissolver (ca. 1000-1500 rpm) im Bindemittel dispergiert. Dann wurden Additive für die Oberflächenglätte und Untergrundbenetzung und anschließend Lösemittel zugegeben. Nach der Lackierung wurden die Muster für 5 Minuten bei Raumtemperatur gelagert und bei 60-80°C für 24 Stunden im Ofen getrocknet.



5.1.8 Charakterisierung des Lacks mittels Rasterelektronenmikroskopie

Der angefertigte Lack wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht, um die Verteilung der Nanopartikel im Lack zu beurteilen. Es wurden verschiedene Detektoren für die Messungen verwendet. Der UV-Detektor („Ultra -variabler Detektor“) bietet eine gute Auflösung bei höheren Drücken (bis zu 50 Pa) während der BSE-Detektor („Back Scatter Electron“ -Detektor) den besten Kontrast liefert. Da auf den Proben keine dünne Goldschicht aufgetragen wurde, besaß die Probe eine geringe Leitfähigkeit. Durch den Elektronenstrahl lud sich die Probe schnell auf. Im Niedervakuum treten auch bei hohen Beschleunigungsspannungen diese Aufladungseffekte langsamer auf, weshalb der UV-Detektor für die Lackproben die beste Auflösung bot.

Wie auf Abbildung 55 zu erkennen, liegen neben fein verteilten Partikeln auch Partikel mit 800 - 1500 nm Durchmesser vor. Eine Möglichkeit, die größeren Partikel zu zerkleinern wäre der Einsatz einer Kugelmühle, bevor die Partikel in den Lack eingearbeitet werden.

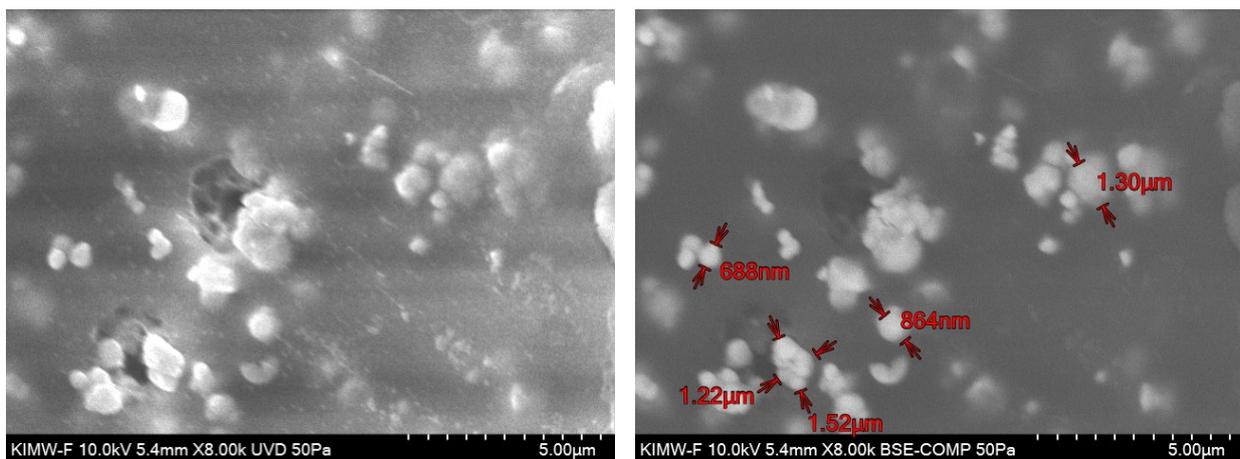


Abbildung 56.: UVD-SEM-Bild (links) der fertigen Probe „PUR-Lack CeO_2 (15,9 %) mit Teflon-Additiv“. Es sind Agglomerate von CeO_2 , aber auch kleine, fein verteilte Partikel zu erkennen. BSE-COMP-SEM-Bild (rechts) derselben Stelle. Die Größe einiger Agglomerate wurde bestimmt. Die Messungen wurde freundlicherweise von R. Schlutter (KIMW) durchgeführt und zur Verfügung gestellt.

Für Messungen mit dem EDX Detektor wurden Bereiche in SEM-Abbildungen ausgewählt (rote Markierungen in den folgenden Abbildungen), die durch Kombination von BSE und UV-Detektordaten erstellt wurden („BSE-COMP“). Es wurden Bereiche mit großen Agglomeraten sowie agglomeratfreie Bereiche („Grund“) ausgewählt. Diese Aufnahmen besitzen eine geringere Auflösung, gut dispergierte Nanopartikel können so nicht dargestellt werden, der EDX-Detektor kann dennoch Cer-Signale von diesen Partikeln im Messbereich detektieren (Vgl. Abbildung 57). Dadurch erklärt sich auf für „Grund-Fokuspunkte“ ein Cer-Messsignal, obwohl auf der Abbildung keine Nanopartikel erkennbar sind.

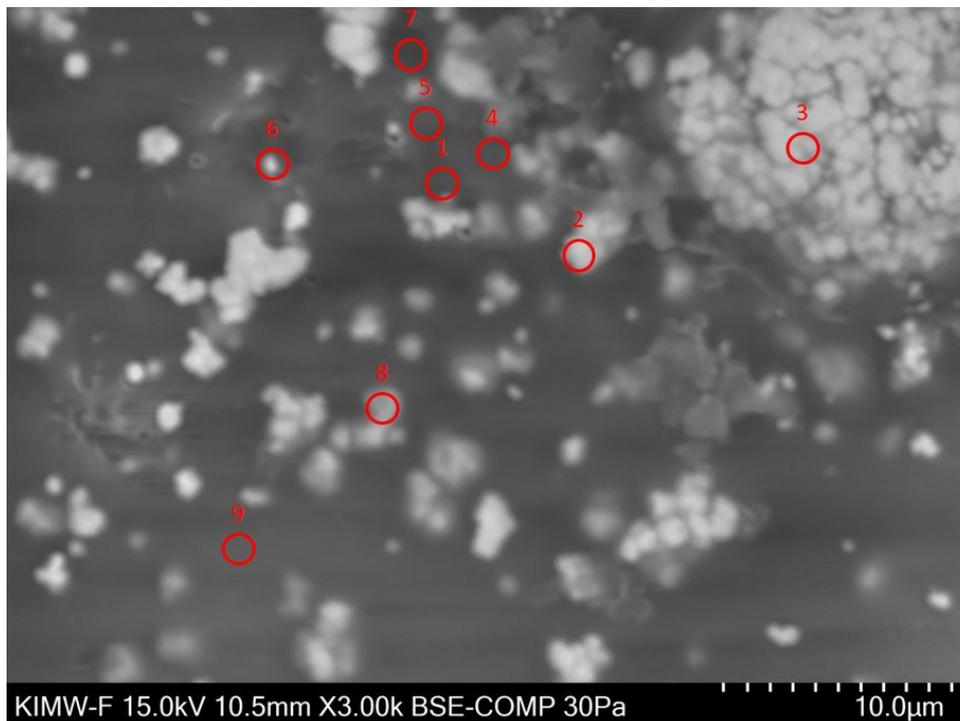


Tabelle 13.: EDX-Messpunkte der Probe „PUR-Lack CeO₂ (1,8 %) mit Teflon-Additiv“.

Messpunkt	C [Gew.-%]	Ce [Gew.-%]	O [Gew.-%]	Sonst [Gew.-%]	Fokuspunkt
1	78,5	3,3	17,7		Grund
2	72,3	7,9	19,3		Agglomerat
3	31,5	53,4	14,9		Agglomerat
4	77,2	3,5	18,6		Grund
5	78,8	2,9	17,8		Grund
6	79,5	3,0	17,0	0,5	Agglomerat
7	79,2	2,9	17,1	0,7	Grund
8	80,2	3,4	15,8	0,6	Agglomerat
9	78,7	2,5	18,3	0,5	Grund

Wie aus Tabelle 13 zu entnehmen, wurden bei einem eingesetzten Gewichtsanteil von 1,8 Gew.-% CeO₂ an der Gesamtmasse des Lacks Werte zwischen 2,4 und 3,5 Gew. % für Bereiche ohne große Agglomerate gemessen. An Stellen mit großen Agglomeraten, wurden bis zu 53,4 Gew. % Ce-Anteil gemessen werden.

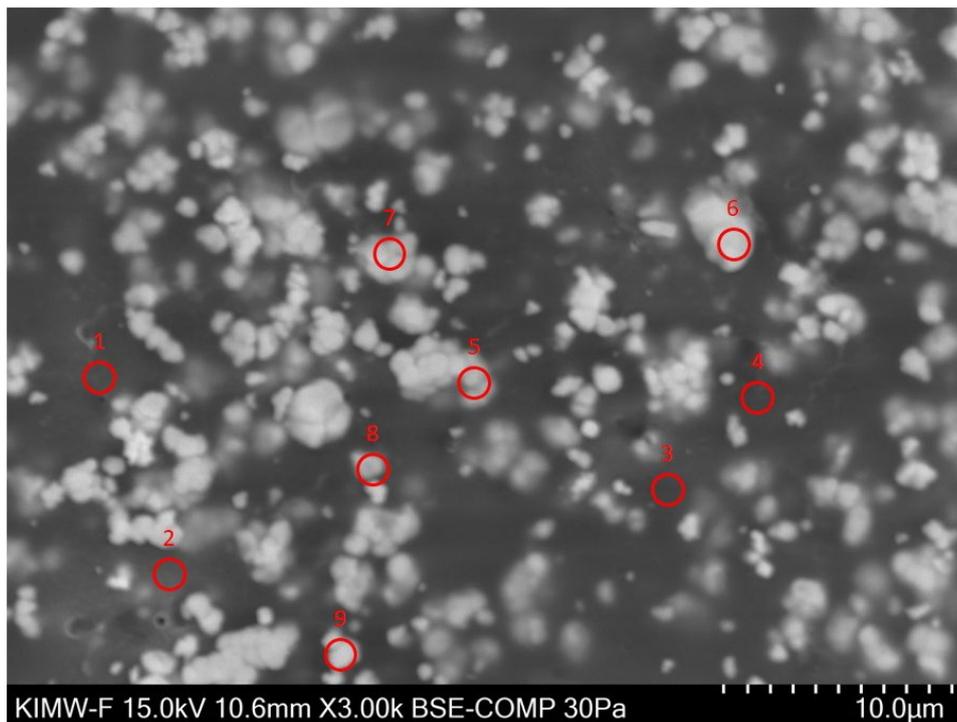


Tabelle 14.: EDX-Messpunkte der Probe „PUR-Lack CeO₂ (15,9 %) mit Teflon-Additiv“.

Messpunkt	C [Gew.-%]	Ce [Gew.-%]	O [Gew.-%]	Sonst [Gew.-%]	Fokuspunkt
1	63,2	23,0	13,3	0,5	Grund
2	58,0	24,9	16,1	1,1	Grund
3	51,3	38,0	9,4	1,3	Grund
4	55,3	34,1	10,2	0,4	Grund
5	32,2	46,7	21,0	0,2	Agglomerat
6	24,8	54,8	20,3		Agglomerat
7	47,6	37,0	15,2	0,2	Agglomerat
8	55,8	25,6	18,3	0,2	Agglomerat
9	42,8	37,2	19,9	0,2	Agglomerat

Für die Probe „PUR-Lack CeO₂ (15,9 %) mit Teflon-Additiv“ liegt der per EDX gemessene Cer-Anteil bei 23,0 bis 38,0 Gew. % für Messpunkte mit gut dispergierten Nanopartikeln und zwischen 37,2 und 54,8 Gew. % für Messpunkte mit großen Agglomeraten (siehe Tabelle 14). Die gemessenen Werte unterliegen bei allen Proben starken Schwankungen. Die gemessenen Werte können daher nur als Trends angesehen werden, da das SEM nicht auf Cer kalibriert wurde. Die Eindringtiefe des Elektronenstrahls deckt bei den geringen Schichtdicken des Lacks mit großer Wahrscheinlichkeit die gesamte Probentiefe ab. Mit oberflächensensitiveren Methoden wie Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) könnte die Verteilung der Ceroxidnanopartikel im Lack genauer bestimmt werden.

5.1.9 Biotests

Die von C. Holtmann, Lacolor hergestellten und zuvor charakterisierten Prüflinge wurden Biotests unterzogen, um deren antibakterielle Wirksamkeit zu bestimmen. Die mikrobiellen Tests wurden mit *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Escherichia coli*. in Anlehnung an ISO 22196 von C. Wiegand, Hautklinik Jena, durchgeführt. Die Testansätze wurden jeweils 24h bei 37°C aerob inkubiert, die Prüflinge wurden in 0,9%iger Kochsalzlösung mit Tween20 ausgeschüttelt und von der Ausschüttelflüssigkeit wurden Verdünnungsreihen hergestellt, auf Columbia-Agar ausplattiert und für 24h inkubiert. Danach erfolgte das Auszählen der koloniebildenden Einheiten (engl.: „colony forming units“, cfu) auf den Platten und die Berechnung der antimikrobiellen Gesamtaktivität. (Durchführung siehe S. 93).

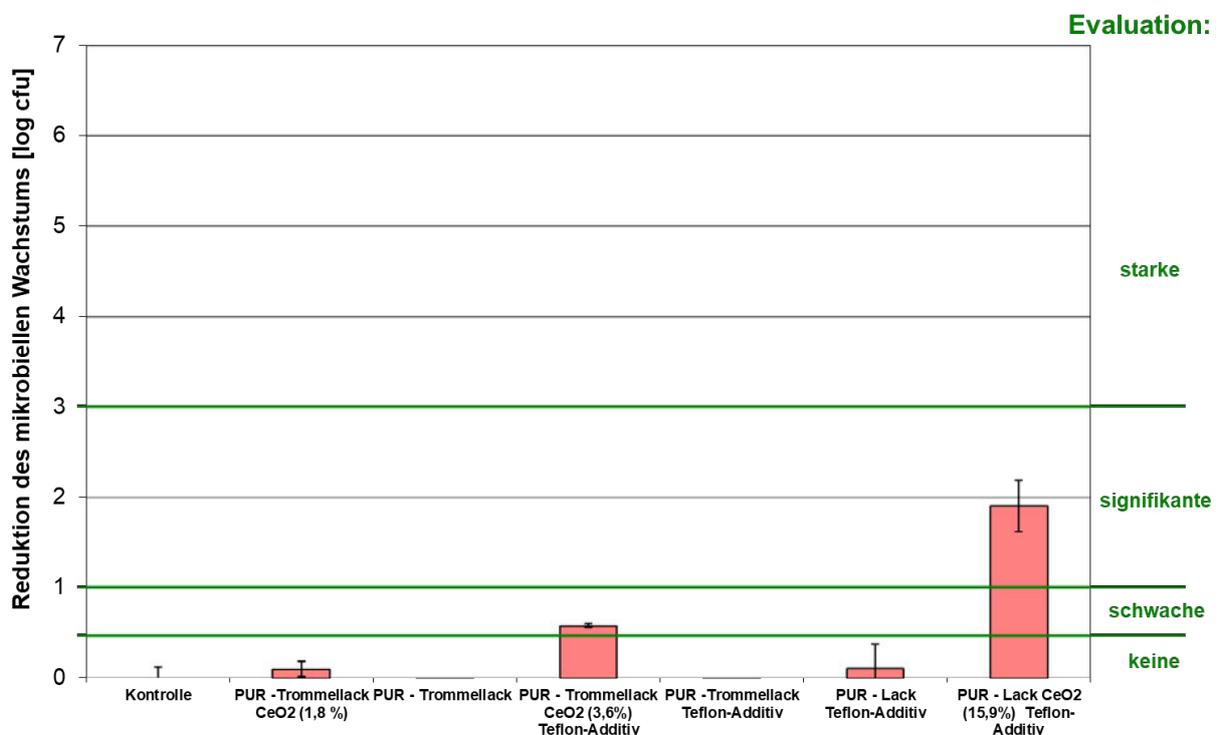


Abbildung 59.: Reduktion des mikrobiellen Wachstums von *Staphylococcus aureus*, getestet in Anlehnung an ISO 22196 für verschiedene PUR-Lackproben. Es wurde jeweils eine Referenz ohne CeO₂-Zusatz gemessen, um eine antibakterielle Wirkung des Lacks auszuschließen. Die Bewertung der antimikrobiellen Aktivität erfolgte in Anlehnung an JIS L 1902:2008.

Wie in Abbildung 58 zu erkennen, haben mit CeO₂-haltigem PUR-Lack ausgestattete Prüflinge eine konzentrationsabhängige, antimikrobielle Wirkung gegenüber *Staphylococcus aureus*. Die Referenzprüflinge, welche mit PUR-Lack ohne Nanopartikel-Zusatz ausgestattet wurden, zeigten diese antimikrobielle Wirkung nicht. Lediglich eine Referenz-Probe, welche mit oberflächenaktivem Teflon-Additiv ausgestattet wurde, zeigt eine sehr schwache Reduktion der Kolonieformenden Einheiten (cfu, engl.: „colony forming units“), die jedoch laut

Einstufungskriterien des verwendeten Standards (JIS L 1902:2008) als „keine Reduktion des mikrobiellen Wachstums“ einzustufen ist. Im Gegensatz zu *Pseudomonas Aeruginosa* und *Escherichia Coli* handelt es sich bei *Stapylocccus aureus* um grampositive Bakterien, welche andere Signalmoleküle benutzen.^[165] Es konnte jedoch in der Vergangenheit bereits ein vergleichbarer Effekt mit haloperoxidase-mimetischen V_2O_5 -Nanostäbchen beobachtet werden.^[166]

Das Testergebnis erweitert die Anwendungsmöglichkeiten von CeO_2 -haltigen PUR-Lacken. Laborversuche zur Bromierung von Autoinducern grampositiver Bakterien werden noch durchgeführt.

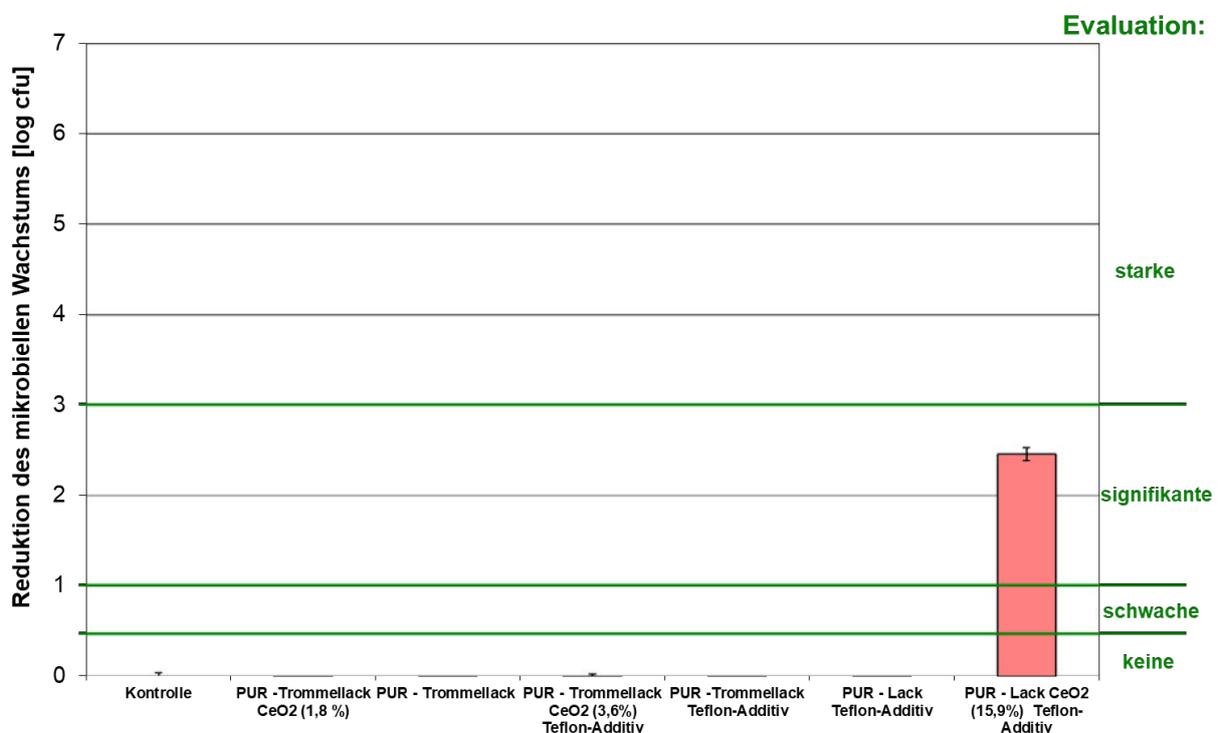
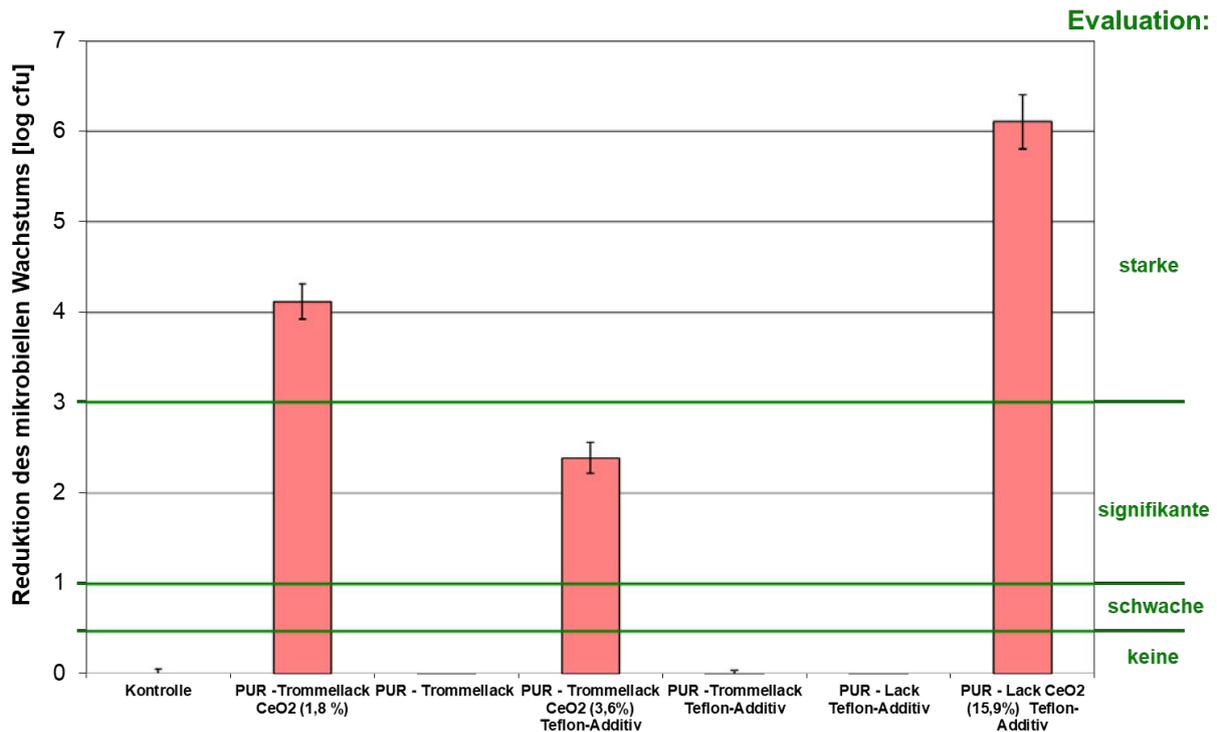


Abbildung 60.: Reduktion des mikrobiellen Wachstums von *Escherichia coli*, getestet in Anlehnung an ISO 22196 für verschiedene PUR-Lackproben. Es wurde jeweils eine Referenz ohne CeO_2 -Zusatz gemessen, um eine antibakterielle Wirkung des Lacks auszuschließen. Die Bewertung der antimikrobiellen Aktivität erfolgte in Anlehnung an JIS L 1902:2008.

Die Reduktion des mikrobiellen Wachstums von *Escherichia Coli* Bakterien gelingt, wie in Abbildung 59 zu entnehmen, nur unter Einsatz großer CeO_2 -Konzentrationen.



Für den gezielten Einsatz gegen *E. Coli* sollten andere Beschichtungsmethoden, wie zum Beispiel in Kapitel „Beschichtung von Polycarbonat“ (siehe S. 29) beschrieben, eingesetzt werden. Wie aus Abbildung 60 zu entnehmen ist, haben alle CeO₂-PUR-Lackproben eine „signifikante“ bzw. „starke“ antimikrobakterielle Wirkung gegenüber *Pseudomonas Aeruginosa*. Schon mit 1,8 Gew.% CeO₂-Anteil lassen sich sehr gute Ergebnisse erzielen. Der Prüfling „PUR-Trommellack CeO₂ (3,6%) mit Teflon Additiv“ weist eine geringere antimikrobielle Wirksamkeit auf, als ein Prüfling desselben Lacks mit 1,8 % CeO₂-Anteil. Dies könnte auf eine höhere Oberflächenrauigkeit zurückzuführen sein, da Trommellacke eine geringere Schichtdicke aufweisen, als „konventionelle Lacke“, wie für den Prüfling mit 15,9 % CeO₂-Anteil verwendet. Im Rahmen des Projektes soll noch eine Untersuchung der Oberflächenrauigkeit sowie eine Optimierung des CeO₂-Anteils für unterschiedliche Lacke erfolgen.

Da *Pseudomonas Aeruginosa* im Jahr 2017 für 2700 Tode und 32600 Fällen durch Krankenhausinfektionen allein in den USA verantwortlich ist und es als „ernsthafte Bedrohung“ eingestuft wird, hat der Einsatz von CeO₂-haltigen Lacken großes Potential.^[167]

Die antibakterielle Wirksamkeit der CeO₂-Nanopartikel muss für jedes Bakterium, gegen das die Lacke eingesetzt werden sollen, individuell getestet werden. Aufgrund der unterschiedlichen Signalmoleküle ist die Reaktivität gegenüber dem katalytisch erzeugten Intermediat (HOBr, „Br⁺“) unterschiedlich hoch. Da für die Probe „PUR-Lack CeO₂ (15,9%) mit Teflon-Additiv“ in allen Tests eine mindestens „signifikante“ Reduktion des mikrobiellen Wachstums festgestellt werden konnte, erscheint eine Produktanwendung vielversprechend. Die für die Tests verwendeten Bakterienstämme wurden von Patienten isoliert, es handelt sich um Wildtypen. Daher kann auf eine Wirkung „in freier Wildbahn“ geschlossen werden.

5.2 Materialien und Methoden

5.2.1 Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln in Mikrowellenautoklaven

In Mikrowellenautoklaven wurden CeO_{2-x} -Partikel bei 175 °C und hohem Druck hergestellt. Es wurden typischerweise 1,5 g $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 25 ml Butylacetat in einen Mars Express Plus Teflon-Autoklav (110 ml) mit Halsic-R Heizstäbchen (rekristallisiertes Siliziumcarbid, 1 cm Länge) gegeben. Mit einer Mars 6-Mikrowelle (CEM) wurde das Butylacetat innerhalb von 2 min mit bis zu 1800 W auf 180°C geheizt und diese Temperatur für 15 min gehalten. Nach dem Abkühlen wurden die Autoklaven im Abzug geöffnet, um nitrose Gase entweichen zu lassen. Die Partikel jeweils 2-mal mit Ethanol, Ethanol/Wasser und Wasser (9000 rpm, 10 min) gewaschen. Zur Weiterverarbeitung in PUR-Lacke wurden die Partikel nochmals mit Ethanol gewaschen und anschließend mit Butylacetat redispergiert. Es wurden Suspensionen mit unterschiedlicher Ceroxidkonzentration hergestellt (0,125 g·l⁻¹, 0,25 g·l⁻¹, 0,75 g·l⁻¹, 1 g·l⁻¹). Zur weiteren Charakterisierung wurden die Partikel Gefriergetrocknet, um Aggregatbildung zu minimieren.

5.2.2 Solvothermale Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln in Butylacetat

Es wurde 11,5 ml Butylacetat und 0,675 g $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in ein 50 ml Tefloninlay gegeben, in einen Stahlautoklaven überführt und für 12 Stunden bei 200°C erhitzt. Es wurde ein schwarzes Rohprodukt erhalten. Die Partikel jeweils 2-mal mit Ethanol, Ethanol/Wasser und Wasser (9000 rpm, 10 min) gewaschen und anschließend kalziniert (400°C, 30 min).

5.2.3 Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln in Butylacetat (Kolbensynthese)

In einen 250 ml Dreihalskolben wurden 4g $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 200 ml Butylacetat gegeben und unter Rühren bis zum Siedepunkt erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde innerhalb von 3 Stunden Rückflusssieden trüb. Es wurde zu Vervollständigung der Reaktion 1 ml H_2O_2 (35%) zugegeben und die H_2O_2 Zugabe nach jeweils 30 min 3-mal wiederholt. Das Wasser wurde fortlaufend mit einem Wasserabscheider entfernt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingengt und die erhaltenen Partikel jeweils 2-mal mit Ethanol, Ethanol/Wasser und Wasser (9000 rpm, 10 min) gewaschen.

5.2.4 Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die Thermogravimetrische Analyse (TGA) erfolgte an einem Perkin Elmer Pyris 6- Thermogravimetric Analyzer. Die Proben wurden gemörsert und im Vakuum bei 60 °C getrocknet und direkt im Gerät abgewogen. Für eine Messung wurden zwischen 2 und 4 mg Partikel benötigt. Die Messung erfolgte unter Sauerstoffatmosphäre. Zur Datenanalyse wurde die Software Microsoft Excel 2019 MSO (16.0.13530.20054) 32 Bit verwendet.

5.2.5 Quantitativer Phenolrottest und Michaelis Menten Kinetik:

Die Reaktion wurde spektrophotometrisch mit einem Agilent Cary 3500 bei einer Wellenlänge von $\lambda = 592$ nm, dem Absorptionsmaximum des Produktes, verfolgt.

Für die Michaelis Menten Kinetik wurde die Menge von H_2O_2 variiert. Für jede Messung wurde dieselbe Stammlösung, bestehend aus PR (50 μ M) und KBr (25mM), benutzt. Nach der Zugabe von 62.5 μ g Suspension wurde die Reaktion gerührt und die Temperatur equilibriert ($T = 25^\circ$ C).

Vor der H_2O_2 -Zugabe wurde die Absorbanz genullt. Die Kinetik wurde für 10 Minuten in Triplikaten gemessen. Alle Datenpunkte wurden linear über einen Zeitraum von 6 min angepasst und die Konzentration via Lambert Beer Gesetz bestimmt.

Der Extinktionskoeffizient wurde bestimmt, indem fünf Lösungen Bromphenolblau unterschiedlicher Konzentrationen (2 μ M, 6 μ M, 10 μ M, 14 μ M, 18 μ M) in einer Quarzküvette ($d = 1$ cm) gemessen wurden. Mittels Lambert-Beerschem Gesetz wurde so ein Extinktionskoeffizient für Br_4Pr (freie Säure) von 32740 $l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ mit einem Agilent Cary 3500 UV-VIS Spektrophotometer bestimmt.

5.2.6 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie wurden in Wasser oder Ethanol (ca. 0,1 mg/ml) dispergiert und 20 μ l der Dispersion auf ein TEM-Probenträger (CF300-Cu Carbon Film (5–6 nm) / 300 Mesh / Electron Microscopy Sciences) aufgetragen. Nachdem das Lösemittel verdampft war, wurden die Proben auf einem Tecnai 12 Transmissionselektronenmikroskop mit thermionischer LaB6-Quelle und Twin-Objektiv von FEI (Hillsboro, OR, USA) mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV gemessen. Das TEM ist mit einer US1000 CCD-Kamera von Gatan (Pleasanton, CA, USA) mit 2000 x 2000 Pixeln ausgestattet. Die Datenanalyse erfolgte mit der Software *ImageJ Ver 1.52q*.

5.2.7 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Proben für die Rasterelektronenmikroskopie (REM) wurden mit leitfähigen Klebepads auf Aluminiumträgern positioniert. Es wurde auf einem SU 3900 (Hitachi) mit einer Beschleunigungsspannung von bis zu 30 kv bei einem Druck von 30 Pa mit einem Ultim Max 40 SDD-Detektor gemessen. Die Datenanalyse erfolgte mit der Software AZTec Live Standard (Oxford).

5.2.8 Kultivierung der Mikroorganismen

Die Testkeime wurden von der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) bezogen. Die Lagerung der Mikroorganismen erfolgte mittels Kryokonservierung (*Microbank*[™], Pro-Lab Diagnostics). Für die Versuche wurden die Bakterien auf Columbia-Agar-Platten (bioMèrieux) angezüchtet. Dazu wurden mit Hilfe einer Pinzette je ein Bead pro Mikroorganismus unter sterilen Bedingungen aus dem *Microbank*-System entnommen und vorsichtig auf dem Agar ausgerollt. Diese Stammkulturen wurden bei 37°C unter aeroben Bedingungen für 24h kultiviert und anschließend bei 4°C gelagert. Zur Herstellung der jeweiligen Arbeitskulturen wurden 20 mL Caso-Bouillon (Lot 23124, Oxoid) in 50-mL-Kulturflaschen aus Glas mit Kapsenbergerkappen (VWR International GmbH) mit dem entsprechenden Mikroorganismus (Materialmenge ca. 1 kleine Impföse) beimpft. Die Kulturen wurden für 24h bei 37°C in einem Schüttelwasserbad (GFL 1083, Gesellschaft f. Labortechnik) kultiviert. Anschließend erfolgte die Herstellung des Testinokulums des jeweiligen Keims.

Bestimmung der antibakteriellen Wirkung in Anlehnung an ISO 22196

Für die Untersuchungen wurden je drei 1 x 1 cm Prüflinge von Proben und Referenzmaterial in sterile Petri-Schalen (greiner-bioone) überführt. Dann wurden je 20 µL Testinokulum auf die Prüflinge appliziert und mit 0,8 x 0,8 cm großen PP-Stücken abgedeckt. Die Testansätze wurden für 24h bei 37°C unter aeroben Bedingungen inkubiert. Für die Keimzahlbestimmung wurden die Prüflinge in 0,9%iger Kochsalzlösung (Fresenius Kabi) mit Tween20 (Carl Roth GmbH) ausgeschüttelt. Von der Ausschüttelflüssigkeit wurden Verdünnungsreihen hergestellt, auf Columbia-Agar ausplattiert und für 24h inkubiert. Danach erfolgte das Auszählen der Kolonien auf den Platten und die Berechnung der antimikrobiellen Gesamtaktivität. Die Bewertung der antimikrobiellen Aktivität erfolgte nach Wiegand et al. in

Anlehnung an JIS L 1902:2008.^[168,169] Alle Messungen erfolgten in Dreifachbestimmungen. Angeben sind die Mittelwerte \pm Standardfehler.

$$\text{Antimikrobielle Gesamtaktivität} = \log [\text{KBE}]_{\text{WK 24h}} - \log [\text{KBE}]_{\text{Probe 24h}} \quad (6)$$

Tabelle 15 Bewertung der antimikrobiellen Aktivität mithilfe der Differenz aus der logarithmisch dargestellten Anzahl Koloniebildenden Einheiten der Referenz und der Probe nach 24 Stunden.

Gesamtaktivität	antimikrobielle Aktivität
0,5 bis 1	leicht
> 1 bis \leq 3	signifikant
> 3	stark

Kapitel 6 Katalytische Halogenierung von Signalmolekülen (AHLs)

Im folgenden Kapitel soll die katalytische Halogenierung von Signalmolekülen untersucht werden. Die Experimente wurden mit $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ aus der Ethylenglykolsynthese sowie CeO_2 -Nanopartikeln (hergestellt mit der mikrowellenunterstützten Solvothermalsynthese) durchgeführt. Die Partikel aus der mikrowellenunterstützten Solvothermalsynthese wurden bereits an anderer Stelle charakterisiert (siehe S. 74).

6.1 Charakterisierung von $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -Partikeln

Da bis zu diesem Punkt nur Partikel ohne Bismut-Anteil aus dieser Synthese charakterisiert wurden (siehe S.54), sollen im Folgenden die katalytischen Eigenschaften sowie die Ergebnisse der Röntgenbeugung vorgestellt werden. Die Synthese wurde analog zur Synthese von CeO_2 ohne Bismut-Substitution, jedoch mit entsprechendem Bismut-Nitrat-Anteil durchgeführt (siehe S.103).

Alle per Pulverröntgendiffraktometrie erhaltenen Reflexe konnten der Phase Cerianit (JCPDS# 00-034-0394) zugeordnet werden (Diffraktogramm siehe Abbildung 69, S. 128).

Tabelle 16.: Pawley-Anpassungen von aus Röntgenpulverdiffraktion gewonnenen Daten von $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_{2-x}$ -Partikeln, welche per Ethylenglykol-Synthese hergestellt wurden.

Material	CeO_{2-x} (aus der Ethylenglykol-Synthese)	$\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_{2-x}$ (aus EG-Synthese)
Gitterparameter: a [Å]	$5,415 \pm 0,002$	$5,436 \pm 0,007$
Kristallitgröße: d [nm]	$7,4 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,1$

Wie aus Tabelle 15 zu entnehmen, ist die per Pawley-Anpassung bestimmte Kristallitgröße der Bismut substituierten Partikel im Vergleich zu den nicht substituierten Partikeln deutlich kleiner, während der Gitterparameter größer ist. Dies beruht auf den größeren Ionenradius von Bismut gegenüber Cer.^[86] Zudem kann die geringe Größe der Nanopartikel einen Einfluss auf den Gitterparameter haben, da sich die Oberfläche aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen stark verzerren muss. Die Ergebnisse stimmen gut mit früheren Berichten überein.^[170,171]

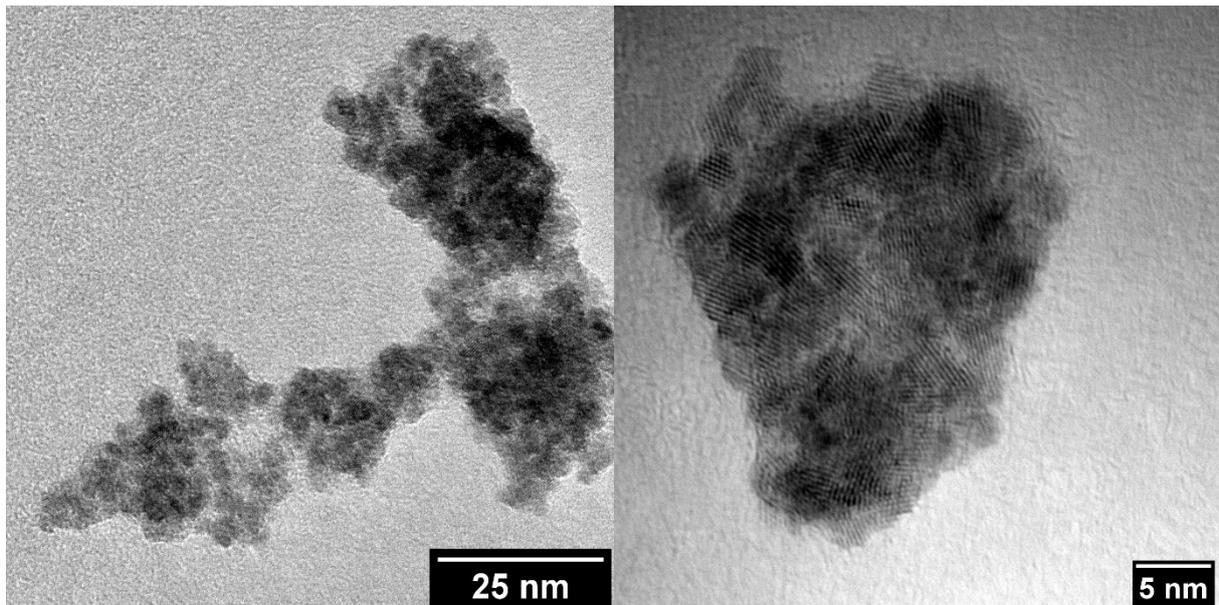


Abbildung 62.: TEM-Messungen von $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -Nanopartikeln, hergestellt über die Ethylenglykolroute.

Zusätzlich wurden die Partikel noch mit Transmissions-Elektronenmikroskopie untersucht. Wie auf Abbildung 61 zu erkennen, entstanden Agglomerate mit nanokristallinen Domänen. Die genaue Größe der Kristallite kann nicht quantifiziert werden, da diese oft übereinander liegen. Sie liegt jedoch höchstwahrscheinlich in derselben Größenordnung wie zuvor mit Röntgenbeugungsdaten bestimmt.

6.1.1 Katalytische Eigenschaften von $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -Partikeln, hergestellt per Ethylenglykolroute

Durch die Substitution mit Bismut kann im Vergleich zu Partikeln ohne Bismut-Anteil, erhalten aus derselben Synthese, eine beinahe 13-mal höhere maximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht werden (Vgl. S. 56).

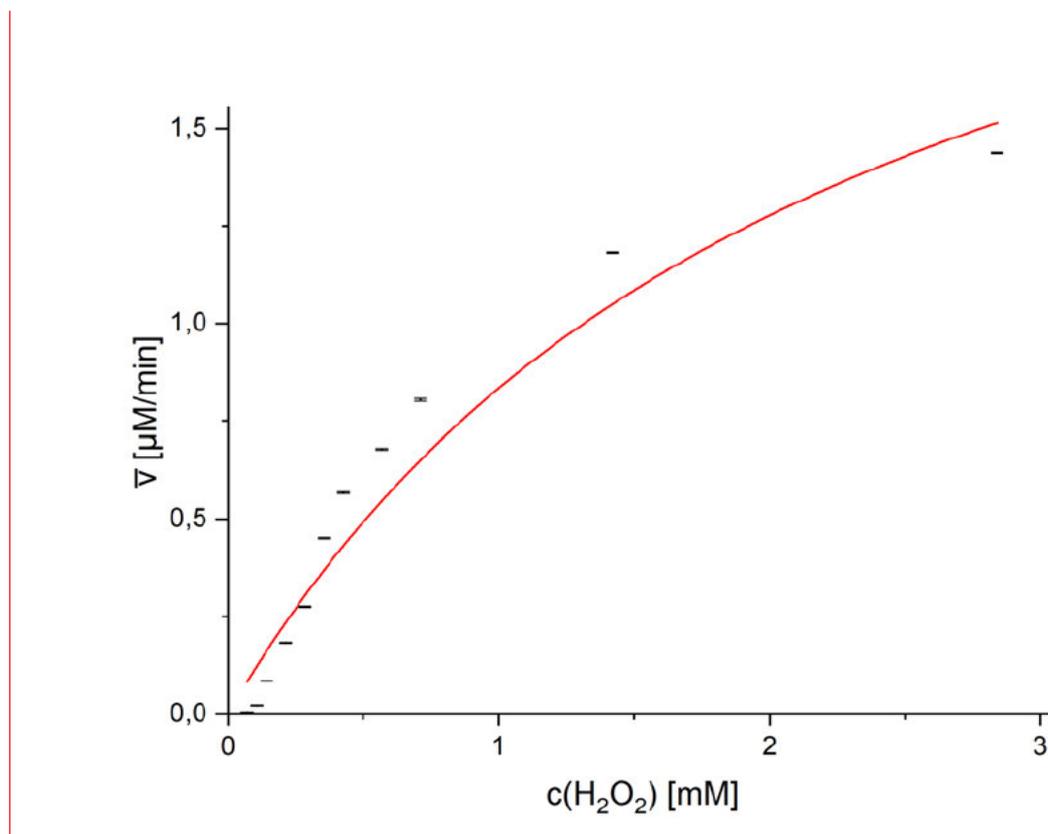


Abbildung 63.: Michaelis Menten Kinetik der $\text{Ce}_{0,2}\text{Bi}_{0,8}\text{O}_2$ -Nanopartikel, erhalten aus der Ethylenglykolsynthese. Dies ist unter anderem durch die deutlich größere spezifische Oberfläche und die höhere Affinität zu H_2O_2 bedingt. Es wurde im Rahmen der Doktorarbeit von Hajo Frerichs mit Hilfe von Substitutionsreihen gezeigt, dass 0,2 eq Bismut den optimalen Anteil an Ceroxid in Bezug auf die Reaktionsgeschwindigkeit darstellen.^[159]

Tabelle 17: Katalytische Eigenschaften sowie spezifische Oberfläche der $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -Nanopartikel aus der Ethylenglykolsynthese

Partikel	V_{max} [$\mu\text{M min}^{-1}$]	K_m [mM]	S_{BET} [$\text{m}^2 \text{g}^{-1}$]	ROR [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{min}^{-1}$]
$\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$	$2,7 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,8$	184,1	0,012

Diese Partikel sind -zum jetzigen Zeitpunkt- die Partikel mit der höchsten bekannten maximalen Reaktionsgeschwindigkeit im Phenolrot-Test. Aufgrund ihrer starken

ockerfarbenen Färbung eignen sie sich nicht gut für transparente Displays oder farblose Lacke, jedoch ideal um die Halogenierung von 3-oxo-Homoserinlactonen zu untersuchen.

6.2 N-Acyl-Homoserinlactone

Gram-negative Bakterien benutzen die Gruppe der N-acyl-Homoserinlactone (AHL) als Signalmolekül für Quorum Sensing (QS), um Gruppenverhalten auszulösen.^[172] Dabei besitzt jede Spezies ein spezifisches Set an Signalmolekülen, um die eigene Populationsdichte, aber auch die anderer Spezies zu messen.

Die Biofilmbildung wird über Quorum Sensing gesteuert. Marine Organismen nutzen dafür Enzyme, so genannte Vanadium-Haloperoxidasen, um sich gegen die Besiedelung von Bakterien zu schützen. Dabei halogenieren sie Signalmoleküle, um die Biofilmbildung zu unterdrücken (Quorum Quenching). Durch die Halogenierung der N-acyl-Homoserinlactone wird deren Degradierung ausgelöst, sodass benachbarte Bakterien diese nicht mehr detektieren können.^[68] Im Rahmen des DFG-Projektes „Ceroxid-Partikel als funktionelle Nachahmer von Haloperoxidase zur Bekämpfung von Biofouling“ soll in Zusammenarbeit mit der Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz (DFG-Förderung: 405861793) mit Hilfe von hochauflösender Massenspektrometrie untersucht werden, ob CeO₂-Nanopartikel die Signalmoleküle halogenieren bzw. zersetzen können. Mit Hilfe von Flüssigchromatographie-Messungen konnten hierfür bereits Hinweise gefunden werden.^[173] Da jedoch kein (hochauflösendes) Massenspektrometer gekoppelt wurde, konnten nur Peaks mit unterschiedlichen Retentionszeiten gemessen werden.

Der direkte Nachweis bromierter Zwischenprodukte ist von großem Interesse, da neben der Bromierung auch andere Reaktionen denkbar sind, die zum Abbau des N-Acyl-Homoserinlactons führen könnten.^[174–176]

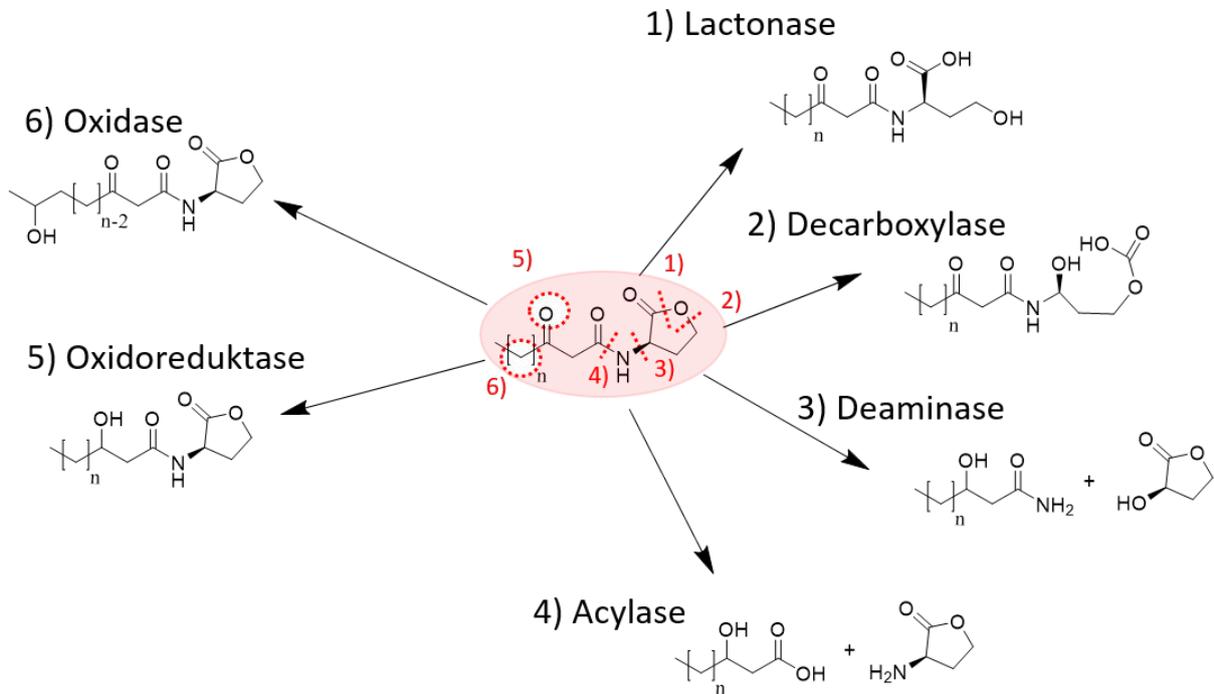


Abbildung 64.: Beispiele für Degradierung von N-Acyl-Homoserinlacton durch verschiedene Enzyme.^[177–179]

Für die oxidative Bromierung mit V-Haloperoxidase oder Enzymmimetika wie CeO_2 wird folgende Reaktionskaskade angenommen:

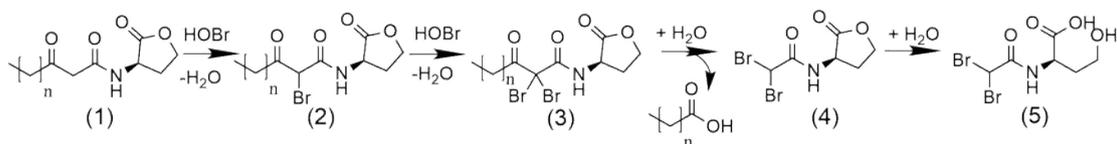


Abbildung 65.: Reaktionsschema: Oxidative Bromierung von 3-Oxo- C_{14} -HSL mit anschließender Hydrolyse.^[68]

Die hypobromige Säure wird katalytisch von CeO_{2-x} -Nanopartikeln hergestellt. Die Bromierung erfolgt nach einem elektrophilen Mechanismus. Daher ist die Alpha-Position der AHLs die reaktivste Stelle. Die Reaktivität gegenüber einem zweiten Molekül HOBr wird durch die Bromierung noch erhöht. Aufgrund der sterischen Anforderung ist das Produkt jedoch Anfällig gegenüber Hydrolyse, es kommt zur Deacylierung und anschließender Ringöffnung.

6.3 Ergebnisse

Die von Michels et al. für die Reaktion von 3-oxo-HSL mit hypohalogeniger Säurer (HOX) beschriebenen Abbauprodukte konnte auch in Experimenten mit CeO₂-Nanopartikeln beobachtet werden. Es konnten dabei anhand der Isotopenmuster konnten die dibromierten Spezies 2,2-dibromo-N-[(3S)-tetrahydro-2-oxo-3-furanyl]-acetamid (4) und N-(2,2-dibromoacetyl)-L-Homserin (5) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 65). Diese experimentellen Ergebnisse sind von besonderer Bedeutung, da Syrpas et al nachwiesen, dass Quorum Sensing nach Abspaltung der Acylkette nicht mehr stattfinden kann.^[67]

191104_83_P3_NP3_3Oxo_C14_HSL_300min_neg #1105-1139 RT: 4.19-4.29 AV: 12 SB: 51 4.43-4.60 , 3.83-4.08 NL: 4.79E5
T: FTMS - p ESI Full ms [50.0000-750.0000]

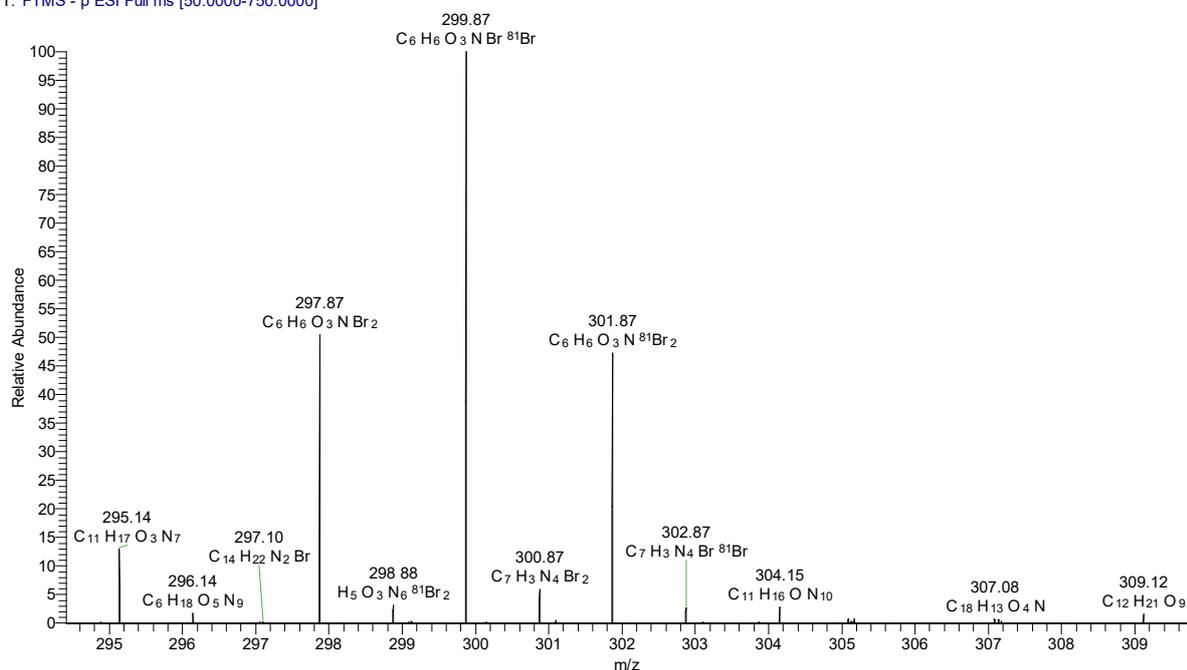


Abbildung 66.: Ausschnitt aus ESI-Massenspektrum (50-750 g/mol) von mit Ce_{0,8}Bi_{0,2}O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Es konnte die dibromierte Spezies C₆H₆O₃NBr₂ (4) nachgewiesen werden.

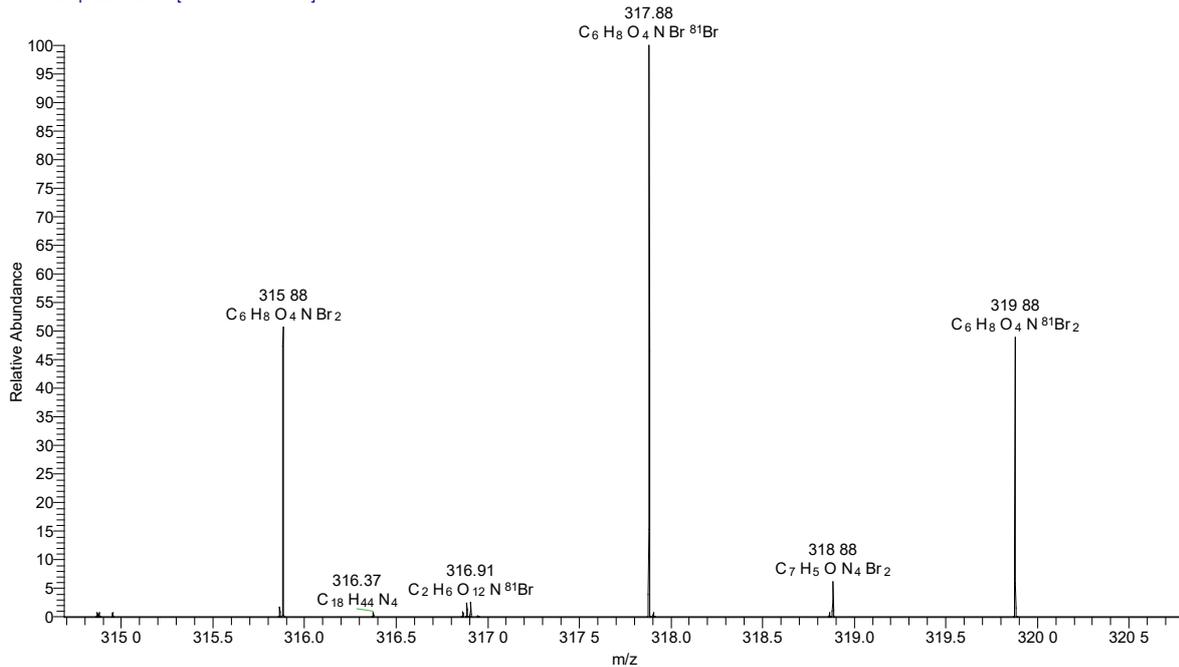


Abbildung 67.: Ausschnitt aus ESI-Massenspektrum (50-750 g/mol) von mit Ce_{0,8}Bi_{0,2}O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Es konnte die dibromierte Spezies C₆H₈O₄NBr₂ (5) nachgewiesen werden.

Es wurden Messungen zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt und die Intensitäten der gemessenen Spezies bestimmt (Abbildung 67). Das Eduktsignal nimmt innerhalb kurzer Zeit stark ab, während die gemessenen Zwischenprodukte deutlich langsamer entstehen. Dies kann zum einen auf Sorptionseffekte an der Oberfläche von Ceroxid zurückzuführen sein, sodass das 3-Oxo-C14 HSL schnell nicht mehr im Überstand zu finden ist. Zum anderen konnten das mono- und dibromierte Zwischenprodukt des 3-Oxo-C14 HSL vor der Kettenabspaltung nicht nachgewiesen werden. Das Zwischenprodukt (4) und das Produkt (5) entstehen jedoch aus diesen, wodurch sich der zeitliche Versatz erklären könnte.

Für Ce_{0,8}Bi_{0,2}O₂-Partikel konnten sowohl (4) als auch (5) als Zwischenprodukte nachgewiesen werden, während mit CeO₂-Partikel aus der Mikrowellensynthese nur das Produkt (5) nachgewiesen werden konnte. Es fällt auf, dass für Ce_{0,8}Bi_{0,2}O₂ bei der Bildung von (4) und (5) ein annähernd linearer Verlauf zu beobachten ist, während mit dem katalytisch weniger aktiven CeO₂ nur sehr geringe Counts für Spezies (4) nachgewiesen wird, aber Spezies (5) weiterhin langsam gebildet wird. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die hydrolytische Ringöffnung ein deutlich schnellerer Prozess ist, als die Bildung der deacylierten Spezies (4). Ob der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Bromierungen oder die erste Hydrolyse darstellt, kann anhand der vorliegenden Daten jedoch nicht bestimmt werden.

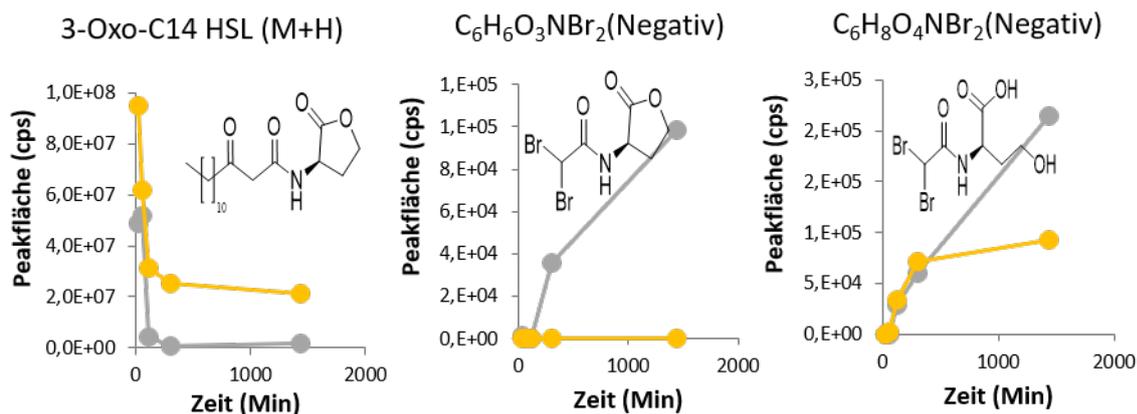


Abbildung 68.: Zeitliche auftragung der per Massenspektrometrie gemessenen Messintensitäten von 3-Oxo-C14 Homoserinlacton sowie den Zwischenprodukten (4) und (5) durch $Ce_{0,8}Bi_{0,2}O_2$ (grau) und CeO_2 (gelb) zur Reaktionskontrolle.

Die Studien sollen in den kommenden Monaten ausgeweitet werden, um die Reaktivität und Spezifität der katalytischen Halogenierung von HSL mit CeO_2 -Nanopartikeln weiter zu untersuchen. In Vitro-Versuche mit Biofilmen auf mit CeO_2 -Nanopartikeln ausgestatteten Oberflächen stehen ebenfalls noch aus.

Die Ergebnisse der massenspektroskopischen Studien liefern wertvolle Hinweise, um die gute Wirksamkeit der Nanopartikel gegenüber *Pseudomas Aeruginosa* zu erklären: Das Bakterium nutzt zur Kommunikation via Quorum Sensing 3-Oxo- C_{12} -HSL.^[180] Das in den Versuchen verwendete 3-Oxo- C_{14} -HSL besitzt nur eine 2 Methyleinheiten längere Alkylkette und weist gegenüber HOX dieselbe Reaktivität auf. *Enterobacter* spp, benutzen 3-Oxo- C_6 -HSL und 3-Oxo- C_8 -HSL als QS Signalmolekül und steuert darüber die Biofilmbildung.^[181] *Enterobacter* spp. verursachen in Deutschland 6,5 % aller HAI auf Intensivstationen.^[182] Aufgrund der chemischen Verwandtschaft der Signalmoleküle könnte die Biofilmbildung von durch *Enterobacter* spp CeO_2 -Nanopartikeln inhibiert werden und hat großes Potenzial für weitere Forschung.

6.4 Materialien und Methoden

6.4.1 Synthese von Ceroxid-Nanopartikeln in Ethylenglykol^[87,157]:

In einem Dreihalskolben wurde das Ethylenglykol vorgelegt und auf 70°C erhitzt. Anschließend wurden darin die Metallnitratre gelöst und das Wasser zugegeben. Hatte die Lösung wieder 70°C erreicht, wurde unter Rühren (KPG, 400 rpm) die konzentrierte Ammoniaklösung zugetropft.

Es wurde so lange weiter unter Rühren erhitzt, bis die violette Lösung sich gelb färbte. Bei großen Ansätzen dauerte dies typischerweise bis zu 8 Stunden. Es wurden bis zu 50 g CeO_{2-x}-Nanopartikel in einer Synthese hergestellt. Das Austreiben des Ammoniaks kann durch Einleiten von Druckluft mithilfe einer P2-Filterkerze beschleunigt werden. Anschließend wurde das Produkt solange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral reagierte. Bei kleinen Ansätzen wurde dies mittels Zentrifugation (9000 rpm, 5 min) durchgeführt, bei größeren Ansätzen wurde das Wasser ausgetauscht, sobald das Produkt sedimentierte. Anschließend wurde das Produkt gefriergetrocknet.

Tabelle 18.: Eingesetzte molare Äquivalente zur Herstellung von CeO₂-Nanopartikel in Ethylenglykol.

Edukt	Molares Äquivalent
Ce(NO ₃) ₃ · 6H ₂ O	(1-y)
M _x (NO ₃) _x	y
25% NH ₄ OH-Lösung	40,5
Ethylenglykol (98%)	154

6.4.2 Röntgendiffraktometrie

Proben für die Röntgenbeugung wurden vor der Analyse gründlich gemörsert und auf Polyvinylacetat-Folie vorbereitet. Diffraktogramme wurden mit einem STOE Stadi P Pulverdiffraktometer, ausgestattet mit einem Mythen 1k-Detektor unter Verwendung von Mo K α 1-Strahlung aufgenommen. Pawley-Fits wurden mit Hilfe von Topas Academic V6 unter Verwendung des Fundamentalparameter-Ansatzes durchgeführt.^[90] Die Phasenanalyse wurde mit dem Programm EVA 10.0.1.0 von SOCABIM und der ICSD 2003 Datenbank durchgeführt.

6.4.3 Bestimmung der spezifischen Oberfläche mittels Gasadsorption (BET)

BET-Messungen zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche wurden mit einem 3P Micro 300 Gasadsorptionsinstrument bei 77.4 K mit Stickstoff als Analysegas durchgeführt. Zur Datenanalyse wurde die Software 3P Surface Area & Pore Size Analyzer System 10.03.02 verwendet.

6.4.4 Quantitativer Phenolrottest und Michaelis Menten Kinetik:

Die Reaktion wurde spektrophotometrisch mit einem Agilent Cary 3500 bei einer Wellenlänge von $\lambda = 592$ nm, dem Absorptionsmaximum des Produktes, verfolgt. Für die Michaelis Menten Kinetik wurde die Menge von H_2O_2 variiert. Für jede Messung wurde dieselbe Stammlösung, bestehend aus PR (50 μM) und KBr (25mM), benutzt. Nach der Zugabe von 62.5 μg Suspension wurde die Reaktion gerührt und die Temperatur equilibriert ($T = 25^\circ\text{C}$). Vor der H_2O_2 -Zugabe wurde die Absorbanz genullt. Die Kinetik wurde für 10 Minuten in Triplikaten gemessen. Alle Datenpunkte wurden linear über einen Zeitraum von 6 min angepasst und die Konzentration via Lambert Beer Gesetz bestimmt. Der Extinktionskoeffizient wurde bestimmt, indem fünf Lösungen Bromphenolblau unterschiedlicher Konzentrationen (2 μM , 6 μM , 10 μM , 14 μM , 18 μM) in einer Quarzküvette ($d=1\text{cm}$) gemessen wurden. Mittels Lambert-Beerschem Gesetz wurde so ein Extinktionskoeffizient für Br_4Pr (freie Säure) von 32740 $\text{l mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ mit einem Agilent Cary 3500 UV-VIS Spektrophotometer bestimmt.

6.4.5 Messmethode Massenspektrometrie

Die Messung der QS-Moleküle sowie deren Transformationsprodukte wurde von Nils Keltsch, BfG Koblenz mit einer LTQ-Orbitrap (Q Exactive HF, Thermo Fisher Scientific/Bremen) durchgeführt, welche mit einer Vanquish LC gekoppelt war. Der verwendete Gradient für die LC Methode wurde von Nürnberg et al. 2015 entwickelt.^[183] Die chromatographische Trennung wurde mithilfe einer Poroshell 120 C18 Säule (3,0 x 50 mm, 2,7 μm , Agilent) durchgeführt und das Injektionsvolumen betrug 10 μL . Die LTQ-Orbitrap Messung erfolgte mittels Elektronensprayionisation, sowohl im negativen als auch im positiven Ionenmodus. Mittels Data Dependent Acquisition wurden MS^2 -Daten aufgenommen, um Strukturinformationen über die Transformationsprodukte zu erhalten. Die Datenverarbeitung wurde mit Xcalibur 3.0 von Thermo Fisher Scientific durchgeführt.

Kapitel 7 Zusammenfassung und Ausblick

Die Natur nutzt die enzymatische Bromierung von bakteriellen Signalmolekülen als Abwehrmechanismus gegen Biofouling. Durch deren Halogenierung wird die Zersetzung der Signalmoleküle ausgelöst und so die Bildung eines Biofilms verhindert. Mit Hilfe von CeO_2 -Nanopartikeln kann die enzymatische Bromierung nachgeahmt werden, weshalb diese großes Potential besitzen die Biofilmbildung zu inhibieren. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf der Synthese-Entwicklung und -Optimierung von Ceroxid-Nanopartikeln für die Herstellung biofilminhibierender Oberflächen.

Zunächst wurden für verschiedene Anwendungen Nanopartikel-Synthesen optimiert, sodass einfach große Mengen hergestellt werden können, was die Grundvoraussetzung für reale Anwendungen darstellt. Die Fähigkeit der Nanopartikel, die oxidative Bromierung als heterogener Katalysator nachzuahmen, wurde durch die Bromierung des Farbstoffes Phenolrot nachgewiesen. Die katalytische Aktivität von Ceroxid-Nanostäbchen konnte durch Austausch des Alkalikations, des korrespondierenden Hydroxids, optimiert werden. Zudem konnte eine neuartige, mikrowellenunterstützte Solvothermalsynthese von CeO_2 -Nanopartikeln in Butylacetat entwickelt werden, welche sich besonders für die Einbettung von Ceroxid-Nanopartikeln in Polyurethan-Lacke eignet. Die durch verschiedene Synthesemethoden hergestellten Ceroxid-Nanopartikel, wurden zur Oberflächenausstattung von Lack- und Polymeroberflächen genutzt. Weiterhin wurden Polycarbonat-Oberflächen mit Ceroxid-Nanostäbchen beschichtet und nanopartikelhaltige Formkörper 3D-gedruckt.

Die biofilminhibierende Wirkung der hergestellten Oberflächen konnte in allen Fällen nachgewiesen werden. Die Zusammensetzung des Biofilms wurde mit Hilfe von Lebend-/Tod-Färbung untersucht und seine Virulenz (Ansteckungsfähigkeit) mit einem Pyocyanintest analysiert. Während sich das Verhältnis von toten zu lebenden Bakterien innerhalb des Biofilms nicht änderte, sank die Gesamtzahl angefärbter Bakterien. Des Weiteren sank die Virulenz (Ansteckungsfähigkeit) des getesteten Biofilms. Mit Hilfe von Zytotoxizitätstests wurde eine toxische Wirkung von CeO_2 -Nanopartikeln auf humane Zellen untersucht. Im Rahmen des durchgeführten Tests konnte keine toxische Wirkung festgestellt werden. Diese Ergebnisse belegen die nichttoxische, biofilminhibierende Wirkweise der Nanopartikel.

Die haloperoxidasemimetische Wirkung der Nanopartikel konnte gezeigt werden, indem die oxidative Bromierung und Zersetzung des bakteriellen Signalmoleküls 3-oxo-C₁₄-HSL mit Hilfe von Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung nachgewiesen wurde. In weiteren Untersuchungen soll die Degradation aller Signalmoleküle in den Biotests verwendeten Spezies untersucht werden. Erste vielversprechende Ergebnisse gegenüber *Staphylococcus aureus* sind dabei ein weiterer, interessanter Forschungsansatz zur Untersuchung einer biofilminhibierende Wirkung gegenüber grampositiven Bakterien.

Die entwickelten Methoden und die erzielten Forschungsergebnisse zeigen das Potential zu kommerzieller Nutzung umweltfreundlicher, biofilminhibierender Oberflächen. Zukünftig könnten Ceroxid-Nanopartikel zur biofilminhibierenden Oberflächenausstattung von Lack- und Polymeroberflächen genutzt werden. Die inhibierende Wirkung auf den weit verbreiteten Krankenhauskeim *Pseudomonas Aeruginosa* ist für Anwendungen im Gesundheitssektor besonders interessant. Die Testung könnte ausgeweitet werden und die Biofilminhibition weiterer Bakterienspezies untersucht werden. Weitere relevante Krankenhauskeime, wie zum Beispiel *Enterobacter* spp, benutzen Signalmoleküle die chemisch eng mit den Signalmolekülen von *Pseudomonas Aeruginosa* verwandt sind. Da die bakterielle Kommunikation von antibiotikaresistenten Keimen weiterhin über dieselben Signalmoleküle abläuft inhibieren CeO₂-Nanopartikel höchstwahrscheinlich die Biofilmbildung und Virulenz dieser Stämme.

Durch die Möglichkeit des 3D-Druckes ist die Herstellung von komplexen, biofilminhibierenden Bauteilen, wie zum Beispiel individuell angefertigten Prothesen möglich. Auch ist im aquatischen Bereich eine Kombination von Silikonoberflächen (gegen hartes Biofouling) und Ceroxid-Nanopartikeln (vor allem gegen weiches Biofouling) ist möglich. Sogar die Kombination konventioneller Biozide mit CeO₂-Nanopartikeln ist denkbar.

Literaturverzeichnis

- [1] C. R. Armbruster, M. R. Parsek, New insight into the early stages of biofilm formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, 115, 4317–4319.
- [2] W. Yin, Y. Wang, L. Liu, J. He, Biofilms: The microbial “protective clothing” in extreme environments. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 3423.
- [3] M. Toyofuku, T. Inaba, T. Kiyokawa, N. Obana, Y. Yawata, N. Nomura, Environmental factors that shape biofilm formation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2016**, 80, 7–12.
- [4] M. Wagner, B. Manz, F. Volke, T. R. Neu, H. Horn, Online assessment of biofilm development, sloughing and forced detachment in tube reactor by means of magnetic resonance microscopy. *Biotechnol. Bioeng.* **2010**, 107, 172–181.
- [5] A. P. Fonseca, J. C. Sousa, Effect of shear stress on growth, adhesion and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* with antibiotic-induced morphological changes. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2007**, 30, 236–241.
- [6] M. Wagner, H. Horn, Optical coherence tomography in biofilm research: A comprehensive review. *Biotechnol. Bioeng.* **2017**, 114, 1386–1402.
- [7] G. O’Toole, H. B. Kaplan, R. Kolter, Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* **2000**, 54, 49–79.
- [8] D. López, H. Vlamakis, R. Kolter, Biolims. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2010**, 2, 1–11.
- [9] K. H. Neilson, T. Platt, J. W. Hastings, Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.* **1970**, 104, 313–322.
- [10] S. S. K. R. L. Eberl, Quorum sensing in plant-associated bacteria Quorum sensing in Pflanzen-assoziierten Bakterien. **2005**, 11, 385.
- [11] B. K. Hammer, B. L. Bassler, Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* **2003**, 50, 101–104.
- [12] M. R. Parsek, E. P. Greenberg, Sociomicrobiology: The connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.* **2005**, 13, 27–33.
- [13] S. Dobretsov, M. Teplitski, V. Paul, Mini-review: Quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. *Biofouling* **2009**, 25, 413–427.
- [14] K. Herget, H. Frerichs, F. Pfitzner, M. N. Tahir, W. Tremel, Functional Enzyme Mimics for Oxidative Halogenation Reactions that Combat Biofilm Formation. *Adv. Mater.* **2018**, 30, 1707073.
- [15] M. Sandy, J. N. Carter-Franklin, J. D. Martin, A. Butler, Vanadium bromoperoxidase from *Delisea pulchra*: enzyme-catalyzed formation of bromofuranone and attendant disruption of quorum sensing. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 12086–8.
- [16] A. Shrestha, M. Grimm, I. Ojiro, J. Krumwiede, A. Schikora, Impact of Quorum Sensing Molecules on Plant Growth and Immune System. *Front. Microbiol.* **2020**, 11, 1–11.

- [17] P. Moura-Alves, A. Puyskens, A. Stinn, M. Klemm, U. Gühlich-Bornhof, A. Dorhoj, J. Furkert, A. Kreuchwig, J. Protze, L. Lozza, G. Pei, P. Saikali, C. Perdomo, H. J. Mollenkopf, R. Hurwitz, F. Kirschhoefer, G. Brenner-Weiss, J. Weiner, H. Oschkinat, M. Kolbe, G. Krause, S. H. E. Kaufmann, Host monitoring of quorum sensing during *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Science (80-)*. **2019**, 366, 1–10.
- [18] R. Gaynes, J. R. Edwards, Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, 41, 848–854.
- [19] A. Kohlenberg, F. Schwab, C. Geffers, M. Behnke, H. Rüden, P. Gastmeier, Time-trends for Gram-negative and multidrug-resistant Gram-positive bacteria associated with nosocomial infections in German intensive care units between 2000 and 2005. *Clin. Microbiol. Infect.* **2008**, 14, 93–96.
- [20] J. M. Pagès, C. E. James, M. Winterhalter, The porin and the permeating antibiotic: A selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, 6, 893–903.
- [21] A. Bridier, R. Briandet, V. Thomas, F. Dubois-Brissonnet, Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: A review. *Biofouling* **2011**, 27, 1017–1032.
- [22] P. S. Stewart, J. Rayner, F. Roe, W. M. Rees, Biofilm penetration and disinfection efficacy of alkaline hypochlorite and chlorosulfamates. *J. Appl. Microbiol.* **2001**, 91, 525–532.
- [23] B. Osterath, Gesucht: Kupfernachfolger für Bootslacke. *Nachrichten aus der Chemie* **2014**, 62, 527–530.
- [24] M. Ittershagen, *Vom Ersatzstoff Zum Problemfall ?*, Umweltbundesamt, Dessau, **2008**.
- [25] S. Biselli, K. Bester, H. Hühnerfuss, K. Fent, Concentrations of the antifouling compound Irgarol 1051 and of organotins in water and sediments of German North and Baltic Sea marinas. *Mar. Pollut. Bull.* **2000**, 40, 233–243.
- [26] S. Siddiqui, R. H. Goddard, G. K. Bielmyer-Fraser, Comparative effects of dissolved copper and copper oxide nanoparticle exposure to the sea anemone, *Exaiptasia pallida*. *Aquat. Toxicol.* **2015**, 160, 205–213.
- [27] Shelter Island Yacht Basin Dissolved Copper Total Maximum Daily Load 2011 Monitoring and Progress Final Report Shelter Island Yacht Basin Dissolved Copper Total Maximum Daily Load 2011 Monitoring and Progress Final Report. **2012**, .
- [28] R. B. Thurman, C. P. Gerba, G. Bitton, The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *Crit. Rev. Environ. Control* **1989**, 18, 295–315.
- [29] R. M. Sterrit, J. N. Lester, Interactions of heavy metals with minerals. *Sci. Total Environ.* **1980**, 14, 5–17.
- [30] C. Manzl, J. Enrich, H. Ebner, R. Dallinger, G. Krumschnabel, Copper-induced formation of reactive oxygen species causes cell death and disruption of calcium homeostasis in trout hepatocytes. *Toxicology* **2004**, 196, 57–64.
- [31] M. J. Domek, J. E. Robbins, M. E. Anderson, G. A. McFeters, Metabolism of *Escherichia coli* injured by copper. *Can. J. Microbiol.* **1987**, 33, 57–62.

- [32] A. Koutsaftis, I. Aoyama, Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Sci. Total Environ.* **2007**, 387, 166–174.
- [33] D. H. Baldwin, C. P. Tataru, N. L. Scholz, Copper-induced olfactory toxicity in salmon and steelhead: Extrapolation across species and rearing environments. *Aquat. Toxicol.* **2011**, 101, 295–297.
- [34] A. O. Valkirs, P. F. Seligman, E. Haslbeck, J. S. Caso, Measurement of copper release rates from antifouling paint under laboratory and in situ conditions: Implications for loading estimation to marine water bodies. *Mar. Pollut. Bull.* **2003**, 46, 763–779.
- [35] J. S. Mohammed, Micro- and nanotechnologies in plankton research. *Prog. Oceanogr.* **2015**, 134, 451–473.
- [36] D. M. Yebra, S. Kiil, K. Dam-Johansen, Antifouling technology - Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Prog. Org. Coatings* **2004**, 50, 75–104.
- [37] M. Lejars, A. Margailan, C. Bressy, Fouling release coatings: A nontoxic alternative to biocidal antifouling coatings. *Chem. Rev.* **2012**, 112, 4347–4390.
- [38] X. Zhang, D. S. Brodus, V. Hollimon, H. Hu, A brief review of recent developments in the designs that prevent bio-fouling on silicon and silicon-based materials. *Chem. Cent. J.* **2017**, 11, 1–12.
- [39] D. Van der Kooij, Potential for biofilm development in drinking water distribution systems. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **1999**, 85, 39–44.
- [40] Y. P. Tsai, T. Y. Pai, J. M. Qiu, The impacts of the AOC concentration on biofilm formation under higher shear force condition. *J. Biotechnol.* **2004**, 111, 155–167.
- [41] A. Sakamoto, Y. Terui, C. Horie, T. Fukui, T. Masuzawa, S. Sugawara, K. Shigeta, T. Shigeta, K. Igarashi, K. Kashiwagi, Antibacterial effects of protruding and recessed shark skin micropatterned surfaces of polyacrylate plate with a shallow groove. *FEMS Microbiol. Lett.* **2014**, 361, 10–16.
- [42] M. Werb, C. Falcón García, N. C. Bach, S. Grumbein, S. A. Sieber, M. Opitz, O. Lieleg, Surface topology affects wetting behavior of *Bacillus subtilis* biofilms. *npj Biofilms Microbiomes* **2017**, 3, 11.
- [43] W. Barthlott, T. Schimmel, S. Wiersch, K. Koch, M. Brede, M. Barczewski, S. Walheim, A. Weis, A. Kaltenmaier, A. Leder, H. F. Bohn, The salvinia paradox: superhydrophobic surfaces with hydrophilic pins for air retention under water. *Adv. Mater.* **2010**, 22, 2325–2328.
- [44] G. Płaza, V. Achal, Biosurfactants: Eco-Friendly and Innovative Biocides against Biocorrosion. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, 21, 2152.
- [45] A. Tripathy, A. Kumar, S. Sreedharan, G. Muralidharan, A. Pramanik, D. Nandi, P. Sen, Fabrication of Low-Cost Flexible Superhydrophobic Antibacterial Surface with Dual-Scale Roughness. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, 4, 2213–2223.
- [46] E. J. Schelter, Cerium under the lens. *Nat. Chem.* **2013**, 5, 348.
- [47] H. H. Binder, *Kleines Lexikon Der Chemischen Elemente*, Lehmanns, **2016**.

- [48] A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, *Lehrbuch Der Anorganischen Chemie*, Walter De Gruyter, **2007**.
- [49] A. Trovarelli, *Catalysis by Ceria and Related Materials- Catalytic Science Series-Vol.2*, Imperial College Press, **2002**.
- [50] M. Downs, R.T. and Hall-Wallace, The American Mineralogist Crystal Structure Database. *Am. Mineral.* **2003**, 88, 247–250.
- [51] D. W. Jeong, H. S. Na, J. O. Shim, W. J. Jang, H. S. Roh, U. H. Jung, W. L. Yoon, Hydrogen production from low temperature WGS reaction on co-precipitated Cu-CeO₂ catalysts: An optimization of Cu loading. *Int. J. Hydrogen Energy* **2014**, 39, 9135–9142.
- [52] T. Cwele, N. Mahadevaiah, S. Singh, H. B. Friedrich, Effect of Cu additives on the performance of a cobalt substituted ceria (Ce_{0.90}Co_{0.10}O_{2-δ}) catalyst in total and preferential CO oxidation. *Appl. Catal. B Environ.* **2016**, 182, 1–14.
- [53] M. González-Castaño, S. Ivanova, M. A. Centeno, T. Ioanides, H. Arellano-García, J. A. Odriozola, Zr and Fe on Pt/CeO₂-MO_x/Al₂O₃ catalysts for WGS reaction. *Int. J. Energy Res.* **2021**, n/a, .
- [54] B. Chandra, J. Won, D. Yeon, Y. Jo, J. Hak, Y. Soo, Dopant induced variations in microstructure and optical properties of CeO₂ nanoparticles. *Mater. Res. Bull.* **2011**, 46, 875–883.
- [55] Y. Wang, C. Cui, Y. Tong, S. Wang, R. Peng, C. Chen, Z. Zhan, Dopant-induced surface activation of ceria nanorods for electro-oxidation of hydrogen and propane in solid oxide fuel cells. *Int. J. Hydrogen Energy* **2021**, .
- [56] S. V. Yadav, V. K. Rathod, Oxidase-like activity of magnetically separable nano ceria for catechol detection. *SN Appl. Sci.* **2019**, 1, .
- [57] G. Wang, J. Zhang, X. He, Z. Zhang, Y. Zhao, Ceria Nanoparticles as Enzyme Mimetics. *Chinese J. Chem.* **2017**, 35, 791–800.
- [58] K. Korschelt, R. Schwidetzky, F. Pfitzner, J. Strugatchi, C. Schilling, M. von der Au, K. Kirchhoff, M. Panthöfer, I. Lieberwirth, M. N. Tahir, C. Hess, B. Meermann, W. Tremel, CeO_{2-x} nanorods with intrinsic urease-like activity. *Nanoscale* **2018**, 10, 13074–13082.
- [59] Z. Hasan, R. Renirie, R. Kerkman, H. J. Ruijsenaars, A. F. Hartog, R. Wever, Laboratory-evolved vanadium chloroperoxidase exhibits 100-fold higher halogenating activity at alkaline pH: Catalytic effects from first and second coordination sphere mutations. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 9738–9744.
- [60] K. Herget, P. Hubach, S. Pusch, P. Deglmann, H. Götz, T. E. Gorelik, A. Gural, F. Pfitzner, T. Link, S. Schenk, M. Panthöfer, V. Ksenofontov, U. Kolb, T. Opatz, R. André, W. Tremel, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, I. A. Gural'skiy, F. Pfitzner, T. Link, S. Schenk, M. Panthöfer, V. Ksenofontov, U. Kolb, T. Opatz, R. André, W. Tremel, Haloperoxidase Mimicry by CeO_{2-x} Nanorods Combats Biofouling. *Adv. Mater.* **2017**, 29, 1603823.
- [61] M. Weyand, H. J. Hecht, M. Kieß, M. F. Liaud, H. Vilter, D. Schomburg, X-ray structure determination of a vanadium-dependent haloperoxidase from *Ascophyllum nodosum* at 2.0 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **1999**, 293, 595–611.

- [62] A. Hille-Rehfeld, Halogenierte Naturstoffe. *Chemie unserer Zeit* **2014**, 48, 402–405.
- [63] S. A. Borchardt, E. J. Allain, J. J. Michels, G. W. Stearns, R. F. Kelly, W. F. McCoy, Reaction of acylated homoserine lactone bacterial signaling molecules with oxidized halogen antimicrobials. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, 67, 3174–3179.
- [64] K. Tait, I. Joint, M. Daykin, D. L. Milton, P. Williams, M. Cámara, Disruption of quorum sensing in seawater abolishes attraction of zoospores of the green alga *Ulva* to bacterial biofilms. *Environ. Microbiol.* **2005**, 7, 229–240.
- [65] K. Herget, H. Frerichs, F. Pfitzner, W. Tremel, Cerdioxid schützt vor marinem Fouling: Biomimetische Biozide. *Chemie Unserer Zeit* **2017**, 51, 278–281.
- [66] R. Schlögl, Heterogene Katalysatoren - fundamental betrachtet. *Angew. Chemie* **2015**, 127, 3531–3589.
- [67] M. Syrpas, E. Ruysbergh, L. Blommaert, B. Vanelslander, K. Sabbe, W. Vyverman, N. De Kimpe, S. Mangelinckx, Haloperoxidase mediated quorum quenching by *Nitzschia cf pellucida*: Study of the metabolization of N-Acyl homoserine lactones by a benthic diatom. *Mar. Drugs* **2014**, 12, 352–367.
- [68] J. J. Michels, E. J. Allain, S. A. Borchardt, P. Hu, W. F. McCoy, Degradation pathway of homoserine lactone bacterial signal molecules by halogen antimicrobials identified by liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* **2000**, 898, 153–165.
- [69] J. W. Blunt, B. R. Copp, W. P. Hu, M. H. G. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep, Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 170–244.
- [70] W. K. Hofbauer, Biofilme mit Amöben, Bakterien und Pilzen im gebauten Umfeld des Menschen. *Bauphysik* **2018**, 40, 396–404.
- [71] H.-C. Flemming, Biofilme: eine Gefahr für das Trinkwasser ? *gwa* **2006**, 481–486.
- [72] S. Dincer, in *Antibiot. Resist. Biofilm* (Ed.: F.M. Uslu), IntechOpen, Rijeka, **2020**, p. Ch. 9.
- [73] H. Frerichs, E. Pütz, F. Pfitzner, T. Reich, A. Gazanis, M. Panthöfer, J. Hartmann, O. Jegel, R. Heermann, W. Tremel, Nanocomposite Antimicrobials Prevent Bacterial Growth Through the Enzyme-like Activity of Bi-Doped Cerium Dioxide (Ce_{1-x}Bi_xO_{2-δ}). *Nanoscale* **2020**, .
- [74] I. M. Piskarev, Hydrogen Peroxide Formation in Aqueous Solutions under UV-C Radiation. *High Energy Chem.* **2018**, 52, 212–216.
- [75] “Kesselformel nach DIN 2413,” zu finden unter: <https://www.krv.de/artikel/kesselformel-kessel-formel-bockwurst-formel>, aufgerufen am: 06.04.2021.
- [76] H.-X. X. Mai, L.-D. D. Sun, Y.-W. W. Zhang, R. Si, W. Feng, H.-P. P. Zhang, H.-C. C. Liu, C.-H. H. Yan, Shape-Selective Synthesis and Oxygen Storage Behavior of Ceria Nanopolyhedra, Nanorods, and Nanocubes. *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109, 24380–24385.
- [77] B. Richard, J. L. Lemyre, A. M. Ritcey, Nanoparticle Size Control in Microemulsion Synthesis. *Langmuir* **2017**, 33, 4748–4757.
- [78] S. G. Kwon, T. Hyeon, Formation mechanisms of uniform nanocrystals via hot-injection

- and heat-up methods. *Small* **2011**, 7, 2685–2702.
- [79] D. R. Mullins, The surface chemistry of cerium oxide. *Surf. Sci. Rep.* **2015**, 70, 42–85.
- [80] C. Yang, X. Yu, S. Heißler, A. Nefedov, S. Colussi, J. Llorca, A. Trovarelli, Y. Wang, C. Wöll, Surface Faceting and Reconstruction of Ceria Nanoparticles. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2017**, 56, 375–379.
- [81] D. C. Sayle, S. A. Maicaneanu, G. W. Watson, Nanoparticles , Supported on Yttrium-Stabilized Zirconia. **2002**, 2, 11429–11439.
- [82] H. Koller, G. Engelhardt, A. P. M. Kentgens, J. Sauer, ²³Na NMR spectroscopy of solids: Interpretation of quadrupole interaction parameters and chemical shifts. *J. Physiol Chem.* **1994**, 98, 1544–1551.
- [83] R. Tabeta, H. Saito, ²³Na Chemical shifts of some inorganic and organic compounds in the solid state as determined by the magic angle spinning and high power NMR methods. *Chem. Lett.* **1984**, 13, 293–296.
- [84] B. M. Meyer, N. Leifer, S. Sakamoto, S. G. Greenbaum, C. P. Grey, High field multinuclear NMR investigation of the SEI layer in lithium rechargeable batteries. *Electrochem. Solid-State Lett.* **2005**, 8, 1–5.
- [85] T. Hisashige, Y. Yamamura, T. Tsuji, Thermal expansion and Debye temperature of rare earth-doped ceria. *J. Alloys Compd.* **2006**, 408–412, 1153–1156.
- [86] R. D. Shannon, Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. *Acta Crystallogr. Sect. A* **1976**, 32, 751–767.
- [87] H. V. Frerichs, *Dissertation: Nano-Ceroxid Und Komposite*, Mainz, **2019**.
- [88] R. Hanzlik, *Inorganic Aspects of Biological and Organic Chemistry*, Elsevier Science, **2012**.
- [89] L. Yan, R. Yu, J. Chen, X. Xing, Template-free hydrothermal synthesis of CeO₂ nano-octahedrons and nanorods: Investigation of the morphology evolution. *Cryst. Growth Des.* **2008**, 8, 1474–1477.
- [90] R. W. Cheary, A. Coelho, Fundamental parameters approach to x-ray line-profile fitting. *J. Appl. Crystallogr.* **1992**, 25, 109–121.
- [91] E. Verhaeghe, D. Buisson, E. Zekri, C. Leblanc, P. Potin, Y. Ambroise, A colorimetric assay for steady-state analyses of iodo- and bromoperoxidase activities. *Anal. Biochem.* **2008**, 379, 60–65.
- [92] R. M. Klevens, J. R. Edwards, C. L. Richards, T. C. Horan, R. P. Gaynes, D. A. Pollock, D. M. Cardo, Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. Hospitals, 2002. *Public Health Rep.* **2007**, 122, 160–166.
- [93] A. Y. Peleg, D. C. Hooper, Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N. Engl. J. Med.* **2010**, 362, 1804–1813.

- [94] K. Page, M. Wilson, I. P. Parkin, Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections. *J. Mater. Chem.* **2009**, 19, 3818–3831.
- [95] I. Chopra, C. Schofield, M. Everett, A. O’Neill, K. Miller, M. Wilcox, J. M. Frère, M. Dawson, L. Czaplewski, U. Urleb, P. Courvalin, Treatment of health-care-associated infections caused by Gram-negative bacteria: a consensus statement. *Lancet Infect. Dis.* **2008**, 8, 133–139.
- [96] S. Rincón, D. Panesso, L. Díaz, L. P. Carvajal, J. Reyes, J. M. Munita, C. A. Arias, Resistance to “last resort” antibiotics in gram-positive cocci: The post-vancomycin era. *Biomédica* **2014**, 34, 191–208.
- [97] P. Brouqui, S. Boudjema, A. Soto Aladro, E. Chabrière, O. Florea, H. Nguyen, J. C. Dufour, New Approaches to Prevent Healthcare-Associated Infection. *Clin. Infect. Dis.* **2017**, 65, S50–S54.
- [98] Mankiewicz, Sauber und sicher - Optimierte Oberflächen für den ÖPNV. *JOT, J. fuer Oberflaechentechnik* **2020**, 60, 22–23.
- [99] W. Sun, W. Liu, Z. Wu, H. Chen, Chemical Surface Modification of Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications. *Macromol. Rapid Commun.* **2020**, 41, 1–26.
- [100] F. Theinkom, L. Singer, F. Cieplik, S. Cantzler, H. Weilemann, M. Cantzler, K. A. Hiller, T. Maisch, J. L. Zimmermann, Antibacterial efficacy of cold atmospheric plasma against *Enterococcus faecalis* planktonic cultures and biofilms in vitro. *PLoS One* **2019**, 14, 1–15.
- [101] T. Suryaprabha, M. G. Sethuraman, Fabrication of copper-based superhydrophobic self-cleaning antibacterial coating over cotton fabric. *Cellulose* **2017**, 24, 395–407.
- [102] D. Druvari, N. D. Koromilas, V. Bekiari, G. Bokias, J. K. Kallitsis, Polymeric antimicrobial coatings based on quaternary ammonium compounds. *Coatings* **2018**, 8, 1–14.
- [103] A. Nastulyavichus, S. Kudryashov, N. Smirnov, I. Saraeva, A. Rudenko, E. Tolordava, A. Ionin, Y. Romanova, D. Zayarny, Antibacterial coatings of Se and Si nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* **2019**, 469, 220–225.
- [104] B. S. Necula, I. Apachitei, F. D. Tichelaar, L. E. Fratila-Apachitei, J. Duszczyk, An electron microscopical study on the growth of TiO₂-Ag antibacterial coatings on Ti6Al7Nb biomedical alloy. *Acta Biomater.* **2011**, 7, 2751–2757.
- [105] J. Jang, Displays develop a new flexibility. *Mater. Today* **2006**, 9, 46–52.
- [106] P. Pohl, “Wandschutzsysteme Wandschutz & Handläufe aus kratzfestem Polycarbonat,” zu finden unter: https://www.ppm-marburg.de/Decoba/Download/Decoba_Katalog_2016_ppm.pdf, aufgerufen am: 06.04.2021.
- [107] P. Eysel, J. Heine, Peer Eysel-die künstliche Bandscheibe. *Dtsch. Arztebl.* **2000**, 97, 3092–3096.
- [108] U. Schulz, Oberflächenfunktionalisierung von Kunststoffoptik. *Vak. Forsch. und Prax.* **2014**, 26, 26–31.

- [109] D. K. Hwang, J. H. Moon, Y. G. Shul, K. T. Jung, D. H. Kim, D. W. Lee, Scratch resistant and transparent UV-protective coating on polycarbonate. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2003**, 26, 783–787.
- [110] N. Mölders, M. Renner, C. Errenst, E. Weidner, Incorporation of antibacterial active additives inside polycarbonate surfaces by using compressed carbon dioxide as transport aid. *J. Supercrit. Fluids* **2018**, 132, 83–90.
- [111] R. Fateh, R. Dillert, D. Bahnemann, Self-cleaning properties, mechanical stability, and adhesion strength of transparent photocatalytic TiO₂-ZnO coatings on polycarbonate. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6, 2270–2278.
- [112] Z. X. Voo, M. Khan, K. Narayanan, D. Seah, J. L. Hedrick, Y. Y. Yang, Antimicrobial/antifouling polycarbonate coatings: Role of block copolymer architecture. *Macromolecules* **2015**, 48, 1055–1064.
- [113] X. Ding, C. Yang, T. P. Lim, L. Y. Hsu, A. C. Engler, J. L. Hedrick, Y. Y. Yang, Antibacterial and antifouling catheter coatings using surface grafted PEG-b-cationic polycarbonate diblock copolymers. *Biomaterials* **2012**, 33, 6593–6603.
- [114] R. M. Thurston, J. D. Clay, M. D. Schulte, Effect of atmospheric plasma treatment on polymer surface energy and adhesion. *J. Plast. Film Sheeting* **2007**, 23, 63–78.
- [115] A. Qureshi, S. Shah, S. Pelagade, N. L. Singh, S. Mukherjee, A. Tripathi, U. P. Deshpande, T. Shripathi, Surface modification of polycarbonate by plasma treatment. *J. Phys. Conf. Ser.* **2010**, 208, 012108.
- [116] F. Palumbo, R. Di Mundo, D. Cappelluti, R. Dagostino, SuperHydrophobic and SuperHydrophilic polycarbonate by tailoring chemistry and nano-texture with plasma processing. *Plasma Process. Polym.* **2011**, 8, 118–126.
- [117] S. Kitova, M. Minchev, G. Danev, RF plasma treatment of polycarbonate substrates. *J. Optoelectron. Adv. Mater.* **2005**, 7, 2607–2612.
- [118] B. Sels, D. De Vos, M. Buntinx, F. Plerard, A. Kirsch-De Mesmaeker, P. Jacobs, Layered double hydroxides exchanged with tungstate as biomimetic catalysts for mild oxidative bromination. *Nature* **1999**, 400, 855–857.
- [119] L. Wang, J. Hou, S. Liu, A. J. Carrier, T. Guo, Q. Liang, D. Oakley, X. Zhang, CuO nanoparticles as haloperoxidase-mimics: Chloride-accelerated heterogeneous Cu-Fenton chemistry for H₂O₂ and glucose sensing. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, 287, 180–184.
- [120] S. Goutelle, M. Maurin, F. Rougier, X. Barbaut, L. Bourguignon, M. Ducher, P. Maire, The Hill equation: A review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2008**, 22, 633–648.
- [121] S. Kozuch, J. M. L. Martin, “Turning over” definitions in catalytic cycles. *ACS Catal.* **2012**, 2, 2787–2794.
- [122] A. Hofrichter, P. Bulkin, B. Dré villon, Plasma treatment of polycarbonate for improved adhesion. *J. Vac. Sci. Technol. A* **2002**, 20, 245–250.

- [123] H. Yaghoubi, N. Taghavinia, E. K. Alamdari, Self cleaning TiO₂ coating on polycarbonate: Surface treatment, photocatalytic and nanomechanical properties. *Surf. Coatings Technol.* **2010**, 204, 1562–1568.
- [124] J. Dagata, P. Kavuri, A. Vldar, K. Ehara, N. Farkas, C.-L. Wu, H. Itoh, Method for measuring the diameter of polystyrene latex reference spheres by atomic force microscopy. *Natl. Inst. Stand. Technol. Spec. Publ. SP 260-185* **2016**, 1-26.
- [125] C. J. Boehlert, J. D. Farr, R. K. Schulze, R. A. Pereyra, J. A. Archuleta, Initial electron back-scattered diffraction observations of cerium. *Philos. Mag.* **2003**, 83, 1735–1744.
- [126] L. Exner, Martin; Nissing, Werner; Behringer, Katja; Engelhart, Steffen; Pleischl Stefan; Koch, Christoph; Trautmann, Matthias; Kramer, Axel; Walger, Peter; Martiny, Heike; Jatzwauk, Gesundheitliche Bedeutung, Prävention und Kontrolle Wasser-assoziiertes Pseudomonas aeruginosa- Infektionen. *Hyg Med* **2016**, 41, 1-33.
- [127] Y. Deng, L. Wang, Y. Chen, Y. Long, Optimization of staining with SYTO 9/propidium iodide: Interplay, kinetics and impact on *Brevibacillus brevis*. *Biotechniques* **2020**, 69, 89–99.
- [128] M. Aguirre, E. Johansson Salazar-Sandoval, M. Johansson, A. Ahniyaz, M. Paulis, J. R. Leiza, Hybrid acrylic/CeO₂ nanocomposites using hydrophilic, spherical and high aspect ratio CeO₂ nanoparticles. *J. Mater. Chem. A* **2014**, 2, 20280–20287.
- [129] G. A. O’Toole, Microtiter dish Biofilm formation assay. *J. Vis. Exp.* **2010**, 10–11.
- [130] C. T. O’Loughlin, L. C. Miller, A. Siryaporn, K. Drescher, M. F. Semmelhack, B. L. Bassler, A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, 110, 17981–17986.
- [131] R. A. Buswell, W. R. Leal de Silva, S. Z. Jones, J. Dirrenberger, 3D printing using concrete extrusion: A roadmap for research. *Cem. Concr. Res.* **2018**, 112, 37–49.
- [132] K. Markstedt, K. Håkansson, G. Toriz, P. Gatenholm, Materials from trees assembled by 3D printing – Wood tissue beyond nature limits. *Appl. Mater. Today* **2019**, 15, 280–285.
- [133] T. Duda, L. V. Raghavan, 3D Metal Printing Technology. *IFAC-PapersOnLine* **2016**, 49, 103–110.
- [134] I. Oberti, F. Plantamura, Is 3D Printed House Sustainable ? *Cisbat* **2015**, 173–178.
- [135] D. Jennifer, Scheydt; Jörg, 3D-Betondruck-Material für Wohnungsbau marktreif. *Context Das Kundenmagazin von Heidelb. Cem.* **2020**, 36–39.
- [136] T. Rayna, L. Striukova, From rapid prototyping to home fabrication: How 3D printing is changing business model innovation. *Technol. Forecast. Soc. Change* **2016**, 102, 214–224.
- [137] J. P. Best, Z. Evenson, F. Yang, A. C. Dippel, M. Stolpe, O. Gutowski, M. T. Hasib, X. Li, J. J. Kruzic, Structural periodicity in laser additive manufactured Zr-based bulk metallic glass. *Appl. Phys. Lett.* **2019**, 115, 0–5.
- [138] S. Katharina, Reichel; Käfer, “Heraeus erweitert 3D-Drucker für Wolfram,” zu finden unter: <https://www.maschinenmarkt.vogel.de/heraeus-erweitert-3d-drucker-fuer-wolfram-a-902108/?cmp=beleg-mail>, aufgerufen am: 12.02.2021.

- [139] "Refraktärmetalle – Additive Fertigung von Komponenten," zu finden unter: https://www.heraeus.com/de/group/products_and_solutions_group/additive_manufacturing/component_printing_service/refractory_metal_printed_parts/refractory_metal_printed_parts.html, aufgerufen am: 12.02.2021.
- [140] N. Noor, A. Shapira, R. Edri, I. Gal, L. Wertheim, T. Dvir, 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts. *Adv. Sci.* **2019**, 6, .
- [141] M. Neufurth, X. Wang, S. Wang, R. Steffen, M. Ackermann, N. D. Haep, H. C. Schröder, W. E. G. Müller, 3D printing of hybrid biomaterials for bone tissue engineering: Calcium-polyphosphate microparticles encapsulated by polycaprolactone. *Acta Biomater.* **2017**, 64, 377–388.
- [142] D. H. Wolter, D. H. Friedrich, "Fraunhofer Institut: patientenindividuelle Medizinprodukte und Kleinserien," zu finden unter: <https://www.isc.fraunhofer.de/de/arbeitsgebiete/verfahren/generative-fertigung.html>, aufgerufen am: 19.10.2020.
- [143] "3D Printing for Implantology," zu finden unter: <https://www.3dsystems.com/dental/3d-printing-implantology>, aufgerufen am: 19.10.2020.
- [144] "3d-printing-medical-devices-market," zu finden unter: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/3d-printing-medical-devices-market-90799911.html>.
- [145] K. H. Lee, H. Bin, K. B. Kim, S. Y. Ahn, B. O. Kim, S. K. Bok, Hand functions of myoelectric and 3D-printed pressure-sensored prosthetics: A comparative study. *Ann. Rehabil. Med.* **2017**, 41, 875–880.
- [146] S. S., "Covid-19: 3D-Druck rettet Leben in Italien," zu finden unter: <https://www.3dnatives.com/de/3d-druck-rettet-leben-in-italien-covid-19/#!>, aufgerufen am: 23.09.2020.
- [147] B. Ulbl, "Spritzgusswerkzeug - Wie können Sie Kosten reduzieren?," zu finden unter: <https://www.hintsteiner-group.com/blog/spritzguss-kosten-sparen>, aufgerufen am: 12.02.2021.
- [148] N. Athanassios, Kotrotsios; Jens, "Dental 3D Agency Trayfill Filament," zu finden unter: <https://www.igo3d.com/dental-3d-agency-trayfill-filament>, aufgerufen am: 12.02.2021.
- [149] C. Scott, "NASA Studying Antibacterial 3D Printing Filament For Use On Space Missions," zu finden unter: <https://www.filamentworld.de/factsheets/https://3dprint.com/224334/nasa-antibacterial-filament/>, aufgerufen am: 23.09.2020.
- [150] S. J. Hong, A. V. Virkar, Lattice Parameters and Densities of Rare-Earth Oxide Doped Ceria Electrolytes. *J. Am. Ceram. Soc.* **1995**, 78, 433–439.
- [151] L. Chen, P. Fleming, V. Morris, J. D. Holmes, M. A. Morris, Size-related lattice parameter changes and surface defects in ceria nanocrystals. *J. Phys. Chem. C* **2010**, 114, 12909–12919.

- [152] C. Chen, Q. Sun, D.-X. Ren, R. Zhang, F.-Y. Bai, Y.-H. Xing, Z. Shi, Bromoperoxidase mimic as catalysts for oxidative bromination—synthesis, structures and properties of the diversified oxidation state of vanadium(III, IV and V) complexes with pincer N-heterocycle ligands. *CrystEngComm* **2013**, 15, 5561.
- [153] “Filamentworld – PETG Filament – Glasklar – 1.75 mm,” zu finden unter: <https://www.filamentworld.de/shop/special-filament/petg-filament/petg-filament-1-75-mm-glasklar/>, aufgerufen am: 23.09.2020.
- [154] R. Buck, “Datenblatt PETG,” zu finden unter: https://www.filamentworld.de/factsheets/Filamentworld_PETG_Datenblatt.pdf, aufgerufen am: 11.02.2021.
- [155] F. Strohschein, “Das FDM-Verfahren und seine Vorteile & Nachteile,” zu finden unter: <https://blog.jellypipe.com/de/das-fdm-verfahren-und-seine-vorteile-und-nachteile>, aufgerufen am: 23.09.2020.
- [156] T. Nagel, “Plastico Kunststoffe orthopädische Kunststoffe,” zu finden unter: <http://www.plastico-kunststoffe.de/index.php/plasticocare-petg/>, aufgerufen am: 12.02.2021.
- [157] T. S. Sreeremya, K. M. Thulasi, A. Krishnan, S. Ghosh, A novel aqueous route to fabricate ultrasmall monodisperse lipophilic cerium oxide nanoparticles. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2012**, 51, 318–326.
- [158] “Chemikalienbeständigkeitstabelle in Anlehnung an DIN EN ISO 12720 bei 20 °C von 2K-PUR-Lack,” zu finden unter: <https://www.caparol.ch/produkte/lacke-und-lasuren/lacke-loesemittelhaltig-capalac/weiss-und-buntlacke/capalac-aqua-2k-pu-lack>, aufgerufen am: 13.10.2020.
- [159] “SDS Verdünner PUR Lack,” zu finden unter: https://www.kaddi-lack.de/wp-content/uploads/2016/07/DB/SDB/SDB_10825.pdf, aufgerufen am: 13.10.2020.
- [160] M. L. Dos Santos, R. C. Lima, C. S. Riccardi, R. L. Tranquilin, P. R. Bueno, J. A. Varela, E. Longo, Preparation and characterization of ceria nanospheres by microwave-hydrothermal method. *Mater. Lett.* **2008**, 62, 4509–4511.
- [161] H. Yang, C. Huang, A. Tang, X. Zhang, W. Yang, Microwave-assisted synthesis of ceria nanoparticles. *Mater. Res. Bull.* **2005**, 40, 1690–1695.
- [162] G. Yang, S. J. Park, Conventional and microwave hydrothermal synthesis and application of functional materials: A review. *Materials (Basel)*. **2019**, 12, .
- [163] Abteilung Arbeitssicherheit, Sicherheitsdatenblatt Cernitrat Hexahydrat. *Sicherheitsdatenblatt* **2019**, 2006, 1–11.
- [164] S. Sonderwerkstoffe, S. Carbide, “Halsic-R – Halsic-RX – Halsic-I,” zu finden unter: <https://www.morgantechnicalceramics.com/media/1846/15-halsic.pdf>, aufgerufen am: 22.02.2021.
- [165] M. E. Taga, B. L. Bassler, Chemical communication among bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, 100, 14549–14554.

- [166] A. F. Hartog, B. Stoll, K. P. Jochum, R. Wever, F. Natalio, R. Andre, W. Tremel, R. André, A. F. Hartog, B. Stoll, K. P. Jochum, R. Wever, W. Tremel, Vanadium pentoxide nanoparticles mimic vanadium haloperoxidases and thwart biofilm formation. *Nat. Nanotechnol.* **2012**, *7*, 530–535.
- [167] Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Emerging Zoonotic and Infectious Diseases (U.S.). Division of Healthcare Quality Promotion. Antibiotic Resistance Coordination and Strategy Unit ., *Antibiotic Resistance Threats in the United States*, **2019**.
- [168] C. Wiegand, S. Moritz, N. Hessler, D. Kralisch, F. Wesarg, F. A. Müller, D. Fischer, U. C. Hipler, Antimicrobial functionalization of bacterial nanocellulose by loading with polihexanide and povidone-iodine. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2015**, *26*, .
- [169] C. Wiegand, T. Heinze, U. C. Hipler, Comparative in vitro study on cytotoxicity, antimicrobial activity, and binding capacity for pathophysiological factors in chronic wounds of alginate and silver-containing alginate. *Wound Repair Regen.* **2009**, *17*, 511–521.
- [170] K. Sardar, H. Y. Playford, R. J. Darton, E. R. Barney, A. C. Hannon, D. Tompsett, J. Fisher, R. J. Kashtiban, J. Sloan, S. Ramos, G. Cibin, R. I. Walton, Nanocrystalline cerium-bismuth oxides: Synthesis, structural characterization, and redox properties. *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 6191–6201.
- [171] H. Zhao, S. Feng, W. Xu, A soft chemistry route for the synthesis of nano solid electrolytes $Ce_{1-x}Bi_xO_{2-x/2}$. *Mater. Res. Bull.* **2000**, *35*, 2379–2386.
- [172] C. M. Waters, B. L. Bassler, Quorum sensing: Cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2005**, *21*, 319–346.
- [173] K. Herget, P. Hubach, S. Pusch, P. Deglmann, H. Götz, T. E. Gorelik, I. A. Gural'skiy, F. Pfitzner, T. Link, S. Schenk, M. Panthöfer, V. Ksenofontov, U. Kolb, T. Opatz, R. André, W. Tremel, Haloperoxidase Mimicry by CeO_{2-x} Nanorods Combats Biofouling. *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1603823.
- [174] X. Cai, M. Yu, H. Shan, X. Tian, Y. Zheng, C. Xue, X. H. Zhang, Characterization of a novel N-acylhomoserine lactonase RmmL from *Ruegeria mobilis* YJ3. *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 1–11.
- [175] C. Grandclément, M. Tannières, S. Moréra, Y. Dessaux, D. Faure, Quorum quenching: Role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol. Rev.* **2015**, *40*, 86–116.
- [176] P. W. Thomas, E. M. Stone, A. L. Costello, D. L. Tierney, W. Fast, The quorum-quenching lactonase from *Bacillus thuringiensis* is a metalloprotein. *Biochemistry* **2005**, *44*, 7559–7569.
- [177] Z. Zhang, A. Mayoral, I. Melián-Cabrera, Protocol optimization for the mild detemplation of mesoporous silica nanoparticles resulting in enhanced texture and colloidal stability. *Microporous Mesoporous Mater.* **2016**, *220*, 110–119.
- [178] F. Chen, Y. Gao, X. Chen, Z. Yu, X. Li, Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 17477–17500.

- [179] K. I. L. C.-H. Köse-Mutlu Börte Ergön-Can Tülay, Quorum quenching for effective control of biofouling in membrane bioreactor: A comprehensive review of approaches, applications, and challenges. *Environ. Eng. Res.* **2019**, 24, 543–558.
- [180] D. L. Erickson, R. Endersby, A. Kirkham, K. Stuber, D. D. Vollman, H. R. Rabin, I. Mitchell, D. G. Storey, *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing systems may control virulence factor expression in the lungs of patients with cystic fibrosis. *Infect. Immun.* **2002**, 70, 1783–1790.
- [181] W. S. Tan, N. Y. Muhamad Yunos, P. W. Tan, N. I. Mohamad, T. G. S. Adrian, W. F. Yin, K. G. Chan, Freshwater-borne bacteria isolated from a malaysian rainforest waterfall exhibiting quorum sensing properties. *Sensors (Switzerland)* **2014**, 14, 10527–10537.
- [182] Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforsch. - Gesundheitsschutz* **2012**, 55, 1311–1354.
- [183] G. Nürenberg, M. Schulz, U. Kunkel, T. A. Ternes, Development and validation of a generic nontarget method based on liquid chromatography - high resolution mass spectrometry analysis for the evaluation of different wastewater treatment options. *J. Chromatogr. A* **2015**, 1426, 77–90.
- [184] J. N. Carter-Franklin, J. D. Parrish, R. A. Tschirret-Guth, R. D. Little, A. Butler, Vanadium haloperoxidase-catalyzed bromination and cyclization of terpenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 3688–3689.
- [185] G. T. M. Mashabela, F. P. Seebeck, A. Braunshausen, F. P. Seebeck, H. Song, A. S. Her, F. Raso, Z. Zhen, Y. Huo, P. Liu, N. Cl, N. Matsumoto, M. Yamada, Y. Kurakata, H. Yoshida, S. Kamitori, A. Nishikawa, T. Tonozuka, A. Butler, Novagen, A. Manuscript, I. Proximity, A. K. Boal, T. L. Grove, M. I. McLaughlin, N. H. Yennawar, S. J. Booker, A. C. Rosenzweig, K. V. Goncharenko, A. Vit, W. Blankenfeldt, F. P. Seebeck, Vanadium haloperoxidases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, 4, 279–285.
- [186] H. Lyman, “Fabrication and Operational Manual Lyman Filament Extruder,” zu finden unter: https://cdn.thingiverse.com/assets/3a/5f/c5/47/cb/LYMAN_FILAMENT_EXTRUDER_MANUAL_Revision_10.pdf, aufgerufen am: 11.02.2021.

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1.: BIOFILMBILDUNG IN AQUATISCHER UMGEBUNG. (I) ANLAGERUNG ORGANISCHER MOLEKÜLE, (II) REVERSIBLE ANLAGERUNG VON BAKTERIEN, (III) AUSBILDUNG EINER EPS, (IV) BESIEDLUNG WEITERER MIKROORGANISMEN, (V) WACHSTUM MAKROSKOPISCHER BESIEDLUNG. ^{[2][3]}	1
ABBILDUNG 2.: BEISPIELE FÜR QUORUM-SENSING MOLEKÜLE (AUTOINDUCER) ISOLIERT AUS DER ROTALGE <i>DELISEA PULCHRA</i> . ^[15]	3
ABBILDUNG 3.: BEISPIELE FÜR QUORUM-SENSING MOLEKÜLE (AUTOINDUCER) ISOLIERT AUS DER ROTALGE <i>DELISEA PULCHRA</i> . ^[15,184,185]	3
ABBILDUNG 4 KRISTALLSTRUKTUR VON CeO ₂ . DIE STRUKTUR WURDE MIT DIAMOND VER. 4.6.3 GRAPHISCH DARGESTELLT. ^[49,50]	6
ABBILDUNG 5.: KRISTALLSTRUKTUR VON CeO ₂ . DIE STRUKTUR WURDE MIT DIAMOND VER. 4.6.3 GRAPHISCH DARGESTELLT. ^[49,50]	6
ABBILDUNG 6.: ALLGEMEINES REAKTIONSSCHEMA VON HALOPEROXIDASE-ENZYMEN. ^[14]	8
ABBILDUNG 7.: VORGESCHLAGENER MECHANISMUS DER HOBR-BILDUNG DES ENZYMS VANADIUM-HALOPEROXIDASE, WELCHES AUS DEM KNOTENTANG <i>A. NODOSUM</i> ISOLIERT WURDE. ES IST NUR DIE ERSTE KOORDINATIONSSPHÄRE DARGESTELLT. ES WIRD UNTER WASSERABSPALTUNG EIN VANADIUM-PEROXO-KOMPLEX (END-ON) GEBILDET (1+2). UNTER ABSPALTUNG EINER HYDROXYLGRUPPE WIRD EIN H ₂ -PEROXOKOMPLEX GEBILDET (3). DAS PEROXID WIRD DURCH WASSERSTOFFBRÜCKEN DER ZWEITEN KOORDINATIONSPHÄRE POLARISIERT. DURCH EINEN NUCLEOPHILEN ANGRIF F EINES BROMID-ANIONS WIRD DIE SAUERSTOFF-SAUERSTOFF-BINDUNG GEBROCHEN (4). DAS GEBILDETE HYPOHALOGENIT NIMMT EIN PROTON AUS WASSER AUF, ES ENTSTEHT HYPOBROMIGE SÄURE (5). DIESES HOCHREAKTIVE INTERMEDIAT KANN N-ACYL-HOMOSERINLACTONE OXIDATIV BROMIEREN ODER ALS NEBENREAKTION MIT EINEM WEITEREN H ₂ O ₂ -MOLEKÜL ZU SINGULETT-SAUERSTOFF REAGIEREN (6+7). ^[61]	9
ABBILDUNG 8.: CEROXID-NANOSTÄBCHEN, ERHALTEN IN QUASI-HYDROTHERMALER SYNTHESE MIT HOHER NATRIUMHYDROXID-KONZENTRATION (LINKS). SPHÄRISCHE PARTIKEL, ERHALTEN AUS QUASI-HYDROTHERMALER SYNTHESE MIT NIEDRIGER NATRIUMHYDROXID-KONZENTRATION (RECHTS).	13
ABBILDUNG 9.: TEM-MIKROGRAPH VON CEROXID-NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT LIOH (LINKS). MITTELS IMAGE J BESTIMMTE LÄNGE SOWIE DAS ASPEKTVERHÄLTNIS DER NANOSTÄBCHEN (RECHTS).	15
ABBILDUNG 10.: TEM-MIKROGRAPH VON CEROXID-NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT NaOH (LINKS). MITTELS IMAGE J BESTIMMTE LÄNGE SOWIE DAS ASPEKTVERHÄLTNIS DER NANOSTÄBCHEN (RECHTS).	15
ABBILDUNG 11.: TEM-MIKROGRAPH VON CEROXID-NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT KOH (LINKS). MITTELS IMAGE J BESTIMMTE LÄNGE SOWIE DAS ASPEKTVERHÄLTNIS DER NANOSTÄBCHEN (RECHTS).	16
ABBILDUNG 12.: TEM-MIKROGRAPH VON CEROXID-NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT RbOH (LINKS). MITTELS IMAGE J BESTIMMTE LÄNGE SOWIE DAS ASPEKTVERHÄLTNIS DER NANOSTÄBCHEN (RECHTS).	16
ABBILDUNG 13.: TEM-MIKROGRAPH VON CEROXID-NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT CsOH (LINKS). MITTELS IMAGE J BESTIMMTE LÄNGE SOWIE DAS ASPEKTVERHÄLTNIS DER NANOSTÄBCHEN (RECHTS).	17
ABBILDUNG 14.: HOCHAUFLÖSENDE TEM-MIKROGRAPHEN VON NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT NaOH. MIT GELB MAKIERT SIND DIE STELLEN, VON DENEN EXEMPLARISCHEN BESTIMMUNG DER NETZEBENEN EIN LINIENPROFIL DES GRAUWERTES ANGEFERTIGT WURDE. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) DURCHGEFÜHRT.	18
ABBILDUNG 15.: HOCHAUFLÖSENDE TEM-MIKROGRAPHEN VON NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT RbOH. MIT GELB MAKIERT SIND DIE STELLEN, VON DENEN EXEMPLARISCHEN BESTIMMUNG DER NETZEBENEN EIN LINIENPROFIL DES GRAUWERTES ANGEFERTIGT WURDE. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) DURCHGEFÜHRT.	18

ABBILDUNG 16.: TEM-EDX SCAN DES MAKIERTEN BEREICHS VON CEROXID-STÄBCHEN, WELCHE MIT RBOH HERGESTELLT WURDEN. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) VORGENOMMEN.	19
ABBILDUNG 17.: ⁷ Li-MAS-NMR VON CeO ₂ -NANOSTÄBCHEN, MIT LIOH HERGESTELLT. NEUTRALGEWASCHENE STÄBCHEN (LINKS) NANOSTÄBCHEN WELCHE VOR DER MESSUNG MIT 0,1 M NaCl-LÖSUNG ÜBER NACHT GERÜHRT UND ANSCHLIEßEN 2X MIT MILLI-Q WASSER GEWASCHEN WURDEN (3000 RPM, 10 MIN) (RECHTS). DAS GEMESSENE SPEKTRUM IST IN SCHWARZ DARGESTELLT, WELCHES SICH VERMUTLICH AUS DEN BEIDEN (BRECHNETEN) TEILSIGNALEN (IN BLAU) ZUSAMMENSETZT. IN GRÜN IST DIE SUMME DER BEIDEN BERECHNETEN SIGNALE DARGESTELLT, IN ROT DIE DIFFERENZ VOM GEMESSENEN SIGNAL.	20
ABBILDUNG 18.: MICHAELIS MENTEN KINETIK VON CeO ₂ -NANOSTÄBCHEN.	22
ABBILDUNG 19.: DIE BILDUNG DER CeO ₂ -NANOPARTIKELSYNTHESE WURDE ÜBER A,B) TEM-BILDER UND B) RÖNTGENPULVERBEUGUNGSMUSTER BESTÄTIGT. DAS REFERENZMUSTER VON CEROXID IST IN ROT DARGESTELLT (JCPDS# 00-034-0394).	32
ABBILDUNG 20.: HALOPEROXIDASE-MIMETISCHE AKTIVITÄT VON CeO ₂ -NANOPARTIKELN IN EINEM PHENOLROT-BROMIERUNGS- ASSAY. (A) ZEITABHÄNGIGE UV-VIS-SPEKTRUM ZEIGEN DEN WECHSEL DER OXIDATIVEN BROMIERUNG VON PHENOLROT (PR) ZU BROMPHENOLBLAU (BR4PR). (B) ZEIGT DIE MICHAELIS-MENTEN-KINETIK FÜR DAS SUBSTRAT H ₂ O ₂ FÜR CeO ₂ .	33
ABBILDUNG 21.: KONTAKTWINKEL EINES WASSERTROPFENS AUF A) UNBEHANDELTEM, B) MIT O ₂ -PLASMA BEHANDELTEM UND C) MIT CeO ₂ BESCHICHTETEM POLYCARBONAT MIT ZUGEHÖRIGEM BILD DER 1X1 CM GROßEN POLYCARBONATPLATTE.	35
ABBILDUNG 22.: AFM-ANALYSE DER OBERFLÄCHENMORPHOLOGIE VON A) UNBEHANDELTEM POLYCARBONAT UND B+C) MIT CeO ₂ - NANOSTÄBCHEN BESCHICHTETEM POLYCARBONAT.	36
ABBILDUNG 23.: (A) DER EFFEKT VON CeO ₂ -BESCHICHTETEN PC-NANOKOMPOSITEN IM VERGLEICH ZU UNBESCHICHTETEN AUF DIE PYOCYANIN-PRODUKTION IN <i>P. AERUGINOSA</i> . (B). BAKTERIELLE BIOFILMBILDUNG AUF UNBESCHICHTETEN UND CeO ₂ - BESCHICHTETEN PC-OBERFLÄCHEN KRISTALLVIOLETT-FÄRBETEST VON <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> , GEWACHSEN IN LB- MEDIUM. DIE GEFÄRBTEN PLATTEN SIND IM UNTEREN TEIL DER PLOTS DARGESTELLT. DIE FEHLERBALKEN STELLEN DIE STANDARDABWEICHUNG VON DREI UNABHÄNGIG VONEINANDER DURCHGEFÜHRTE EXPERIMENTEN DAR.	38
ABBILDUNG 24.: QUANTIFIZIERUNG DER BIOFILMBILDUNG VON <i>P. AERUGINOSA</i> AUF UNBESCHICHTETEM PC UND CeO ₂ /PC- KOMPOSIT. DIE BAKTERIEN WURDEN FÜR 72 H UNTER LEICHTEM SCHÜTTELN (150 U/MIN) BEI 30 °C AUF UNBESCHICHTETEN UND CeO ₂ -BESCHICHTETEN PC-PLATTEN KULTIVIERT. DIE LEEREN PLATTEN DIENEN ALS POSITIVKONTROLLE. DIE PLANKTONISCHEN ZELLEN WURDEN ENTFERNT UND DIE VERBLEIBENDEN BAKTERIEN, DIE SICH AUF DEN PLATTEN BEFANDEN, WURDEN MIT SYTO 9 (A) UND PROPIDIUMIODID (B) FÜR 30 MINUTEN BEI 30 °C GEFÄRBT. SCHLIEßLICH WURDE DIE WIRKUNG DER INKORPORIERTEN CeO ₂ NPs AUF DIE BAKTERIELLE BIOFILMBILDUNG DURCH MESSUNG DER ABSORPTION BEI 485 NM FÜR SYTO9 BZW. 535 NM FÜR PROPIDIUMJODID QUANTIFIZIERT (C).	39
ABBILDUNG 25.: RASTERKRAFTMIKROSKOPISCHE (AFM) AUFNAHMEN VON UNBESCHICHTETEM (A + B) UND CeO ₂ - BESCHICHTETEM PC MIT <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> KULTUR (C).	40
ABBILDUNG 26.: WIRKUNG VON CeO ₂ -NTA-NANOPARTIKELN AUF DIE ZELLVIABILITÄT VON HeLa- UND RAW 264.7-ZELLEN NACH 2 H UND 24 H BEI UNTERSCHIEDLICHEN KONZENTRATIONEN.	41
ABBILDUNG 27.: MIKROSKOPISCHE AUFNAHME VON HeLa- (A) UND RAW-ZELLEN (B) AUF DER OBERFLÄCHE EINER CeO ₂ - BESCHICHTETEN POLYCARBONAT-OBERFLÄCHE.	48
ABBILDUNG 28.: WÄSSRIGE SUSPENSION VON CeO ₂ -NTA-NANOSTÄBCHEN.	48
ABBILDUNG 29.: RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE (REM) AUFNAHME (A) UND ENERGIEDISPERSIVES RÖNTGENSPEKTRUM (EDX) (B) DER CeO ₂ -BESCHICHTETEN OBERFLÄCHE VON POLYCARBONAT.	48

ABBILDUNG 30.: AFM-ANALYSE DER NICHT BESCHICHTETEN POLYCARBONATPLATTE.	49
ABBILDUNG 31.: AFM-ANALYSE DER CeO ₂ -BESCHICHTETEN POLYCARBONATPLATTE.	49
ABBILDUNG 32.: AFM-NANOPARTIKELGRÖßENANALYSE DER CeO ₂ -BESCHICHTETEN POLYCARBONATPLATTE.	50
ABBILDUNG 33.: AFM-ANALYSE DER CeO ₂ -BESCHICHTETEN POLYCARBONATPLATTE MIT <i>P. AERUGINOSA</i> -BAKTERIENFILM.	51
ABBILDUNG 34.: AFM-ANALYSE DER UNBESCHICHTETEN POLYCARBONATPLATTE MIT <i>P. AERUGINOSA</i> -BAKTERIENFILM.	51
ABBILDUNG 35.: TEM-BILD VON CeO ₂ -X-NANOPARTIKELN, HERGESTELLT ÜBER ETHYLENGLYKOLROUTE (LINKS). HISTOGRAMM ZUR DARSTELLUNG DER GRÖßENVERTEILUNG DER NANOPARTIKEL. ES WURDEN 100 PARTIKEL VERMESSEN. DIE PARTIKELGRÖßE BETRÄGT HAUPTSÄCHLICH 3-6 NM.	55
ABBILDUNG 36.: SUBSTRATKINETIK VON WASSERSTOFFPEROXID BEZOGEN AUF DIE OXIDATIVE BROMIERUNG VON PHENOLROT (c(PHENOLROT) = 50 mM, c(KBR) = 25 mM, B(CeO ₂ -PARTIKEL AUS ETHYLENGLYKOLSYNTHESE) = 29.6 MG ML ⁻¹).	56
ABBILDUNG 37.: HERGESTELLTE FOLIEN (DURCHMESSER 60 MM) MIT 2 GEW. % CEROXID-NANOPARTIKELGEHALT. DURCH DIE LANGE TROCKNUNGSDAUER BEDINGT, BEFINDEN SICH MEHR NANOPARTIKEL AN DER UNTERSEITE (-) DER FOLIEN UND VERURSACHEN EINEN GELBLICHEN FARBEINDRUCK.	59
ABBILDUNG 38.: BROMIERUNG VON PHENOLROT ALS QUALITATIVER SCHNELLTEST MIT CEROXIDHALTIGEN PETG UND PLA-FOLIEN (LINKS) UND MIT CEROXIDFREIEN REFERENZFOLIEN (RECHTS). DIE REAKTIONSDAUER BETRUG 7 TAGE.	59
ABBILDUNG 39.: MIT PSEUDOMONAS AERUGINOSA INKUBIERTE POLYSTYROL-FÄDEN. DER BIOFILM WURDE MIT KRISTALLVIOLETT ANGEFÄRBT UND ZUR QUANTIFIZIERUNG MIT ESSIGSÄURE ELUIERT. DIE GRÖßE DER FÄDEN BETRÄGT JEWEILS CA. 2 CM LÄNGE UND 0,5 CM BREITE.	60
ABBILDUNG 40.: SELBST HERGESTELLTES PETG-FILAMENT MIT 2 GEW. % CEROXID-NANOPARTIKEL-ZUSATZ (LINKS). FILAMENT-EXTRUDER, GEFERTIGT VON DER CHEMIE-WERKSTATT DER UNI MAINZ UNTER ANLEITUNG VON DR. TOBIAS JOHANN (AK FREY, JGU MAINZ), NACH DEM VORBILD DES LYMAN-EXTRUDERS. (RECHTS). ^[186]	63
ABBILDUNG 41.: DER VERWENDETE SCHMELZSCHICHTUNGS-DRUCKER (LINKS), KLEINE PROBENKÖRPER FÜR UNTERSUCHUNGEN DER KATALYTISCHEN AKTIVITÄT UND IN ANTIBAKTERIELLEN TESTS (MITTE) SOWIE DRUCKABBRUCH BEI GRÖßEREN FORMKÖRPERN AUFGRUND DES SCHWANKENDEN FILAMENTDURCHMESSERS (RECHTS).	64
ABBILDUNG 42.: 10X-MIKROSKOPIE-AUFNAHME VON IM SCHMELZSCHICHTUNGS-VERFAHREN 3D GEDRUCKTEN PETG (FILAMENTWORLD, GLASKLAR) MIT 2% CEROXID-NANOPARTIKEL-ANTEIL. OHNE WEITERE VERARBEITUNG IST DIE PROBE BEDINGT DURCH DAS VERFAHREN SEHR RAU (+30µM). ES SIND VIELE LUFT-EINSCHLÜSSE UND UNEBENHEITEN ZU ERKENNEN. (LINKS OBEN). VERTIKALES LINIENPROFIL DES UNGEGLÄTTETEN PETG MIT 2% CEROXID-NANOPARTIKEL-ANTEIL. DURCH DAS FERTIGUNGSVERFAHREN BEDINGT SIND VIELE UNEBENHEITEN ZU ERKENNEN (LINKS UNTEN). 10X-MIKROSKOPIE-AUFNAHME VON IM SCHMELZSCHICHTUNGS-VERFAHREN 3D GEDRUCKTEN PETG (GLASKLAR) MIT 2% CEROXID-NANOPARTIKEL-ANTEIL. ZU ERKENNEN SIND AGGLOMERATE VON CEROXID. DIE PROBE WURDE 5 MIN MIT ETHYLACETAT-DAMPF GEGLÄTTET (RECHTS OBEN). VERTIKALES LINIENPROFIL DES GEGLÄTTETEN PETG MIT 2% CEROXID-NANOPARTIKEL-ANTEIL. DURCH DAS FERTIGUNGSVERFAHREN BEDINGT SIND IM ABSTAND DER DRUCKKOPFBREITE (400 µM) ERHÖHUNGEN VON CA. 30 µM ZU ERKENNEN (RECHTS UNTEN). DIE ROTEN SKALENLEISTE ZEIGEN 100 µM AN, DIE GELBEN SKALENLEISTEN 5µM.	65
ABBILDUNG 43.: PETG-PLÄTTCHEN WÄHREND DES PHENOLROTTTESTS VOR UND NACH 14 TAGEN REAKTIONSZEIT (LINKS) GETROCKNETE, CEROXIDHALTIGE PETG-PLÄTTCHEN NACH ZWEI WOCHEN REAKTIONSZEIT. ES WURDEN UNGEGLÄTTETE (OBEN) UND GEGLÄTTETE PLÄTTCHEN (UNTEN) GETESTET. AUF BEIDEN PROBENARTEN IST GUT DIE BLAUFÄRBUNG DURCH BROMPHENOLBLAU ZU ERKENNEN (RECHTS).	66

ABBILDUNG 44.: SEMIQUANTITATIVE BESTIMMUNG DES BIOFILMWACHSTUMS. DIE BIOMASSE VON PSEUDOMONAS AERUGINOSA WURDE MIT KRISTALLVIOLETT ANGEFÄRBT, ANSCHLIEßEND ZUR QUANTIFIZIERUNG MIT ESSIGSÄURE GELÖST UND DIE ABSORBANZ BEI 575 NM IM PLATE READER GEMESSEN.	67
ABBILDUNG 42.: DARSTELLUNG DES TEMPERATURVERLAUF UND DER LEISTUNGS-AUFNAHME WÄHREND DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTEN SOLVOTHERMALSYNTHESE. DIE REAKTION WURDE MIT (LINKS) UND OHNE (RECHTS) SiC-HEIZSTAB MIT SONST GLEICHEN REAKTIONS-BEDINGUNGEN DURCHGEFÜHRT. DIE ZIELTEMPERATUR BETRÄGT IN BEIDEN FÄLLEN 175°C, DIE REAKTIONS-DAUER 17 MIN.	74
ABBILDUNG 45. DARSTELLUNG DES TEMPERATURVERLAUF UND DER LEISTUNGS-AUFNAHME WÄHREND DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTEN SOLVOTHERMALSYNTHESE. DIE REAKTION WURDE MIT (LINKS) UND OHNE (RECHTS) SiC-HEIZSTAB MIT SONST GLEICHEN REAKTIONS-BEDINGUNGEN DURCHGEFÜHRT. DIE ZIELTEMPERATUR BETRÄGT IN BEIDEN FÄLLEN 175°C, DIE REAKTIONS-DAUER 17 MIN.	74
ABBILDUNG 43.: TEM-MIKROGRAPHEN DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTEN SOLVOTHERMALSYNTHESE VON CEROXID-PARTIKELN MIT (LINKS) UND OHNE (RECHTS) HALSIC-R HEIZSTÄBCHEN.	76
ABBILDUNG 46.: TEM-MIKROGRAPHEN DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTEN SOLVOTHERMALSYNTHESE VON CEROXID-PARTIKELN MIT (LINKS) UND OHNE (RECHTS) HALSIC-R HEIZSTÄBCHEN.	76
ABBILDUNG 49.: SEM-AUFNAHMEN DER CeO ₂ -MIKROPARTIKEL. DIE PARTIKEL SIND MEHRERE MIKROMETER GROß, ZEIGEN JEDOCH EINE NANOSTRUKTURIERUNG DER OBERFLÄCHE (RECHTS).	77
ABBILDUNG 47.: SEM-AUFNAHMEN DER CeO ₂ -MIKROPARTIKEL. DIE PARTIKEL SIND MEHRERE MIKROMETER GROß, ZEIGEN JEDOCH EINE NANOSTRUKTURIERUNG DER OBERFLÄCHE (RECHTS).	77
ABBILDUNG 48.: MICHAELIS MENTEN KINETIK DER CeO ₂ -MIKROPARTIKEL (BLAU) UND DER CeO ₂ -NANOPARTIKEL (ROT), HERGESTELLT IN DER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTER SOLVOTHERMALSYNTHESE.	79
ABBILDUNG 52.: IN HOCHGLÄNZENDEN, FARBLOSEN PUR-LACK EINGEBETTETE CEROXIDNANOPARTIKEL. ES WURDEN JEWEILS 0,5 GEWICHTSPROZENT CEROXID-NANOPARTIKEL IN LACK EINGERÜHRT. DAS CERDIOXID WURDE ALS GEFRIERGETROCKNETER FESTSTOFF ZUGEgeben (LINKS) UND ALS SUSPENSION IN BUTYLACETAT (RECHTS). DER FARBLOSE LACK WURDE AUF SCHWARZE PRÜFKÖRPER AUFGETRAGEN.	81
ABBILDUNG 49.: IN HOCHGLÄNZENDEN, FARBLOSEN PUR-LACK EINGEBETTETE CEROXIDNANOPARTIKEL. ES WURDEN JEWEILS 0,5 GEWICHTSPROZENT CEROXID-NANOPARTIKEL IN LACK EINGERÜHRT. DAS CERDIOXID WURDE ALS GEFRIERGETROCKNETER FESTSTOFF ZUGEgeben (LINKS) UND ALS SUSPENSION IN BUTYLACETAT (RECHTS). DER FARBLOSE LACK WURDE AUF SCHWARZE PRÜFKÖRPER AUFGETRAGEN.	81
ABBILDUNG 50.: PRÜFPLÄTTCHEN MIT FARBLOSEM, MATTEM PUR-LACK OHNE CeO ₂ UND MIT 15,9 GEWICHTSPROZENT EINGEBETTETEN CeO ₂ -PARTIKELN (RECHTS). ES IST EIN DEUTLICHER FARBUNTERSCHIED ERKENNBAR. DER LACK WURDE AUF WEIßE PRÜFKÖRPER AUFGETRAGEN.	82
ABBILDUNG 55.: UVD-SEM-BILD (LINKS) DER FERTIGEN PROBE „PUR-LACK CeO ₂ (15,9 %) MIT TEFLON-ADDITIV“. ES SIND AGGLOMERATE VON CeO ₂ , ABER AUCH KLEINE, FEIN VERTEILTE PARTIKEL ZU ERKENNEN. BSE-COMP-SEM-BILD (RECHTS) DERSELBEN STELLE. DIE GRÖßE EINIGER AGGLOMERATE WURDE BESTIMMT. DIE MESSUNGEN WURDE FREUNDLICHERWEISE VON R. SCHLUTTER (KIMW) DURCHGEFÜHRT UND ZUR VERFÜGUNG GESTELLT.	83
ABBILDUNG 51.: UVD-SEM-BILD (LINKS) DER FERTIGEN PROBE „PUR-LACK CeO ₂ (15,9 %) MIT TEFLON-ADDITIV“. ES SIND AGGLOMERATE VON CeO ₂ , ABER AUCH KLEINE, FEIN VERTEILTE PARTIKEL ZU ERKENNEN. BSE-COMP-SEM-BILD (RECHTS)	

DERSELBEN STELLE. DIE GRÖÖE EINIGER AGGLOMERATE WURDE BESTIMMT. DIE MESSUNGEN WURDE FREUNDLICHERWEISE VON R. SCHLUTTER (KIMW) DURCHGEFÜHRT UND ZUR VERFÜGUNG GESTELLT.	83
ABBILDUNG 57.: SEM-BILD DER PROBE „PUR-LACK CeO ₂ (1,8 %) MIT TEFLON-ADDITIV“. DIE POSITIONEN DER EDX-ANALYSEN SIND MIT ROTEN KREISEN MAKIERT. ES SIND AGGLOMERATE VON CeO ₂ ZU ERKENNEN. DIE MESSUNG WURDE FREUNDLICHERWEISE VON R. SCHLUTTER (KIMW) DURCHGEFÜHRT UND ZUR VERFÜGUNG GESTELLT.	84
ABBILDUNG 53.: SEM-BILD DER FERTIGEN PROBE „PUR-LACK CeO ₂ (15,9 %) MIT TEFLON-ADDITIV“. DIE POSITIONEN DER EDX-ANALYSEN SIND MIT ROTEN KREISEN MAKIERT. ES SIND AGGLOMERATE VON CeO ₂ ZU ERKENNEN. DIE MESSUNG WURDE FREUNDLICHERWEISE VON R. SCHLUTTER (KIMW) DURCHGEFÜHRT UND ZUR VERFÜGUNG GESTELLT.	85
ABBILDUNG 54.: REDUKTION DES MIKROBIELLEN WACHSTUMS VON <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , GETESTET IN ANLEHNUNG AN ISO 22196 FÜR VERSCHIEDENE PUR-LACKPROBEN. ES WURDE JEWEILS EINE REFERENZ OHNE CeO ₂ -ZUSATZ GEMESSEN, UM EINE ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG DES LACKS AUSZUSCHLIEÖEN. DIE BEWERTUNG DER ANTIMIKROBIELLEN AKTIVITÄT ERFOLGTE IN ANLEHNUNG AN JIS L 1902:2008.	87
ABBILDUNG 55.: REDUKTION DES MIKROBIELLEN WACHSTUMS VON <i>ESCHERICHIA COLI</i> , GETESTET IN ANLEHNUNG AN ISO 22196 FÜR VERSCHIEDENE PUR-LACKPROBEN. ES WURDE JEWEILS EINE REFERENZ OHNE CeO ₂ -ZUSATZ GEMESSEN, UM EINE ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG DES LACKS AUSZUSCHLIEÖEN. DIE BEWERTUNG DER ANTIMIKROBIELLEN AKTIVITÄT ERFOLGTE IN ANLEHNUNG AN JIS L 1902:2008.	88
ABBILDUNG 56.: REDUKTION DES MIKROBIELLEN WACHSTUMS VON <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> , GETESTET IN ANLEHNUNG AN ISO 22196 FÜR VERSCHIEDENE PUR-LACKPROBEN. ES WURDE JEWEILS EINE REFERENZ OHNE CeO ₂ -ZUSATZ GEMESSEN, UM EINE ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG DES LACKS AUSZUSCHLIEÖEN. DIE BEWERTUNG DER ANTIMIKROBIELLEN AKTIVITÄT ERFOLGTE IN ANLEHNUNG AN JIS L 1902:2008.	89
ABBILDUNG 57.: TEM-MESSUNGEN VON Ce _{0,8} Bi _{0,2} O ₂ -NANOPARTIKELN, HERGESTELLT ÜBER DIE ETHYLENGLYKOLROUTE.	96
ABBILDUNG 63.: MICHAELIS MENTEN KINETIK DER Ce _{0,2} Bi _{0,8} O ₂ -NANOPARTIKEL, ERHALTEN AUS DER ETHYLENGLYKOLSYNTHESE.	97
ABBILDUNG 64.: BEISPIELE FÜR DEGRADIERUNG VON N-ACYL-HOMOSERINLACTON DURCH VERSCHIEDENE ENZYME. ^[177–179]	99
ABBILDUNG 60.: REAKTIONSSCHEMA: OXIDATIVE BROMIERUNG VON 3-OXO-C ₁₄ -HSL MIT ANSCHLIEÖENDER HYDROLYSE. ^[68]	99
ABBILDUNG 66.: AUSSCHNITT AUS ESI-MASSENSPEKTRUM (50-750 G/MOL) VON MIT Ce _{0,8} Bi _{0,2} O ₂ -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-OXO-C ₁₄ -HSL. ES KONNTE DIE DIBROMIERTE SPEZIES C ₆ H ₆ O ₃ NBR ₂ (4) NACHGEWIESEN WERDEN.	100
ABBILDUNG 62.: AUSSCHNITT AUS ESI-MASSENSPEKTRUM (50-750 G/MOL) VON MIT Ce _{0,8} Bi _{0,2} O ₂ -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-OXO-C ₁₄ -HSL. ES KONNTE DIE DIBROMIERTE SPEZIES C ₆ H ₈ O ₄ NBR ₂ (5) NACHGEWIESEN WERDEN.	101
ABBILDUNG 68.: ZEITLICHE AUFTRAGUNG DER PER MASSENSPEKTROMETRIE GEMESSENEN MESSINTENSITÄTEN VON 3-OXO-C ₁₄ HOMOSERINLACTON SOWIE DEN ZWISCHENPRODUKTEN (4) UND (5) DURCH Ce _{0,8} Bi _{0,2} O ₂ (GRAU) UND CeO ₂ (GELB) ZUR REAKTIONSKONTROLLE.	102
ABBILDUNG 70.: PULVERDIFFRAKTOGRAMM VON Ce _{0,8} Bi _{0,2} O _{2-x} -NANOPARTIKELN, HERGESTELLT PER ETHYLENGLYKOL-SYNTHESE. ES KONNTEN ALLE REFLEXE DER PHASE CERIANIT (JCPDS-NUMMER 00-034-0394) ZUGEORDNET WERDEN.	128
ABBILDUNG 64.: PULVERDIFFRAKTOGRAMM VON CeO ₂ -x-NANOPARTIKELN, HERGESTELLT PER ETHYLENGLYKOL-SYNTHESE. ES KONNTEN ALLE REFLEXE DER PHASE CERIANIT (JCPDS-NUMMER 00-034-0394) ZUGEORDNET WERDEN.	128
ABBILDUNG 71.: PULVERDIFFRAKTOGRAMM VON CeO ₂ -x-NANOPARTIKELN, (QUASI-)HYDROTHERMAL UNTER ARGON-SCHUTZATMOSPHÄRE MIT VERSCHIEDENEN ALKALIMETALLHYDROXIDEN HERGESTELLT. ES KONNTEN ALLE REFLEXE DER PHASE CERIANIT (JCPDS-NUMMER 00-034-0394) ZUGEORDNET WERDEN.	129

ABBILDUNG 72.: PULVERDIFFRAKTOGRAMM VON $\text{CeO}_2\text{-x}$ -NANOPARTIKELN, HERGESTELLT PER MIKROWELLENUNTERSTÜTZER SOLVOTHERMALSYNTHESE MIT (ROT) UND OHNE SiC-HEIZSTAB (BLAU). ES KONNTEN JEWEILS ALLE REFLEXE DER PHASE CERIANIT (JCPDS-NUMMER 00-034-0394) ZUGEORDNET WERDEN.	129
ABBILDUNG 73.: THERMOGRAVIMETRISCHE ANALYSE VON $\text{CeO}_2\text{-x}$ -NANOPARTIKELN, HERGESTELLT MIT ETHYLENGLYKOL.	130
ABBILDUNG 74.: THERMOGRAVIMETRISCHE ANALYSE VON $\text{CeO}_2\text{-x}$ -NANOPARTIKELN, HERGESTELLT PER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTER SOLVOTHERMALSYNTHESE.	130
ABBILDUNG 70.: ESI-MASSENSPEKTRUM (50-750 G/MOL) VON MIT CeBiO_2O_2 -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-Oxo-C14-HSL. ES KONNTE DIE DIBROMIERTE SPEZIES $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3\text{NBr}_2$ (4) NACHGEWIESEN WERDEN.	131
ABBILDUNG 71.: CHROMATOGRAMME VON MIT CeBiO_2O_2 -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-Oxo-C14-HSL. GEZEIGT IST DER GESAMTE IONENFLUSS (TOTAL ION CURRENT TIC) SOWIE DAS REKONSTRUIERTE IONEN CHROMATOGRAMM (EXTRACTED-ION CHROMATOGRAM XIC).	131
ABBILDUNG 72.: ESI-MASSENSPEKTRUM (50-750 G/MOL) VON MIT CeBiO_2O_2 -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-Oxo-C14-HSL. ES KONNTE DIE DIBROMIERTE SPEZIES $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4\text{NBr}_2$ (5) NACHGEWIESEN WERDEN.	132
ABBILDUNG 73.: CHROMATOGRAMME VON MIT CeBiO_2O_2 -NANOPARTIKELN ZERSETZTEN 3-Oxo-C14-HSL. GEZEIGT IST DER GESAMTE IONENFLUSS (TOTAL ION CURRENT TIC) SOWIE DAS REKONSTRUIERTE IONEN CHROMATOGRAMM (EXTRACTED-ION CHROMATOGRAM XIC).	132
ABBILDUNG 74.: TEM-MIKROGRAPHEN DER SOLVOTHERMALSYNTHESE VON CEROXID-PARTIKELN IN BUTYLACETAT. DIE REAKTIONSZEIT BETRUG JEWEILS 12 STUNDEN BEI 200°C (LINKS). SYNTHESE VON CEROXID-NANOPARTIKELN IN BUTYLACETAT VIA KOLBENSYNTHESE (RECHTS).	133
ABBILDUNG 80.: HOCHAUFLÖSENDE TEM-MIKROGRAPHEN VON NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT LiOH. MIT GELB MAKIERT SIND DIE STELLEN, VON DENEN EXEMPLARISCHEN BESTIMMUNG DER NETZEBENEN EIN LINIENPROFIL DES GRAUWERTES ANGEFERTIGT WURDE. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) DURCHGEFÜHRT.	133
ABBILDUNG 81.: HOCHAUFLÖSENDE TEM-MIKROGRAPHEN VON NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT KOH. MIT GELB MAKIERT SIND DIE STELLEN, VON DENEN EXEMPLARISCHEN BESTIMMUNG DER NETZEBENEN EIN LINIENPROFIL DES GRAUWERTES ANGEFERTIGT WURDE. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) DURCHGEFÜHRT.	134
ABBILDUNG 82.: HOCHAUFLÖSENDE TEM-MIKROGRAPHEN VON NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT C ₂ H ₅ OH. MIT GELB MAKIERT SIND DIE STELLEN, VON DENEN EXEMPLARISCHEN BESTIMMUNG DER NETZEBENEN EIN LINIENPROFIL DES GRAUWERTES ANGEFERTIGT WURDE. DIE MESSUNGEN WURDEN FREUNDLICHERWEISE VON MARTIN LANGE (UNI MAINZ) DURCHGEFÜHRT.	134
ABBILDUNG 83.: ^7Li -MAS-ÜBERSICHTS-NMR VON CeO_2 -NANOSTÄBCHEN HERGESTELLT MIT LiOH.	135

ABBILDUNG 84.: ^{23}Na -MAS-ÜBERSICHTS-NMR VON MIT CeO_2 -NANOSTÄBCHEN HERGESTELLT MIT LiOH . DIE NANOSTÄBCHEN WURDEN VOR DER MESSUNG MIT 0,1 M NaCl -LÖSUNG ÜBER NACHT GERÜHRT UND ANSCHLIEßEN 2X MIT MILLI-Q WASSER GEWASCHEN (3000 RPM, 10 MIN).	135
ABBILDUNG 80.: ^7Li -MAS-ÜBERSICHTS-NMR VON CeO_2 -NANOSTÄBCHEN HERGESTELLT MIT LiOH . DIE NANOSTÄBCHEN WURDEN VOR DER MESSUNG MIT 0,1 M NaCl -LÖSUNG ÜBER NACHT GERÜHRT UND ANSCHLIEßEN 2X MIT MILLI-Q WASSER GEWASCHEN (3000 RPM, 10 MIN).	136
ABBILDUNG 86.: ^{23}Na -MAS-ÜBERSICHTS-NMR VON CeO_2 -NANOSTÄBCHEN HERGESTELLT MIT NaOH .	137
ABBILDUNG 82.: ^7Li -MAS-ÜBERSICHTS-NMR VON MIT CeO_2 -NANOSTÄBCHEN HERGESTELLT MIT NaOH . DIE NANOSTÄBCHEN WURDEN VOR DER MESSUNG MIT 0,1 M LiBr -LÖSUNG ÜBER NACHT GERÜHRT UND ANSCHLIEßEN 2X MIT MILLI-Q WASSER GEWASCHEN (3000 RPM, 10 MIN).	137

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1.: PAWLEY-ANPASSUNGEN DER CeO_{2-x} -NANSTÄBCHEN, AUS DEN RÖNTGENBEUGUNGSDATEN BESTIMMT.	22
TABELLE 2.: KINETISCHE DATEN FÜR CeO_{2-x} -NANOSTÄBCHEN, HERGESTELLT MIT VERSCHIEDENEN ALKALIHYDROXIDEN.....	24
TABELLE 3.: EINGESETZTE MOLARE ÄQUIVALENTE ZUR HERSTELLUNG VON CeO_2 -NANOSTÄBCHEN BEI NORMALDRUCK.	26
TABELLE 4.: PAWLEY-ANPASSUNGEN DER CeO_{2-x} -PARTIKEL AUS DER ETHYLENGLYKOL-SYNTHESE, AUS DEN RÖNTGENBEUGUNGSDATEN BESTIMMT.	55
TABELLE 5.: KINETIK-DATEN DER MICHALIS-MENTEN-KINETIK VON CeO_{2-x} -NANOPARTIKELN AUS DER ETHYLENGLYKOLSYNTHESE SOWIE DIE SPEZIFISCHE OBERFLÄCHE DER PARTIKEL UND DIE REAKTIONSRATE (ROR).	57
TABELLE 6.: LISTE MIT HERGESTELLTEN FOLIEN, AUSGESTATTET MIT CeO_{2-x} -NANOPARTIKELN:	59
TABELLE 7.: ERGEBNISSE DER ANGEFÄRBTEN BIOFILMMASSA VON POLYMERFOLIEN MIT 2 % CeO_2 -NANOPARTIKELANTEIL IM VERGLEICH ZUR JEWEILIGEN CEROXIDFREIEN REFERENZFOLIE.....	60
TABELLE 8.: KONTAKTWINKELMESSUNG VON POLYMERFOLIEN AUFGETRAGEN AUF EINEM OBJEKTRÄGER.....	61
TABELLE 9.: MIT GRÖßENAUSSCHLUSS-CHROMATOGRAPHIE BESTIMMTE MOLMASSEN DER VERWENDETEN FILAMENTE. ES WURDE DMF ALS LÖSEMittel UND EIN RI DETECTOR VERWENDET.	62
TABELLE 10.: EINGESETZTE MOLARE ÄQUIVALENTE ZUR HERSTELLUNG VON CeO_2 -NANOPARTIKEL IN ETHYLENGLYKOL	68
TABELLE 11.: PAWLEY-ANPASSUNGEN AUS RÖNTGENPULVERDIFFRAKTION GEWONNENEN DATEN VON CeO_{2-x} -PARTIKELN, WELCHE PER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTER SOLVOTHERMALSYNTHESE HERGESTELLT WURDEN.	78
TABELLE 12.: KINETISCHE PARAMETER DER MENTEN KINETIK VON CeO_{2-x} -PARTIKELN HERGESTELLT PER MIKROWELLENUNTERSTÜTZTER SOLVOTHERMALSYNTHESE.....	79
TABELLE 13.: EDX-MESSPUNKTE DER PROBE „PUR-LACK CeO_2 (1,8 %) MIT TEFLON-ADDITIV“	85
TABELLE 14.: EDX-MESSPUNKTE DER PROBE „PUR-LACK CeO_2 (15,9 %) MIT TEFLON-ADDITIV“	86
TABELLE 15 BEWERTUNG DER ANTIMIKROBIELLEN AKTIVITÄT MITHILFE DER DIFFERENZ AUS DER LOGARITHMISCH DARGESTELLTEN ANZAHL KOLONIEBILDENDEN EINHEITEN DER REFERENZ UND DER PROBE NACH 24 STUNDEN.....	94
TABELLE 16.: PAWLEY-ANPASSUNGEN VON AUS RÖNTGENPULVERDIFFRAKTION GEWONNENEN DATEN VON $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_{2-x}$ -PARTIKELN, WELCHE PER ETHYLENGLYKOL-SYNTHESE HERGESTELLT WURDEN.	95
TABELLE 17: KATALYTISCHE EIGENSCHAFTEN SOWIE SPEZIFISCHE OBERFLÄCHE DER $\text{Ce}_{0,8}\text{Bi}_{0,2}\text{O}_2$ -NANOPARTIKEL AUS DER ETHYLENGLYKOLSYNTHESE	97
TABELLE 18.: EINGESETZTE MOLARE ÄQUIVALENTE ZUR HERSTELLUNG VON CeO_2 -NANOPARTIKEL IN ETHYLENGLYKOL.	103

Anhang

Pulverdiffraktogramme

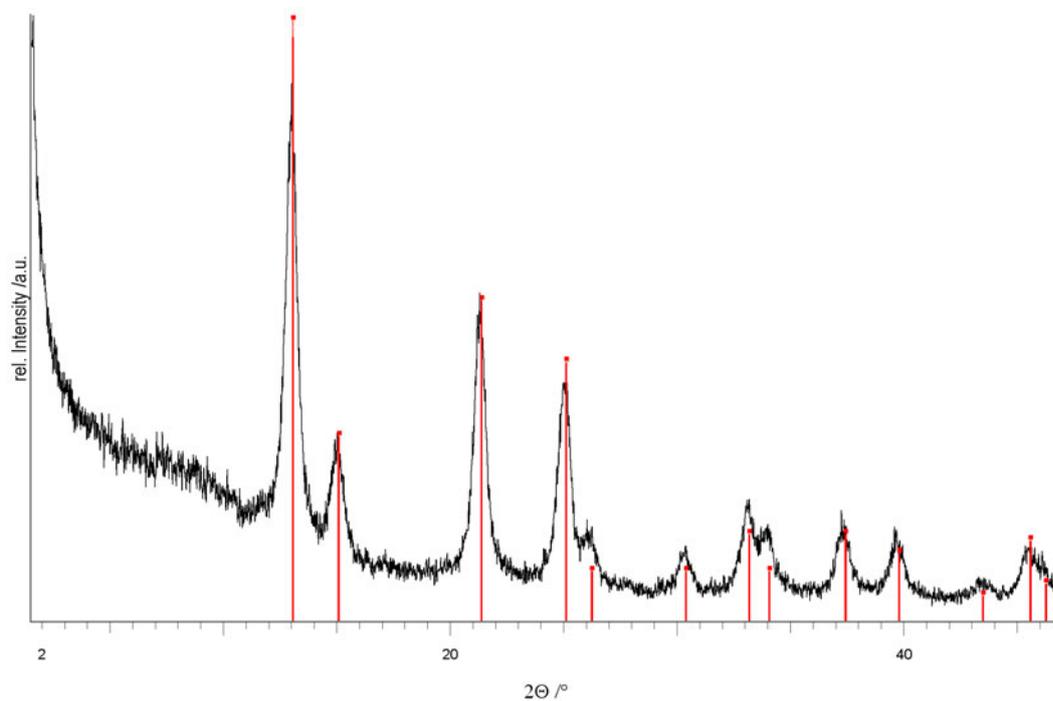
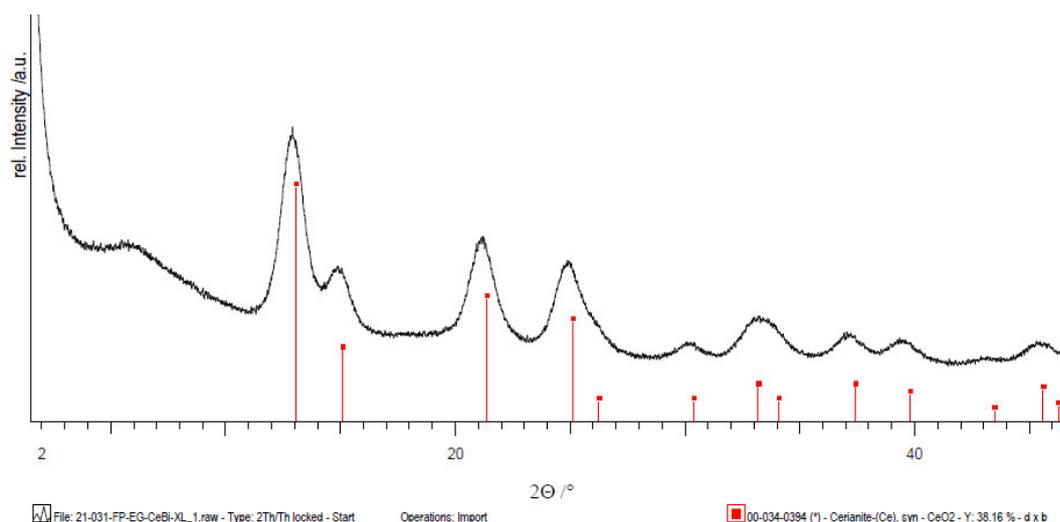


Abbildung 70.: Pulverdiffraktogramm von Ce_{0,8}Bi_{0,2}O_{2-x}-Nanopartikeln, hergestellt per Ethylglykol-Synthese. Es konnten alle Reflexe der Phase Cerianit (JCPDS-Nummer 00-034-0394) zugeordnet werden.



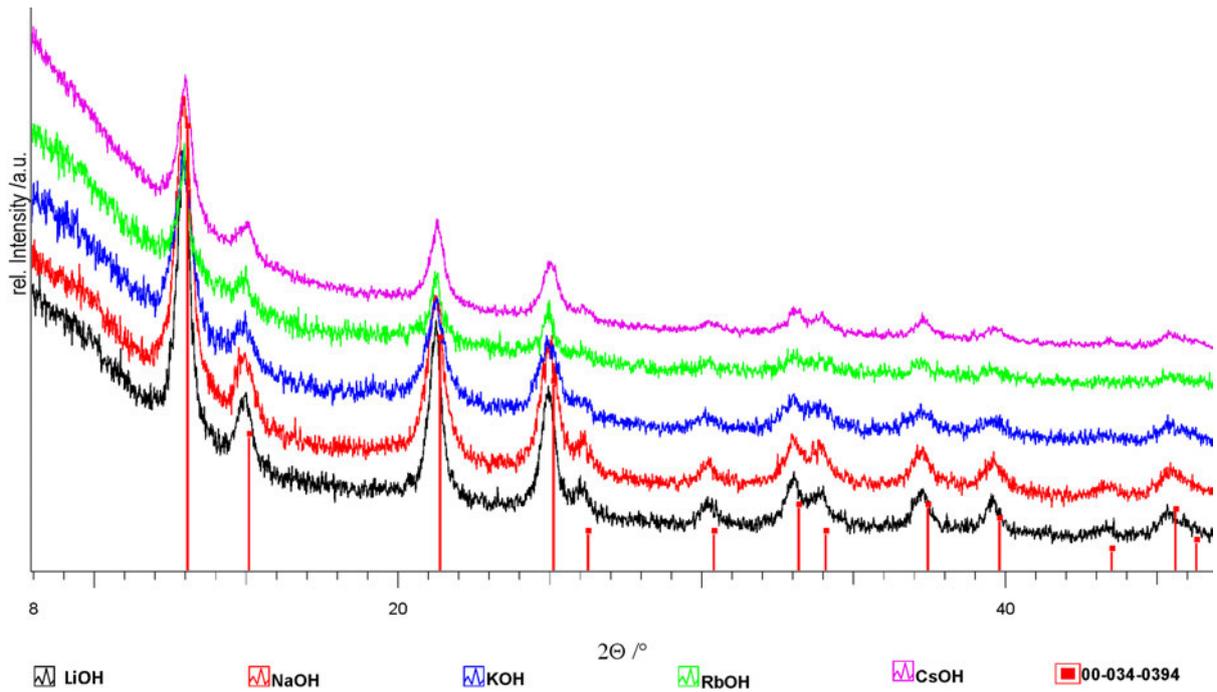


Abbildung 71.: Pulverdiffraktogramm von CeO_{2-x}-Nanopartikeln, (quasi-)hydrothermal unter Argon-Schutzatmosphäre mit verschiedenen Alkalimetallhydroxiden hergestellt. Es konnten alle Reflexe der Phase Cerianit (JCPDS-Nummer 00-034-0394) zugeordnet werden.

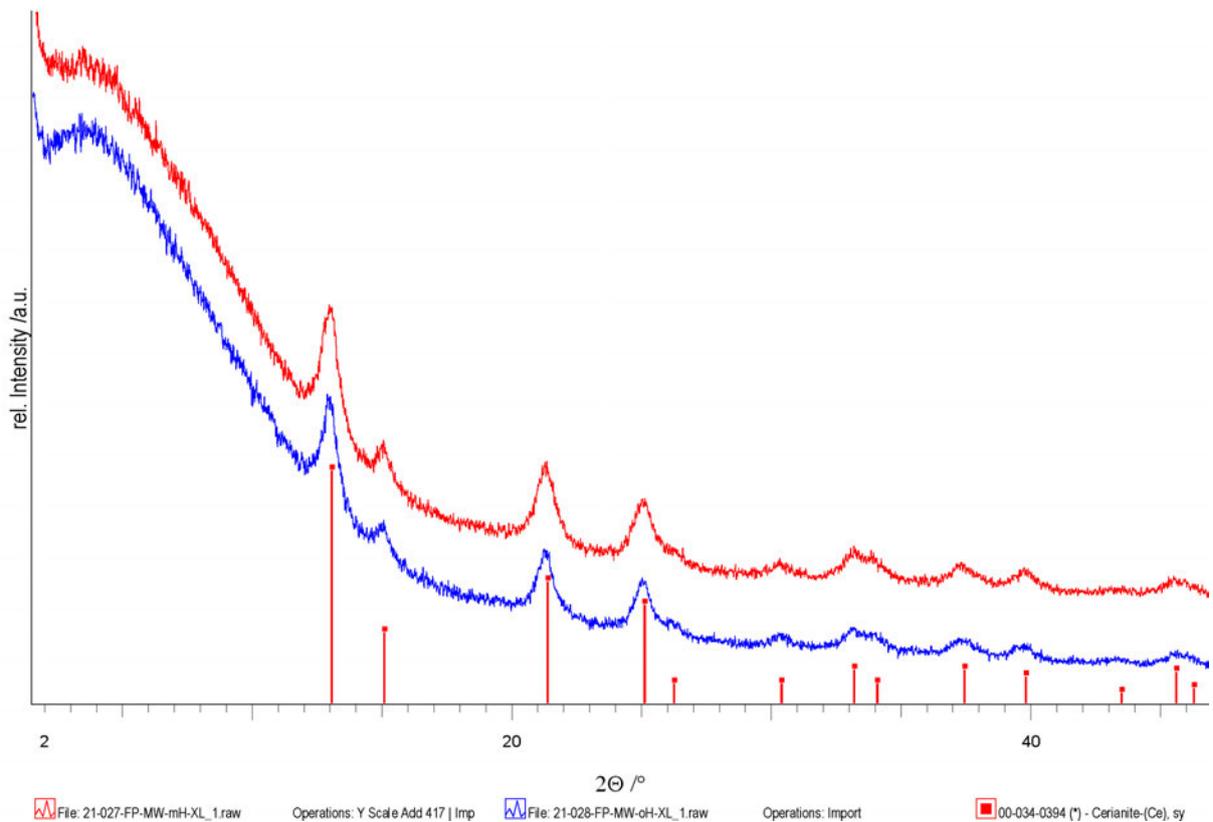


Abbildung 72.: Pulverdiffraktogramm von CeO_{2-x}-Nanopartikeln, hergestellt per mikrowellenunterstützter Solvothermalsynthese mit (rot) und ohne SiC-Heizstab (blau). Es konnten jeweils alle Reflexe der Phase Cerianit (JCPDS-Nummer 00-034-0394) zugeordnet werden.

Thermogravimetrische Analysen

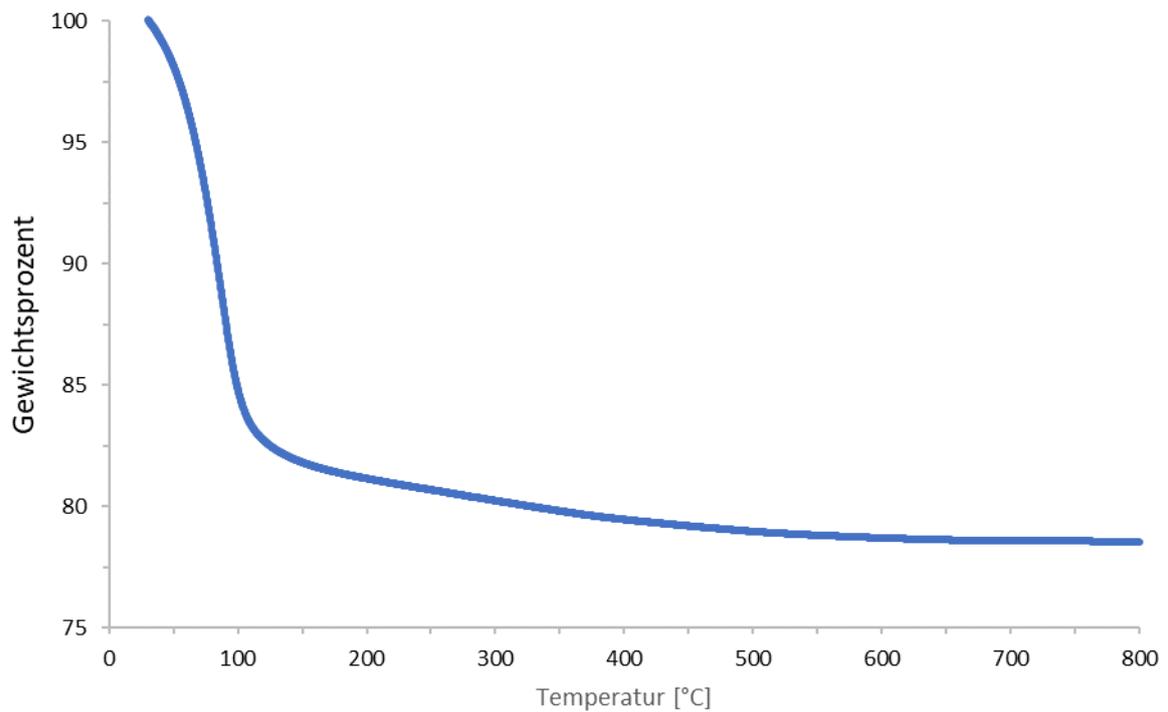


Abbildung 73.: Thermogravimetrische Analyse von CeO_{2-x}-Nanopartikeln, hergestellt mit Ethylenglykol.

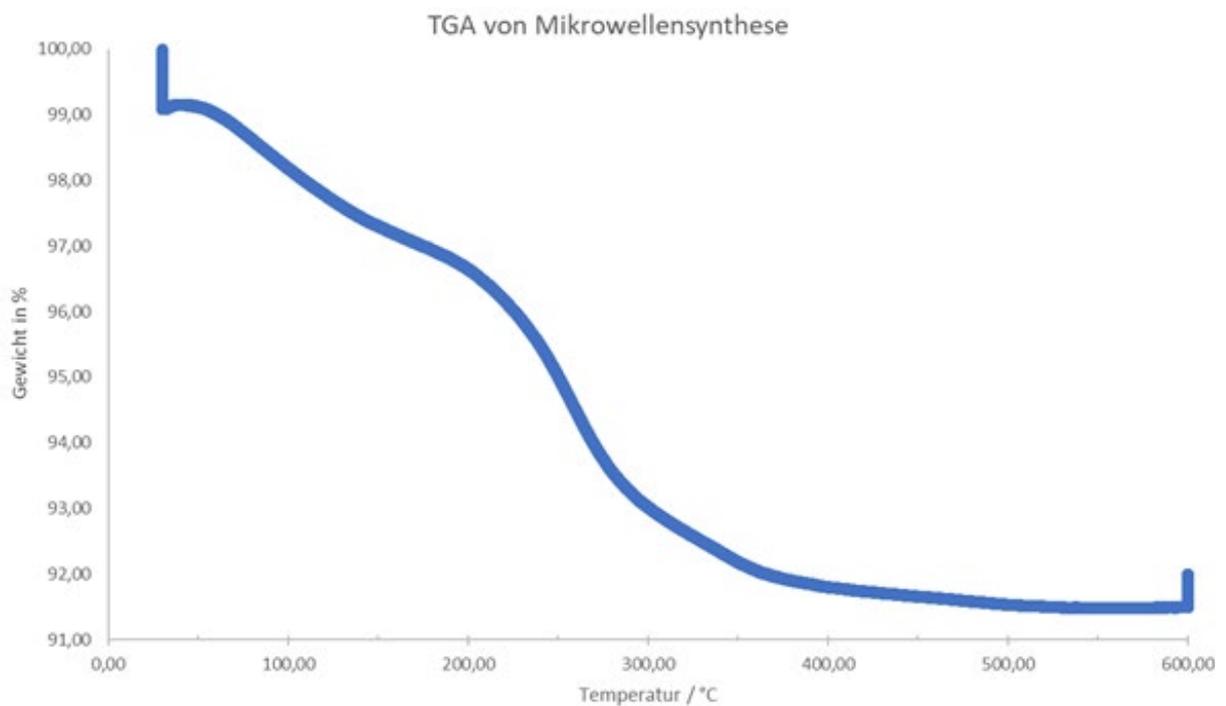


Abbildung 74.: Thermogravimetrische Analyse von CeO_{2-x}-Nanopartikeln, hergestellt per mikrowellenunterstützter Solvothermalsynthese.

Massenspektrometrie

191104_83_P3_NP3_3Oxo_C14_HSL_300min_neg #1105-1139 RT 4.19-4.29 AV 12 SB 51 4.43-4.60 , 3.83-4.08 NL 4.79E5
T FTMS - p ESI Full ms [50.0000-750.0000]

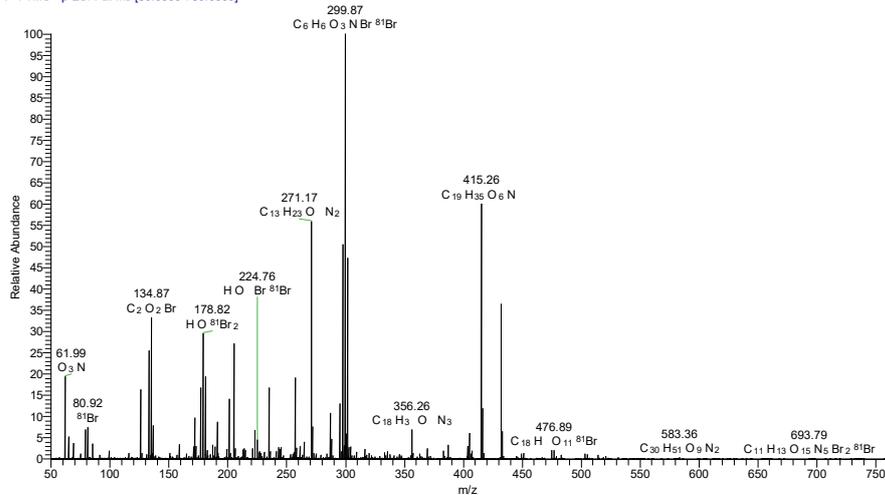


Abbildung 75.: ESI-Massenspektrum (50-750 g/mol) von mit CeBi_{0,2}O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Es konnte die dibromierte Spezies C₆H₆O₃NBr₂ (4) nachgewiesen werden.

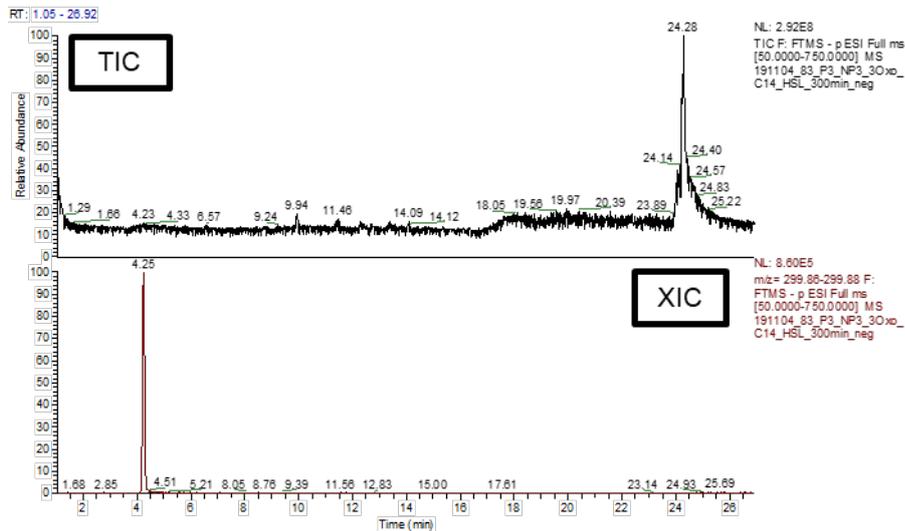


Abbildung 76.: Chromatogramme von mit CeBi_{0,2}O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Gezeigt ist der gesamte Ionenfluss (Total ion current TIC) sowie das rekonstruierte Ionen Chromatogramm (extracted-Ion Chromatogram XIC).

191104_83_P3_NF3_3Oxo_C14_HSL_300min_neg #939 RT 3.49 AV 1 SB 142 3.81-4.58 , 2.68-3.13 NL 1.10E6
 T FTMS - p ESI Full ms [50.0000-750.0000]

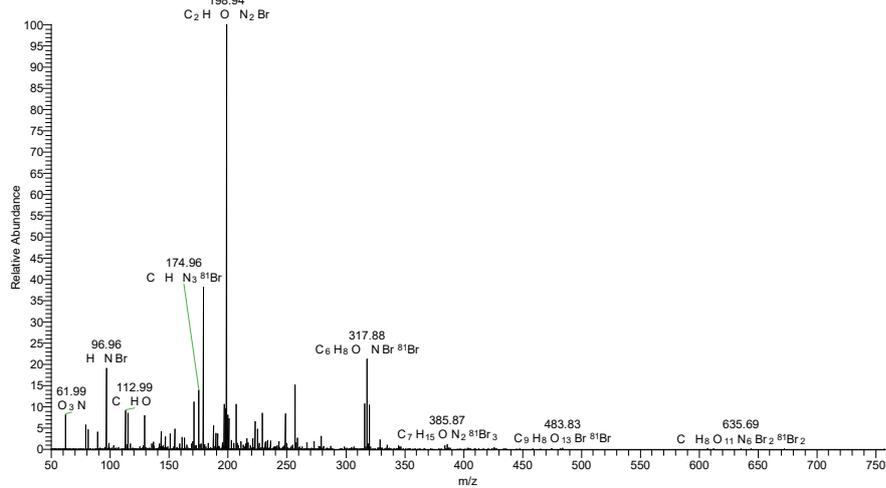


Abbildung 77.: ESI-Massenspektrum (50-750 g/mol) von mit CeBiO₂O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Es konnte die dibromierte Spezies C₆H₈O₄NBr₂ (5) nachgewiesen werden.

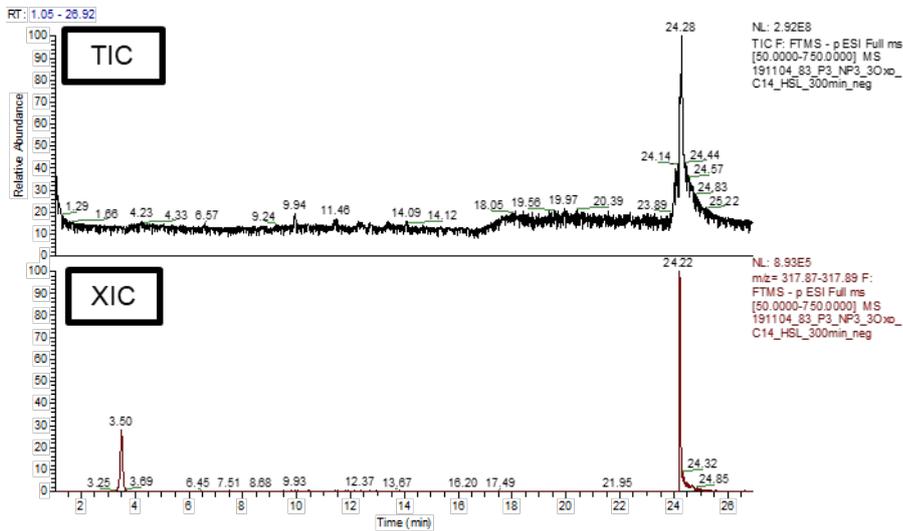
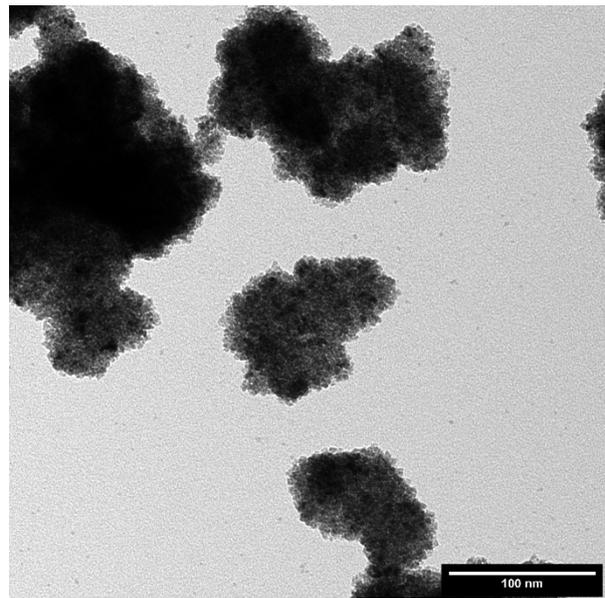
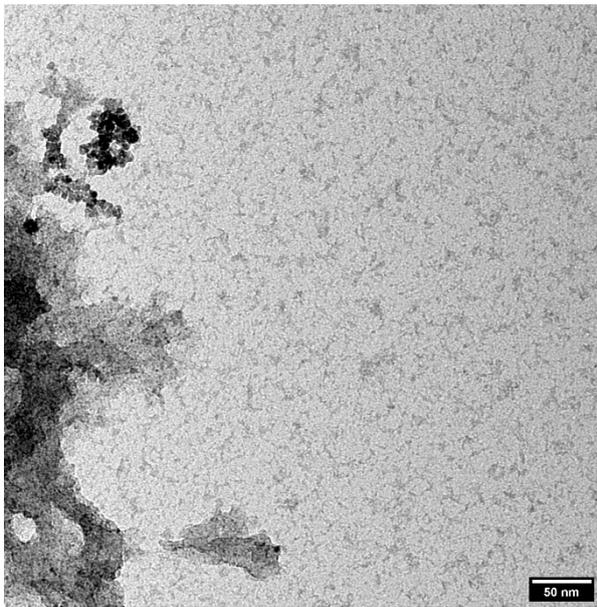


Abbildung 78.: Chromatogramme von mit CeBiO₂O₂-Nanopartikeln zersetzten 3-Oxo-C14-HSL. Gezeigt ist der gesamte Ionenfluss (Total ion current TIC) sowie das rekonstruierte Ionen Chromatogramm (extracted-ion chromatogram XIC).

Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)



CeO₂-Nanostäbchen (LiOH)

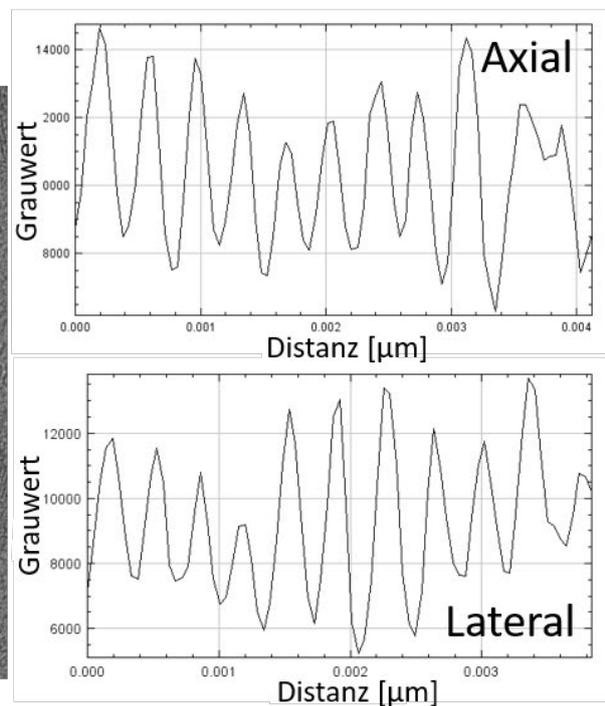
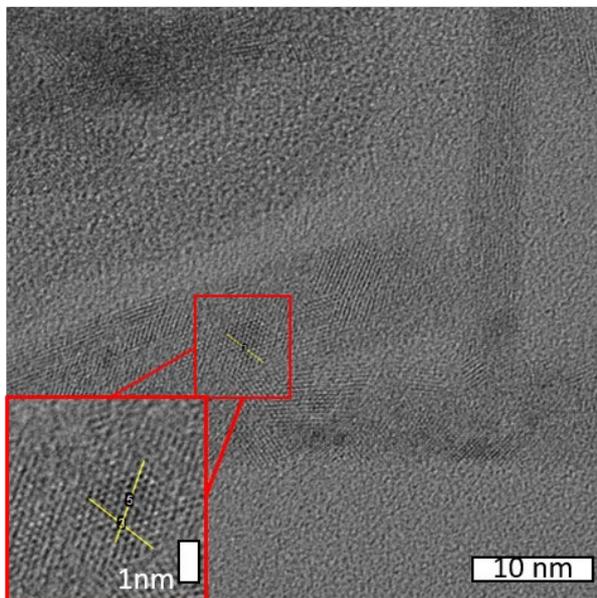


Abbildung 80.: Hochauflösende TEM-Mikrographen von Nanostäbchen, hergestellt mit LiOH. Mit gelb markiert sind die Stellen, von denen exemplarischen Bestimmung der Netzebenen ein Linienprofil des Grauwertes angefertigt wurde. Die Messungen wurden freundlicherweise von Martin Lange (Uni Mainz) durchgeführt.

CeO₂-Nanostäbchen (KOH)

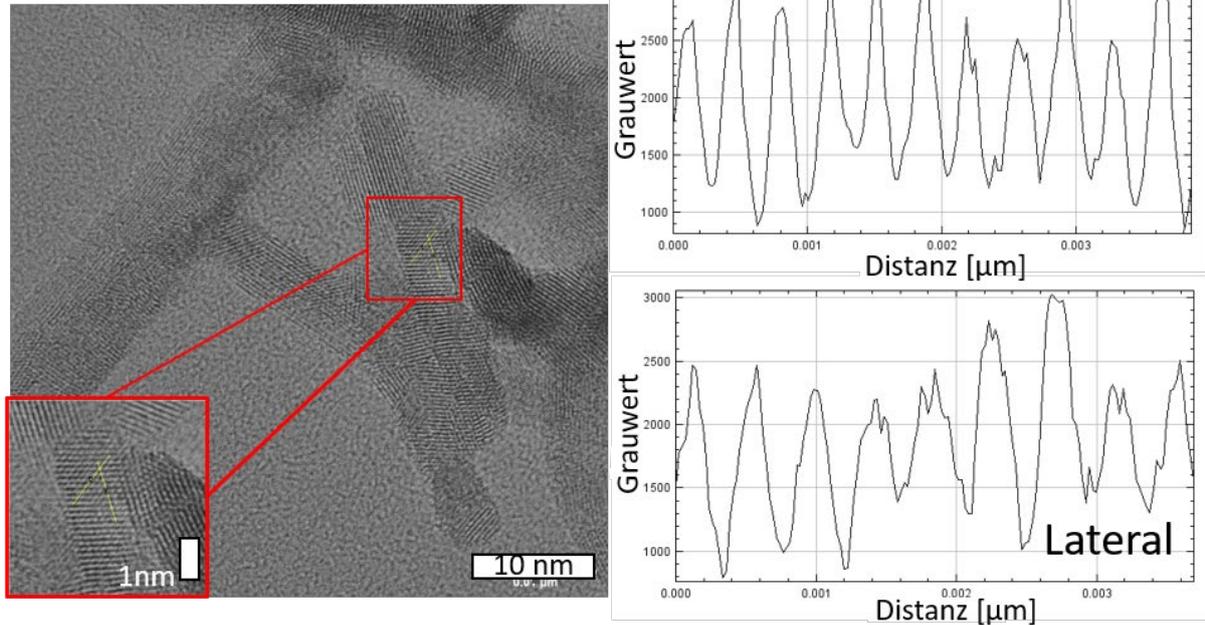


Abbildung 81.: Hochauflösende TEM-Mikrographen von Nanostäbchen, hergestellt mit KOH. Mit gelb markiert sind die Stellen, von denen exemplarischen Bestimmung der Netzebenen ein Linienprofil des Grauwertes angefertigt wurde. Die Messungen wurden freundlicherweise von Martin Lange (Uni Mainz) durchgeführt.

CeO₂-Nanostäbchen (CsOH)

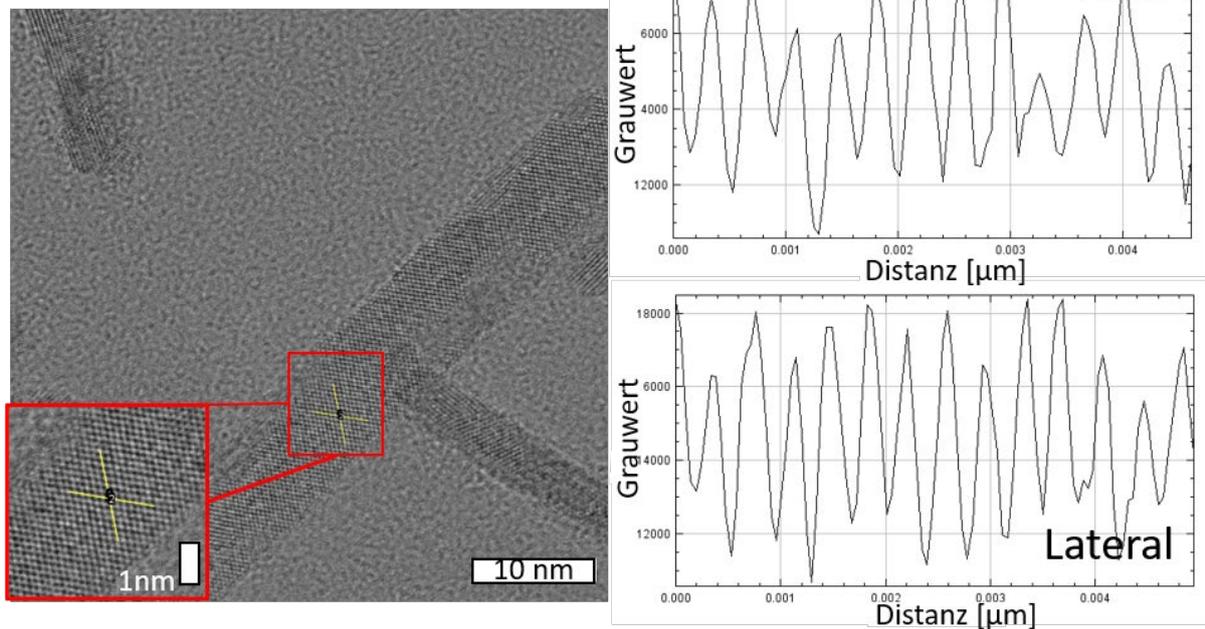


Abbildung 82.: Hochauflösende TEM-Mikrographen von Nanostäbchen, hergestellt mit CsOH. Mit gelb markiert sind die Stellen, von denen exemplarischen Bestimmung der Netzebenen ein Linienprofil des Grauwertes angefertigt wurde. Die Messungen wurden freundlicherweise von Martin Lange (Uni Mainz) durchgeführt.

MAS-NMR

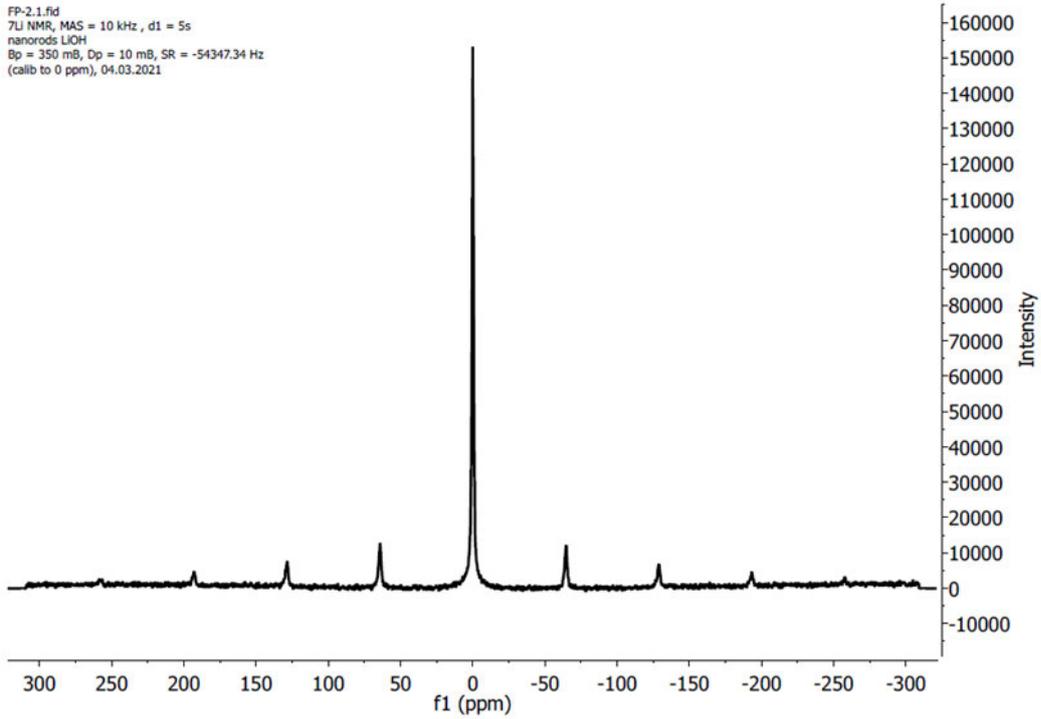


Abbildung 83.: ^7Li -MAS-Übersichts-NMR von CeO_2 -Nanostäbchen hergestellt mit LiOH .

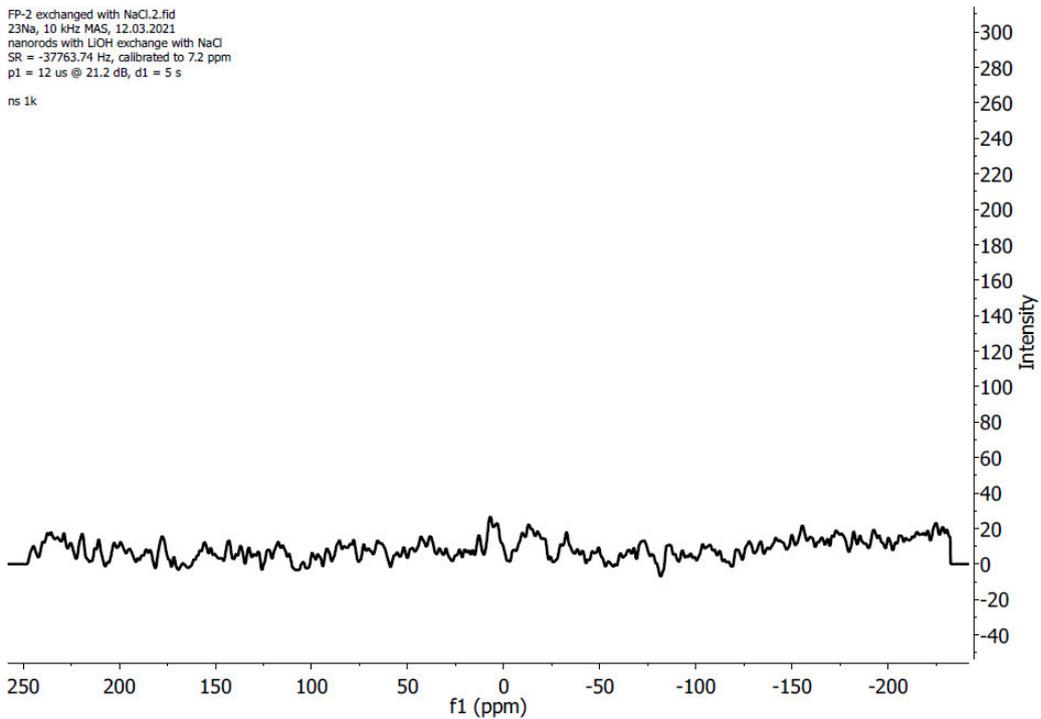


Abbildung 84.: ^{23}Na -MAS-Übersichts-NMR von mit CeO_2 -Nanostäbchen hergestellt mit LiOH . Die Nanostäbchen wurden vor der Messung mit 0,1 M NaCl -Lösung über Nacht gerührt und anschließen 2x mit Milli-Q Wasser gewaschen (3000 rpm, 10 min).

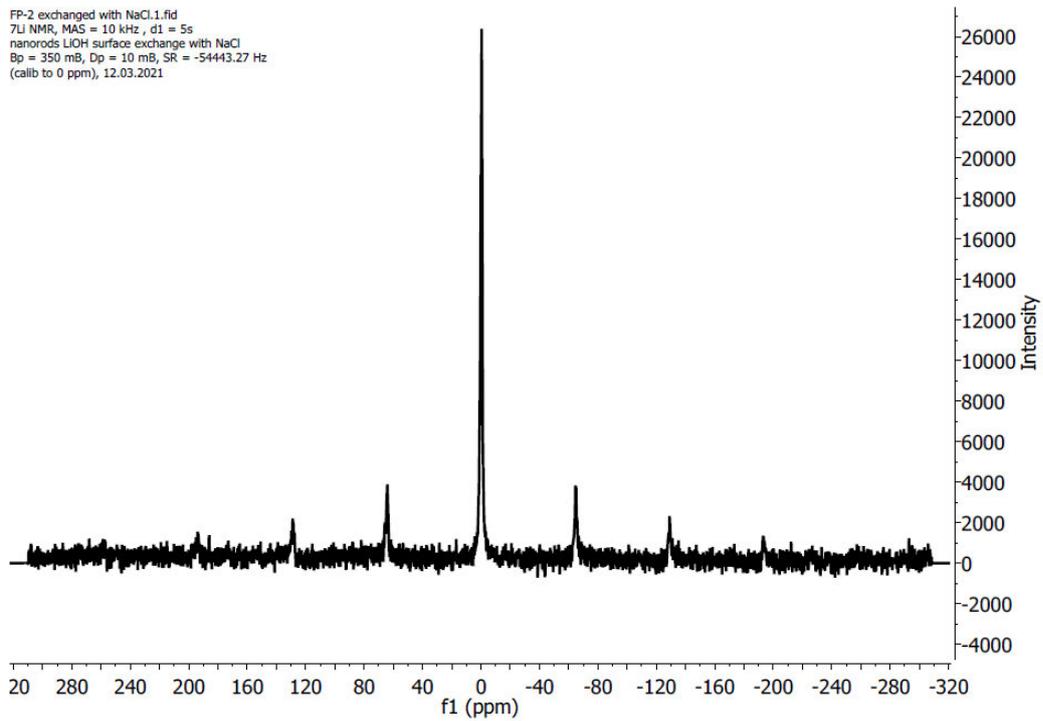


Abbildung 85.: ^7Li -MAS-Übersichts-NMR von CeO_2 -Nanostäbchen hergestellt mit LiOH. Die Nanostäbchen wurden vor der Messung mit 0,1 M NaCl-Lösung über Nacht gerührt und anschließen 2x mit Milli-Q Wasser gewaschen (3000 rpm, 10 min).

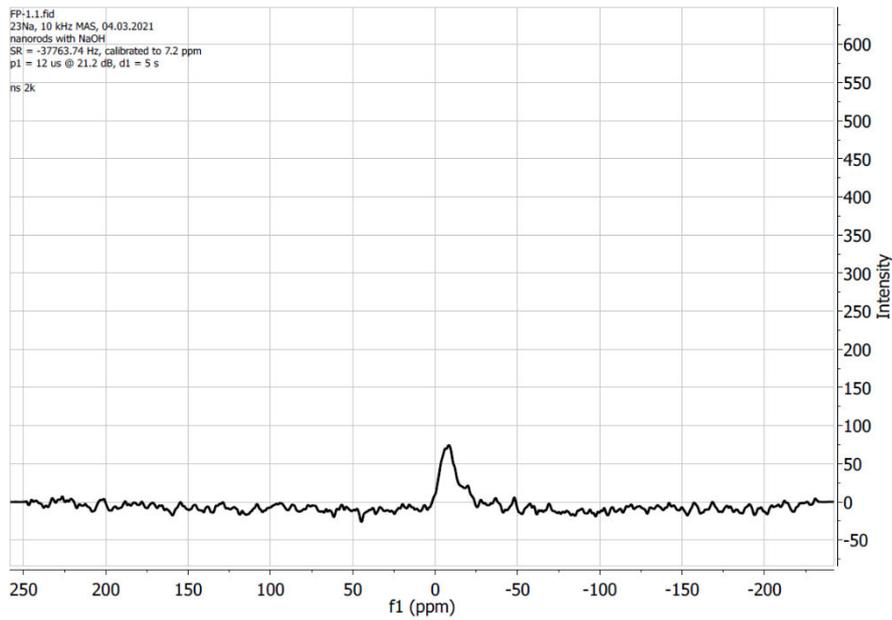


Abbildung 86.: ²³Na-MAS-Übersichts-NMR von CeO₂-Nanostäbchen hergestellt mit NaOH.

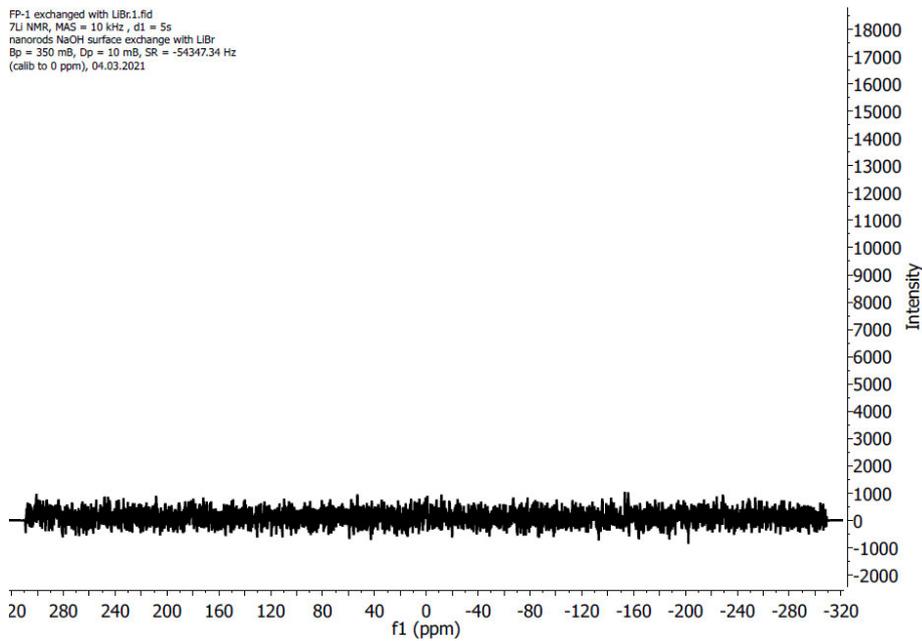


Abbildung 87.: ⁷Li-MAS-Übersichts-NMR von mit CeO₂-Nanostäbchen hergestellt mit NaOH. Die Nanostäbchen wurden vor der Messung mit 0,1 M LiBr-Lösung über Nacht gerührt und anschließen 2x mit Milli-Q Wasser gewaschen (3000 rpm, 10 min).

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Publikationsliste

- [1] O. Jegel*, **F. Pfitzner***, A. Gazanis, J. Oberländer, M. von der Au, B. Meermann, V. Mailänder, A. Klasen, R. Heermann, W. Tremel, Transparent Polycarbonate with CeO₂ Nanozymes Repel *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms, *to be submitted to ACS Applied Materials & Interfaces*, **2021** (*: Geteilte Erstautorenschaft)
- [2] K. Herget, H. Frerichs, **F. Pfitzner**, M. N. Tahir, W. Tremel, in (Ed.: X. Yan), Functional Enzyme Mimics for Oxidative Halogenation Reactions that Combat Biofilm Formation *Nanozymology: Connecting Biology and Nanotechnology*, Springer Singapore, Singapore, **2020**, pp. 195–278.
- [3] H. Frerichs, E. Pütz, **F. Pfitzner**, T. Reich, A. Gazanis, M. Panthöfer, J. Hartmann, O. Jegel, R. Heermann, W. Tremel, Nanocomposite Antimicrobials Prevent Bacterial Growth Through the Enzyme-like Activity of Bi-Doped Cerium Dioxide (Ce_{1-x}BixO_{2-δ}). *Nanoscale* **2020**, .
- [4] K. Herget, H. Frerichs, **F. Pfitzner**, M. N. Tahir, W. Tremel, Functional Enzyme Mimics for Oxidative Halogenation Reactions that Combat Biofilm Formation. *Adv. Mater.* **2018**, 30,
- [5] K. Korschelt, R. Schwidetzky, **F. Pfitzner**, J. Strugatchi, C. Schilling, M. von der Au, K. Kirchhoff, M. Panthöfer, I. Lieberwirth, M. N. Tahir, C. Hess, B. Meermann, W. Tremel, CeO_{2-x} nanorods with intrinsic urease-like activity. *Nanoscale* **2018**, 10, 13074–13082.
- [6] K. Herget, H. Frerichs, **F. Pfitzner**, W. Tremel, Cerioxid schützt vor marinem Fouling: Biomimetische Biozide. *Chemie Unserer Zeit* **2017**, 51, 278–281.
- [7] K. Herget, P. Hubach, S. Pusch, P. Deglmann, H. Götz, T. E. Gorelik, A. Gural, **F. Pfitzner**, T. Link, S. Schenk, M. Panthöfer, V. Ksenofontov, U. Kolb, T. Opatz, R. André, W. Tremel, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, J. Gutenberg-universität, I. A. Gural'skiy, F. Pfitzner, T. Link, S. Schenk, M. Panthöfer, V. Ksenofontov, U. Kolb, T. Opatz, R. André, W. Tremel, Haloperoxidase Mimicry by CeO_{2-x} Nanorods Combats Biofouling. *Adv. Mater.* **2017**, 29, 1603823.