

Aus dem Zentrum für Infektiologie der Universität Heidelberg

Zentrumssprecher: Prof. Dr. H.-G. Kräusslich

Abteilung für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Heeg

**Medizinische Aspekte und Strategien zur objektivierbaren  
Messung der desinfizierenden und mineralisierenden  
Eigenschaften von photokatalytisch aktivem Titandioxid**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doctor scientiarum humanarum (Dr. sc. hum)

an der

Medizinischen Fakultät Heidelberg

der

Ruprecht-Karls-Universität

vorgelegt von

Jochen Kurz

aus Weinheim

2021



**Dekan:** Prof. Dr. med. Hans-Georg Kräusslich

**Doktorvater:** Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Lothar Erdinger



Für Louisa und Jakob

Manifestiert Eure Träume und geht voran  
voller Zuversicht und Dankbarkeit.

Euer Papa

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	11
1 Einleitung.....	13
1.1 Titandioxid (TiO <sub>2</sub> ).....	14
1.1.1 Vorkommen, Synthese, Verwendung.....	14
1.1.2 Einstufung der Toxizität.....	15
1.1.3 Modifikationen.....	15
1.2 Photophysikalische und photochemische Eigenschaften.....	16
1.2.1 Photokatalytische Redoxreaktionen.....	18
1.2.2 Reaktionsschritte.....	18
1.3 Bakterizide Wirksamkeit photoaktivierter TiO <sub>2</sub> -Oberflächen .....	20
1.4 Behandlung komplexer Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid.....	21
1.5 Elektrochemische Grundlagen.....	22
1.5.1 Innerer Photoeffekt.....	22
1.5.2 Äußerer Photoeffekt.....	22
1.5.3 Entstehung von elektrischen Potentialdifferenzen, Nernst'sche Gleichung.....	23
1.5.4 Elektrische Doppelschichten.....	23
1.5.5 Kondensator-Modell und die Näherung einer Starren Helmholtz-Doppelschicht.....	26
1.5.6 Elektrochemische Wasseranalytik – Zusammenhang mit der bakteriziden Wirksamkeit.....	27
1.6 Stand der Technik - Methoden zur Bestimmung der photokatalytischen Aktivität.....	28
1.6.1 Photolyse - Bestimmung durch Abbau von Metylenblau.....	28
1.6.2 Photomineralisierung - Bestimmung durch Messung der CO <sub>2</sub> -Bildung .....	31
1.6.3 Photodesinfektion .....	31
1.7 Zielsetzung der Arbeit.....	32
2 Material und Methoden.....	34
2.1 Beleuchtungskammer.....	34
2.2 Testkeime zur Bestimmung der keimabtötenden Wirksamkeit.....	34
2.2.1 Escherichia coli ATCC 11229.....	35
2.2.2 Pseudomonas aeruginosa DSM 539.....	35
2.2.3 Sarcina lutea DSMZ 348.....	35
2.3 Vorbereitung der Keimsuspensionen und Keimzahlbestimmung.....	36
2.3.1 Bestimmung der Keimzahl.....	36
2.3.2 Vorbereitung der beschichteten Probelplättchen bei Versuchen mit Keimsuspensionen.....	36
2.4 PVD-Schichten auf alkalifreien Glassubstraten.....	37

2.4.1 Charakterisierung der PVD-Schichten.....	37
2.5 Pilkington Activ® .....	38
2.6 TiO <sub>2</sub> -Schichten auf Metallsubstraten hergestellt durch Kaltgas-Spritzen.....	38
2.7 Isolierung von Zellen aus humanem Blut.....	39
2.8 Eingesetzte technische TiO <sub>2</sub> -Pulver.....	40
2.8.1 Rutil-Anatas-Pulver (P25).....	40
2.8.2 Anatas-Pulver (Hombikat UV100).....	40
2.8.3 T805.....	41
2.8.4 Rutil-Pulver.....	41
2.9 Bestimmung von Titan-Konzentrationen mittel ICP-MS-Analytik.....	41
2.10 Schwefelsaurer Aufschluss.....	42
2.11 Analyse der Titan-Modifikationen durch Röntgen-Pulver-Diffraktomie (XRD).....	43
2.12 Bestimmung von CO <sub>2</sub> -Konzentrationen mittels NDIR-Analytik.....	43
2.13 Kalibration für CO <sub>2</sub> -Messungen .....	44
2.14 Entfärbung von Methylenblau-Lösung, Nanodrop Photometer.....	45
3 Ergebnisse Teil 1: - Medizinische Aspekte der Photokatalyse.....	46
3.1 Nachweis der bakteriziden Wirksamkeit photoaktivierter TiO <sub>2</sub> -Oberflächen an Keimsuspensionen. 46	
3.1.1 Photokatalytisch induzierte Abtötung an Keimsuspensionen in TiO <sub>2</sub> -beschichteten Vials.....	47
3.1.2 Photokatalytisch induzierte Abtötung von Keimsuspensionen auf TiO <sub>2</sub> -beschichteten, planaren Probekörpern.....	47
3.1.3 Optimierung der Keimabtötungsversuche durch Eintauchen der Probekörper in ein größeres Volumen an Keimsuspension.....	49
3.1.4 Ermittlung geeigneter Bestrahlungsintensitäten und Verdünnungen.....	49
3.1.5 Photokatalytisch induzierte Abtötung an titandioxidbeschichteten Probekörpern unterschiedlicher Aktivität .....	51
3.2 Nachweis der bakteriziden Wirksamkeit von TiO <sub>2</sub> auf trockenen Proben .....	51
3.2.1 Versuchsdurchführung.....	52
3.2.2 Versuchsergebnisse nach max. 28 Stunden Bestrahlungsdauer im Vergleich mit dunkel gelagerten Negativkontrollen.....	52
3.3 Behandlung komplexer Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid.....	53
3.3.1 Biologische Wirksamkeit von LPS und RNase A.....	54
3.3.2 Aufgabenstellung.....	54
3.3.3 Geeignete Testverfahren zur Bestimmung der biologischen Aktivität.....	54
3.3.4 Vitalitätstest an den isolierten Zellen (MTT-Test).....	55
3.3.5 Photokatalytisch wirksame TiO <sub>2</sub> -Probekörper.....	56

3.4 Photokatalytische Inaktivierung von bakteriellem Lipopolysaccharid.....	56
3.4.1 Versuchsprinzip.....	56
3.4.2 Versuchsdurchführung.....	57
3.4.3 Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	57
3.4.4 Validierung des LPS-Testverfahren.....	58
3.4.5 Ergebnisse: Inaktivierung von LPS.....	59
3.4.6 Kinetik der LPS-Inaktivierung.....	60
3.5 Photokatalytische Inaktivierung von RNase A.....	62
3.5.1 Versuchsprinzip:.....	62
3.5.2 Versuchsdurchführung.....	63
3.5.3 Validierung des RNase A-Testverfahrens.....	64
3.5.4 Ergebnisse: Inaktivierung von RNase A .....	65
3.5.5 UV-A-Bestrahlung von RNase A Lösungen an TiO <sub>2</sub> beschichteten Probekörpern über 24 h.....	65
3.5.6 UV-A-Bestrahlung von RNase A Lösungen an TiO <sub>2</sub> beschichteten Probekörpern über 96 h.....	66
3.5.7 Behandlung von Lösungen mit 50 µg mL <sup>-1</sup> bis 500 µg mL <sup>-1</sup> RNase A über 96 h.....	67
3.5.8 Betrachtung der Abbau-Kinetik von RNase A.....	68
3.6 Untersuchung TiO <sub>2</sub> -haltiger Kosmetika .....	69
3.6.1 Aufgabenstellung.....	70
3.6.2 Ergebnisse: TiO <sub>2</sub> -Anteile in den untersuchten Sonnenschutzmitteln.....	70
3.6.3 Bestimmung der Titandioxid-Modifikationen durch XRD-Analytik.....	71
3.6.4 Rietveld-Analyse.....	72
3.6.5 Ergebnisse: TiO <sub>2</sub> -Modifikationen der untersuchten Sonnenschutzmittel.....	73
3.6.6 Bestimmung des Mineralisierungsvermögens der Sonnenschutzmittel.....	75
3.6.7 Ergebnisse: Mineralisierungsvermögen von TiO <sub>2</sub> in Sonnenschutzmitteln.....	75
3.6.8 Bestimmung der photokatalytischen Aktivität durch Entfärben einer Methylenblau-Lösung ....	77
3.6.9 Ergebnisse: Photokatalytischen Aktivität durch Entfärben einer Methylenblau-Lösung.....	77
3.6.10 Berechnung der photonischen Effizienz.....	78
3.6.11 Ergebnisse: Zusammenstellung.....	79
4 Ergebnisse Teil 2: Strategien zur objektivierbaren Messung der photokatalytischen Aktivität von TiO <sub>2</sub> ....	81
4.1 Messung photokatalytisch induzierter Potentialdifferenzen.....	81
4.2 Aufbau einer photo-elektrochemischen Messzelle mit Platintiegeln.....	81
4.2.1 Versuche mit TiO <sub>2</sub> -Suspensionen.....	84
4.2.2 Messung der Potentialdifferenz in Abhängigkeit der eingestrahlten UV-A Lichtintensität.....	84
4.2.3 Abhängigkeit der Potentialdifferenz von der TiO <sub>2</sub> -Menge.....	86
4.2.4 Versuche mit TiO <sub>2</sub> -beschichteten Prüfkörpern.....	88

4.2.5 Untersuchungen an TiO <sub>2</sub> -beschichteten Prüfkörpern unterschiedlicher Schichtdicken.....	89
4.3 Messung von elektrischen Potentialdifferenzen mit ITO-Glas-Elektroden.....	93
4.3.1 Herstellung des ITO-Glas-Elektrodensystems.....	93
4.3.2 Erster Messaufbau.....	94
4.3.3 Verlauf der messbaren, elektrischen Potentialdifferenz mit Erläuterungen.....	95
4.3.4 Praxistest: Erkennen der photokatalytisch beschichteten Seite einer Pilkington Activ® Glasscheibe.....	99
4.3.5 Zweiter Messaufbau: Entwicklung einer Vorrichtung zur Variation des Abstandes zwischen Elektrode und Prüfkörper.....	100
4.3.6 Geräteeinstellungen und Arbeitsanweisungen für die Spannungsmessungen.....	103
4.3.7 Testserie mit festem Abstand.....	104
4.3.8 Messungen mit Proben unterschiedlicher Schichtdicken.....	105
4.3.9 Verwendung von Spacern, um den Abstand zwischen Probe und ITO-Elektrode sicherzustellen .....	106
4.4 Spannungsmessung an TiO <sub>2</sub> -Schichten auf Edelstahlsubstraten.....	109
4.4.1 Spannungsmessung mit aufsteigenden TiO <sub>2</sub> -Mengen.....	110
4.4.2 Spannungsmessung mit unterschiedlichen TiO <sub>2</sub> -Modifikationen.....	111
4.5 Vergleichende Messungen zum Mineralisierungsvermögen der TiO <sub>2</sub> -Suspensionen.....	112
5 Diskussion.....	115
5.1 Photokatalytische Keimabtötung in Suspension.....	115
5.2 Photokatalytische Keimabtötung auf trockenen Proben.....	117
5.3 Fazit aus den Keimabtötungsversuchen.....	118
5.4 Inaktivierung immunologisch relevanter Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid.....	118
5.5 Testverfahren zur Bestimmung der biologischen Aktivität von RNase A und LPS.....	119
5.6 Inaktivierung von LPS.....	119
5.7 Inaktivierung von RNase A.....	121
5.8 Untersuchung TiO <sub>2</sub> -haltiger Kosmetika.....	121
5.9 Photokatalytisch induzierte elektrische Potentialdifferenzen.....	125
5.10 Optimierter Aufbau mit ITO-Elektroden.....	126
5.11 Zweiter Messaufbau zur Variation des Abstandes zwischen Elektrode und Prüfkörper.....	127
5.12 Spannungsmessung an TiO <sub>2</sub> -Schichten auf Edelstahlsubstraten.....	127
5.13 Fazit zur Messung photokatalytisch induzierter elektrischer Potential-differenzen.....	129
6 Zusammenfassung.....	132
7 Literaturverzeichnis.....	135
8 Eigenanteil an Datenerhebung und Auswertung und eigene Veröffentlichungen.....	155

9 Anhang.....	157
9.1 Geräteeinstellung des Agilent 34401A 612 Digit Multimeters:.....	157
10 Lebenslauf.....	158
11 Danksagung.....	159
12 Eidesstattliche Versicherung.....	161

## Abkürzungsverzeichnis

Alu	Aluminium
BET	spezifische Oberfläche nach Brunauer, Emmett und Teller
CASO	Casein-Soja-Pepton
cb	Leitungsband (conducting band)
CD14	Cluster of differentiation 14, Oberflächen-Protein
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOTAP	1,2-Di-(9Z-octadecenoyl)-3-trimethylammoniumpropan-methylsulfat
E. coli	Escherichia coli
E <sub>g</sub>	Bandlückenenergie (energy gap)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eV	Elektronenvolt
HCl	Salzsäure
hTNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
HZ	Halbzelle
ICP-MS	Induktiv gekoppeltes Plasma – Massenspektrometrie (inductively coupled plasma mass spectrometry)
IFN- $\alpha$	Interferon- $\alpha$
ITO	Indium-Zinn-Oxid (Indium Tin Oxide)
KHSO <sub>4</sub>	Kaliumhydrogensulfat
LPS	Lipopolysaccharide
M	Molmasse
MB	Methylenblau
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
MW	Mittelwert
N <sub>A</sub>	Avogadrozahl
NaCl	Natriumchlorid
NDIR	nichtdispersiver Infrarotsensor
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
ORN	RNA-Oligonukleotid

P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
P25	Titandioxid-Pulver, Aeroxide® TiO <sub>2</sub> P25
PAMP	Pathogen-assoziierte molekulare Muster (pathogen associated molecular patterns)
PBMC	mononukleären Zellen des peripheren Blutes
PBS	Phosphat-gepuffertes Salzlösung
PRR	Mustererkennungsrezeptor (pattern recognition receptor)
Ps. aer.	Pseudomonas aeruginosa
PVD	Physikalische Gasphasenabscheidung (physical vapour deposition)
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RNA	Ribonukleinsäure
RNase A	Ribonuklease A
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
RT	Raumtemperatur
S. lutea	Sarcina lutea
SA	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat (sodium dodecyl sulfate)
Stahl	Edelstahl
T805	Titandioxid-Pulver, Rutil
Ti	Titan
TiO <sub>2</sub>	Titandioxid
TLR	toll-like-Rezeptor
TOC	Gesamt-Kohlenstoff (total organic carbon)
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UV	Ultraviolett
UV100	Titandioxid-Pulver, Hombikat UV100
vb	Valenzband (valence band)
XRD	Röntgen-Pulver-Diffraktometrie
µm	Mikrometer
ZnO	Zinkoxid

# 1 Einleitung

Hygiene ist sowohl im medizinischen Umfeld als auch in unserem Alltag von größter Bedeutung. Der aus dem Altgriechischen stammende Begriff der Hygiene kann sinngemäß mit „der Gesundheit dienender Kunst“ übersetzt werden. Es ist demnach die Lehre über die Gesunderhaltung des Einzelnen und der Allgemeinheit und der zur Vorbeugung und Vermeidung von Krankheiten (DWDS 2021). Gerade in Zeiten der Pandemie sind diese Aspekte allgegenwärtig. Zur Verminderung der Übertragung von Krankheitserregern und der Unterbrechung von Infektionsketten werden große Anstrengungen unternommen. Es werden viel Energie, Zeit und große Mengen an chemischen Hilfsmitteln eingesetzt, um Maßnahmen wie beispielsweise die Desinfektion von Oberflächen und Händen, den Einsatz von Mund-Nasen-Masken und viele weitere zu realisieren. Somit besteht prinzipiell ein großes Potential darin, Ressourcen durch Systeme einzusparen, die in der Lage sind, sich eigenständig und ohne menschliches Zutun von Kontaminationen zu befreien. Ein gängiges Beispiel für solch ein selbstreinigendes System ist die Oberfläche der Blätter der Lotuspflanze. Durch deren nano- und mikroskalige Architektur wird die Anhaftung von Partikeln minimiert (de Maleprade et al. 2020). Die Pflanze hält so ihre Oberflächen sauber. Als photokatalytische Selbstreinigung bezeichnet man hingegen die chemischen und physikalischen Eigenschaften von Halbleitern wie Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ). Durch Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge, werden photokatalytische Prozesse initiiert, die organische Verbindungen und mikrobielle Kontaminationen auf der Materialoberfläche zerstören können.

Derzeit (2021/2022) werden die photokatalytischen Abbaureaktionen auch zur Eindämmung des SARS-Cov2 Virus diskutiert. Ein Ansatz zur Verhinderung von Infektionen über kontaminierte Oberflächen liegt darin, die Oberflächen mit photokatalytisch aktivem  $\text{TiO}_2$  zu beschichten, um über die entstehenden radikalen Sauerstoffverbindungen Viren zu inaktivieren (Talebian et al. 2020). Es konnte exemplarisch gezeigt werden, dass sich das SARS-Cov2 Virus durch photokatalytisch aktives  $\text{TiO}_2$  inaktivieren lässt (Matsuura et al. 2021; Prakash et al. 2022). Darüber hinaus lassen sich auch andere membranumhüllte Viren inaktivieren (Khaiboullina et al. 2021). Im Fall von SARS-Cov2 mag die Übertragung über Oberflächenkontaminationen eher eine untergeordnete Rolle spielen, was aber nicht für alle Viren gilt (D'Accolti et al. 2021), so dass der Einsatz von Photokatalysatoren zur Inaktivierung von Viren einen interessanten Ansatz darstellt.

Seitdem die photokatalytischen Eigenschaften von Titandioxid erkannt waren, gibt es Bestrebungen diese Eigenschaften für medizinische Zwecke im Sinne der Hygiene einsetzbar zu machen. Eines der Probleme im Zusammenhang mit der Herstellung der Materialien und deren Bewertung, ist die objektive Messung der desinfizierenden und mineralisierenden Wirkung ohne die Verwendung von biologischen oder chemischen Indikatoren und den damit verbundenen aufwändigen Verfahren.

Die praktischen Arbeiten der Dissertation wurde bereits vor einigen Jahren abgeschlossen. Nichtsdestotrotz sind die behandelten Themen nach wie vor aktuell und relevant. Die vorliegende Arbeit leistet einen wertvollen Beitrag zum tieferen Verständnis grundlegender Zusammenhänge in diesem Bereich, was die Durchsicht der aktuellen Literatur bestätigt. Eines der Themen dieser Arbeit ist die objektivierbare Messung der photokatalytischen Aktivität von Oberflächen mittels physikalischer Methoden. Noch immer werden zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität phänomenologische Ansätze verwendet, die die Aktivität unzureichend beschreiben. In 2020 wurde die DIN-Norm zur Bestimmung der photokatalytischen Aktivität auf Basis des bisherigen Verfahrens der Entfärbung von Methylenblau aktualisiert (DIN-52980:2020-11 2020). Nach wie vor wird dazu der Abbau des chemischen Indikators Methylenblau verfolgt und die Aktivität daraus berechnet. Die Ermittlung ist mit einem relativ hohen apparativen und zeitlichen Aufwand verbunden. Ein innovativer Ansatz, der in diese Arbeit verfolgt wurde, liegt darin, eine physikalische Bewertungsmethode zu entwickeln. Es ist anzunehmen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Redoxpotential und der photokatalytischen Aktivität von Titandioxid beschichteten Oberflächen besteht. Dieser Zusammenhang wurde über elektrochemische bzw. photovoltaische Verfahren untersucht. Die Methodik soll einen schnelleren und praktikableren Weg zur objektivierbaren Ermittlung der photokatalytischen Aktivität eröffnen.

Auch die weiteren Themen dieser Arbeit sind nach wie vor von großer Aktualität. So wurden in dieser Arbeit Fragestellungen zur photokatalytischen Abtötung von Bakterien, der Inaktivierung von immunologisch wirksamen Biomolekülen und Untersuchungen der photokatalytischen Aktivität an kosmetischen Sonnenschutz-Präparaten durchgeführt, die Titandioxid als aktiven UV-Absorber enthielten. Nachfolgend wird der gegenwärtige Stand der Wissenschaft (2021/2022) dieser Themenbereiche beschrieben und in einen Zusammenhang mit den Zielen der vorliegenden Arbeit gesetzt.

## **1.1 Titandioxid (TiO<sub>2</sub>)**

### **1.1.1 Vorkommen, Synthese, Verwendung**

Titandioxid ist in unserem Alltag allgegenwärtig und wird seit etwa 100 Jahren in großem Maßstab industriell hergestellt und eingesetzt. In zahlreichen Produkten findet es zu unterschiedlichen Zwecken Anwendung: In Farben und Lacken als Weißpigment, in Sonnenschutzprodukten als UV-Absorber, als Trägermaterial für Katalysatoren, als Kondensatormaterial in der Elektrotechnik, als Aufheller und Füllstoff in Tabletten, Zahnpasta und Wursthüllen. Es ist chemisch stabil und galt bislang als ungiftig. Es wird unter der Kennzeichnung E171 als Lebensmittelzusatzstoff eingesetzt.

Besonders durch den hohen Bedarf in seiner Funktion als Weißpigment wird  $\text{TiO}_2$  in großem Maßstab hergestellt. Die Weltproduktion lag im Jahr 2021 bei etwa 8,5 Millionen Tonnen (Summaries 2021; Survey 2021). Die Herstellung des Weißpigments erfolgt dabei industriell nach dem Sulfat- und dem Chloridverfahren, wobei in der Regel die thermodynamisch stabile Rutil-Modifikation mit einer Teilchengröße von 200 – 300 nm entsteht. In dieser Größenordnung hat Titandioxid eine sehr stark ausgeprägte Lichtstreuung, so dass es als Weißpigment verwendet werden kann. Bedingt durch den hohen Brechungsindex von Anatas mit 2,55 und Rutil mit 2,75 und seinen ausgezeichneten pigmentoptischen Eigenschaften, besitzt  $\text{TiO}_2$  das höchste Aufhell- und Deckvermögen der handelsüblichen Weißpigmente (de Buhr 2005).

### 1.1.2 Einstufung der Toxizität

Jüngst in 2021 stufte die European Food Safety Authority (Panel on Food Additives EFSA et al. 2021) Titandioxid als Lebensmittelzusatzstoff E171 als nicht mehr sicher ein (Panel on Food Additives EFSA et al. 2021). Hintergrund ist, dass auf Basis der aktuellen Datenlage eine Genotoxizität nach oraler Aufnahmen nicht mehr ausgeschlossen werden kann.

2020 wurde nanoskaliges Titandioxid vom Umweltbundesamt in der CLP-Verordnung (classification, labelling, packaging) (EU) 2020/217 (14. ATP) zur Anpassung der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als potentiell krebserzeugend beim Einatmen eingestuft. Es wurde die Gefahrenkategorie Carc. 2 mit dem Gefahrenhinweis H351 (Einatmen) vergeben (Darschnik 2020). Die Einstufung gilt für Pulvergemische mit einem Mindestanteil von 1% Titandioxid mit Partikeldurchmesser  $\leq 10 \mu\text{m}$ . Die Regelungen gelten ab Oktober 2021 (Europäische-Union 2019).

### 1.1.3 Modifikationen

Titandioxid existiert in den drei Kristallmodifikationen Rutil (tetragonal), Anatas (tetragonal) und Brookit (orthorhombisch).

#### Rutil

Rutil ist die thermodynamische stabilste und in der Natur am häufigsten vorkommende Titandioxidmodifikation. Seine breiteste Anwendung findet es als Weißpigment, wobei gerade das wissenschaftliche Interesse vielmehr seiner photokatalytischen Aktivität gilt (Fujishima und Honda 1972; Linsebigler et al. 1996; Linsebigler et al. 1995; Ollis et al. 1991). Es kristallisiert in einer tetragonalen Struktur und besitzt die Raumgruppe  $P4_2/mnm$  (Rosenthal 2007). Die Strukturen des Rutils und Anatas

können als Ketten von  $\text{TiO}_6$  Oktaedern beschrieben werden. Beide Modifikationen unterscheiden sich in den Anordnungsmustern der Oktaederketten (Linsebigler et al. 1995), so sind bei Rutil die Oktaeder jeweils über zwei gemeinsame Kanten verknüpft (Kleinschmidt 2001).

### **Anatas**

Anatas ist thermodynamisch etwas weniger stabil als Rutil und kommt in der Natur als zweithäufigste Titandioxidmodifikation vor (Yu et al. 2000). Die photokatalytische Aktivität des Anatas ist höher als die des Rutil und so findet es darin seine wichtigste Anwendung (Kavan et al. 1996; Odling und Robertson 2015). Anatas wird ebenso als Photokatalysator in Solarzellen zur Produktion von Wasserstoff eingesetzt (Damkale et al. 2021; Oregan und Gratzel 1991). Es kristallisiert wie Rutil auch in einer tetragonalen Struktur und besitzt die Raumgruppe  $I4_1/amd$  (Rosenthal 2007). Die  $\text{TiO}_6$ -Oktaeder besitzen jeweils vier gemeinsame Kanten.

### **Brookit**

Brookit ist die seltenste Kristallmodifikation des Titandioxids. Es kommt in der Natur als hellbrauner bis schwarzer Kristall vor und wird nicht im industriellen Maßstab hergestellt. Bei Wärmebehandlung wandelt sich Brookit unterhalb seines Schmelzpunktes in Rutil um. Der Schmelzpunkt von Rutil liegt bei 1855 °C. Brookit findet derzeit keine technische Anwendung. Es kristallisiert orthorhombisch und gehört zur Raumgruppe  $Pbca$ . Die  $\text{TiO}_6$ -Oktaeder sind über jeweils drei gemeinsame Kanten verknüpft (John W. Anthony 2001). In den letzten Jahren beschäftigen sich Forschungsgruppen zunehmend mit den photokatalytischen Eigenschaften des Brookits. Es zeigt sich, dass auch diese Modifikation ein potenter Photokatalysator ist (Di Paola et al. 2013; Tomić et al. 2015; Xin et al. 2016).

## **1.2 Photophysikalische und photochemische Eigenschaften**

Besonderes Augenmerk richtet sich auf die Anwendbarkeit der Titandioxidmodifikationen Rutil und Anatas als Photokatalysator. Bereits Anfang der 1970er Jahre wurden die photokatalytischen Eigenschaften des Titandioxids von Fujishima und Honda entdeckt und beschrieben (Fujishima und Honda 1972). Durch neuartige Verfahren zur Herstellung von Titandioxid gelang es später Teilchengrößen von 20 – 30 nm herzustellen. Diese nanoskaligen Teilchen weisen eine besonders hohe photokatalytische Aktivität auf und besitzen eine große Oberfläche von ca.  $50 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  Pulver. Hergestellt wird das photokatalytisch aktive Titandioxid entweder nach dem Aerosil-Verfahren der Degussa AG für das „Aeroxide  $\text{TiO}_2$  P25“ oder nach einem Prozess basierend auf dem Sulfatverfahren, der bei der Sachtleben GmbH in der Produktion von „Hombikat UV100“ Anwendung findet. Hombikat UV100 besteht zu 100 % aus Anatas- $\text{TiO}_2$ , wohingegen Aeroxide P25 zu ca. 80 % aus Anatas- und ca. 20 % aus Rutil- $\text{TiO}_2$  besteht. Nach wie vor gilt Titandioxid in

seinen Modifikationen Anatas und Rutil bzw. in Mischungen daraus als praktikabler Photokatalysator aufgrund seiner hoher chemischen Stabilität, seiner guten Oxidations- und Reduktionseigenschaften, der starken UV-Absorption und nicht zuletzt auch wegen seines geringen Preises (Hou et al. 2019; Li et al. 2018).

Die photokatalytische Aktivität des Titandioxids beruht auf seinen Halbleitereigenschaften, die im Folgenden beschrieben werden. In Abbildung 1 ist das Molekülorbital-Schema von Titandioxid gezeigt, das für das Verständnis der Wirkung von  $\text{TiO}_2$  von grundlegender Bedeutung ist.

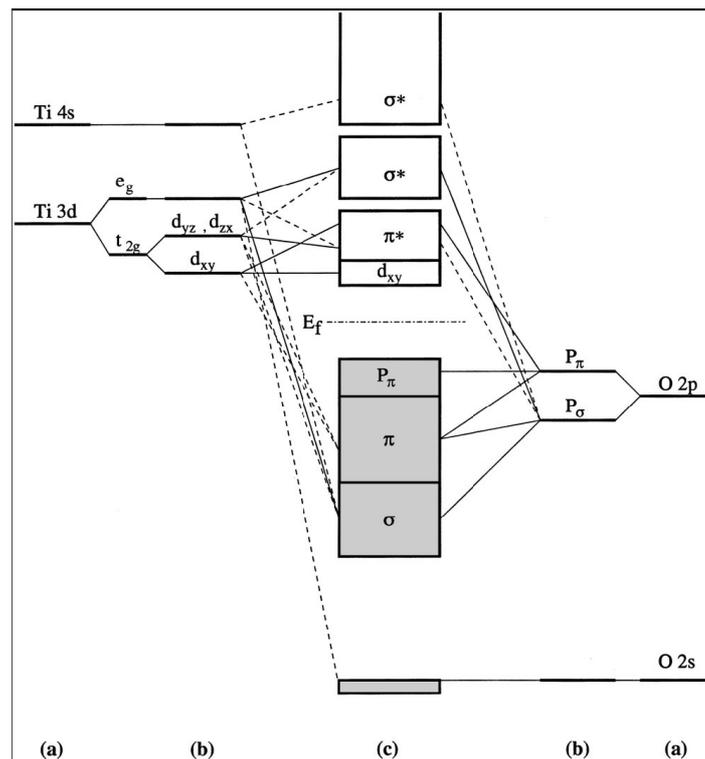


Abbildung 1: Molekülorbital-Schema für  $\text{TiO}_2$ . (a) freie Atome (b) Kristallfeldaufspaltung (c) Molekülorbitale. Das Valenzband (grau) ist vollständig gefüllt, seine höchsten Zustände werden durch die 2p-Orbitale des Sauerstoffs gebildet. Das darüber liegende Leitungsband ist leer, seine tiefsten Zustände werden durch Titan-d-Orbitale gebildet (Riedel 2007).

Für die Wirkung von  $\text{TiO}_2$  als Photokatalysator sind die Elektronen, bzw. deren Zustände entscheidend. Die im Bild grau unterlegten Bereiche sind vollständig mit Elektronen besetzt. Das oberste vollständig besetzte Band ist das Valenzband des Halbleiters, dessen energetisch höchster Quantenzustand wird in erster Linie durch die 2p-Orbitale des Sauerstoffs gebildet. Das energetisch niedrigste unbesetzte Band ist das Leitungsband des Halbleiters. Wie im Molekülorbital-Schema zu sehen ist, wird dieses vornehmlich von den d-Orbitalen des Titans gebildet. Bei der photochemischen Anregung wechselt ein Elektron vom Valenzband in das Leitungsband, was im Grunde einem Ligand-Metall-charge-transfer-Übergang entspricht, da

Ladungsdichte vom Ligand zum Metallatom übertragen wird (Asahi et al. 2000). Die Zufuhr von Energie kann prinzipiell thermisch oder photochemisch erfolgen. Durch Absorption von Licht geeigneter Wellenlänge können Elektronen die Energielücke überwinden. Die Energielücke bei den Titandioxiden liegt im Anatas bei 3,2 eV und im Rutil bei 3,0 eV (Hamal und Klabunde 2007; Tang et al. 1994). Somit sind Lichtquanten der Wellenlängen 387 nm bei Anatas und 413 nm bei Rutil notwendig, um diesen Effekt zu erzielen.

Die photokatalytische Reaktion an der Titandioxid-Oberfläche beginnt stets mit der Erzeugung eines Elektron-Loch-Paares durch die Absorption elektromagnetischer Strahlung mit einer Energie gleich oder größer der Bandlückenenergie. Die Lebensdauer eines Elektron-Loch-Paares ist in der Regel sehr kurz und beträgt nur einige Nanosekunden (Wachter 1989). Die Deaktivierung der Paare kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen, zum Einen kann es zur direkten Rekombination von Elektron und Loch unter Abgabe von Wärme kommen oder es werden Redoxreaktionen initiiert, die indirekt zur Rekombination führen, wie beispielsweise bei der Mineralisierung organischer Verbindungen (Linsebigler et al. 1995; Nosaka und Nosaka 2017).

### 1.2.1 Photokatalytische Redoxreaktionen

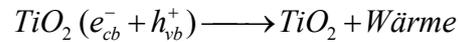
Das Elektron ist in der Lage Moleküle zu reduzieren, während das mit entstandene Loch oxidierend wirkt, indem es einem Molekül ein Elektron entzieht (Linsebigler et al. 1995). So entstehen auf der Oberfläche bei der Bestrahlung oxidierend wirksame Zwischenverbindungen, die wiederum zur Oxidation von organischen Verbindungen und zur Abtötung von Mikroorganismen genutzt werden können. Das Loch, also die Elektronenfehlstelle, kann einem  $O^{2-}$  Ion des  $TiO_2$  ein Elektron entziehen, dadurch entsteht ein Teilchen, das man als lokalisiertes Loch bezeichnen könnte. Das Elektron reduziert zunächst ein  $Ti^{4+}$  Kation zu  $Ti^{3+}$ . Unter Anwesenheit von  $O_2$  kann daraus ein Hyperoxid-Anion  $O_2^-$  gebildet werden (Berger et al. 2005). Zudem sind die Elektronenfehlstellen dazu in der Lage einem Hydroxidion oder einem Wassermolekül ein Elektron zu entziehen und dadurch ein Hydroxyl-Radikal zu bilden (Kormann et al. 1991; Nosaka und Nosaka 2017; Riegel und Bolton 1995).

### 1.2.2 Reaktionsschritte

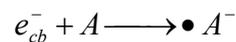
Die Photoanregung des Titandioxids führt zur Bildung von Elektron/Loch-Paaren



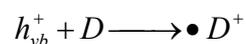
Dabei wird ein Elektron aus dem Valenzband (vb) des Halbleiters in das Leitungsband promoviert (cb), so dass im Valenzband eine Elektronenfehlstelle, ein so genanntes Loch entsteht. Stehen nun keine Elektronenakzeptoren und –donoren zur Verfügung, so kommt es innerhalb einiger Nanosekunden zur raschen Rekombination unter Freisetzung von Wärme.



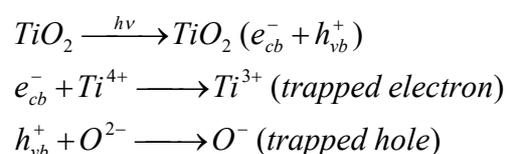
Auf dieser Abfolge von Ladungsseparation und Rekombination unter Wärmeabgabe beruht auch die Verwendung von Titandioxid als Sonnenschutzmittel, so wird verhindert, dass UV-Strahlung die Haut beschädigen kann. Die Strahlungsenergie wird hierbei in Wärme umgewandelt. Im Falle der erwünschten Photokatalyse müssen nun dem elektronisch angeregten System Reaktionspartner zur Verfügung stehen. Die erzeugten Leitungsband-Elektronen können von einem Elektronenakzeptor aufgenommen werden und diesen somit reduzieren, dabei entsteht ein Radikal-Anion des Akzeptors.



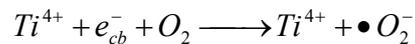
Die erzeugten Elektronen-Fehlstellen im Valenzband des Halbleiters können einem geeigneten Elektronendonator ein Elektron entreißen und den Donor somit zu seinem Radikal-Kation oxidieren.



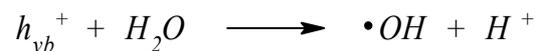
Die angeregten Elektronen besitzen das Reduktionsvermögen der Leitungsband-Energie, während die Löcher das Oxidationsvermögen der Valenzband-Energie tragen. So haben in wässrigen Dispersionen von Titandioxid und an Titandioxid-Oberflächen die Löcher ausreichend Oxidationskraft, um organische Substanzen zu Kohlendioxid, Wasser und Mineralsäuren wie beispielsweise HCl abzubauen (Linsebigler et al. 1995). Die separierten Ladungsträger reagieren aber meist nicht direkt mit abzubauenen Substanzen, sondern werden zunächst abgefangen. Es entstehen kurzlebige Zwischenspezies, die daraufhin die eigentliche Abbaureaktion einleiten. Aus den Leitungsband-Elektronen entstehen somit „trapped electrons“, die man auch als  $Ti^{3+}$ -Ionen verstehen kann, während die Löcher im Valenzband in „trapped holes“ überführt werden, die man als  $O^-$ -Ionen identifizieren konnte (Berger et al. 2005)



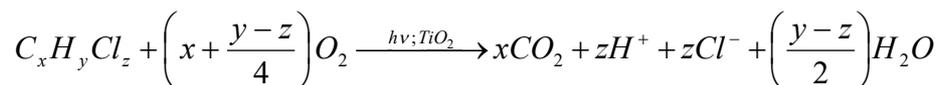
Des Weiteren konnten Berger et. al. zeigen, dass unter Anwesenheit von  $O_2$  auf der Oberfläche aus den „trapped electrons“ langlebige Superoxid-Anionen gebildet werden, die ihrerseits mit verschiedenen Ti-Kationen assoziiert vorliegen.



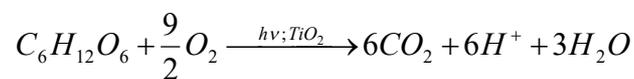
Unter Anwesenheit von Wasser fungiert das Wassermolekül unter Bildung eines Hydroxylradikals als Elektronendonator:



Eine allgemeine Stöchiometrie der photokatalytischen Abbaureaktion von Kohlenwasserstoffen ließe sich wie folgt formulieren (Hoffmann et al. 1995):



Die Stöchiometrie für den Abbau von Glucose kann entsprechend folgendermaßen formuliert werden:



Stets ist Kohlendioxid eines der Endprodukte der photokatalytischen Abbaureaktion von organischen Verbindungen. Zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität bzw. der Mineralisierungsleistung von untersuchten Titandioxid-Oberflächen kann daher die  $CO_2$  Konzentration in einem abgeschlossenen System herangezogen werden.

### 1.3 Bakterizide Wirksamkeit photoaktivierter $TiO_2$ -Oberflächen

Photoaktivierte  $TiO_2$ -Oberflächen sind in der Lage Bakterien abzutöten und zu mineralisieren. Dies wurde unter anderem in Arbeiten der Arbeitsgruppe, in der diese Arbeit entstanden ist, untersucht. (Kuhn et al. 2003; Sunada et al. 2003b) und ist nach wie vor Gegenstand der Forschung. In einem aktuellen Übersichtsartikel beschreiben die Autoren die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten der keimabtötenden und auch virus-inaktivierenden Eigenschaften von photokatalytisch aktivem  $TiO_2$ . Gerade in Zeiten der Pandemie können demnach diese Systeme einen wertvollen Beitrag zur Keimreduktion leisten. Insbesondere das

Zusammenspiel von UV-Bestrahlung und Photokatalyse stellt einen aussichtsreichen Ansatz dar, um kosteneffektiven und umweltverträglich die Keimbelastung zu reduzieren (Bono et al. 2021). Die alleinige Behandlung mit UV-Licht zur Eindämmung und Abtötung von pathogenen Mikroorganismen, stellt eine günstige und umweltfreundliche Methode dar. Es werden beispielsweise UV-Lampen in medizinischen Behandlungsräumen installiert, um etwaige Bioaerosole zu inaktivieren (Kujundzic et al. 2006). Ein Nachteil liegt darin, dass zum Erreichen der keimabtötenden Wirkungen Wellenlängen im UV-B und UV-C-Bereich benötigt werden, die auch für den Menschen schädlich sind. Aus diesem Grund sind deren Einsatzmöglichkeiten beschränkt (Setlow et al. 1993). Es wird auch berichtet, dass es zu einer Photoreaktivierung bei bestimmten Keimarten nach UV-Behandlung kommen kann, so dass der alleinige Einsatz von UV-Licht zur Desinfektion meist nicht ausreicht (Kebbi et al. 2020). Hier kann die Anwendung von photokatalytisch aktiven  $\text{TiO}_2$ -Oberflächen im Zusammenspiel mit UV-A-Licht einen innovativen Weg eröffnen, um einige Nachteile der bisherigen Methoden zu vermeiden. Da die Keime durch das Einwirken der UV-A-Strahlung und zusätzlich der entstehenden radikalen Sauerstoffspezies auf vielfältige Weise geschädigt und letztendlich abgetötet werden (Bono et al. 2021).

#### **1.4 Behandlung komplexer Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid**

Auch der in diese Arbeit erstmals untersuchte Abbau von komplexen Biomolekülen wie LPS und RNase-A wurde in weiteren Arbeiten aufgegriffen. Hilary Humphreys führt einzelne Ergebnisse des Forschungsprojektes zum Abbau komplexer Biomoleküle, die bereits publiziert wurden (Kurz et al. 2011) in einem Übersichtsartikel auf. Sie beschreibt diese Biomoleküle als wichtige Marker in der pharmazeutischen Industrie (Humphreys 2014). Ein innovativer, praktischer Ansatz liegt in der Idee bakterielle organische Kontaminationen von medizinischen Implantaten vor der Operation durch Photokatalyse zu zerstören. Das Implantat, das mit einer  $\text{TiO}_2$ -Schicht überzogen ist, soll vor der Operation mit UV-Licht behandelt werden, um Bakterien und LPS photokatalytisch abzubauen (Johnson et al. 2020). Andere Gruppen befassten sich mit  $\text{TiO}_2$ -Beschichtungen für Zahnimplantate, um Periimplantitis zu verhindern. Periimplantitis beschreibt eine Form der Parodontitis bei der eine Entzündung des Implantatbetts vorliegt. Zur Vermeidung von Periimplantitis bedarf es der vollständigen Entfernung von bakteriellen organischen Kontaminationen wie LPS, was durch Photokatalyse vor dem Einsetzen des Implants erreicht werden soll, so die Autoren. Durch eine Plasma-elektrolytische Oxidation gelang es der Arbeitsgruppe um Hao Wu eine  $\text{TiO}_2$ -Beschichtung herzustellen, die mittels sichtbarem Licht Methylenblau und LPS abbauen kann und eine erhöhte mechanische Belastbarkeit aufweist (Hirota et al. 2021; Wu et al. 2019). Die vorab publizierten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zum Abbau von LPS lieferten Grundlagen zum Verständnis der Wirkung dieser speziellen Beschichtungsmethode.

## 1.5 Elektrochemische Grundlagen

Ein Ziel dieser Arbeit ist es, eine objektivierbare Methode zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität von Titandioxid-Oberflächen zu entwickeln. Der Ansatz besteht darin, eine physikalische Messmethode zur Erfassung elektrischer Spannungen an den  $\text{TiO}_2$ -Oberflächen zu untersuchen. Durch die Anregung von Halbleiter-Elektronen bei Einstrahlung von Licht geeigneter Wellenlänge entstehen Ladungsträger an der Halbleiter-Oberfläche (Ikram et al. 2021). Die Anwesenheit der Ladungsträger führt folglich zu elektrischen Potentialdifferenzen zwischen beleuchteten und unbeleuchteten Oberflächenarealen, die messtechnisch erfasst werden sollen. Die grundlegenden chemisch-physikalischen Eigenschaften, die zum Verständnis der Entstehung der elektrischen Potentialdifferenzen notwendig sind, werden nachfolgend erklärt. Insbesondere sind hier Effekte zu berücksichtigen, die bei Anregung der Elektronen im Halbleiter Titandioxid auftreten können.

### 1.5.1 Innerer Photoeffekt

Das Auftreten von Elektron-Loch-Paaren im  $\text{TiO}_2$ , die für die untersuchten Wirkungen verantwortlich sind, lassen sich physikalisch über den sogenannten *Inneren Photoeffekt* erklären. Der *Innere Photoelektrische Effekt* oder *Innere Photoeffekt* tritt beim Auftreffen von Licht geeigneter Wellenlänge auf Halbleitermaterialien ein. Dabei werden wie beim Auftreffen von UV-A Licht auf  $\text{TiO}_2$  Elektronen des Valenzbandes in das Leitungsband des Halbleiters angehoben. Man unterscheidet beim *Inneren Photoeffekt* zwischen Photoleitung und *Photovoltaischem Effekt*. Bei der Photoleitung wird durch das Anheben der Valenzelektronen in das Leitungsband die elektrische Leitfähigkeit des Halbleiters erhöht bzw. der *Ohmsche Widerstand* des Festkörpers herabgesetzt. Die bei der Anregung gebildeten separierten Elektron-Loch-Paare ermöglichen bei Anlegen einer Spannung den Ladungstransport, also die Leitfähigkeit. Der *Photovoltaische Effekt* wird insbesondere in Solarzellen zur Erzeugung von Strom genutzt.

### 1.5.2 Äußerer Photoeffekt

Ein zweiter photophysikalischer Effekt ist der *Äußere Photoeffekt* (auch *Hallwachs-Effekt*). Er soll der Vollständigkeit halber hier kurz erwähnt werden. Er beschreibt das Austreten von Elektronen aus einer Halbleiter- oder Metalloberfläche durch die Einwirkung von Licht. In dem hier betrachteten Fall der Anregung mit UV-A-Licht spielt er jedoch keine direkte Rolle, da die Photonenenergie der eingesetzten Lichtquelle des Wellenlängenbereichs 340-400 nm mit 3,65 - 4,1 eV unterhalb der Austrittsarbeit der eingesetzten Materialien liegt (Jiang et al. 2003; Kashiwaya et al. 2018). Die Literaturwerte sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Austrittsarbeit der eingesetzten Materialien

Material	TiO <sub>2</sub>	Platin	ITO
Austrittsarbeit [eV]	4,7-6,79	5,32-5,66	4,9

### 1.5.3 Entstehung von elektrischen Potentialdifferenzen, Nernst'sche Gleichung

Die zu entwickelnde Methode beruht auf der Messung von elektrischen Spannungen, die in einem chemisch-physikalischen System auftreten. Zum Verständnis über die ablaufenden Vorgänge, sollen zunächst die Vorgänge betrachtet werden, die in gängigen elektrochemischen Halbzellen ablaufen. Zur Messung der elektrochemischen Potentialdifferenz wird üblicherweise die elektrochemische Zelle eingesetzt. Diese besteht in ihrem allgemeinen Aufbau aus zwei Halbzellen (HZ), die durch eine poröse Membran verbunden sind. Beide Halbzellen sind mit einem Elektrolyten befüllt. Durch Eintauchen je einer Elektrode in die Halbzellen entsteht eine elektrochemische Potentialdifferenz zwischen den Elektroden. Diese kann stromlos zwischen den Elektroden gemessen werden kann. Die Potentialdifferenz entsteht durch die räumlich in den HZ getrennten Oxidations- und Reduktionsvorgänge. Die Elektrode, an der die Oxidation, also die Elektronenabgabe stattfindet, wird als Anode bezeichnet. Die Kathode ist die Elektrode, an der die Reduktionsreaktion, also die Elektronenaufnahme stattfindet. Die *Nernst'sche Gleichung* bringt die elektrische Größe der Potentialdifferenz (Spannung) mit der chemischen Größe der Konzentration in Verbindung.

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \cdot \ln Q$$

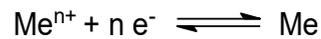
Dabei ist  $E^0$  das Standardelektrodenpotential, R die molare Gaskonstante, T die Temperatur [K], n die Anzahl der übertragenen Elektronen, F die Faraday-Konstante und Q der Reaktionsquotient  $c_{Ox.}/c_{Red.}$  aus den Konzentrationen der Redoxpartner. Die Gleichung lässt sich unter Einsetzen der Konstanten und für T = 298 K (25°C) wie folgt vereinfachen:

$$E = E^0 + \frac{0,0257 V}{n} \ln Q$$

### 1.5.4 Elektrische Doppelschichten

Da die zur Entwicklung der Messmethode betrachteten photokatalytischen Systeme in wässriger Umgebung eines Elektrolyten vorliegen, spielt auch die Entstehung von elektrischen Doppelschichten eine Rolle. Beim

Eintauchen einer metallischen Elektrode in einen Elektrolyten mit Metallionen, kann an der Elektroden-Oberfläche die folgenden Gleichgewichtsreaktion stattfinden:



Wenn die Hinreaktion überwiegt, sich die gelösten Metallionen also unter Elektronenaufnahme an der Oberfläche anlagern, lädt sich die Elektrode positiv auf. Diesen Effekt bezeichnet man als Überspannung. Die positive Ladung der Elektrode zieht aus der Lösung Anionen an, wodurch sich eine elektrische Doppelschicht ausbildet. Abbildung 2 stellt dies grafisch dar.

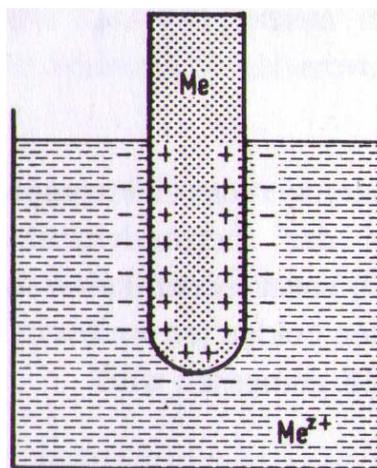


Abbildung 2:Ausbildung einer elektrischen Doppelschicht an einer Metallelektrode beim Eintauchen in einen Elektrolyten (Hamann 2007).

Zur Beschreibung der elektrischen Doppelschicht können unterschiedlich komplexe Modelle herangezogen werden. Das einfachste Modell ist die *Starre Helmholtz-Doppelschicht*. Die Grenzschicht zwischen Elektroden-Oberfläche und Elektrolyt wird darin als starre Ladungsebene beschrieben. Durch die Solvathülle der Anionen im Elektrolyten weisen diese einen gewissen Abstand zur Elektrode auf. Durch den Ladungsunterschied zwischen der Elektrode und dem Elektrolyten bildet sich eine Potentialdifferenz aus, die als *Galvani-Potential* bezeichnet wird. Diese Beschreibung entspricht jedoch nur einem groben Modell, da in realen Anordnungen die thermischen Bewegungen der beteiligten Teilchen berücksichtigt werden müssen. Besser beschreibt daher die thermische Boltzmann-Verteilung den Sachverhalt. Im *Gouy-Chapman-Modell* wird dies in Form einer diffusen Doppelschicht berücksichtigt. Hierbei nimmt das Potential exponentiell mit dem Abstand ab. Näherungsweise werden die Ionen dabei als Punktladungen betrachtet, so dass die Teilchen beliebig nah vor der Oberfläche vorliegen können. Im Modell von Stern werden die beide zuvor genannten Modelle der starren und diffusen Doppelschichten kombiniert. Abbildung 3 stellt dies grafisch dar.

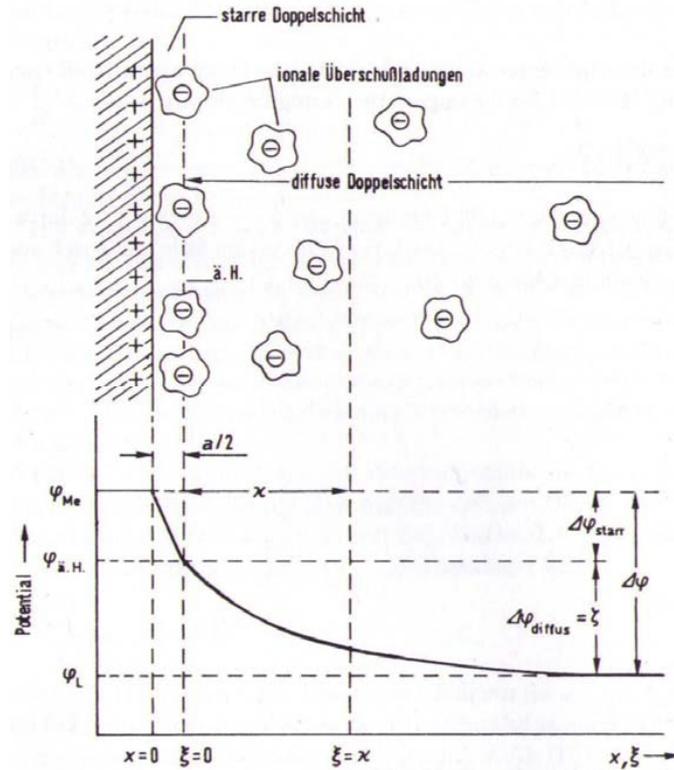


Abbildung 3: Kombiniertes Modell der elektrischen Doppelschicht nach Stern mit Anteilen einer starren und einer diffusen Doppelschicht (Hamann 2007).

Eine weitere Verfeinerung des Modells lieferte David C. Grahame. Er ging von einer inneren und einer äußeren Helmholtz-Schicht aus. Die innere Schicht bilden hierbei Ionen, die durch Kontaktadsorption auf der Oberfläche haften. Die äußere Schicht bilden solvatisierte Ionen mit einem gewissen Abstand zur Elektroden-Oberfläche. Beide Potentialverläufe sind linear, wobei der der inneren Schicht steiler verläuft. In weiterer Entfernung beschreibt er auch Anteile einer diffusen Doppelschicht. Als Ersatzschaltbild für die Doppelschichtkapazität können in Reihe geschaltete Kondensatoren dienen. In Abbildung 4 ist dies dargestellt, wobei  $C_1$  die innere Helmholtz-Schicht,  $C_2$  die äußere Helmholtz-Schicht und  $C_3$  die diffuse Schicht beschreiben (Hamann et al. 2007; Holze 1998a).

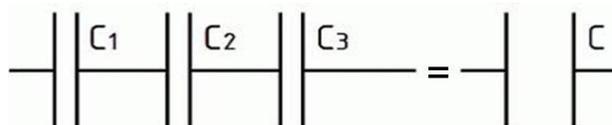


Abbildung 4: Reihenschaltung von Kondensatoren als Ersatzschaltbild für die elektrischen Doppelschichten (Holze 1998a; Holze 1998b).

### 1.5.5 Kondensator-Modell und die Näherung einer Starren Helmholtz-Doppelschicht

Zur weiteren modellhaften Betrachtung des Kondensators wird die *Starre Helmholtz-Doppelschicht* herangezogen. Die Breite der Doppelschicht  $d$  kann dabei als der halbe Durchmesser der solvatisierten Ionen beschrieben werden (Hamann et al. 2007). Allgemein gilt für einen Plattenkondensator mit planparallelen Platten im Abstand  $d$ , der Ladung  $Q$  und der Spannung  $U$ :

$$C = \frac{Q}{U} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r A}{d}$$

Dabei sind  $\epsilon_0$  die elektrische Feldkonstante,  $\epsilon_r$  die Dielektrizitätskonstante und  $A$  die Kondensatorfläche.  $Q$  entspricht nun bei der Helmholtz-Doppelschicht der Überschussladung im Elektrolyten. Die Spannung  $U$  entspricht der Potentialdifferenz  $\Delta\varphi_{Hh}$  zwischen der Elektrode und der äußeren Helmholtz-Schicht. Es ergibt sich daraus:

$$\Delta\varphi_{Hh} = \frac{d \cdot Q}{\epsilon_0 \epsilon_r A}$$

Als Zahlenbeispiel mit  $A = 1 \text{ cm}^2$ ,  $\epsilon_r = 80$  für Wasser und  $d = 0,2 \text{ nm}$  ergibt sich für die Kapazität des Kondensators  $C = 350 \text{ } \mu\text{F cm}^{-2}$ . Experimentelle Werte liegen im Bereich von  $5\text{-}50 \text{ } \mu\text{F cm}^{-2}$ . Durch die resultierenden elektrischen Feldstärken können somit in Lösungen Potentialdifferenzen von einigen hundert Millivolt auftreten (Hamann et al. 2007). Die räumliche Ausdehnung der Helmholtz-Doppelschichten werden durch die Debye-Längen in Metallen mit ca.  $0,1 \text{ nm}$  und im Elektrolyten mit  $0,1\text{-}10 \text{ nm}$  angegeben. Im Elektrolyten ist sie abhängig von der Größe der solvatisierten Ionen und deren Beweglichkeit. Für den Plattenkondensator gilt:

$$Q = C \cdot U \quad \text{und} \quad C = \epsilon_0 \epsilon_r \frac{A}{d}$$

In einem Gleichstromkreis stellt der Plattenkondensator einen unendlichen Widerstand da. Lediglich während der Lade- und Entladevorgänge beim Ein- und Ausschalten fließt ein Strom. Dadurch baut sich die Kondensatorspannung auf bzw. ab. Beim Laden des Kondensators entzieht die Spannungsquelle der einen Kondensatorplatte Elektronen und führt sie der gegenüberliegenden Platte zu. Diese Ladungsverschiebung führt zu einer messbaren Potentialdifferenz zwischen den Platten (Volkman und Vorndran 1999). Die Kurvenverläufe der Potentialdifferenz für den Lade- und Entladevorgang folgen den Exponential-Funktionen:  $U(t) = U_{max} \cdot (1 - e^{-t/\tau})$  für den Ladevorgang und  $U(t) = U_{max} \cdot e^{-t/\tau}$  für den Entladevorgang.

Die Kurvenverläufe sind in Abbildung 5 dargestellt. Wobei  $\tau$  die Zeitkonstante ist, für die gilt:  $\tau = R \cdot C$ . Sie gibt die Zeit an, die benötigt wird, bis die Kondensatorspannung auf 63% angestiegen ist. Die gesamte Ladezeit eines Plattenkondensators beträgt ca. 5 Zeitkonstanten (Mechelke 1985).

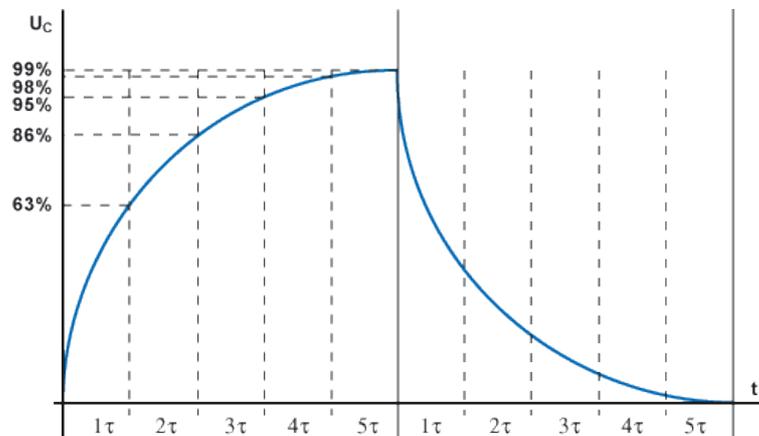


Abbildung 5: Spannung-Zeit-Diagramm beim Laden und Entladen eines Plattenkondensators. Die ansteigende Kurve beschreibt den Ladevorgang, während die abfallende Kurve den Entladevorgang beschreibt (Mechelke 1985).

### 1.5.6 Elektrochemische Wasseranalytik – Zusammenhang mit der bakteriziden Wirksamkeit

Elektrochemische Potentiale bzw. Potentialdifferenzen können in vielfältigen Bereichen zur Ermittlung des chemischen Verhalten von Redox-Systemen herangezogen werden. So dient das Redoxpotential bzw. die Redoxspannung beispielsweise in der Schwimmbadwasser-Analytik als Korrelationsgröße für die Desinfektionswirkung im Wasser. Sie stellt einen Summenparameter dar, der die oxidierende und damit keimabtötende Wirkung von Desinfektionsmitteln (oxidierend wirkende Stoffen) im Badewasser unter Berücksichtigung der momentan vorliegenden Verunreinigungen (reduzierend wirkende Stoffen) angibt. Die Spannung ist folglich vom Verhältnis Oxidationsmittel (freies Chlor) zu Reduktionsmittel (Verunreinigungen) abhängig. Da in Schwimmbadwasser die Konzentration an freiem Chlor in der Regel groß gegenüber der der Verunreinigungen ist, kann deren Konzentration vernachlässigt werden. Dies führt zu einem Einparametersystem, bei welchem man die Redoxspannung über die *Nernst'sche Gleichung* abschätzen kann (Peiffer et al. 1992). Für die Wirksamkeit der Desinfektion gilt eine Keimabtötung von 4 Zehnerpotenzen innerhalb von 30 Sekunden an *Pseudomonas aeruginosa*. Diese Abtötungsgeschwindigkeit wird in der Bädertechnik über die Messung der Redoxspannung kontinuierlich gemessen. Bei einwandfreier Wasserbeschaffenheit genügen beispielsweise  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  freies Chlor, um eine Redoxspannung von 700 mV zu erhalten. Laut DIN 19643 wird im pH-Bereich 6,5–7,3 eine Mindestspannung von 750 mV bei Süßwasser gefordert (DIN-19643-1:2012-11 2012).

## 1.6 Stand der Technik - Methoden zur Bestimmung der photokatalytischen

### Aktivität

Die Bestimmung der photokatalytischen Aktivität von  $\text{TiO}_2$  kann durch Abbaureaktionen und entsprechende Messungen der entstehenden Produkte oder der verbrauchten Edukte erfolgen. Anders ausgedrückt gilt der Rückgang der Prüfkonzentration oder deren chemische Veränderung als Maß für die photokatalytische Aktivität einer zu untersuchenden Probe. Dazu wird meist die Zersetzung organischer Moleküle oder die Abtötung von Bakterien herangezogen. Nachfolgend sind verschiedene Methoden zur Bestimmung der photokatalytischen Aktivität unter definierter Beleuchtung mit UV-A-Licht beschrieben. Neben den hier exemplarisch beschriebenen Verfahren gibt es noch zahlreiche weitere, wie den Abbau von  $\text{NO}_x$  oder Methanol (Lee et al. 2021; Moulis und Krýsa 2015).

Alle Methoden beruhen auf dem Indikatorprinzip, bei dem eine Substanz in ihrer Abbaubarkeit als Stellvertreter für „alle“ Substanzen verwendet wird. Dieses Konzept weist verständlicherweise Schwächen auf: Die Abbaubarkeit oder photokatalytische Veränderung einer bestimmten Verbindung ist in jedem Fall auch durch ihre Struktur bedingt. Die Verwendung bestimmter physikalisch-chemischer Eigenschaften zur Charakterisierung ist daher aus wissenschaftlicher Sicht unbedingt notwendig und stellt eines der Ziele dieser Arbeit dar.

#### 1.6.1 Photolyse - Bestimmung durch Abbau von Methylenblau

Eine der ältesten verwendeten Indikatorverbindungen zur Charakterisierung des photochemischen Leistungsvermögens ist Methylenblau. Da für diese Verbindung mittlerweile zahlreiche Untersuchungen an den unterschiedlichsten Modifikationen der Oberflächen vorliegen, können Oberflächen bezüglich ihrer Wirksamkeit gut verglichen werden – allerdings nur für Stoffe, die chemisch grundsätzlich ähnlich sind. Methylenblau (Abbildung 6) ist ein weit verbreiteter Farbstoff, der in erster Linie als Redoxindikator Anwendung findet. Die dunkelgrünen Kristalle des Methylenblaus bilden mit Wasser eine dunkelblaue Lösung. Die dunkelblaue Farbe der Methylenblau-Lösung resultiert aus der Absorption von Licht bei 665 nm seines chinoiden Systems.

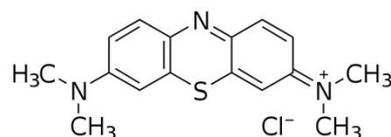


Abbildung 6: Strukturformel des Methylenblau-Moleküls.

Die derzeit gängigste Methode zur Bestimmung der photokatalytischen Aktivität ist die Messung der Entfärbegeschwindigkeit einer wässrigen Methylenblau-Lösung. Für diese Methode existiert seit 2008 eine deutsche Norm (DIN 52980), die in 2020 aktualisiert wurde (DIN-52980:2020-11 2020; Lyczak et al. 2000; Tena und Fernández 2015). Das Methylenblau wird in wässriger Lösung mit der zu untersuchenden photokatalytisch ausgerüsteten Probe in Kontakt gebracht. Die Probe wird durch die überstehende Lösung hindurch mit für Methylenblau nicht photolytisch wirkender Strahlung ( $320 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$ ) bestrahlt, die dazu geeignet ist, den zu prüfenden Photokatalysator zu aktivieren. Im Verlauf der Bestrahlung wird die Lösung durch die photokatalytisch entstehenden reaktiven Spezies durch chemische Veränderungen am Farbstoffmolekül entfärbt. Der Farbstoffgehalt in der Lösung wird mittels UV/Vis-Spektroskopie während des Messverlaufs bestimmt. Aus der Abnahme der Färbung lässt sich die Konzentrationsabnahme des Farbstoffs nach dem *Lambert-Beer-Gesetz* bestimmen. Zur Bestimmung einer nur scheinbaren photokatalytischen Entfärbung durch beispielsweise Adsorption des Farbstoffs an der Probe, wird eine Referenzmessung durchgeführt. Diese wird entweder mit photokatalytisch aktiver Beschichtung eines Probekörpers ohne Bestrahlung durchgeführt oder ein gleichartiger Probekörper parallel in einem zweiten Gefäß untersucht, dessen Oberfläche gegen die Bestrahlung abgeschattet ist. Aus den Messungen können die spezifische Abbauraten und die Photoneneffizienz der Probekörper-Oberfläche berechnet werden (DIN 52980:2008-10). Insgesamt erfolgt die Ermittlung der photokatalytischen Aktivität also durch die Bestimmung der Abbauraten des Edukts. Hierbei gilt es zu berücksichtigen, dass bereits ein oder einige wenige Reaktionsschritte am Methylenblau-Molekül ausreichen, um das chromophore System derart zu verändern, dass die Lösung entfärbt wird.

Die bisherige ISO-Norm unter Verwendung von Methylenblau wies auch einige Schwächen durch fehlende Spezifikation der Testparameter auf (Mills 2012). Diese zeigten sich durch die breitere Streuung der Ergebnisse zwischen unterschiedlichen Laboren ( $\pm 30,6 \%$ ) und bei aufeinander folgenden Tests innerhalb eines Labors ( $\pm 9,2 \%$ ). Die Ursachen für die Abweichungen fasst Mills wie folgt zusammen:

- a) uneinheitliche Reinheit der Methylenblau-Präparate und damit verschiedene Konzentrationen in den jeweiligen Farbstofflösungen
- b) Adsorption des Farbstoff auf den Proben und deren pH-Wert-Abhängigkeit
- c) Einfluss der Lichtquelle
- d) Einflüsse durch die Durchmischung der Lösung während der Messung
- e) unterschiedliche Reaktionswege und Kinetiken zur Entfärbung wie oxidative Spaltung, Spaltung nach Photosensibilisierung und Entfärbung durch Reduktion

Durch die Aktualisierung der Norm in 2020 wurden die von Mills angesprochenen verfahrenstechnischen Schwächen beseitigt. Die Nachteile, die durch die Chemie des Farbstoffs entstehen, können jedoch nur bedingt optimiert werden. Zu berücksichtigen sind hier die unter reduktiven Bedingungen vorliegende Reaktion des Methyleneblau zum farblosen Leuko-Methyleneblau und seine Eigenschaften zur Photosensibilisierung insbesondere unter Einwirkung von Licht im sichtbaren Spektralbereich.

Unter reduzierenden Bedingungen geht Methyleneblau in seine farblose Leukoform (Leuko-Methyleneblau) über. Dieser Farbumschlag ist reversibel und kann entsprechend durch Oxidation umgekehrt werden. Abbildung 7 zeigt die entsprechende Reaktionsgleichung. Durch die Reduktion wird das konjugierte, chinoide System aufgehoben, die Absorption bei 665 nm kann nicht mehr erfolgen und die Lösung erscheint farblos. Ebenso kann es durch die Bildung von oxidierend wirkenden Verbindungen auf der  $\text{TiO}_2$ -Oberfläche durch die Photokatalyse zu Oxidationsvorgängen an den Farbstoffmolekülen kommen. Durch den Angriff oxidierend wirkender Spezies kann das chinoide System zerstört werden, so dass die Absorption bei 665 nm auch nicht mehr möglich ist. Verfolgt man nun zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität die Absorption des Methyleneblau bei 665 nm, so kann man nicht unmittelbar unterscheiden, ob die Entfärbung durch Reduktion oder Oxidation erfolgt (Lee et al. 2018; Mills 2012).

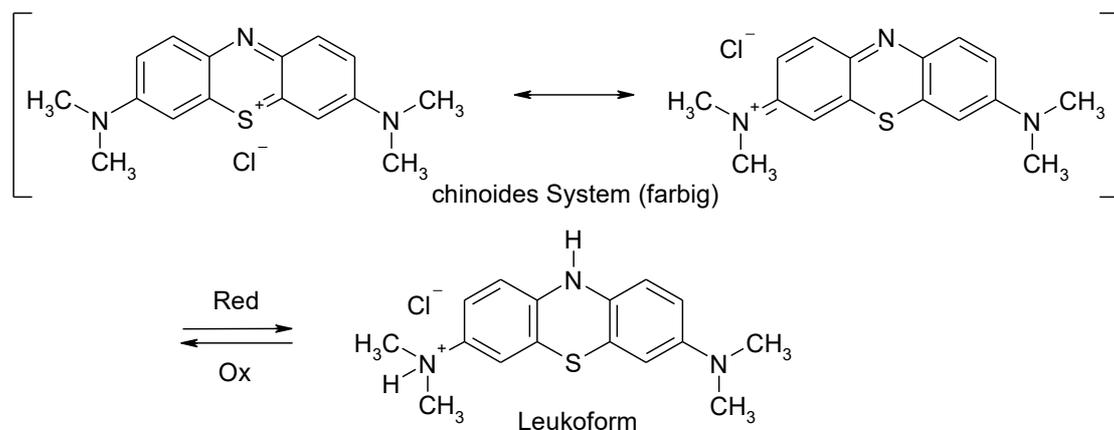


Abbildung 7: Reversible Redoxreaktion des Methyleneblau zur farblosen Leukoform.

Der zweite wichtige Effekt ist die Photosensibilisierung des Farbstoffs (Rochkind et al. 2015). Bei Bestrahlung mit sichtbarem Licht im Wellenlängenbereich von 600 - 680 nm zeigt Methyleneblau eine Elektronenanregung durch Photoabsorption. Durch die Anregung entsteht ein instabiles Radikalkation des Farbstoffs, das daraufhin in farblose Reaktionsprodukte zerfallen kann. Folglich ist Methyleneblau zumindest für die Untersuchung von dotierten  $\text{TiO}_2$ -Verbindungen, die im sichtbaren Bereich des Lichtspektrums aktiv sind, nicht geeignet (Lee et al. 2018; Yan et al. 2006). Im UV-A-Bereich scheint die Photosensibilisierung eher nicht aufzutreten, so dass zumindest in diesem Spektralbereich das Überlagern der beiden Effekte

Photokatalyse und Photosensibilisierung keine große Rolle spielt (Lee und Mills 2003). Insgesamt ist der Test mit Methylenblau nicht optimal und seine Anwendung wird durch die Anpassungen in der neuen ISO-Norm zum Teil auch aufwändiger. Aus diesem Grund könnte der Ansatz über die in der vorliegenden Arbeit entwickelte physikalische Messmethode eine Alternative darstellen.

### **1.6.2 Photomineralisierung - Bestimmung durch Messung der CO<sub>2</sub>-Bildung**

Eine vergleichsweise neuere und innovativere Methode zur Aktivitätsbestimmung ist die Messung der Photomineralisierungsleistung, die allerdings technisch wesentlich aufwändig ist, und die ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit optimiert werden soll. Bereits im Jahr 2002 beschrieben Wolfrum et al. eine Methode zur Beurteilung der Mineralisierungsleistung von Photokatalysatoren (Wolfrum et al. 2002). Dabei wurde die vollständige Oxidation von Bakterien, Sporen und Biomolekülen durch die CO<sub>2</sub>-Entstehung im Verlaufe der photokatalytischen Abbaureaktionen betrachtet. Ein Photokatalyse-Reaktor mit Rezirkulation des Gasvolumens wurde dazu aufgebaut. In diesen Photoreaktor konnte eine mit TiO<sub>2</sub> beschichtete Oberfläche eingebracht werden, auf die beispielsweise Mikroorganismen wie *E. coli* aus Suspension appliziert wurden. Die Bestrahlung der Probe erfolgte durch ein Quarzglas-Fenster mit einer UV-A Lichtquelle. Während des Versuchs wurde das Gasvolumen im System durch eine Pumpe zirkuliert und mittels NDIR-Detektion der CO<sub>2</sub>-Anteil bestimmt. So war es möglich die Kinetik der vollständigen photokatalytischen Oxidation organischer Substrate zu verfolgen (Wolfrum et al. 2002). Durch den aufwendigen experimentellen Aufbau ist dieser Ansatz allerdings für schnelle und einfache Messungen ungeeignet. Daher wurde im Rahmen der zuvor angefertigten Diplomarbeit aufbauend auf dieser Publikation ein vereinfachtes Verfahren zur Ermittlung der Photo-Mineralisierung entwickelt. Dieses Verfahren wurde auch im Rahmen der vorliegenden Dissertation mehrfach eingesetzt, weiter optimiert und ist in u.a. in Kapitel 2.12 beschrieben.

### **1.6.3 Photodesinfektion**

Der Unterschied zwischen einer Desinfektions- und einer Sterilisationsmaßnahme besteht darin, dass bei der Sterilisation eine vollständige Befreiung von vermehrungsfähigen Keimen erfolgt, während die Desinfektion die Keimzahl soweit reduziert, dass keine Infektionsgefahr mehr vorliegt. In der englischsprachigen Literatur werden allerdings beide Begriffe häufig im gleichen Sinn verwendet. Bei der hier untersuchten Photodesinfektion wird der Rückgang der Keimzahl unter Einwirkung von photokatalytisch aktiviertem TiO<sub>2</sub> betrachtet. Dazu werden Keimsuspensionen verwendet, die entweder auf die beschichteten Prüfkörper aufgebracht werden oder die Prüfkörper werden in diese gelegt. Nach bestimmten Bestrahlungsintervallen werden dann Proben entnommen und diese bebrütet und ausgezählt. Als Referenz dient in der Regel die Untersuchung an einer nicht photokatalytisch aktiven Probe. Dieses

Verfahren wurde im Rahmen dieser Arbeit sowohl auf trockenen Proben mit dem Testkeim *Sarcina lutea* als auch in Suspension mit den Testkeimen *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa* durchgeführt, wie in den Abschnitten 2.2 und 2.3 beschrieben.

Der Übergang zwischen Sterilisation und Desinfektion im klassischen Sinn ist in diesem Zusammenhang schwierig. Während chemische Desinfektionsmittel nie zu einer vollständigen Eliminierung der Keime führen und physikalische Methoden wie z.B. die Bestrahlung mit UV-Licht durch Schattenwurf in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt werden, ist die Desinfektionswirkung der hier untersuchten TiO<sub>2</sub>-beschichteten Oberflächen eine Materialeigenschaft. Im Grunde kann die Photokatalyse dann tatsächlich bis zur Sterilität führen (Zhang et al. 2020a).

## **1.7 Zielsetzung der Arbeit**

Die Untersuchung der photokatalytischen Aktivität des Halbleiters Titandioxid steht im Zentrum dieser Arbeit. Es sollten zum einen medizinische Aspekte mit Bezug zur Hygiene exemplarisch untersucht werden und zum anderen neuartige Strategien zur objektivierbaren Ermittlung der photokatalytischen Aktivität entwickelt werden, die nicht auf chemischen Indikatoren, sondern auf der Messung der relevanten Oberflächeneigenschaften beruhen.

Ein medizinischer Aspekt mit besonderer hygienischer Bedeutung ist die bakterizide Wirksamkeit von Titandioxid beschichteten Oberflächen. Es sollte daher zunächst untersucht werden, ob und vor allem wie vollständig Bakterien in Suspension und auf trockenen Oberflächen durch Photokatalyse abgetötet und zerstört („mineralisiert“) werden können. Es sollte zudem auch die durch die Zersetzung von Bakterien verbleibenden Zellbestandteile und mögliche Endotoxine betrachtet werden, um festzustellen, ob beispielsweise immunstimulatorische Biomoleküle durch photokatalytische Reaktionen inaktiviert werden können.

Vor dem Hintergrund der photochemischen Aktivität von TiO<sub>2</sub>, die im Mittelpunkt dieser Arbeit steht, stellt sich die Frage, inwieweit diese Aktivität auch zu unerwünschten Effekten führen kann, beispielsweise wenn TiO<sub>2</sub> in Lebensmitteln oder in Materialien zur direkten Anwendung auf der menschlichen Haut verwendet wird. Ein zweiter, unmittelbarer Aspekt dieser Arbeit liegt daher in der verbreiteten Anwendung des Titandioxids als wirksame Substanz in Sonnenschutzmitteln, auch als Beispiel für andere Produkte mit unmittelbarer Anwendung. Es sollte anhand von kommerziell erhältlichen Proben untersucht werden, ob und in welchen Mengen gegebenenfalls photokatalytisch aktives Material in den Präparaten vorhanden ist, das unter Umständen zu Zellschäden führen könnte. Im Rahmen dieser Arbeit sollten in diesem

Zusammenhang Detailfragen geklärt werden, zu denen beispielsweise die in den Präparaten enthaltenen  $\text{TiO}_2$ -Konzentrationen und Kristallmodifikationen, sowie deren photokatalytische Aktivität gehören.

Als dritter Aspekt sollte im Rahmen dieser Arbeit nach einer neuen Methode zur Messung und objektivierbaren Bewertung der photokatalytischen und damit auch der desinfizierenden Aktivität gesucht werden. Während die derzeit vorhandenen chemischen und biologischen Methoden zur Bewertung der photokatalytischen Aktivität auf einer empirischen Basis beruhen, bei der experimentell die Wirkung auf einen spezifischen Indikator untersucht wird, sollte ein neuartiger Ansatz verfolgt werden, der auf einer physikalische Messmethode zur Erfassung von elektrischen Potentialdifferenzen beruht. Weitere Vorteile einer solchen Messmethode liegen darin, dass sie ohne den Einsatz zusätzlicher Chemikalien auskommt und ihre Durchführung kostengünstig durchführbar ist. Die Erfassung der Messwerte ist direkt per Computer möglich, so dass sie in Echtzeit quasi online erledigt werden kann.

Diese drei Aspekte bauen aufeinander auf. Als hygienisch höchst relevante Anwendung von  $\text{TiO}_2$ -beschichteten Oberflächen sollte zunächst die Photodesinfektion untersucht werden. Zunächst wurde dazu die Abtötung von Testkeimen in Suspension untersucht. Da viele potentielle Anwendungen beispielsweise zur Eindämmung nosokomialer Infektionen auf trockene Oberflächen bezogen werden können, wurde daraufhin die keimabtötende Wirksamkeit der Photokatalyse auf trockenen Proben mit einem passenden Testkeim untersucht. Daraus ergab sich die Fragestellung, ob auch Endotoxine, die durch die abgetöteten Bakterien auf der Oberfläche zurückbleiben, photokatalytisch durch die  $\text{TiO}_2$ -Beschichtung inaktiviert werden können. Als Modellverbindungen für solche komplexen Biomoleküle wurden Lipopolysaccharide und RNase A gewählt. Im Zusammenhang mit der Zerstörung komplexer Biomoleküle ergibt sich die Fragestellung, ob solche Reaktionen auch intrazellulär denkbar sind. Da  $\text{TiO}_2$  als UV-Absorber in kosmetischen Produkten weit verbreitet ist, sollte untersucht werden, ob und in welchen Mengen photokatalytisch aktives  $\text{TiO}_2$  in solchen Produkten vorhanden ist und ob davon unter Umständen ein Gefährdungspotential ausgeht. Projektziele der anderen Partner des Verbundprojekts, das mittlerweile erfolgreich abgeschlossen wurde, bestanden unter anderem darin, unterschiedliche Beschichtungsmethoden beispielsweise auf Basis des Sol-Gel-Verfahren, des Magnetron-Sputtern oder Kaltgas-Spritzens für unterschiedliche Substrate zu entwickeln und derart zu optimieren, dass beständige und photokatalytisch wirksame Schichten hergestellt und charakterisiert werden konnten. Zur Charakterisierung der hergestellten Schichten spielt der weit verbreitete Methyleneblau-Abbau eine wichtige Rolle. So ist dieser auch das bisher einzige Verfahren, das in einer ISO-Norm verankert wurde. Da das Verfahren, das auf Basis der Entfärbung des Redoxfarbstoffs Methyleneblau beruht, gewisse Schwächen aufweist, sollte eine innovative Messmethode entwickelt werden, die eine objektivierbare Ermittlung der photokatalytischen Aktivität der Schichten mit einer physikalischen Methode möglich macht.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Beleuchtungskammer

Die Bestrahlungen mit UV-A-Licht zur photokatalytischen Aktivierung des  $\text{TiO}_2$  für die Versuche zur  $\text{CO}_2$ -Messung, der Entfärbung von Methylenblau-Lösungen, der Bakterienabtötung und die Versuche zur Inaktivierung von LPS und RNase A, wurden in einer Beleuchtungskammer der Firma MRC Systems GmbH, Heidelberg durchgeführt. Die Kammer enthält zwei Leuchtstoffröhren (Philips TL20W) mit einem Intensitätsmaximum bei  $\lambda = 365 \text{ nm}$ . Die Beleuchtungskammer ist mit einer Zeitschaltuhr, einer Temperaturanzeige für den Innenraum und einer Photodiode zur Messung der Bestrahlungsleistung ausgestattet. Die integrierte Photodiode misst die integrale Strahlungsleistung im spektralen Wellenlängenbereich der Lampen unterhalb von  $400 \text{ nm}$  und damit im für die  $\text{TiO}_2$ -Aktivierung relevanten Bereich. Die Bestrahlungsleistung kann über einen Regler stufenlos ( $0 - 1,5 \text{ mW cm}^{-2}$ ) eingestellt werden, wobei der Wert standardmäßig auf  $1 \text{ mW cm}^{-2}$  gehalten wurde, sofern bei den einzelnen Ergebnissen nichts anderes angegeben ist. Zwei zuschaltbare, integrierte Lüfter verhindern ein Aufheizen der Kammer. Je nach Anwendung wurden die Proben auf einem Orbitalshaker für Petrischalen oder einem Rollenschüttler zum kontinuierlichen Drehen der Headspace-Vials in der Kammer plaziert.



Abbildung 8: Beleuchtungskammer (MRC Systems, Heidelberg) zur UV-A-Bestrahlung der Proben.

### 2.2 Testkeime zur Bestimmung der keimabtötenden Wirksamkeit

Zur Ermittlung der keimabtötenden Wirksamkeit der photokatalytischen Proben wurde eine direkte Methode eingesetzt. Dazu wurden geeignete Testkeime ausgewählt, die je nach Keimart in Suspension oder in trockenem Zustand in Kontakt mit den  $\text{TiO}_2$ -Proben gebracht wurden.

### **2.2.1 Escherichia coli ATCC 11229**

*Escherichia coli* (*E. coli*) ist einer der am besten untersuchten mikrobiologischen Organismen und wird sehr häufig als Testkeim eingesetzt. *E. coli* ist ein gram-negatives Bakterium, das über eine einschichtige dünne Mureinhülle verfügt. Gram-positive und gram-negative Organismen sprechen unterschiedlich auf Antibiotika an, daher ist dieses Merkmal insbesondere auch in der Diagnostik von Infektionskrankheiten von großer Bedeutung. *E. coli* ist aerob oder fakultativ anaerob, das heißt, dass seine Energiegewinnung entweder durch Sauerstoffatmung oder Gärung stattfinden kann. Als Fäkalkeim kommt *E. coli* im Dickdarm und Kot von Menschen und Tieren vor und wird in der Trinkwasser- und Lebensmittelanalytik als Fäkalindikator verwendet. *E. coli* ist ein fakultativ pathogener Erreger, der Durchfallerkrankungen und Gerinnungsstörungen verursachen kann (Rudoy und Nelson 1974).

### **2.2.2 Pseudomonas aeruginosa DSM 539**

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ist ein gram-negatives Stäbchenbakterium und ein typischer Pfützenkeim. Da dieser Keim sehr anspruchslos in Hinblick auf Nährstoffe ist und sich in einem Temperaturbereich von 2–45 °C vermehren kann, entwickelt er sich beispielsweise auch in Trinkwasserbehältern und Rohrleitung unter Bildung von Biofilmen. Im gebildeten Alginate-Biofilm weist *P. aeruginosa* eine höhere Resistenz gegen Desinfektionsmittel und Hitze auf. *P. aeruginosa* ist obligat aerob, was bedeutet, dass seine Energiegewinnung durch Sauerstoffatmung erfolgt. Als humanpathogenes Bakterium kann es insbesondere bei immungeschwächten Personen schwere Infektionskrankheiten hervorrufen und gilt als Erreger des blau-grünen Eiters. In schweren Fällen kann es im Verlauf einer Infektion zu Bakteriämien (Bakterien im Blut) kommen. Symptome einer Infektion sind Haut- und Lungenentzündungen oder Mittelohrvereiterungen (Hassett et al. 2010; Lyczak et al. 2000; Tena und Fernández 2015).

### **2.2.3 Sarcina lutea DSMZ 348**

*Sarcina lutea* (*S. lutea*) ist ein gram-positives Bakterium. Es handelt sich um einen ubiquitär verbreiteten Luftkeim. *S. lutea* ist ein obligat anaerobes, kokkoides Bakterium. Die Versuche zur Abtötung dieses Keimes wurden in trockenem Milieu direkt auf den TiO<sub>2</sub>-Proben durchgeführt. *S. lutea* schützt sich durch Pigmentbildung gegenüber UV-Strahlung (Mathews und Sstrom 1960) und sollte daher allein durch die UV-A Bestrahlung nicht abgetötet werden, sondern erst durch die Wirkung der radikalen Sauerstoffspezies und oxidierend wirkenden Verbindungen, die durch die photokatalytischen Reaktionen entstehen.

## **2.3 Vorbereitung der Keimsuspensionen und Keimzahlbestimmung**

Zur Vorbereitung der verwendeten Stämme auf den jeweiligen Versuch wurden jeweils 0,5 mL Bakteriensuspension mit 30 mL CASO-Bouillon vermischt und für 12 h im Wasserbad bei 37°C geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension für 10 min bei 4000 U min<sup>-1</sup> zentrifugiert und der Überstand verworfen. Um das Nährmedium zu entfernen wurden die Bakterien zweimal mit 30 mL steriler 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung (NaCl-Lösung) gewaschen und zentrifugiert. Das Nährmedium musste sorgfältig ausgewaschen werden, um später bei der photokatalytischen Umsetzung nicht zu stören. Da das Nährmedium einen sehr hohen Anteil an oxidierbaren organischen Verbindungen enthält, ist davon auszugehen, dass die Mineralisierung dieser Bestandteile mit der Keimabtötung in Konkurrenz steht. Nach dem Waschen wurden die Bakterien in 30 mL NaCl-Lösung aufgenommen. Zur Keimzahlbestimmung wurde diese Suspension, die etwa 10<sup>9</sup> mL<sup>-1</sup> Keime enthält, wie im Folgenden beschrieben weiter verdünnt.

### **2.3.1 Bestimmung der Keimzahl**

Die Ausgangslösung mit etwa 10<sup>9</sup> mL<sup>-1</sup> Keimen wurde im ersten Schritt 1:100 verdünnt. Dazu wurden 100 µL Keimsuspension in 9,9 mL NaCl-Lösung gegeben. In zwei weiteren Schritten wurde diese Verdünnung wiederholt. Im letzten Schritt wurde noch einmal 1:10 verdünnt, wobei 1 mL der Keimsuspension in 9 mL NaCl-Lösung gegeben wurden. Bei jedem Verdünnungsschritt wurde auf eine gute Durchmischung geachtet. Dazu wurden die Reagenzgläser stets mit einem Vortex-Mischer etwa 10 Sekunden lang behandelt. Zur Bestimmung der Keimzahl der Ausgangssuspension wurden von der vorletzten Verdünnung 0,1 mL auf CASO-Agar-Platten (BD, Germany) ausgestrichen und über 24 h bei 37°C bebrütet. Um hieraus die Anfangskeimzahl zu ermitteln, multipliziert man die Anzahl der ausgezählten Kolonien mit 10<sup>7</sup>. Analog dazu wurden von der letzten Verdünnung 0,1 mL und 1,0 mL auf CASO-Platten ausgestrichen und entsprechend bebrütet. Die Anfangskeimzahl errechnet sich aus der ausgezählten Kolonienzahl, indem diese nun mit 10<sup>8</sup> bzw. 10<sup>7</sup> multipliziert wurden, um die Verdünnungen wieder heraus zu rechnen.

### **2.3.2 Vorbereitung der beschichteten Probelättchen bei Versuchen mit Keimsuspensionen**

Zur Vorbereitung der zu untersuchenden TiO<sub>2</sub>-beschichteten Probelättchen wurden diese zunächst autoklaviert und einzeln in Einweg-Petrischalen gelegt und die Petrischale mit dem zugehörigen Deckel verschlossen.

## 2.4 PVD-Schichten auf alkalifreien Glassubstraten

Für die Versuche wurden transparente Dünnschicht-Beschichtungen mit  $\text{TiO}_2$  auf Glassubstraten vom *Fraunhofer Institut für Schicht- und Oberflächentechnik* in Braunschweig (IST) im Rahmen eines BMBF Verbundvorhabens hergestellt. Die Kooperation mit einem Beschichter war notwendig, da  $\text{TiO}_2$ -Beschichtungen für die gewünschten Anforderungen nicht kommerziell erhältlich waren. Das Beschichtungsverfahren „Pulse Magnetron Sputtering“ ist ein PVD-Verfahren (physical vapour deposition) bei dem Titanatome im Vakuum aus einem Titan-Target herausgeschlagen und auf dem zu beschichtenden Substrat abgeschieden werden. Zunächst wurden die Glassubstrate zur Entfernung von Verunreinigungen in einer Argon-Atmosphäre für 5 min behandelt („pre-sputtering“). Anschließend wurden die Substrate im Oxidmodus mit einem reaktiven Gasfluss von 20 sccm  $\text{O}_2$  für 15 min behandelt. Während des eigentlichen Beschichtungsprozesses wurden die  $\text{TiO}_2$ -Dünnschichten auf den  $50 \times 50 \text{ mm}^2$  großen alkalifreien Gläsern abgeschieden. Dazu wurde reaktives Pulse Magnetron Sputtern durch eine duale Magnetron-Quelle ausgeführt, die mit zwei Titan PK500 Kathoden ausgestattet war. In Tabelle 2 sind die technischen Parameter dieses Verfahrens zusammengefasst (Vergoehl et al. 2008), (Werner et al. 2009).

Tabelle 2: Abscheidungsparameter des PVD-Verfahrens zur Herstellung von  $\text{TiO}_2$ -Schichten auf Glassubstraten.

Target-Material	Ti
Sputtering Gas	Ar
Reaktivgas	$\text{O}_2$
Sauerstoff-Partialdruck	$4 \cdot 10^{-4}$ mbar
Sputter-Leistung	2000 W
Substrat-Temperatur	RT bis $50^\circ\text{C}$
Substrat-Material	Alkali-freies Glas
Target-Substrat Abstand	35 mm
Oszillationswinkel	$35^\circ$
Rotationsgeschwindigkeit	2 rpm
Abscheidungsrate	$0.75 \text{ nm min}^{-1}$

Beim PVD-Verfahren entsteht eine weitgehend homogene Oberfläche aus  $\text{TiO}_2$ -Kristalliten, bei der die Halbleitereigenschaften wie sie an  $\text{TiO}_2$ -Kristallen beobachtet werden können, auch in den Schichten erhalten sind (Vergöhl et al. 2011).

### 2.4.1 Charakterisierung der PVD-Schichten

Zur Charakterisierung der hergestellten Schichten wurden die Schichtdicken und die optischen Eigenschaften der Proben gemessen. Dazu wurde ein Gonio-Spektral -Ellipsometer (Sentech-SE800) im Wellenlängenbereich von 300 - 850 nm eingesetzt. Die erhaltenen Messdaten wurden mit einem Surface/Layer/Interface-Modell gefittet (Maxwell-Garnett/Drude-Lorentz-Oscillator/Maxwell-Garnett). Die

Bandlücke  $E_g$  des  $TiO_2$  wurde unter Verwendung eines Perkin-Elmer Lambda 950 Spektrophotometers mit einem Wellenlängenbereich von 250 - 1000 nm ermittelt. Dazu wurde das Tauc-Modell eingesetzt. Die Kristallstrukturen der Schichten wurden per Röntgenbeugung (Philips X'pert PRO MRD System) unter Verwendung von  $Cu K_{\alpha}$ -Strahlung ermittelt. Die Kristallitgrößen wurden über die Scherrer-Gleichung berechnet. Die Eigenschaften der  $TiO_2$ -Schichten sind in Tabelle 3 für eine Schichtdicke dargestellt. Diese Schichten wurden für die Untersuchungen zur Inaktivierung von LPS und RNase A eingesetzt. Die anderen Schichten, die nach dem PVD-Verfahren zu Zwecken der Spannungsmessung eingesetzt wurden, wurden analog unter Variation einiger Parameter zur Einstellung der Schichtdicke hergestellt. Diese Arbeiten zur Herstellung und Charakterisierung der Proben wurden von Frank Neumann und Tobias Graumann am Fraunhofer-Institut für Schicht- und Oberflächentechnik in Braunschweig durchgeführt. Anhand der unterschiedlichen Charakterisierungsmethoden konnte eine gleichförmige Qualität der Proben sichergestellt werden.

Tabelle 3: Eigenschaften der  $TiO_2$ -Schichten, die am IST Braunschweig mittels PVD-Verfahren hergestellt wurden. Diese Oberflächen wurden daraufhin für die weiteren Versuche zur Photokatalyse eingesetzt.

Schichtdicke	$380 \pm 7$ nm
Bandlücke $E_g$	3.38 eV
Anatas-Rutil Verhältnis	98:2
durchschnittliche Kristallitgröße	$223 \pm 13$ nm
Oberflächen-Rauhigkeit $R_q$	7.5 nm

Für die Versuche an RNase A- und LPS-Lösungen wurden die beschichteten Glassubstrate von  $50 \times 50 \times 1.10$  mm<sup>3</sup> auf eine Größe von  $11.5 \times 35 \times 1.10$  mm<sup>3</sup> zerteilt, damit sie in die verwendeten Headspace-Vials passten.

## 2.5 Pilkington Activ<sup>®</sup>

Die beschichteten Glasplättchen der Marke Pilkington Activ<sup>®</sup> wurden entsprechend dem von Pilkington patentierten Online-Beschichtungsverfahren hergestellt und besitzen eine  $TiO_2$ -Schichtdicke von ca. 50 nm. Pilkington Activ<sup>®</sup> ist als photokatalytisch ausgerüstetes Glas im Handel erhältlich und wird beispielsweise als selbstreinigendes Fensterglas vermarktet.

## 2.6 $TiO_2$ -Schichten auf Metallsubstraten hergestellt durch Kaltgas-Spritzen

Die Proben wurden am Institut für Werkstofftechnik der Helmut-Schmidt-Universität Hamburg von Jan-Oliver Kliemann hergestellt und charakterisiert. Dazu wurden Anatas- $TiO_2$ -Pulver im Kaltgasspritzverfahren auf verschiedene Metallsubstrate aufgetragen (EN 1.4301, AISI 304). Es wurden Beschichtungen auf Edelstahl, Kupfer, Titan und Aluminium hergestellt. Alle Beschichtungen wurden mit einem CGT-Kinetiks-

4000 System mit Stickstoff als Prozessgas durchgeführt. Der Anatas-Gehalt wurde durch Röntgenbeugung (Iso Debyeflex 1001) unter Verwendung von Co-K<sub>α</sub>-Strahlung bestimmt. Bei Betriebsbedingungen von 30 kV und 30 mA wurde das Goniometer auf eine Abtastrate von 0,1°min<sup>-1</sup> für 2-Theta eingestellt. Die Schichtmikrostrukturen wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) an polierten Querschliffen untersucht wie in Abbildung 9 zu sehen ist. Der Massengewinn wurde durch Wiegen des Trägermaterials vor und nach der Beschichtung ermittelt. Der Auftragswirkungsgrad wurde durch das Verhältnis zwischen der Auftragsrate und der Pulverförderrate bestimmt (Kliemann et al. 2011).



Abbildung 9: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Mikrostruktur einer kaltgasgespritzten TiO<sub>2</sub>-Beschichtung auf Edelstahl. Das Trägermaterial ist im unteren Teil der Abbildung zu sehen (weiß). Im oberen Teil ist eine unebene, 1–10 µm dicke TiO<sub>2</sub>-Beschichtung (grau) zu erkennen (Aufnahme erstellt von J.-O. Kliemann, Hamburg)

## 2.7 Isolierung von Zellen aus humanem Blut

Die mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) sind einkernige Blutzellen mit rundem Zellkern. Zu ihnen zählen beispielsweise Monozyten und Lymphozyten. Die PBMCs spielen eine wichtige Rolle im Immunsystem und werden häufig in der klinischen Forschung eingesetzt. Zur Isolierung der PBMCs wurden Blutspenden von zwei gesunden, männlichen Personen parallel verwendet, um mögliche spezifische Effekte eines Spenders ausschließen zu können. Die Isolierung erfolgte über eine standardmäßige Dichtegradienten-Zentrifugation. Die PBMCs sammeln sich dabei in der Phase zwischen Überstand (Plasma, Thrombozyten) und Ficoll-Hypaque (Biochrom, Berlin, Deutschland), einem Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer, entsprechend ihrer spezifischen Dichte an. Dazu wurde das Blut 1:2 (v:v) mit Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) verdünnt und mit Ficoll-Hypaque vorsichtig unterschichtet. Im Anschluss daran wurde bei 485g 20 Minuten lang zentrifugiert. Die gewonnenen PBMCs wurden zweimal mit PBS gewaschen und in Nährmedium (RPMI-1640, 2% hitzeinaktiviertes autologes Serum) resuspendiert. Darauf wurden die

Zellen zur Durchführung des RNase A Aktivitätstests in eine 96-well-Platte zu  $4 \times 10^5$  Zellen pro well pipettiert.

Für die Untersuchungen zur LPS-Aktivität wurden aus den PBMCs mit einem Zellsorter (AutoMACS, Programm: possel, Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach, Germany) CD14<sup>+</sup>-Zellen gewonnen. Die CD14<sup>+</sup>-Zellen wurden anschließend zu  $2 \times 10^5$  Zellen pro Well in 96-well Mikrotiter-Platten zur LPS-Stimulation ausgebracht.

## **2.8 Eingesetzte technische TiO<sub>2</sub>-Pulver**

### **2.8.1 Rutil-Anatas-Pulver (P25)**

Ein häufig als Standardmaterial für photokatalytische Zwecke eingesetztes Pulver ist Aeroxide<sup>®</sup> TiO<sub>2</sub> P25 (Evonik Industries AG, Essen, Deutschland). In dieser Arbeit wurde dieses Pulver für Beschichtungen und als Vergleichsmaterial eingesetzt und wird im weiteren Verlauf mit P25 bezeichnet. P25 wird durch Flammenhydrolyse im so genannten Aerosil<sup>®</sup>-Verfahren hergestellt. Dabei wird TiCl<sub>4</sub> mit H<sub>2</sub> und O<sub>2</sub> (Luft) versprüht und entzündet. In der Flamme entstehen auf diese Weise agglomerierte Nanopartikel des Titandioxids. Das dabei gebildete TiO<sub>2</sub> besteht aus Rutil und Anatas in einem Verhältnis von etwa 15:85. Studien erklären die hohe photokatalytische Aktivität des P25 mit dem Zusammenwirken von Rutil und Anatas (Hurum et al. 2003). Der Hersteller macht einige Angaben zum Produkt, so liegt die primäre Partikelgröße durchschnittlich bei 21 nm. Die spezifische Oberfläche (BET) des Pulvers liegt bei ca. 50 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Der TiO<sub>2</sub>-Anteil bezogen auf die geglähte Substanz beträgt  $\geq 99,5$  %. Die Hauptanwendungen von P25 seien die Nutzung als Katalysatorträger, als aktive Komponente für photokatalytische Reaktionen und als Hitzestabilisator für Silikonvulkanisate (Produktinformation, degussa Aeroxide<sup>®</sup> TiO<sub>2</sub> P25, Juli 2006).

### **2.8.2 Anatas-Pulver (Hombikat UV100)**

Die verwendeten Anatas-Pulver stammen vom Hersteller Sachtleben (Duisburg, Deutschland). Das eingesetzte Produkt Hombikat UV100<sup>®</sup> ist ein nanoskaliges, weißes Pulver. Gemäß den Herstellerangaben handelt es sich um Titandioxid der Modifikation Anatas mit einer primären Partikelgröße von  $< 10$  nm, wobei die agglomerierten Partikel einen Durchmesser von ca. 1  $\mu$ m aufweisen. Die spezifische Oberfläche (BET) liegt bei  $> 300$  m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Hombikat UV100 ist ein ausgewiesener Photokatalysator, der beispielsweise für Oberflächenbeschichtungen eingesetzt wird. Das Produkt enthält laut Hersteller ca. 90 Gewichts-% TiO<sub>2</sub> mit einem Anteil an kalziniertem TiO<sub>2</sub> von ca. 99 %. (Produktinformation, Hombikat UV100, Sachtleben, 07.011.03.05.e)

### 2.8.3 T805

T805 (Evonik Industries AG, Essen, Deutschland) stammt vom gleichen Hersteller wie P25. Es enthält die gleiche Zusammensetzung der Kristallmodifikationen von etwa 15:85 wie P25. Dieses Produkt ist mit einer lipophilen Oberfläche ausgestattet und lässt sich daher im Gegensatz zu P25 nicht mit Wasser suspendieren. Die lipophilen Eigenschaften sind bei der Anwendung von T805 in Kosmetika erwünscht.

### 2.8.4 Rutil-Pulver

Das eingesetzte Rutil-Pulver wurde von der Firma Kronos Worldwide Inc. (Leverkusen, Deutschland) hergestellt und bezogen. Es handelt sich um reines Rutilpulver der Bezeichnung K2900. Dieses Pulver ist das im Chloridverfahren hergestellte Rohmaterial. Es verfügt daher über keine einheitliche Größenverteilung der Partikel. Kronos stellt aus diesem Rohmaterial weitere Rutil-Produkte her. Es ist zum Zweck als photokatalytisch inaktives  $\text{TiO}_2$ -Vergleichsmaterial sehr gut geeignet, da es nicht mit anderen Verbindungen oberflächenbehandelt ist, wie dies beispielsweise bei Rutilpigmenten der Fall wäre, die aus diesem Rohmaterial hergestellt werden.

## 2.9 Bestimmung von Titan-Konzentrationen mittel ICP-MS-Analytik

Bei den Untersuchungen an  $\text{TiO}_2$ -haltigen Kosmetika wurden die Titan-Konzentrationen aus sauren wässrigen Lösungen mittels ICP-MS-Analytik (*inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS*) bestimmt. Dazu wurden ungelöste  $\text{TiO}_2$ -Proben zunächst wie in Abschnitt 2.10 beschrieben mit  $\text{KHSO}_4$  chemisch aufgeschlossen und in 2 molarer Schwefelsäure aufgenommen.



Abbildung 10: ICP-MS-Gerät mit Autosampler zur Bestimmung der Titan-Konzentrationen.

Sämtliche Messungen wurden an einem ELAN 6100 ICP-MS-Gerät (Perkin Elmer) und mit der zugehörigen Software ELAN Version 2.3.2 durchgeführt. Zur automatisierten Verarbeitung mehrerer Proben war das Gerät mit einem Autosampler (Modell AS-90plus, Perkin Elmer) ausgestattet, womit sich bis zu 100 Proben computerunterstützt messen ließen.

Zur Analyse der Titan-Konzentrationen aus den Lösungen wurden die Isotope der Massen 46, 47 und 49 herangezogen, da diese die geringsten Interferenzen mit anderen Teilchen in diesem Massenbereich aufweisen. Insbesondere das Hauptisotop mit der Masse 48 wird durch Signale des Sauerstoff-Schwefel-Fragments SO mit einer Masse von 47,97 u überlagert. Es zeigte sich durch zahlreiche Vorversuche, dass die Titan-Analytik nicht trivial ist und ein geeigneter Konzentrationsbereich zur Analyse betrachtet werden musste. Die Analyse der Aufschlüsse der Sonnenschutzmittel wurde daher im Milligramm-Bereich durchgeführt. Dazu wurden jeweils 15 mL Lösung je Probe eingesetzt mit einer Ausgangskonzentration von  $c = 1 \text{ mg mL}^{-1}$  bezogen auf die Einwaage des Sonnenschutzmittels. Zur Analyse wurde eine Fünf-Punkt-Kalibrierung ( $c_1 = 20 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $c_2 = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $c_3 = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $c_4 = 2,5 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $c_5 = 1,25 \text{ mg L}^{-1}$  und blank) unter Verwendung von kommerziell erhältlichen Standardlösungen (CertiPUR,  $c_{\text{Ti}} = 1000 \text{ mg L}^{-1}$ , Merck, Deutschland) verwendet. Nach Messung von jeweils sieben Proben wurde stets eine erneute Kalibration zur Minimierung analytischer Fehler durchgeführt.

## 2.10 Schwefelsaurer Aufschluss

Zur quantitativen Analyse muss Titandioxid zunächst in eine lösliche Form überführt werden. Da Titandioxid chemisch äußerst inert und selbst in starken Säuren kaum löslich ist, muss hier ein sehr spezifisches Verfahren angewendet werden, durch das das Titandioxid in ein leichtlösliches Sulfat überführt wird. Es wurden jeweils  $250 \text{ mg L}^{-1}$  von jeder Probe in einen Platintiegel eingewogen und mit 3 g  $\text{KHSO}_4$  homogen vermischt. Der Tiegel wurde daraufhin über der Flamme eines Bunsenbrenners vorsichtig erhitzt, wobei der Inhalt zunächst schäumt und sich schwarz färbt. Nach etwa 2 bis 3 Minuten über der Flamme entsteht eine klare Schmelze, welche weiter bis zur Rotglut des Tiegels erhitzt wurde. Im Wasserbad wurde der Platintiegel abgeschreckt und anschließend erneut über der Flamme zur Rotglut erhitzt und erneut abgeschreckt. Der weiße Schmelzkuchen konnte im Tiegel mit etwa 5 mL 2 M Schwefelsäure unter vorsichtigem Erwärmen in Lösung gebracht werden. Die Lösung wurde in einen 100 mL Messkolben überführt und der Platintiegel zweimal mit je 5 mL 2 M Schwefelsäure und zweimal mit je 5 mL bidestilliertem Wasser gespült. Die Flüssigkeiten wurden im Messkolben vereinigt und auf insgesamt 100 mL mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt. Als qualitativer Nachweis auf Titanionen färbte sich die Lösung unter Zugabe weniger Tropfen 30%iger  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung orange unter Bildung von  $[\text{Ti}(\text{O}_2)\text{OH}]^+$ -Ionen. Die ICP-MS Analytik wurde wie in Abschnitt 2.9 beschrieben durchgeführt.

## 2.11 Analyse der Titan-Modifikationen durch Röntgen-Pulver-Diffraktomie (XRD)

Das Titandioxid wurde aus den Sonnenschutzmitteln durch Herauslösen der organischen Bestandteile mittels Ethylacetat als Lösungsmittel erhalten und konnte in Pulverform daraufhin für XRD-Messungen eingesetzt werden. Für die Phasenanalyse wurden Röntgen-Diffraktogramme mit einem Bruker AXS D4 Endeavor Diffraktometer am Institut für Mineralogie der Universität Hannover von Redouan Boughaled aufgenommen und ausgewertet. Das Gerät arbeitet in einer Reflektionsgeometrie und verwendet  $\text{CuK}_{\alpha 1,2}$  Strahlung sowie einen sekundären Ni-Filter. Für jedes Diffraktogramm wurden 4000 Datenpunkte im Winkelbereich von  $5$  bis  $80^\circ 2\theta$  mit einer Schrittweite von  $0,02^\circ$  aufgenommen. Die Messzeit je Schritt betrug  $1$  Sekunde. Die Phasenanalyse wurde mittels der Rietveld-Methode durchgeführt, hierbei wurde das Programm TOPAS 4.2 (Bruker AXS) verwendet. In den Verfeinerungen wurden der Skalenfaktor, zwei Untergrundparameter, der Nullpunktfehler sowie der Präparathöhenfehler berücksichtigt. Die Berechnungen der Profile erfolgten durch den Fundamentalparameteransatz. Von allen Phasen wurden die Gitterparameter und die mittleren Kristallitgrößen verfeinert. Die Strukturdaten sind der ICSD-Datenbank entnommen (Rutile [62679], Anatas [9854] und Zinkoxid [57450]). Prinzipiell kann die Analyse der Modifikationen auch mittels Raman-Spektroskopie durchgeführt werden. Da diese Methodik aber nicht zur Verfügung stand, wurde sie hier nicht verfolgt (Zanatta 2017).

## 2.12 Bestimmung von $\text{CO}_2$ -Konzentrationen mittels NDIR-Analytik

Zur Bestimmung der  $\text{CO}_2$ -Konzentration wurde der NDIR-Detektor des *Shimadzu TOC Analysator TOC-V-CPH* eingesetzt. Das Gerät wurde mit einem Gaseinlass ausgerüstet, der für diesen Zweck konstruiert wurde. Dazu wurde ein T-förmiges Glasrohr in den Gasgang des Gerätes eingesetzt. In Abbildung 11 ist links das Gerät und rechts der modifizierte Gaseinlass gezeigt.

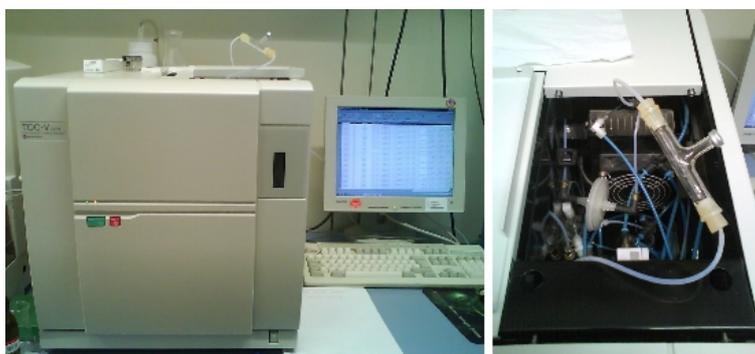


Abbildung 11: Shimadzu TOC Analysator TOC-V-CPH (links) mit Gaseinlass (rechts). Ein T-Stück mit Septum wurde in den Gasgang des Gerätes eingebaut. Die Gasproben wurden über eine Mikroliterspritze aus den Vials entnommen und in das Gerät zur Messung des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes injiziert.

Zum Einspritzen der Gasproben wurde auf die dritte Öffnung des T-Stückes das Oberteil eines Headspace-Vials (Rollrandgläschen) aufgesetzt. Somit konnte diese Öffnung durch einen Crimper-Verschluss mit Septum verschlossen werden. Durch das Septum wurden die Gasproben mit einer Mikroliterspritze (Hamilton-Bonaduz, Schweiz) zur Messung eingebracht. Zur Analyse der CO<sub>2</sub>-Konzentration aus der Gasphase wurden jeweils 50 µL Gasprobe über den beschriebenen Gaseinlass in den Analysator gegeben. In Tabelle 4 sind die verwendeten Geräteeinstellungen angegeben.

Tabelle 4: Geräteeinstellungen am Shimadzu TOC Analysator TOC-V-CPH für die Messungen der CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aus der Gasphase von UV-A bestrahlten Proben in Headspace-Vials.

Parameter	Einstellung
Verdünnung	1
Anzahl Bestimmungen	je 1
Einheit des Ergebnisses	mg L <sup>-1</sup>
Anzahl Injektionen	1
Anzahl Waschungen	0
gesamte Integrationszeit	3:30 Minuten

### 2.13 Kalibration für CO<sub>2</sub>-Messungen

Für die Analyse-Methode wurde eine Kalibrierkurve erstellt, indem definierte CO<sub>2</sub>-Konzentrationen in Luft erzeugt wurden. Die Kalibrierstandards definierter CO<sub>2</sub>-Konzentrationen wurden durch gezielte Freisetzung von CO<sub>2</sub> aus einer Natriumcarbonat-Lösung mittels konzentrierter Schwefelsäure hergestellt. Dazu wurden unbeschichtete Headspace-Vials zunächst mit Luft geflutet und eine Natriumcarbonat-Lösung (NL, Merck, Darmstadt Germany; wasserfrei, für Analyse; M = 105,9 g mol<sup>-1</sup>) der Konzentration  $c_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = 28,91 \text{ g L}^{-1}$  angesetzt.

Die Konzentration der Natriumcarbonat-Lösung ergibt sich aus dem Gasvolumen des Vials von  $V_{\text{Vial}} = 12 \text{ mL}$  und der gewünschten CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Gasphase des Vials von  $c_{\text{CO}_2} = 1, 2, 4, 8, 16 \text{ mg L}^{-1}$ . Für die Konzentration von  $c_{\text{CO}_2} = 1 \text{ mg L}^{-1}$  sollte 1 µL Natriumcarbonat-Lösung zugegeben werden. Dies entspricht 12 µg CO<sub>2</sub> je Vial. Mit den molaren Massen  $M_{\text{CO}_2} = 44 \text{ g mol}^{-1}$  und  $M_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = 105,9 \text{ g mol}^{-1}$  ergibt sich eine Menge von 28,92 µg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> je Vial und damit eine Konzentration der Natriumcarbonat-Lösung von 28,92 µg µL<sup>-1</sup>.

$$\frac{M_{\text{Na}_2\text{CO}_3}}{M_{\text{CO}_2}} = 2,41 \qquad 12 \mu\text{g} \cdot 2,41 = 28,92 \mu\text{g}$$

Zur Herstellung der Kalibrierstandards, wurden 50 µL konzentrierte Schwefelsäure in den Vials vorgelegt und diese daraufhin gasdicht verschlossen. Durch das Septum wurden mit einer Mikroliter-Spritze

verschiedene Mengen der Natriumcarbonat-Lösung entsprechend der gewünschten zu erzeugenden CO<sub>2</sub>-Menge in die Headspace-Vials eingespritzt. Die Schwefelsäure setzt die enthaltene Carbonatmenge quantitativ als gasförmiges CO<sub>2</sub> frei. Die eingesetzten Mengen der Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Eingesetzte Volumina an Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung zum Herstellen der Kalibrierstandards.

Gewünschte CO <sub>2</sub> -Konzentration im Vial c <sub>CO<sub>2</sub></sub> [mg l <sup>-1</sup> ]	0	1	2	4	8	16
Eingesetztes Volumen Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung V <sub>NL</sub> [μL]	0	1	2	4	8	16

Nach den Messungen von jeweils sechs verschiedenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen wurde die Kalibrierkurve erstellt. In Abbildung 12 ist die verwendete Kalibrierkurve dargestellt, die für CO<sub>2</sub> unter atmosphärischen Bedingungen bei der NDIR-Analytik eingesetzt wurden. Der Wert für den Schnittpunkt mit der y-Achse gibt den Anfangswert durch den CO<sub>2</sub>-Gehalt der Raumluft wieder.

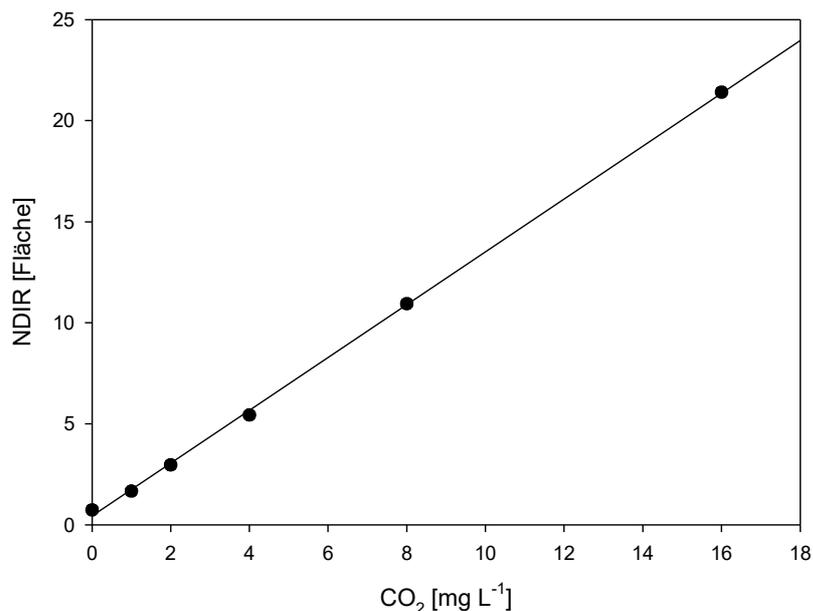


Abbildung 12: Kalibrierkurve für CO<sub>2</sub> Messungen aus der Gasphase von Headspace-Vials. Die definierten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen wurden durch Freisetzung des Gases aus einer Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Lösung unter Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure in den Vials erzeugt.

## 2.14 Entfärbung von Methyleneblau-Lösung, Nanodrop Photometer

Für die Untersuchungen wurde das Standardverfahren (DIN 52980, siehe auch Abschnitt 1.6.1) modifiziert. Der Test basiert auf der photoinduzierte Entfärbung der Methyleneblau-Lösung in Anwesenheit jeweils eines TiO<sub>2</sub>-beschichteten Prüfkörpers. Während im Standardverfahren ein UV/Vis-Spektrometer mit einer

Küvettenlänge von 10 mm eingesetzt wird, wurde hier für die Messungen der Methylenblau-Entfärbung ein PEQLAB NanoDrop Photospektrometer ND-1000 verwendet (Abbildung 13).



Abbildung 13: PEQLAB Nanodrop Photospektrometer zur Bestimmung der Entfärbung der Methylenblau-Lösung.

Das *NanoDrop*-Photometer wird üblicherweise zum Proteinnachweis in der Molekularbiologie eingesetzt und kommt mit sehr geringen Probevolumina von 1-2  $\mu\text{L}$  pro Messung aus. Da diese sehr geringen Probevolumina das Gesamtvolumen der Methylenblau-Lösung vernachlässigbar wenig beeinflussen, wurde dieses Gerät eingesetzt. Außerdem können die Messwerte sehr schnell innerhalb weniger Sekunden ermittelt werden. Für die Messung wurde jeweils 2  $\mu\text{L}$  einer Methylenblau-Lösung ( $c = 0,0228 \text{ mmol L}^{-1}$ ) untersucht. Sofern bei den Ergebnisse nicht anders angegeben, wurde die Proben dazu in Petrischalen mit jeweils 30 mL Methylenblau-Lösung gelegt und für 17 Stunden in der Beleuchtungskammer bestrahlt. Anschließend wurde die Extinktion der Lösung gemessen und durch Abzug des Anfangswertes die photokatalytische Entfärbung des Farbstoffes bestimmt.

### **3 Ergebnisse Teil 1: - Medizinische Aspekte der Photokatalyse**

#### **3.1 Nachweis der bakteriziden Wirksamkeit photoaktivierter $\text{TiO}_2$ -Oberflächen an Keimsuspensionen**

Als eine direkte Methode zur Ermittlung der photokatalytischen bzw. keimabtötenden Wirksamkeit von titandioxidbeschichteten Prüfkörpern wurden Untersuchungen zu Abtötungskinetiken an Prokaryonten entwickelt. Dabei wurden Keimsuspensionen definierter Keimzahlen eingesetzt und in Kontakt mit den zu untersuchenden Prüfkörpern gebracht. Unter UV-A-Beleuchtung wurden diese aktiviert und nach bestimmten Zeitintervallen die verbleibende Zahl vitaler Keime aus der Keimsuspension ermittelt. Der Rückgang der vitalen Keime wurde als Maß für die photokatalytisch induzierte Keimabtötung der untersuchten Prüfkörper herangezogen.

Da es sich bei diesen Untersuchungen um komplexere biologische Testsysteme handelte, waren deren Ergebnisse nicht immer eindeutig auf photokatalytische Effekte zurückzuführen. So zeigte sich beispielsweise, dass bei einigen Keimarten bereits die UV-A Strahlung zu einer deutlichen Keimreduktion führte. Es wurden Anstrengungen unternommen, um geeignete Testmethoden zu entwickeln, die eine Aussage über die photokatalytische bakterizide Wirksamkeit der zu untersuchenden Proben lieferten.

### **3.1.1 Photokatalytisch induzierte Abtötung an Keimsuspensionen in TiO<sub>2</sub>-beschichteten Vials**

Zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit von TiO<sub>2</sub>-Oberflächen unter UV-A-Bestrahlung wurden verschiedene Bakteriensuspensionen definierter Keimzahlen in titandioxid-beschichteten Vials untersucht. Per Sol-Gel Verfahren wurden die Headspace-Vials an deren Innenwänden mit TiO<sub>2</sub> beschichtet. Die Keimsuspensionen wurden in den Vials bestrahlt und anschließend die Anzahl der verbliebenen vitalen Keime per Keimzahlbestimmung ermittelt. Diese Arbeiten wurden bereits zuvor in der Arbeitsgruppe entwickelt und während meiner, dieser Dissertation vorausgegangenen, Diplomarbeit weiter ausgebaut. Dabei zeigte sich, dass im Verlaufe der Bestrahlung die Anzahl vitaler Keime deutlich abnahm, während parallel dazu die CO<sub>2</sub>-Konzentration durch den oxidativen Abbau des organischen Materials anstieg (Kuhn et al. 2003). Auf Basis dieser Ergebnisse sollte nun die Methode derart modifiziert werden, dass auch Probekörper anderer Geometrie neben den titandioxid-beschichteten Vials untersucht werden konnten.

### **3.1.2 Photokatalytisch induzierte Abtötung von Keimsuspensionen auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten, planaren Probekörpern**

Es wurde die bakterizide Wirksamkeit an planaren Probekörpern untersucht. Dazu wurden titandioxid-beschichteten Glasplatten (5 x 5 cm<sup>2</sup>) eingesetzt. Die Probekörper wurden zunächst in Einweg-Petrischalen gelegt und auf deren Oberflächen jeweils 100 µL Keimsuspension in einem Tropfen pipettiert. In die Petrischale wurde unter die Probekörper ein mit sterilem, bidestilliertem Wasser angefeuchtetes Zellstofftuch gelegt und die Petrischale mit dem zugehörigen Deckel verschlossen. Dies sollte ein Austrocknen der Keimsuspension verhindern. Die auf der Probenoberfläche ankommende Lichtleistung verringerte sich durch Absorptions- und Reflektionseffekte des Deckels um ca. 14%. Daher wurde mit einer an der Beleuchtungskammer voreingestellten Lichtleistung von 1,14 mW cm<sup>-2</sup> gearbeitet, um die wirksame Lichtleistung auf der Probenoberfläche auf 1 mW cm<sup>-2</sup> einzustellen. Die Temperatur in der Beleuchtungskammer lag während der Versuche im klimatisierten Labor bei 23 °C. Mit diesem Aufbau wurden Bestrahlungsversuche an beschichteten und unbeschichteten Proben mit zwei Keimarten durchgeführt. Dazu wurden Keimsuspensionen mit Anfangskeimzahlen von 2,5 x 10<sup>9</sup> mL<sup>-1</sup> für *Pseudomonas aeruginosa* und 4,7 x 10<sup>8</sup> mL<sup>-1</sup> für *Escherichia coli* eingesetzt. Als titandioxid-beschichtete Proben wurde

Pilkington-Activ®-Glas und als unbeschichtete Proben alkalifreies Glas eingesetzt. Exemplarisch sind Ergebnisse dafür in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Reduktion der Keimzahlen von Escherichia coli (E. coli) und Pseudomonas aeruginosa (Ps. aer.) auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten (TiO<sub>2</sub>) und unbeschichteten Glasproben (Glas) unter UV-A Bestrahlung.

<b>Bestrahlungszeit [h]</b>	<b>TiO<sub>2</sub> + E. coli</b>	<b>Glas + E. coli</b>	<b>TiO<sub>2</sub> + Ps. aer.</b>	<b>Glas + Ps. aer.</b>
1	500000000	500000000	68200000	76000000
2	116000000	92000000	19000000	70000000
3	5900000	48400000	1400000	64000000
4	2000000	4500000	1500000	180000000
5	40000	1100000	20000	97000000
6	3000	560000	23000	14000000
24	0	0	0	1

Es wurden parallel Negativkontrollen ohne Lichteinwirkung außerhalb der Bestrahlungskammer mitgeführt. Nach 1, 6 und 24 Stunden wurden davon jeweils 5 µL Probevolumen zur Keimzahlbestimmung entnommen. In Tabelle 7 sind davon Ergebnisse exemplarisch dargestellt.

Tabelle 7: Keimzahlen der unbestrahlten Proben von Escherichia coli (E. coli) und Pseudomonas aeruginosa (Ps. aer.) auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten (TiO<sub>2</sub>) und unbeschichteten Glasproben (Glas).

<b>Zeit [h]</b>	<b>TiO<sub>2</sub> + E. coli</b>	<b>Glas + E. coli</b>	<b>TiO<sub>2</sub> + Ps. aer.</b>	<b>Glas + Ps. aer.</b>
1	130000000	106000000	86000000	130000000
6	56800000	52800000	130000000	160000000
24	194	340	1600000000	996

Es zeigte sich, dass die Keimzahlen auch ohne den Einfluss von TiO<sub>2</sub> und UV-A-Licht mit der Zeit rückläufig waren. Vermutlich starben die Keime auch aufgrund von Nährstoffmangel in der Keimsuspension allmählich ab. Dies machte es notwendig, geeignete Anfangskonzentrationen zu ermitteln, um eine Unterscheidung der Effekte möglich zu machen. Aus den Werten in Tabelle 6 war dennoch ein beschleunigter Rückgang der Keimzahlen an TiO<sub>2</sub>-beschichteten Probekörpern unter UV-A Bestrahlung im Vergleich zu den Negativkontrollen zu vermuten. Nach weiteren Versuchen mit dieser Methode konnte festgehalten werden, dass die Schwankungsbreite der ermittelten Keimzahlen zu groß waren, um Aussagen über die photokatalytische Wirksamkeit der Proben daraus ableiten zu können. Die Standardabweichungen der Mittelwerte lagen häufig in der Größenordnung der Messwerte. Somit konnten unterschiedliche Aktivitäten von Probekörpern mit dieser Methode nicht festgestellt werden, so dass ein optimierter Versuchsaufbau herangezogen wurde.

### 3.1.3 Optimierung der Keimabtötungsversuche durch Eintauchen der Probekörper in ein größeres Volumen an Keimsuspension

Aufgrund der geringen Aussagekraft der vorangegangenen Untersuchungen wurde eine andere Versuchsführung entwickelt. Dabei wurde mit größeren Volumina an Keimsuspensionen gearbeitet, um etwaige Verdünnungsfehler und Unsicherheiten bei der Probenentnahme durch die zuvor geringen Probevolumina von 5 µL zu minimieren. Es wurden nun jeweils 100 µL Probevolumen zur Keimzahlbestimmung entnommen. Die Probekörper wurden dazu ebenso in Einweg-Petrischalen gelegt, nun allerdings mit 25 mL Keimsuspension überschichtet. Diese Keimsuspension wurde durch Verdünnung aus der Stammsuspension erhalten. Die Petrischalen wurden mit den zugehörigen Deckeln verschlossen und auf einem Orbitalschüttler zur gleichmäßigen Durchmischung während der Versuchsführung in der Probenkammer positioniert.

### 3.1.4 Ermittlung geeigneter Bestrahlungsintensitäten und Verdünnungen

Da die Negativkontrollen aufgezeigt hatten, dass die Keime in gewissem Ausmaß bereits alleine durch die UV-A-Einwirkung abgetötet wurden, sollten die am besten geeigneten Verdünnungen und Bestrahlungsintensitäten für diese Methode eruiert werden. Es wurden dazu Verdünnungsreihen der Keimsuspension mit 0,9% NaCl-Lösung hergestellt und diese ohne TiO<sub>2</sub>-Prüfkörper der UV-A Bestrahlung mit Lichtintensitäten von 0,5 bzw. 1,0 mW cm<sup>-2</sup> ausgesetzt. Zudem wurde nach 24 h Bestrahlungsdauer jeweils ein Aliquot von 1 mL direkt in 10 mL Nährmedium gegeben und zusammen mit den CASO-Agar-Platten zur Keimzahlbestimmungen für 24 h bei 36°C bebrütet. Eine Trübung der Nährlösung zeigte an, ob sich nach der Bestrahlungsdauer noch lebensfähige Keime in der Probelösung befanden, selbst wenn die Keimzahlbestimmung keine vitalen Keime mehr auswies.

Tabelle 8: Pseudomonas aeruginosa Keimzahlen nach Bestrahlung mit 0,5 mW cm<sup>-2</sup> bei unterschiedlichen Verdünnungen. Mittelwerte (MW) aus je 3 Probennahmen, Standardabweichung (SA).

Bestrahlungszeit [h]	Keimzahl					
	Verdünnung 1:25		Verdünnung 1:50		Verdünnung 1:100	
	MW	SA	MW	SA	MW	SA
0	9,60E+007		8,70E+007		2,00E+007	
1	1,01E+08	1,05E+07	2,25E+07	3,89E+06	8,33E+06	1,25E+06
3	5,85E+07	1,50E+06	1,96E+07	4,58E+06	3,00E+06	0
5	2,69E+07	4,15E+06	1,89E+07	6,15E+06	1,72E+06	4,85E+05
7	1,53E+07	2,70E+06	6,49E+06	2,61E+06	1,75E+05	9,09E+04
9	1,85E+07	4,50E+06	3,03E+06	6,94E+05	3,45E+04	2,28E+04
24	zu viele		63	0	2	2
Nährlösung	trüb		trüb		trüb	

Bestrahlungszeit [h]	Keimzahl					
	Verdünnung 1:150		Verdünnung 1:200		Verdünnung 1:250	
	MW	SA	MW	SA	MW	SA
0	1,20E+07		1,00E+07		7,60E+06	
1	7,30E+06	2,54E+06	3,63E+06	1,70E+06	1,94E+06	7,37E+05
3	4,63E+06	3,89E+06	9,87E+05	7,23E+05	2,60E+05	0
5	1,12E+05	3,57E+04	2,07E+05	2,07E+05	2,50E+04	5,00E+03
7	2,67E+03	3,77E+03	1,00E+03	1,00E+03	2,00E+03	0
9	4,34E+03	4,19E+03	53	75	50	71
24	0	0	0	0	0	0
Nährlösung	klar		klar		klar	

Tabelle 9: *Pseudomonas aeruginosa* Keimzahlen nach Bestrahlung mit 1 mW cm<sup>-2</sup> bei unterschiedlichen Verdünnungen. Mittelwerte (MW) aus je 3 Probennahmen, Standardabweichung (SA).

Bestrahlungszeit [h]	Keimzahl					
	Verdünnung 1:25		Verdünnung 1:50		Verdünnung 1:100	
	MW	SA	MW	SA	MW	SA
0	2,00E+08		1,00E+08		2,20E+07	
1	1,54E+08	6,50E+06	3,55E+07	5,50E+06	2,09E+07	7,05E+06
3	6,15E+06	1,50E+05	1,95E+06	5,00E+04	7,00E+05	0
5	1,26E+05	5,40E+04	1,35E+04	1,35E+04	1,50E+03	1,50E+03
7	2,60E+04	4,00E+03	0	0	0	0
9	3,07E+04	2,07E+04	6,69E+02	9,41E+02	0	0
24	0	0			0	0
Nährlösung	klar		klar		klar	

Bestrahlungszeit [h]	Keimzahl					
	Verdünnung 1:150		Verdünnung 1:200		Verdünnung 1:250	
	MW	SA	MW	SA	MW	SA
0	1,50E+07		1,60E+07		7,50E+06	
1	1,17E+07	6,17E+06	5,60E+06	0,00	4,30E+06	1,70E+06
3	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0
Nährlösung	klar		klar		klar	

Anhand dieser Ergebnisse wurde gezeigt, dass eine zu hohe Verdünnung und somit eine zu geringe Anfangskeimzahl dazu führte, dass bereits nach wenigen Stunden der Bestrahlung keine lebensfähigen Keime mehr in der Keimsuspension vorlagen. Daraufhin wurden in den nachfolgenden Untersuchungen Anfangskeimzahlen von mindestens  $2 \times 10^8$  mL<sup>-1</sup> eingesetzt.

### 3.1.5 Photokatalytisch induzierte Abtötung an titandioxidbeschichteten Probekörpern unterschiedlicher Aktivität

Mit den durchgeführten Optimierungen in der Versuchsführung wurden nun PVD-beschichtete Probekörper (IST, Braunschweig) untersucht. Im PVD-Prozess wurde die Dicke der aufgetragenen Titandioxidschichten auf den Probekörpern gezielt eingestellt. So wurden Schichtdicken zwischen 45 nm und 360 nm eingesetzt. Die Proben wurden in Einweg-Petrischalen gelegt und mit 25 mL *E. coli* Bakteriensuspension überschichtet und wie zuvor beschrieben bestrahlt. Die nachfolgende Abbildung 14 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen. Die Proben wiesen mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke eine erhöhte photokatalytisch induzierte Keimabtötung auf.

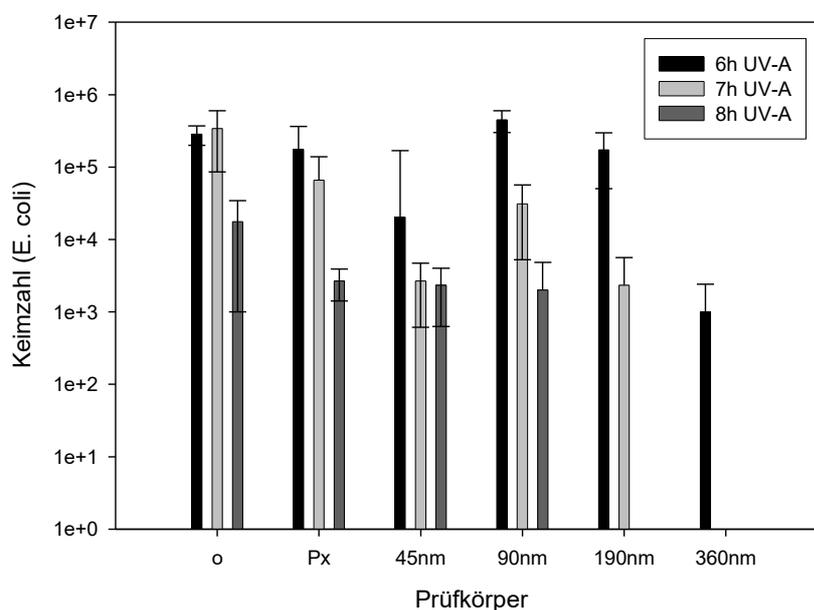


Abbildung 14: Untersuchung des Keimabtötungsvermögens von UV-A-aktivierten titandioxid-beschichteten Prüfkörper (IST, Braunschweig) in einer *E. coli* Suspension. Keimzahlen nach Bestrahlung mit 1 mW cm<sup>-2</sup> nach unterschiedlichen Bestrahlungsdauern. Mittelwerte aus je 3 Probenahmen.

### 3.2 Nachweis der bakteriziden Wirksamkeit von TiO<sub>2</sub> auf trockenen Proben

Neben den Untersuchungen an Keimsuspensionen wurde die bakterizide Wirksamkeit von photoaktiviertem TiO<sub>2</sub> auch an *Sarcina lutea* auf trockenen Substraten untersucht. Wie bereits in *Material und Methoden* beschrieben, handelt es sich bei *Sarcina lutea* um einen gram-positiven Luftkeim, der sich durch Pigmentbildung vor UV-Strahlung schützt und deshalb allein durch die UV-A-Beleuchtung nicht so leicht abgetötet werden sollte, wie dies bei den gram-negativen Keimen *E. coli* und *P. aeruginosa* beobachtet wurde. In den Versuchen wurden als Prüfkörper Metallsubstrate aus Edelstahl (Stahl), Titan (Ti) und Aluminium (Alu) eingesetzt, die mit TiO<sub>2</sub>-Pulver (P25) durch Kaltgasspritzen beschichtet worden waren. Die Vergleichsproben ohne TiO<sub>2</sub>-Beschichtung wurden durch Sandstrahlen aufgeraut, um eine ähnliche

Oberflächenbeschaffenheit wie bei den mit TiO<sub>2</sub>-beschichteten Proben zu erreichen. In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass die Haftung der Keime auf den glatten Metallproben gegenüber den rauen TiO<sub>2</sub> beschichteten Proben geringer war. Dies ergab uneinheitliche Ergebnisse bei den in 3.2.1 beschriebenen Abklatsch-Tests. Durch das Sandstrahlen der unbeschichteten Proben konnten besser vergleichbare Oberflächeneigenschaften hergestellt werden.

Zu Beginn des jeweiligen Versuches wurden die Prüfkörper in Einweg-Petrischalen gelegt, um Bakterienkontaminationen durch Berühren der Substrate zu vermeiden. Daraufhin wurden die Proben zunächst für 24 h in der Beleuchtungskammer mit UV-A-Licht bestrahlt, um eventuell vorhandene Fremdkeime abzutöten. Die Proben wurden anschließend mit sterilem, bidestilliertem Wasser abgespült und mit Druckluft getrocknet. Zu jedem Bestrahlungsversuch wurden auch Negativkontrollen durchgeführt. Dazu wurden gleichermaßen behandelte Proben in einer abgedunkelten Kammer während der Versuchsdauer gelagert. Die anderen Proben wurden in der Beleuchtungskammer UV-A Licht ausgesetzt.

### **3.2.1 Versuchsdurchführung**

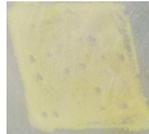
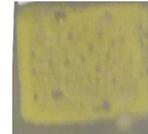
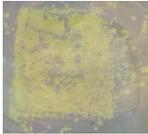
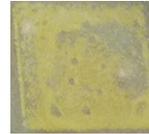
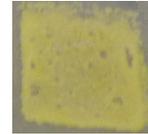
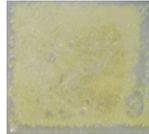
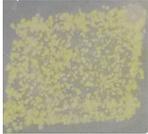
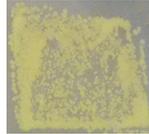
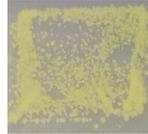
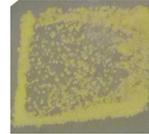
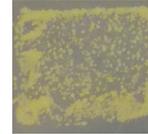
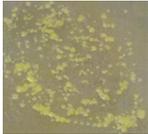
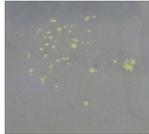
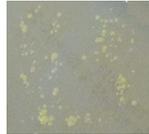
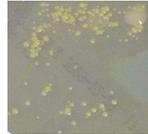
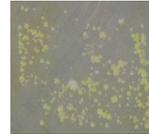
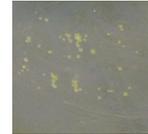
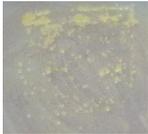
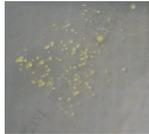
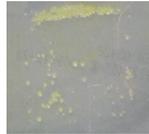
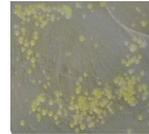
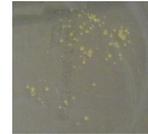
Auf die Probekörper wurden jeweils 100 µL Keimsuspension aufgebracht und mit der Kunststoffspitze der Pipette möglichst gleichmäßig auf der Oberseite der Proben verteilt. Nach etwa 10 Minuten waren die Keimsuspensionen getrocknet und die Proben wurden in die Beleuchtungs- bzw. Dunkelkammer gestellt. Bei 25°C wurde mit einer Lichtleistung von 1 mW cm<sup>-2</sup>, gemessen auf Höhe der Probenoberfläche, bestrahlt. Von der ersten Reihe der Prüfkörper wurden für den Startwert unmittelbar nach der Präparation Abklatschproben genommen, die restlichen Probenahmen erfolgten nach den jeweils angegebenen Bestrahlungsdauern. Jede Probe wurde nur einmal benutzt, somit stand für jede Bestrahlungsdauer und jedes Substratmaterial jeweils eine Probe zur Verfügung. Die Substrate wurden parallel zu den Röhrenlampen ausgerichtet, um etwaige Schwankungen der Strahlungsintensität innerhalb einer Reihe zu vermeiden. Die Probenahme erfolgte im Abklatschverfahren derart, dass jede Probe für 10 Minuten auf einen CASO-Agar Nährboden gelegt und darauf wieder vorsichtig abgehoben wurde. Der Nährboden wurde anschließend für 48 h bei 36°C bebrütet.

### **3.2.2 Versuchsergebnisse nach max. 28 Stunden Bestrahlungsdauer im Vergleich mit dunkel gelagerten Negativkontrollen**

In nachfolgender Tabelle sind Fotografien der Abklatsch-Proben dargestellt. Die gelben Bakterien-Kolonien von *Sarcina lutea* sind deutlich erkennbar. Es konnte qualitativ gezeigt werden, dass eine TiO<sub>2</sub>-Beschichtung ohne UV-A Aktivierung keine bakterizide Wirkung aufweist. Bei den beleuchteten Proben ist eine deutliche

Reduktion der Koloniezahlen erkennbar. Insbesondere die mit TiO<sub>2</sub> beschichteten Proben zeigen eine deutliche Verminderung der Bakterien-Kolonien an.

Tabelle 10: Fotografien von Abklatsch-Proben der Metall-Probekörper aus Aluminium, Stahl und Titan mit und ohne TiO<sub>2</sub>-Beschichtung. Die Probekörper wurden jeweils mit 100 µL einer *Sarcina lutea*-Suspension der Keimzahl 10<sup>7</sup> mL<sup>-1</sup> beaufschlagt und anschließend für 21,5 h bzw. 28 h mit UV-A-Licht bestrahlt. Zur Kontrolle wurden Dunkelproben ohne Bestrahlung mitgeführt. Von den Probekörpern wurden anschließend Abklatsch-Proben genommen.

	Aluminium		Stahl		Titan	
	21,5 h	28 h	21,5 h	28 h	21,5 h	28 h
ohne TiO <sub>2</sub> , dunkel						
mit TiO <sub>2</sub> , dunkel						
mit TiO <sub>2</sub> , dunkel						
ohne TiO <sub>2</sub> , bestrahlt						
mit TiO <sub>2</sub> , bestrahlt						
mit TiO <sub>2</sub> , bestrahlt						

### 3.3 Behandlung komplexer Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid

Mit den zuvor beschriebenen Ergebnissen ließ sich bestätigen, dass unterschiedliche Keimarten durch UV-A-aktiviertes Titandioxid abgetötet werden können. Unter Umständen genügt allerdings die Keimabtötung nicht, um eine Oberfläche vollständig zu dekontaminieren. Von den abgetöteten Bakterien können beispielsweise Zellwandbestandteil zurück bleiben, die als Endotoxine wirksam sein können. Daraufhin wurden weitere Untersuchungen zur Inaktivierung komplexer Biomoleküle durchgeführt.

### **3.3.1 Biologische Wirksamkeit von LPS und RNase A**

Bakterielles Lipopolysaccharid (LPS) ist ein ubiquitär auftretendes exogenes Pyrogen aus der Zellwand gram-negativer Bakterien und gilt als eine der stärksten immunstimulatorischen Verbindungen. LPS bindet am Toll-like Rezeptor 4 an der Oberfläche von Makrophagen (weiße Blutkörperchen). Die Bindung führt im Allgemeinen zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF $\kappa$ B und daraus folgend zur Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen wie zum Beispiel des LPS-erzeugten Zytokins *human tumor necrosis factor- $\alpha$*  (hTNF- $\alpha$ ) (Beutler 2002). hTNF- $\alpha$  ist ein multifunktionaler Signalstoff des Immunsystems und löst als endogenes Pyrogen im Hypothalamus eine Regulation aus, die den Körper zu mehr Wärmeabgabe bringt, womit Fieber ausgelöst wird. Insbesondere immungeschwächte Personen sind durch LPS-Kontaminationen gefährdet, da diese zu schweren Fieberschüben führen können. In immunologischen Versuchen ist die Abwesenheit von LPS unabdingbar, um unerwünschte Zytokin-Einflüsse zu vermeiden, die die Versuchsergebnisse unbrauchbar machen würden.

RNase A ist eine Endonuklease, die Einzelstrang-RNA an inneren Phosphodiesterbindungen spalten kann. Sie entstammt aus unterschiedlichen humanen Quellen wie beispielsweise Schweiß und Speichel, daher lässt sich eine RNase A Kontamination an Arbeitsmaterialien nur sehr schwer vermeiden (Bardòn und Shugar 1980). Im Gegensatz zu den meisten anderen Proteinen, ist RNase A zudem in der Lage nach thermischer Behandlung seine ursprüngliche Sekundärstruktur wieder herzustellen und somit wieder volle enzymatische Aktivität zurück zu gewinnen (Marino et al. 2001). Daher ist es zur Inaktivierung von RNase A notwendig deren Primärstruktur zu zerstören. Das könnte beispielsweise durch Oxidationen am Molekül oder durch Zerteilen des Makromoleküls erfolgen.

### **3.3.2 Aufgabenstellung**

Vor diesem Hintergrund war es ein Ziel dieser Arbeit die Beständigkeit dieser mit konventionellen Methoden schwer zu entfernenden Verbindungen zu untersuchen. Es sollte gezeigt werden, inwieweit sich LPS und RNase A, stellvertretend für weitere Problemverbindungen an TiO<sub>2</sub> beschichteten Oberflächen unter UV-A Einstrahlung inaktivieren ließen. TiO<sub>2</sub>-Beschichtungen von Oberflächen und Arbeitsmaterialien könnten eine Lösung darstellen, um die genannten Schwierigkeiten zu verringern und die Produktsicherheit unter Reinraum-Bedingungen zu verbessern.

### **3.3.3 Geeignete Testverfahren zur Bestimmung der biologischen Aktivität**

Um einen Nachweis über die Inaktivierung dieser Verbindungen erbringen zu können, mussten zunächst geeignete Testverfahren zur Bestimmung der Aktivität von LPS und RNase A erarbeitet werden. Dabei war

zu berücksichtigen, dass bei beiden Verbindungen schon geringste Mengen im pikomolaren Bereich genügen, um deren biologische Funktionen zu erfüllen. Es mussten entsprechend empfindliche Testsysteme eingesetzt werden. Zu diesem Zweck wurde auf biochemische bzw. immunologische Verfahren zurückgegriffen, mit denen die Funktionen von LPS bzw. RNase A verifiziert werden konnten. Diese so genannten Immunoassays sind deshalb besonders gut geeignet, da sie auf Rezeptor-Ligand Interaktionen basieren, die hochgradig spezifisch und zudem sehr empfindlich reagieren. Es werden hierbei Signalübertragungswege initiiert, die das Anfangssignal massiv verstärken. Die Auswahl und Durchführung der biochemischen Testverfahren wurde in Kooperation mit Florian Eberle aus der Arbeitsgruppe von Alexander H. Dalpke aus unserem Haus durchgeführt.

Für die Untersuchungen an LPS wurde ein Verfahren eingesetzt, mit dem die durch LPS-Einwirkung auf humane Immunzellen hervorgerufene hTNF- $\alpha$  Expression gemessen werden konnte. Damit sollte ein Maß für die LPS-Aktivität erhalten werden. Bei RNase A wurde deren intrinsische Eigenschaft herangezogen, RNA zu spalten. Dazu wurden RNA-Oligonukleotide ausgewählt, die ihrerseits zu einer messbaren IFN- $\alpha$  Expression an Immunzellen führen. Dies erfolgt dann nicht mehr, wenn die RNA-Oligonukleotide durch RNase A gespalten werden. So sollte es möglich sein, die Aktivität der RNase A selektiv zu verifizieren.

### **3.3.4 Vitalitätstest an den isolierten Zellen (MTT-Test)**

Die wie in Kapitel 2.7 beschrieben gewonnenen Zellen, wurden durch einen MTT-Test auf Vitalität untersucht. Zudem wurde auch geprüft, ob sie nach der Behandlung mit dem TiO<sub>2</sub>/UV-A behandelten LPS noch vital waren, was bestätigt werden konnte. Denkbar war hier, dass durch die Einwirkung von TiO<sub>2</sub> und UV-A zwar das LPS seine pyrogene Wirkung verliert, dabei aber andere Zellgifte entstehen, die die Vitalität der Zellen negativ beeinflussen.

Der Nachweis beruht darauf, dass vitale Zellen in der Lage sind Reduktionsmittel zu produzieren, die den gelben, wasserlöslichen Redox-Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromid (MTT) in das dunkelblaue, alkohol-lösliche Formazan überführen. Das gelbe MTT kann in die Zellen eindringen und wird dort von mitochondrialen Dehydrogenasen reduziert. Die Menge des umgesetzten Farbstoffs entspricht der Glykolyse-Rate der Zelle und ist somit ein Maß für die Zellvitalität. Durch Zugabe von Natriumdodecylsulfat (Sodium Dodecyl Sulphate - SDS) werden die Zellen lysiert und dabei das blaue Formazan freigesetzt (Mosmann 1983). Im ELISA-Reader (Thermo Scientific) wurde bei 490 nm die Intensität der Formazanlösung photometrisch bestimmt. Es zeigte sich, dass die Zellen auch nach der Behandlung mit bestrahltem LPS verschiedener Konzentrationen noch vital waren.

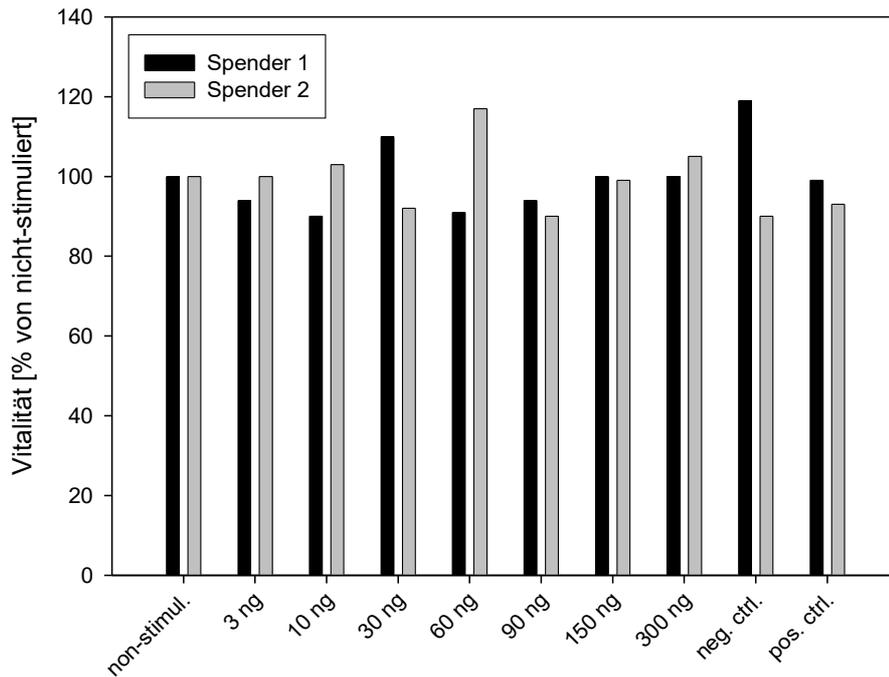


Abbildung 15: Ergebnisse des MTT-Tests auf die Vitalität der eingesetzten Zellen nach Behandlung mit LPS unterschiedlicher Konzentrationen [ $\text{ng mL}^{-1}$ ], das zuvor mit UV-A aktiviertem  $\text{TiO}_2$  behandelt worden war.

### 3.3.5 Photokatalytisch wirksame $\text{TiO}_2$ -Probekörper

Für die Untersuchungen an den Biomolekülen wurden die PVD-beschichteten  $\text{TiO}_2$ -Probekörper verwendet, die in Abschnitt 2.4 beschrieben wurden.

## 3.4 Photokatalytische Inaktivierung von bakteriellem Lipopolysaccharid

### 3.4.1 Versuchsprinzip

Es wurde untersucht, ob UV-A aktivierte  $\text{TiO}_2$ -Beschichtungen in der Lage sind, LPS immunologisch unwirksam zu machen. Dazu wurden unterschiedliche LPS-Konzentrationen in wässriger Lösung mit Titandioxid-beschichteten Glasplättchen in Headspace-Vials gebracht und mit UV-A Licht zur Aktivierung der Photokatalyse bestrahlt. Der Nachweis ist erbracht, wenn eine verglichen mit der Positivkontrolle geringere hTNF- $\alpha$  Ausschüttung bei LPS festgestellt wird, das in Kontakt mit UV-A-aktiviertem  $\text{TiO}_2$  stand. Die Auswertung erfolgte durch den in Abschnitt 3.4.3 beschriebenen spezifischen Nachweistest, bei dem die hTNF- $\alpha$  Ausschüttung humaner Blutzellen gemessen wurde. Die Isolierung der Blutzellen wurde in Kapitel 2.7 und der Vitalitätstest in Kapitel 3.3.4 beschrieben.

### 3.4.2 Versuchsdurchführung

Alle beschichteten und unbeschichteten Probelplättchen und Headspace-Vials wurden zunächst mit bidestilliertem Wasser gespült und bei 121°C und 205 kPa autoklaviert. Wässrige LPS-Lösungen (1 mL,  $c = 0\text{--}200\text{ ng mL}^{-1}$ ) wurden in die Headspace-Vials zusammen mit  $\text{TiO}_2$ -beschichteten und unbeschichteten Glasplättchen ( $A = 402 \pm 12\text{ mm}^2$ ) gegeben. Die Vials wurden in der in Abschnitt 2.1 beschriebenen Beleuchtungskammer mit UV-A-Licht für bis zu 120 h unter Drehen beleuchtet. Die Lichtleistung innerhalb der Vials lag bei  $1\text{ mW cm}^{-2}$ . Die nachfolgenden Abbildungen zeigen den Aufbau.

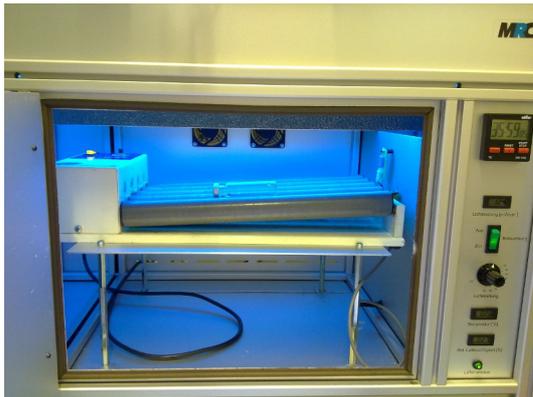


Abbildung 16: UV-A-Beleuchtungskammer mit einem Vial auf Rollenmischer

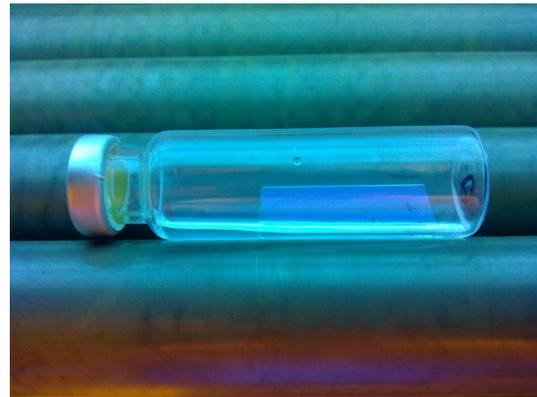


Abbildung 17: Nahaufnahme eines Vials

Zur Bestimmung der nach der Bestrahlung verbliebenen LPS-Aktivität, wurden die gewonnenen  $\text{CD14}^+$ -Zellen mit einer 1:100 Verdünnung der entsprechenden LPS-Lösungen stimuliert. Als Positivkontrollen wurden Lösungen mit  $40\text{ ng mL}^{-1}$  LPS analog zu den übrigen Proben mit unbeschichteten Glasplättchen bestrahlt. Die Zellen reagieren auf LPS mit einer  $\text{hTNF-}\alpha$  Ausschüttung, daher kann die  $\text{hTNF-}\alpha$  Konzentration als Maß für die verbleibende LPS-Aktivität nach der  $\text{TiO}_2/\text{UV-A}$  Behandlung herangezogen werden. Von allen Proben wurde die  $\text{hTNF-}\alpha$  Ausschüttung der  $\text{CD14}^+$ -Zellen im zellfreien Überstand 18 h nach der Stimulation gemessen. Dazu wurde ein Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit (ELISA) (BD OptEIA, Heidelberg, Deutschland) verwendet.

### 3.4.3 Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Der ELISA ist ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren das über eine Farbreaktion funktioniert und photometrisch im Laborversuch ausgewertet wird. Prinzipiell werden dabei zwei Antikörper eingesetzt, die spezifisch an das nachzuweisende Antigen (hier:  $\text{hTNF-}\alpha$  bei LPS,  $\text{IFN-}\alpha$  bei RNA) binden. Da die Antikörper an zwei unterschiedlichen Stellen am Antigen binden, nennt man das Verfahren auch Sandwich-ELISA. Der erste Antikörper ist an der Oberfläche der 96-Well-Platte fixiert, so dass auch das nachzuweisende Antigen

fixiert wird. Im nächsten Schritt wird ein Enzym-gekoppelter (enzyme-linked) Antikörper als Detektionsantikörper zugegeben. Auch dieser bindet am fixierten Antigen zu der erwähnten Sandwich-Struktur. In einem dritten Schritt wird ein zu dem gekoppelten Enzym passendes Substrat gegeben, das mit dem Enzym unter Farbveränderung reagiert. Durch die Intensität der Färbung kann mittels Kalibrierkurve die Antigen-Konzentration ermittelt werden. Zur Berücksichtigung der Unterschiede durch die beiden Spender wurden die IFN- $\alpha$  und hTNF- $\alpha$  Werte zu den entsprechenden Werten der unbehandelten Kontrollen normalisiert.

### 3.4.4 Validierung des LPS-Testverfahren

Zur Validierung des verwendeten Testverfahrens wurden zunächst unbehandelte Probelösungen von LPS in ansteigenden Konzentrationen eingesetzt. Die Stimulation von CD14<sup>+</sup> mit ansteigenden LPS-Mengen zeigte einen konzentrationsabhängigen Anstieg der hTNF- $\alpha$  Ausschüttung, wobei eine Stimulation mit 150 ng mL<sup>-1</sup> LPS zu einer maximalen hTNF- $\alpha$  Sekretion von etwa 6000 pg mL<sup>-1</sup> führte. Bei höheren LPS-Konzentrationen konnte kein weiterer Anstieg der hTNF- $\alpha$  Konzentration gemessen werden (Abbildung 18).

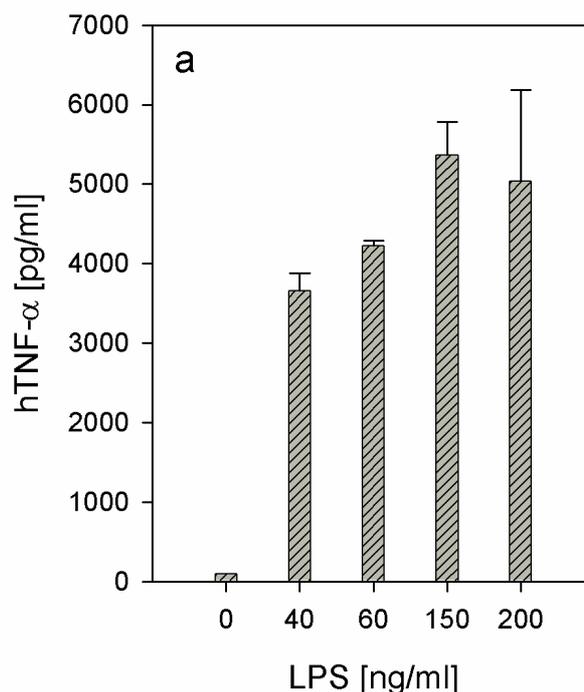


Abbildung 18: Effekte von LPS bei Einwirkung auf Immunzellen zur Validierung des eingesetzten Testsystems. CD14<sup>+</sup> Zellen wurden mit ansteigenden LPS-Konzentrationen stimuliert. Das daraufhin ausgeschüttete hTNF- $\alpha$  wurde bestimmt. Mittelwerte aus je 5 Proben.

Das ausgewählte Testverfahren stellte somit eine geeignete Methoden dar, um mögliche Inaktivierungen von LPS anzuzeigen. Die einzige verfügbare alternative Methode zur direkten Bestimmung von LPS ist der so

genannte Limulus-Assay, der auf der Gerinnung von Blut des Pfeilschwanzkrebses basiert. Da der Limulus-Assay allerdings ethisch umstritten und zudem relativ teuer ist, wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

### 3.4.5 Ergebnisse: Inaktivierung von LPS

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob  $\text{TiO}_2$  beschichtete Glasplättchen unter UV-A Bestrahlung LPS in wässrigen Lösungen inaktivieren können. Dazu wurde betrachtet, ob die  $\text{hTNF-}\alpha$  Ausschüttung durch Anregung mit  $\text{TiO}_2$ /UV-A-behandelten LPS-Lösungen im Vergleich zu unbehandelten LPS-Lösungen herabgesetzt ist. Es wurden LPS-Lösungen mit ansteigenden Konzentrationen eingesetzt und zusammen mit  $\text{TiO}_2$ -beschichteten Glasplättchen für 96 Stunden mit UV-A Licht bestrahlt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 19 grafisch dargestellt. Die durch LPS induzierte Immunstimulation ( $\text{hTNF-}\alpha$ ) wurde bei LPS-Konzentrationen bis  $60 \text{ ng mL}^{-1}$  um über 95 % reduziert. Lösungen mit höheren LPS-Konzentrationen von bis zu  $500 \text{ ng mL}^{-1}$  wurden zwar nicht vollständig inaktiviert, deren Aktivität wurde jedoch gegenüber der Kontrollen deutlich verringert.

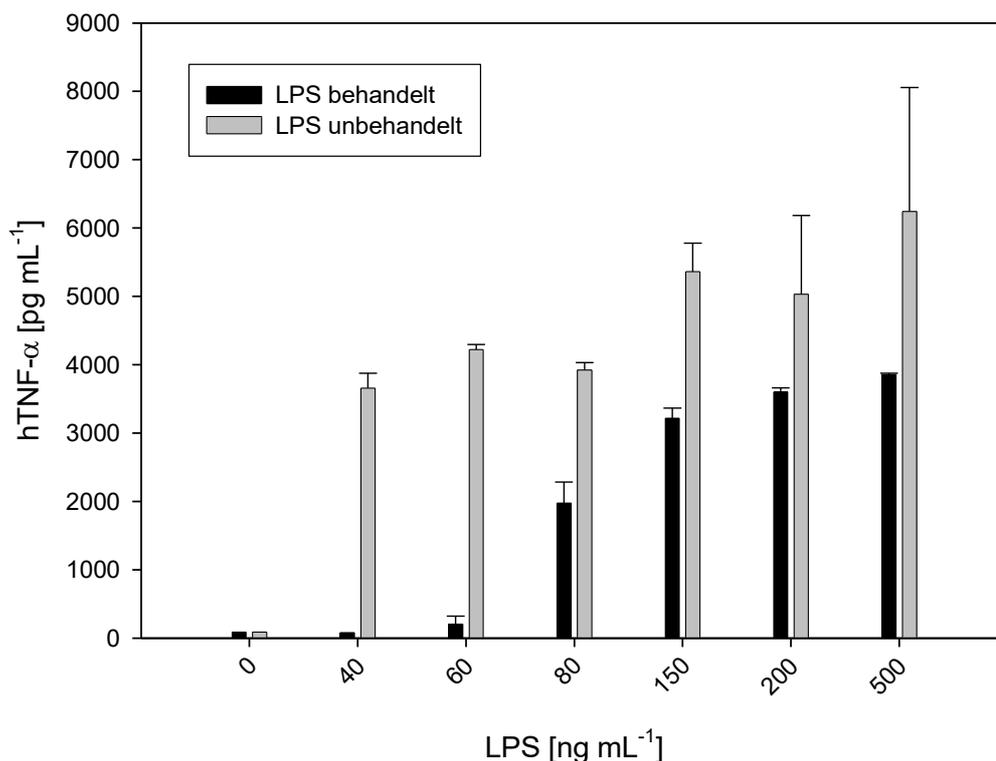


Abbildung 19: LPS-Inaktivierung. LPS-Lösungen wurden in ansteigenden Konzentrationen mit  $\text{TiO}_2$  beschichteten Glasplättchen unter UV-A-Bestrahlung behandelt. Als Negativkontrollen dienten Glasplättchen ohne  $\text{TiO}_2$ -Beschichtung. Nach 96 h UV-A-Bestrahlung wurden  $\text{CD14}^+$  Zellen mit der behandelten LPS-Lösung stimuliert. Die dadurch ausgeschütteten  $\text{hTNF-}\alpha$  Konzentrationen wurden nach 18 h aus dem Überstand bestimmt und grafisch dargestellt. Mittelwerte aus jeweils 2 Proben.

Aus den hTNF- $\alpha$ -Messwerten wurde für die jeweiligen Proben das verbliebene aktive LPS nach 96 h UV-A/TiO<sub>2</sub> Behandlung berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Verbliebenes aktives LPS nach 96 h UV-A/TiO<sub>2</sub> Behandlung.

eingesetztes LPS [ng mL <sup>-1</sup> ]	verbliebene hTNF- $\alpha$ Sekretion [pg mL <sup>-1</sup> ]	Mittelwert	Mittelwert
		verbliebenes LPS [ng mL <sup>-1</sup> ]	inaktiviertes LPS [ng mL <sup>-1</sup> ]
40	83± 0	0.8	39.2
60	207± 116	2.9	57.1
80	1977± 306	37	43
150	3217± 151	113	37
200	3603± 57	168	32
500	3857± 19	450	50

Für die Berechnungen wurde angenommen, dass bei jeder Probe die gleiche Menge an LPS inaktiviert wurde. Darüber hinaus wurde ein durchschnittlicher, maximaler hTNF- $\alpha$  Wert als Mittelwert der Positivkontrollen bei voller LPS-Aktivität von 4284 ±210 pg mL<sup>-1</sup> bestimmt. Jeder einzelne Wert an verbliebenem hTNF- $\alpha$  wurde durch diesen maximalen hTNF- $\alpha$  Wert dividiert. Dadurch wurde der prozentuale Anteil an verbliebenem, aktivem LPS rechnerisch erhalten. Multiplikation mit der entsprechenden Anfangskonzentration an LPS lieferte als Ergebnis die verbliebene aktive und daraus die inaktivierte Menge an LPS (ng mL<sup>-1</sup>). Die Menge an inaktiviertem LPS lag mit 43 ±9 ng mL<sup>-1</sup> stets in der gleichen Größenordnung, unabhängig von der jeweiligen Anfangskonzentration.

In dieser Versuchsreihe wurden zwischen 30-60 ng mL<sup>-1</sup> LPS innerhalb von 96 h abgebaut. Somit wurde gezeigt, dass LPS prinzipiell durch die Behandlung von UV-A/TiO<sub>2</sub> inaktiviert wird. Nachfolgend wurde die Abbaukinetik näher untersucht.

### 3.4.6 Kinetik der LPS-Inaktivierung

Zur Untersuchung der Kinetik der LPS-Inaktivierung wurden zwei unterschiedliche LPS-Anfangskonzentrationen mit 40 ng mL<sup>-1</sup> und 60 ng mL<sup>-1</sup> gewählt. Diese Konzentrationen konnten in den vorangegangenen Untersuchungen innerhalb von 96 Stunden weitgehend inaktiviert werden. Die Proben wurden nun über 120 Stunden mit UV-A-Licht unter Anwesenheit von TiO<sub>2</sub>-beschichteten Plättchen bestrahlt. Zu verschiedenen Zeiten wurden jeweils Proben aus der Bestrahlungskammer herausgenommen und damit CD14<sup>+</sup> Zellen stimuliert. In gleicher Weise wie zuvor beschrieben, wurden die hTNF- $\alpha$  Konzentrationen aus den Überständen ermittelt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 grafisch dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen zunächst eine lineare Abnahme der hTNF- $\alpha$  Konzentrationen innerhalb der ersten 48 h Bestrahlungsdauer. Darauf erfolgte ein abrupter Abfall des hTNF- $\alpha$  Signals nach 72 h. Wahrscheinlich erfolgte dies dadurch, dass ab diesem Zeitpunkt nicht mehr genügend intaktes LPS vorhanden war, um eine messbare hTNF- $\alpha$  Ausschüttung der Zellen hervorzurufen.

Eine Versuchsreihe von unbehandelter LPS-Lösung in absteigenden Konzentrationen zeigte ein ähnliches Bild. Ab einer Schwellenkonzentration von etwa  $10 \text{ ng mL}^{-1}$  LPS blieb auch hier das hTNF- $\alpha$  Signal aus. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Zellen erst ab einer gewissen Mindestkonzentration an LPS mit einer hTNF- $\alpha$  Ausschüttung reagieren. Die Messwerte dieser Versuchsreihe sind nachfolgend in Abbildung 21 dargestellt.

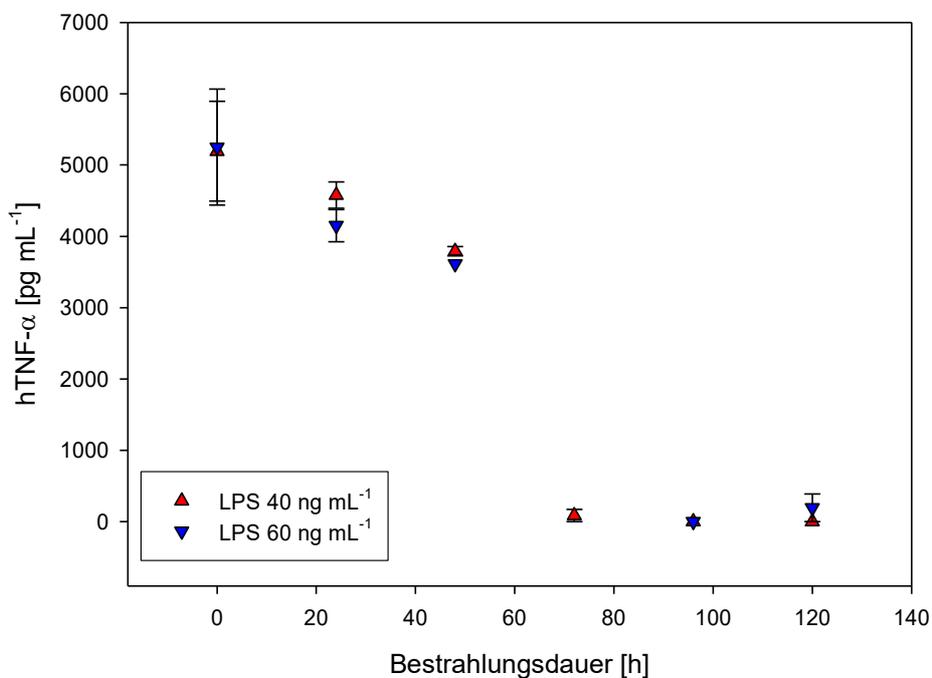


Abbildung 20: Verlauf der LPS-Inaktivierung zweier unterschiedlicher LPS-Lösungen. CD14<sup>+</sup> Zellen wurden mit den bestrahlten LPS-Lösungen stimuliert. Die gemessenen hTNF- $\alpha$  Konzentrationen sind gegen die Bestrahlungsdauer aufgetragen. Mittelwerte aus je 2 Proben.

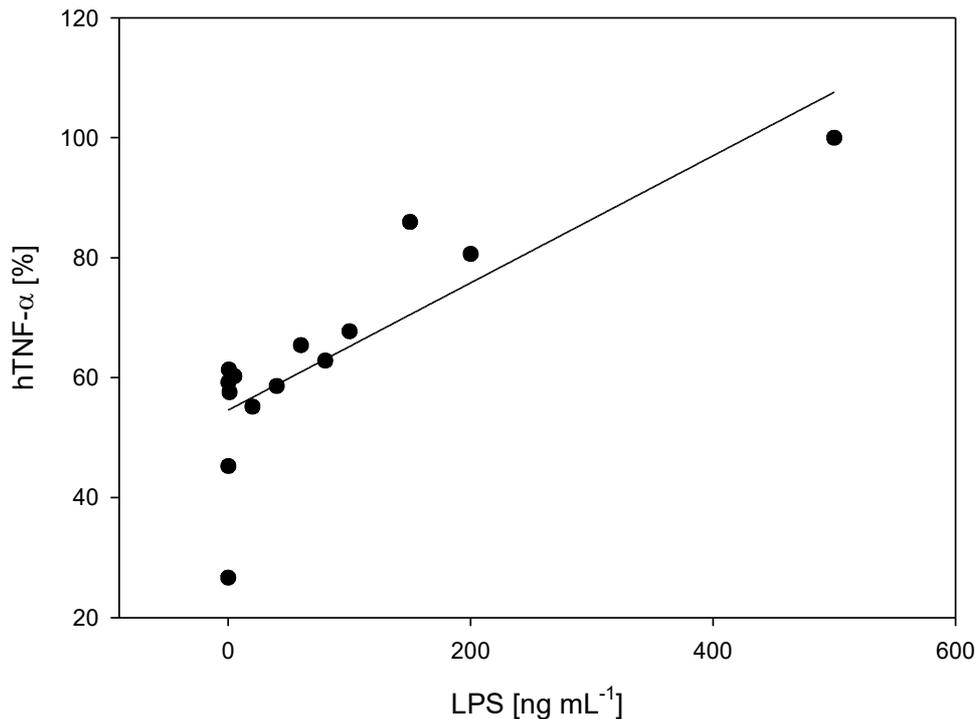


Abbildung 21: hTNF- $\alpha$  Ausschüttung bei absteigenden LPS-Konzentrationen ohne UV-A/TiO<sub>2</sub>-Behandlung.

### 3.5 Photokatalytische Inaktivierung von RNase A

Um die Wirksamkeit von UV-A-aktiviertem TiO<sub>2</sub> zu verifizieren, wurden verschiedenen RNase A Konzentrationen in wässriger Lösung in Vials gegeben, in die je ein TiO<sub>2</sub>-beschichtetes Glasplättchen gelegt wurde. Diese Proben wurde für 96 Stunden mit UV-A-Licht behandelt und anschließend die RNase A Aktivität überprüft. Dazu wurde eine indirekte Vorgehensweise eingesetzt, wie nachfolgend beschrieben.

#### 3.5.1 Versuchsprinzip:

Bestimmte Ribonukleinsäuren (RNA) wie beispielsweise das Oligomer RNA40, lösen an PBMCs eine messbare Immunstimulation aus und werden somit als Pathogene (*pathogen associated molecular patterns*, PAMP) von den Zellen erkannt. Dies geschieht anhand bestimmter molekularer Muster durch die Toll-Like-Rezeptoren der Zelle. Die Toll-Like Rezeptoren TLR 7 und TLR 9, die zur Klasse der *pattern recognition receptors* (PRR) gehören, befinden sich in intrazellulären Vesikeln, den Endosomen. Wird ein pathogener Erreger erkannt, so sekretiert die Zelle Interferon-alpha (IFN- $\alpha$ ) (Akira und Hemmi 2003). Das Interferon alpha ist ein Protein, das benachbarte infizierte und nicht infizierte Zellen dazu veranlasst, den Abbau viraler und zellulärer RNA zu bewirken um den gesamten Organismus dadurch zu schützen. Des weiteren bewirkt Interferon alpha eine Aktivierung natürlicher Killerzellen (NK-Zellen), die der Virus- und

Tumorabwehr dienen (Heil et al. 2004). Mit einem geeigneten Enzym-gekoppelten Immunadsorptionstest (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), wie analog in Abschnitt 3.4.3 beschrieben, kann die IFN- $\alpha$  Ausschüttung quantifiziert werden.

Aktive RNase A kann nun diese immunstimulatorische RNA (hier RNA40) spalten und sie somit unwirksam machen. Diese gesplattene RNA ruft dann an den PBMCs keine Immunstimulation mehr hervor und somit wird auch kein IFN- $\alpha$  ausgeschüttet. Gelingt es nun RNase A durch TiO<sub>2</sub> und UV-A zu deaktivieren, so kann diese zerstörte RNase die immunstimulatorische RNA nicht mehr spalten und die Zellen geben eine meßbare Immunantwort auf den Stimulus. Die tatsächlich gemessene Größe ist die Interferon-alpha-Konzentration, die von den stimulierten Zellen sekretiert wird.

### 3.5.2 Versuchsdurchführung

Für die Versuche wurden Blutzellen zweier Spender eingesetzt. Ebenso wurden zwei verschiedene RNAs als Immunstimulatoren verwendet, um mögliche sequenzabhängige IFN- $\alpha$  Ausschüttungen durch humane PBMCs auszuschließen, auf die jeweils die behandelte RNase A gegeben wurde (Heil et al. 2004). Die verwendeten RNA Oligonukleotide (ORN) waren RNA40 (GCCCGUCUGUUGUGUGACUC) und EGFPas (GAACUUCAGGGUCAGCUUGCCG) (IBA, Göttingen) im Folgenden bezeichnet als RNA1 und RNA2.

Alle beschichteten und unbeschichteten Probekörper und Headspace-Vials wurden zunächst mit bidestilliertem Wasser gespült und autoklaviert (121°C und 205 kPa). Die RNase A wurde jeweils in 1 mL Aqua ad iniectabilia (Braun, Melsungen, Deutschland) gelöst, so dass Konzentrationen zwischen 0 und 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  erhalten wurden. Die Aktivität der Proben vor der Bestrahlung lag zwischen 0 und 35 units mL<sup>-1</sup>. Wobei ein unit definitionsgemäß die Menge an Enzym darstellt, die benötigt wird, um 50% einer Hefe-RNA pro Minute zu zersetzen (Kunitz 1946). Die Bestrahlung erfolgte in der in Abschnitt 2.1 beschriebenen Beleuchtungskammer mit UV-A-Licht ( $p = 1,2 \text{ mW cm}^{-2}$ ,  $\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ nm}$ ) für bis zu 120 h. Dabei betrug die Lichtleistung innerhalb der Vials und somit direkt auf der photokatalytischen Oberfläche 1  $\text{mW cm}^{-2}$ .

Nach der Bestrahlung wurden alle Proben auf eine Konzentration von 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  bezogen auf RNase A vor der Bestrahlung verdünnt. Die verbliebene endonukleolytische Aktivität der RNase A wurde dadurch ermittelt, dass beide Oligonukleotide RNA1 und RNA2 mit den RNase-A-Proben bei 60°C für 1 h in 100 mM TRIS/HCl-Pufferlösung (pH 7,4) inkubiert wurden. Nach der Inkubation wurden die verbleibenden RNA-Oligonukleotide durch Komplexierung mit DOTAP (1,2-Di-(9Z-octadecenoyl)-3-trimethylammoniumpropan-methylsulfat) (Roth, Karlsruhe, Germany) in einem Verhältnis von 1:2,5 nach den Herstellerangaben aus der Lösung entfernt. Die komplexierten RNA-Oligonukleotide wurden darauf für 16 h zur Stimulation von humanen PBMCs eingesetzt. Intakte RNA1 und RNA2 rufen dabei an den PBMCs eine Immunreaktion

hervor, die zu einer IFN- $\alpha$  Sekretion der Zellen führt (Eberle et al. 2008). Durch Bestimmung der IFN- $\alpha$  Konzentration im zellfreien Überstand konnte somit auf die Konzentration intakter RNA geschlossen werden. Zur Ermittlung der IFN- $\alpha$  Konzentrationen wurde ein Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Sandwich-ELISA) eingesetzt (Bender MedSystems, Wien, Österreich). Daneben wurde das Desoxynukleotid CpG2216 parallel als Positivkontrolle mitgeführt. Zusätzlich wurden beide RNA-Oligonukleotide zur Negativkontrolle mit Wasser inkubiert. Alle Analysen wurden doppelt bestimmt und jeweils mindestens dreimal wiederholt.

### **3.5.3 Validierung des RNase A-Testverfahrens**

Zur Validierung des verwendeten Testverfahrens auf die Aktivität von RNase A wurden zunächst unbehandelte Probelösungen der RNA-Oligonukleotide in ansteigenden Konzentrationen untersucht. Dabei wurde das zuvor beschriebenen immunologischen Testverfahren eingesetzt, bei dem die IFN- $\alpha$  Konzentrationen gemessen wurden. Da humane PBMCs sequenzabhängig auf RNA reagieren, wurden die zwei unterschiedlichen RNA-Oligonukleotide ausgewählt, die als hochgradig immunstimulatorisch beschrieben sind. Diese RNA-Oligonukleotide wurden mit DOTAP komplexiert und in ansteigenden Konzentrationen an den Immunzellen auf deren IFN- $\alpha$  Ausschüttung getestet. Die spezifische Wirkung der RNase A wurde dadurch überprüft, dass das DNA-Oligonukleotid CpG2216 analog mit RNase A behandelt und ebenfalls auf PBMCs gegeben wurde. Dies bewirkte erwartungsgemäß keine signifikante Veränderung der IFN- $\alpha$  Ausschüttung (Ergebnisse nicht dargestellt). Die übrigen Ergebnisse dieser Validierung sind in Abbildung 22 grafisch dargestellt.

Das Testverfahren stellte sich somit als geeignete Methoden heraus, um mögliche Inaktivierungen von RNase A anzuzeigen. Alternativ zu den Immunoassays wurde auch versucht, intakte RNA durch Gelelektrophorese zu detektieren, jedoch war diese Methode weitaus weniger empfindlich und wurde daher nicht weiter eingesetzt.

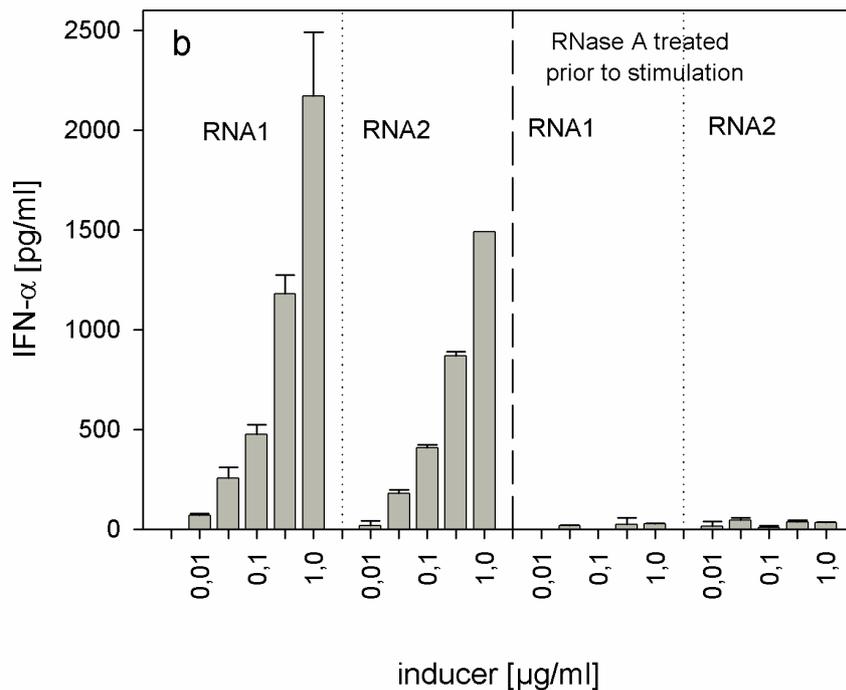


Abbildung 22: Effekte von RNA bei Einwirkung auf Immunzellen. Links: humane PBMCs wurden mit ansteigenden Konzentrationen an RNA stimuliert, was zu entsprechenden IFN- $\alpha$  Ausschüttungen führte. Rechts: die RNA Oligonukleotide wurden für 60 min mit  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  RNase A behandelt und damit gespalten. Erwartungsgemäß erfolgt hier keine IFN- $\alpha$  Ausschüttung. (n=3; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung).

### 3.5.4 Ergebnisse: Inaktivierung von RNase A

Die Versuche zur Inaktivierung von RNase A wurden analog zu den LPS-Versuchen in wässrigen Lösungen mit den zuvor beschriebenen TiO<sub>2</sub>-beschichteten Glasplättchen unter UV-A Bestrahlung durchgeführt.

### 3.5.5 UV-A-Bestrahlung von RNase A Lösungen an TiO<sub>2</sub> beschichteten Probekörpern über 24 h

Zunächst wurden die Proben für 24 h in der Beleuchtungskammer mit UV-A Licht bestrahlt. In dieser Versuchsreihe wurden zwei Konzentrationen an RNase A mit  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  und  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  eingesetzt. Als Kontrollen wurde Aqua ad iniectabilia (Braun, Melsungen, Deutschland) in Vials mit und ohne TiO<sub>2</sub>-Probekörper verwendet. Weitere Kontrollen waren RNase A in Vials ohne TiO<sub>2</sub>-Probekörper und RNA1 und RNA2 ohne RNase A-Behandlung, sowie die Mediumkontrollen. Die Auswertung der Ergebnisse ergab dabei, dass diese Bestrahlungsdauer nicht ausreichte, um die applizierten RNase A Konzentrationen zu inaktivieren. Positiv zu vermerken war hier, dass alle Kontrollen die jeweils erwarteten Ergebnisse lieferten. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt. Der Versuch wurde daraufhin mit verlängerter Bestrahlungsdauer wiederholt.

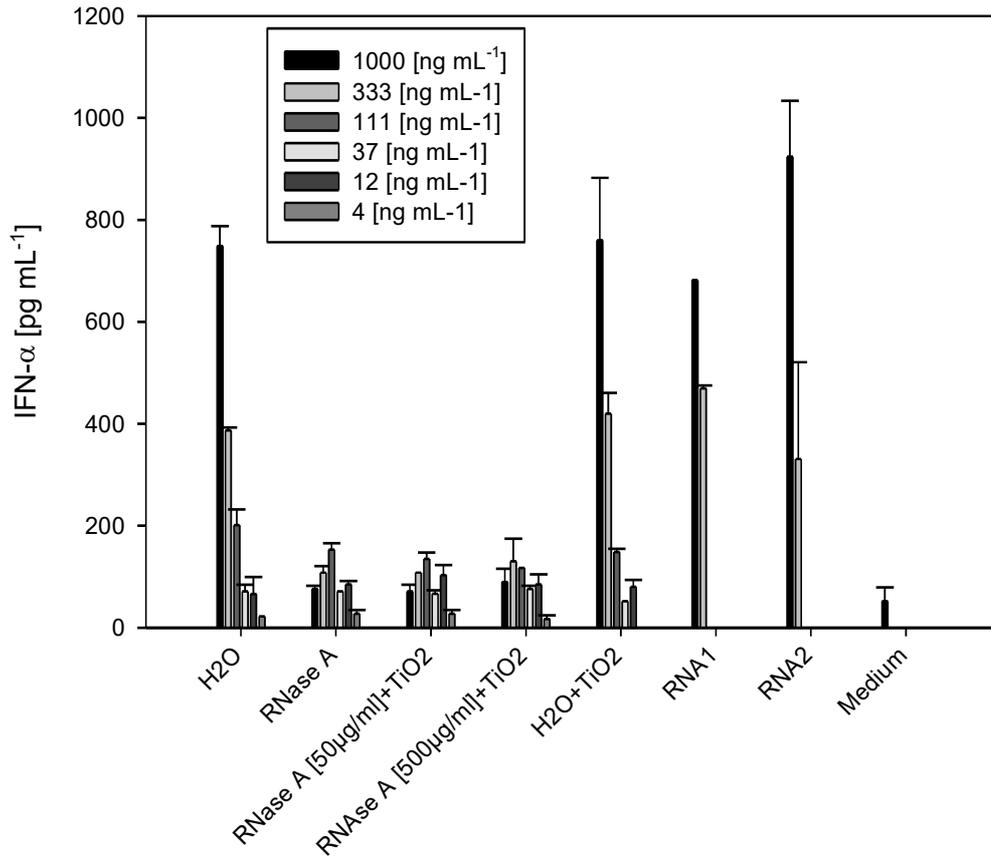


Abbildung 23: Versuch zur Inaktivierung von RNase A mit einer Bestrahlungsdauer von 24 h. Die Proben mit einer RNase A Anfangskonzentration von 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  und 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  konnten nicht inaktiviert werden. Die RNA wurden gespalten und die Zellen schütteten kein IFN- $\alpha$  aus. ( $n=3$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung). Die Kontrollen zeigten alle die erwarteten Ergebnisse.

### 3.5.6 UV-A-Bestrahlung von RNase A Lösungen an $\text{TiO}_2$ beschichteten Probekörpern über 96 h

Die Wiederholung des vorigen Versuchs wurde nun mit einer Bestrahlungsdauer von 96 h durchgeführt. Auch hier lieferten alle Kontrollen das erwartete Ergebnis. Ausserdem wurden die RNase A Proben mit 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  inaktiviert. Das zeigte sich daran, dass nach Inkubation der RNAs mit der bestrahlten RNase A eine IFN- $\alpha$  Sekretion der Zellen wie bei den Positivkontrollen stattfand. Somit wurde gezeigt, dass die RNase A nicht mehr in der Lage war, RNA zu spalten. Woraufhin die Zellen auf die RNA mit einer Immunantwort reagierten. Die Proben mit 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  RNase A hingegen konnten nicht inaktiviert werden und zeigten somit nach dem RNA-Verdau keine IFN- $\alpha$  Sekretion. In diesem Fall lagen demnach noch intakte RNase A Moleküle in ausreichender Menge vor, die zu einer RNA Spaltung führten. Die gespaltenen RNAs führten daher nicht zu einer Immunantwort der Zellen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 24 grafisch dargestellt.

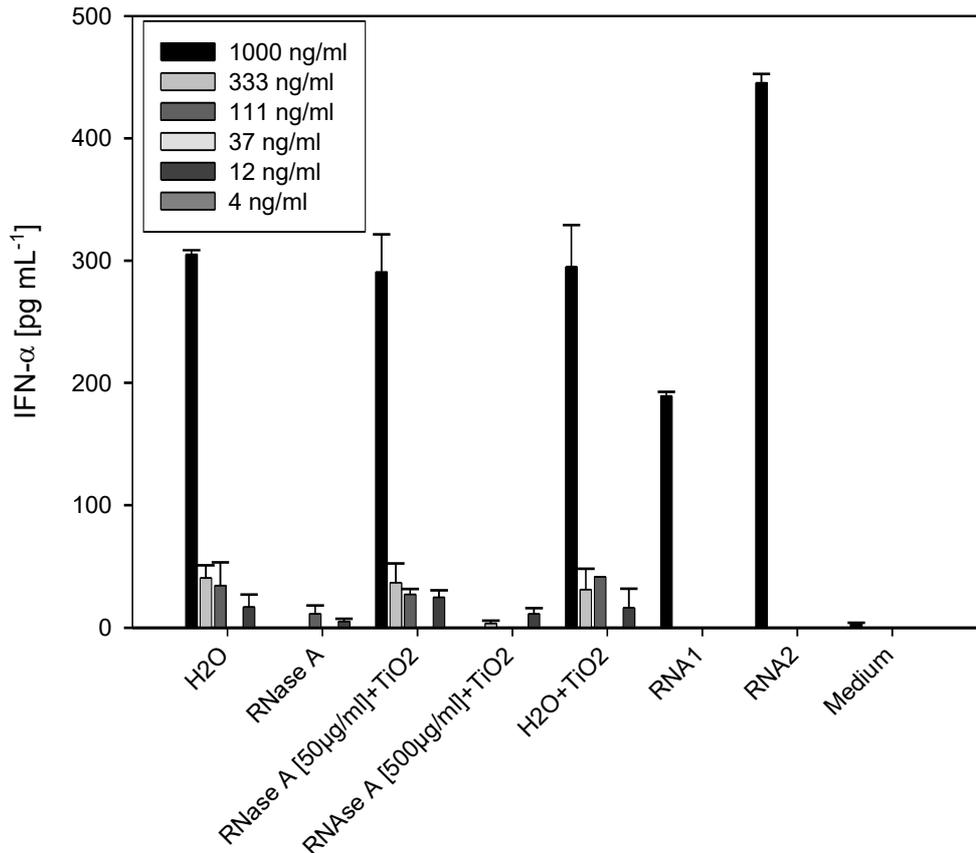


Abbildung 24: Versuch zur Inaktivierung von RNase A mit einer Bestrahlungsdauer von 96 h. Die Proben mit einer RNase A Anfangskonzentration von  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  wurden inaktiviert, dies zeigte sich in der IFN- $\alpha$  Ausschüttung bei diesem Probensatz. Die RNase A Konzentration von  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  war hingegen so hoch, dass keine vollständige Inaktivierung der RNase A erfolgen konnte. Die RNA wurden gespalten und die Zellen schütteten kein IFN- $\alpha$  aus. (n=3; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

### 3.5.7 Behandlung von Lösungen mit $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ bis $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ RNase A über 96 h

Nach diesen Erkenntnissen wurden weitere Versuchsreihen durchgeführt, um die Inaktivierungskapazität des Systems näher zu bestimmen. Die Bestrahlungsdauer wurde auf 96 h gehalten und RNase A Lösungen mit ansteigenden Konzentrationen ( $c = 50, 100, 150, 200, 300, 400$  und  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) eingesetzt. Die restlichen Versuchsparameter wurden analog den vorangegangenen Versuchen beibehalten. Im Ergebnis wurde die RNase A-Aktivität nach 96 h UV-A Bestrahlung an  $\text{TiO}_2$ -Oberflächen deutlich reduziert. Die Proben mit bis zu  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  RNase A konnten vollständig inaktiviert werden. Bei den Proben mit RNase A-Konzentrationen oberhalb von  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  zeigte sich hingegen keine IFN- $\alpha$  Ausschüttung, da noch intaktes Enzym vorhanden war, um die RNA zu spalten. Die Ergebnisse sind in Abbildung 25 dargestellt. Die eingesetzten RNA-Oligonukleotide bestehen aus 20 (RNA40) bzw. 22 (EGFPas) Nukleotiden. Sie benötigen eine minimale Länge von 19 Nukleotiden, um als Rezeptorliganden fungieren zu können (Hornung et al.

2005). Somit reicht ein einziger Schnitt im RNA-Molekül meist aus, um eine Immunstimulation zu verhindern.

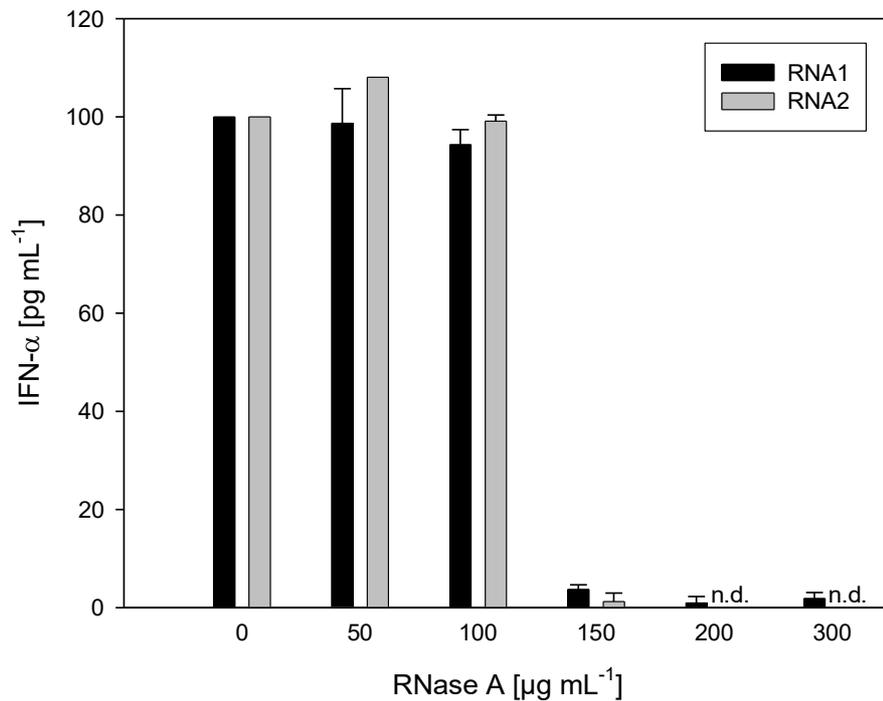


Abbildung 25: Inaktivierung von RNase A. Ansteigende RNase A Konzentrationen wurden mit TiO<sub>2</sub>-beschichteten Oberflächen unter UV-A Einstrahlung (96 h) behandelt. Mit den behandelten Lösungen wurde an zwei RNAs ein Verdau durchgeführt und anschließend humane PBMCs stimuliert. Die IFN-α Ausschüttung der PBMCs wurde 18 h nach der Stimulation analysiert (n.d. = not detected, n=3; Mittelwert ± Standardabweichung).

### 3.5.8 Betrachtung der Abbau-Kinetik von RNase A

Zur Bestimmung der Abbau-Kinetik von RNase A wurden ansteigende Konzentrationen des Enzyms von 50 – 500 µg mL<sup>-1</sup> eingesetzt und diese für 0 – 168 Stunden mit TiO<sub>2</sub>/UV-A wie zuvor beschrieben behandelt. Es zeigte sich dabei, dass die niedrigeren Konzentrationen im Bereich von 50 bis 100 µg mL<sup>-1</sup> nach 72 bzw. 96 Stunden vollständig inaktiviert wurden. Für eine Konzentration von 200 µg mL<sup>-1</sup> RNase A wurde hingegen eine Bestrahlungsdauer von 120 Stunden benötigt, um eine vollständige Inaktivierung zu erreichen. Die Proben mit der höchsten Konzentration von 500 µg mL<sup>-1</sup> konnten jedoch auch nach 168 h noch nicht vollständig inaktiviert werden. Bei dieser Konzentration wiesen die Proben aber eine verringerte Aktivität gegenüber unbehandelter RNase A auf, was auf einen kontinuierlichen Abbau der RNase A im Testsystem schließen ließ.

Zur Berechnung der Abbaukurven wurden aus den Messdaten AT50-Werte ermittelt. Der AT50-Wert ist definiert als die Bestrahlungsdauer, bei der die RNase A-Aktivität auf die Hälfte des Wertes der

Kontrollprobe abgefallen ist. In Abbildung 26 wurden die Messergebnisse und die AT50-Werte grafisch dargestellt.

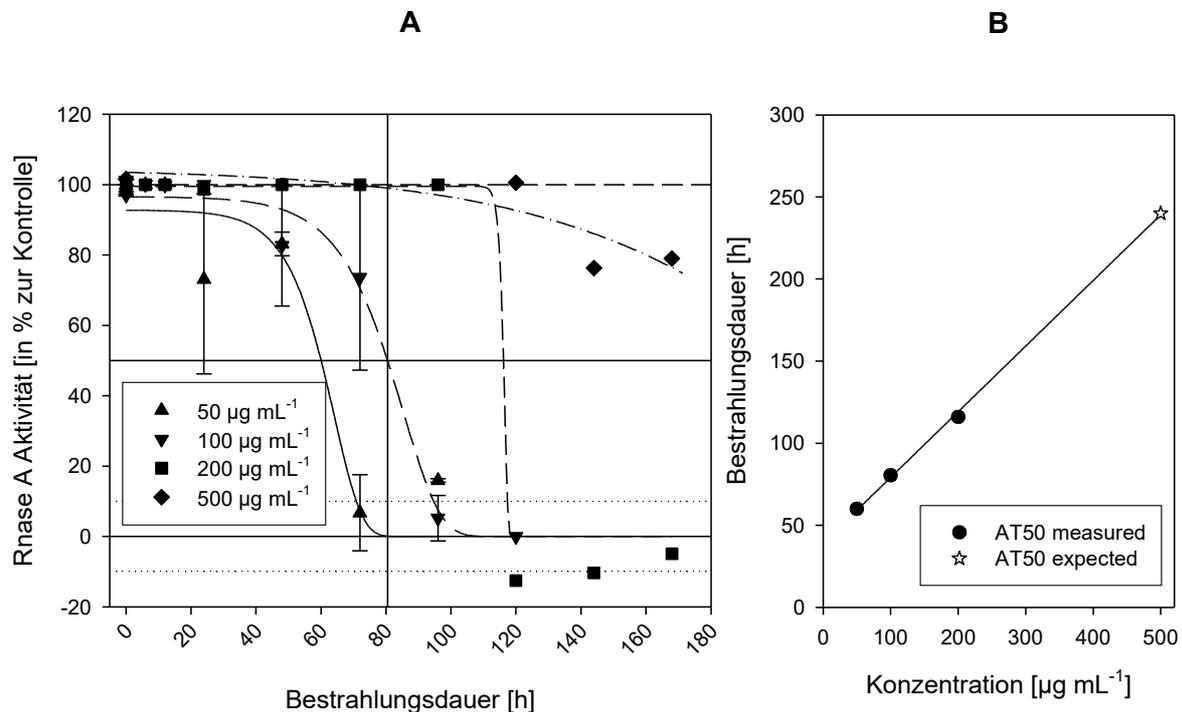


Abbildung 26: (A) Darstellung der Messdaten einer RNase A-Abbaukinetik und Ermittlung der zugehörigen AT50-Werte. Die RNase A Inaktivierung wurde mit einer erhöhten Bestrahlungsdauer bis zu 168 h wiederholt. Für jede Konzentration wurde die RNase A Aktivität zu mehreren Zeitpunkten bestimmt. 120 h Bestrahlungsdauer reichten aus, um 200 µg mL<sup>-1</sup> RNase A vollständig zu inaktivieren. Durch die Messpunkte konnte eine Fit-Funktion gelegt werden, deren Graph zur Ermittlung der AT50-Werte eingesetzt wurde. (n=3; Mittelwert ± Standardabweichung) (B) Die ermittelten AT50-Werte wurden gegen die jeweilige Anfangskonzentration aufgetragen, wobei der AT50-Wert für 500 µg mL<sup>-1</sup> RNase A abgeschätzt wurde.

Die Auftragung des AT50 gegen die anfängliche RNase A Konzentration zeigte einen linearen Verlauf, wobei der AT50 für die höchste Konzentration (500 µg mL<sup>-1</sup>) abgeschätzt wurde. Dies verdeutlicht, dass RNase A, ebenso wie LPS, mit konstanter Abbaurrate unabhängig von der Anfangskonzentration an TiO<sub>2</sub>-Oberflächen abgebaut wurde.

### 3.6 Untersuchung TiO<sub>2</sub>-haltiger Kosmetika

In den Abschnitten 3.4 und 3.5 konnte gezeigt werden, dass auch komplexe Biomoleküle durch UV-A aktiviertes, photokatalytisch wirksames TiO<sub>2</sub> inaktiviert, also chemisch verändert werden können. Daraus ergab sich die Fragestellung, ob solche Prozesse auch innerhalb eukaryontischer Zellen ablaufen könnten. Die Grundvoraussetzungen für die Photokatalyse sind das Vorhandensein von Licht geeigneter Wellenlänge

und des Photokatalysators. Falls beides innerhalb einer Zelle gegeben ist, muss mit Photokatalyseprozessen gerechnet werden.

UV-A-Strahlung im Wellenlängenbereich von 320 – 340 nm ist ausreichend energiereich, um die Photokatalyse an  $\text{TiO}_2$  zu aktivieren. Diese Strahlung weist Eindringtiefen in die menschliche Haut von bis zu 100  $\mu\text{m}$  auf, was der Tiefe der Dermis entspricht (Meinhardt et al. 2008). Somit kann die UV-A-Strahlung durchaus in vitale Hautzellen vordringen. Das Eindringen von  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel in die Haut von haarlosen Mäusen und Schweinen wurde auch bereits nachgewiesen. So wurde gezeigt, dass die  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel die Hornhautschicht durchdringen können und in tieferen Schichten der Epidermis nachweisbar waren. Darüber hinaus konnten  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel von P25 nach Assimilation über die Haut selbst in Organen und im Gehirn nachgewiesen werden (Wu et al. 2009). Somit besteht theoretisch die Möglichkeit, dass Photokatalyse innerhalb vitaler Hautzelle der Dermis stattfinden kann.

### **3.6.1 Aufgabenstellung**

Ziel dieser Untersuchung war es, die  $\text{TiO}_2$ -Anteile in kommerziell erhältlichen Sonnenschutzmitteln auf deren photokatalytische Aktivität hin zu prüfen und diese mit der Aktivität von technischen photokatalytischen Standardmaterialien wie P25 und UV100 zu vergleichen. Dazu wurden die  $\text{TiO}_2$ -Anteile in den Produkten per ICP-MS-Analytik quantifiziert. Die kristalline Struktur der enthaltenen  $\text{TiO}_2$ -Modifikationen wurde nach Extraktion und Präparation mittels XRD-Analytik bestimmt. Die photokatalytische Aktivität des  $\text{TiO}_2$  wurde daraufhin durch deren Mineralisierungsvermögen und durch Abbaureaktionen wie der Methylenblau-Entfärbung ermittelt. Es wurden 39 unterschiedliche Sonnenschutzpräparate untersucht. Die Präparate wurden so ausgewählt, dass eine breite Verteilung der Lichtschutzfaktoren und Hersteller gegeben war. Alle Präparate außer Nr. 13 und 25 enthielten laut Herstellerangaben Titandioxid.

### **3.6.2 Ergebnisse: $\text{TiO}_2$ -Anteile in den untersuchten Sonnenschutzmitteln**

Die Titan-Konzentrationen der Sonnenschutzmittel wurden mittels ICP-MS-Analytik nach schwefelsaurem Aufschluss ermittelt. Von jeder Probe wurden zwei Aufschlüsse hergestellt. Messungen der Titankonzentrationen wurden für jeden Aufschluss dreimal durchgeführt und aus den Mittelwerten für die drei Titanisotope  $^{46}\text{Ti}$ ,  $^{47}\text{Ti}$  und  $^{49}\text{Ti}$  die stöchiometrischen  $\text{TiO}_2$ -Anteile der Präparate berechnet. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Abbildung 27 grafisch dargestellt.

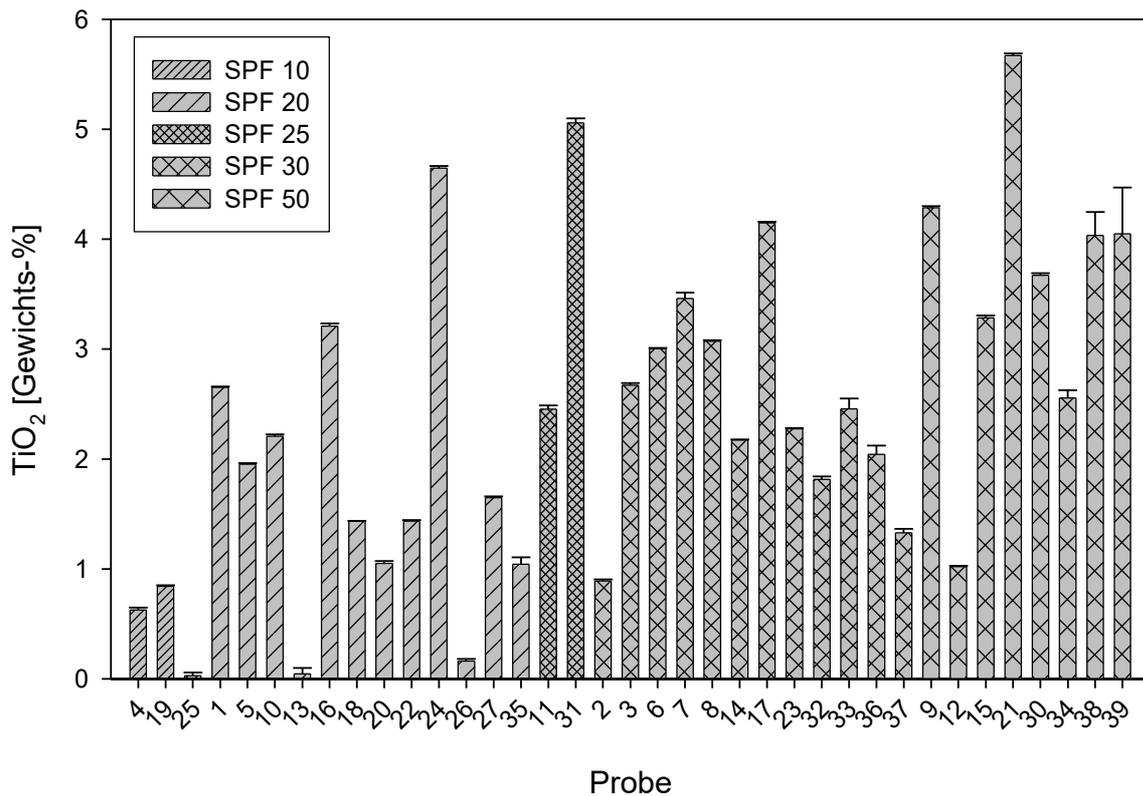


Abbildung 27: Berechnete TiO<sub>2</sub>-Anteile der Sonnenschutzpräparate. Die Titan-Konzentrationen wurden mittels ICP-MS-Analytik nach saurem Aufschluss durchgeführt und daraus die TiO<sub>2</sub>-Anteile berechnet. Die Proben sind nach Lichtschutzfaktoren SPF 10-SPF 50 gruppiert dargestellt (n=3; Mittelwert ± Standardabweichung).

### 3.6.3 Bestimmung der Titandioxid-Modifikationen durch XRD-Analytik

Die XRD-Untersuchungen an den aus den Sonnenschutzmitteln durch Extraktion erhaltenen TiO<sub>2</sub>-Pulvern erfolgten wie in Abschnitt 2.11 beschrieben. Nach der Messung durch Röntgen-Pulver-Diffraktomie wurde eine Rietveld-Analyse durchgeführt. Abbildung 28 zeigt die unterschiedlichen Beugungsdiagramme dreier Proben (3, 16, 21) als Beispiele für die verschiedenen TiO<sub>2</sub>-Modifikationen und deren Signale. Durch Vergleich mit den Referenzdaten der PDF-Datenbank (grafisch dargestellt für Rutil (d) und Anatas (e) oben in Abbildung 28) war die Identifikation der zugehörigen Modifikationen möglich. In diesen Beispielen enthielt Probe 3 (a) nur Rutil, während Probe 16 (b) ausschließlich Anatas enthielt. Probe 21 (c) enthielt eine Mischung aus Rutil und Anatas, mit einem höheren Anatas-Anteil.

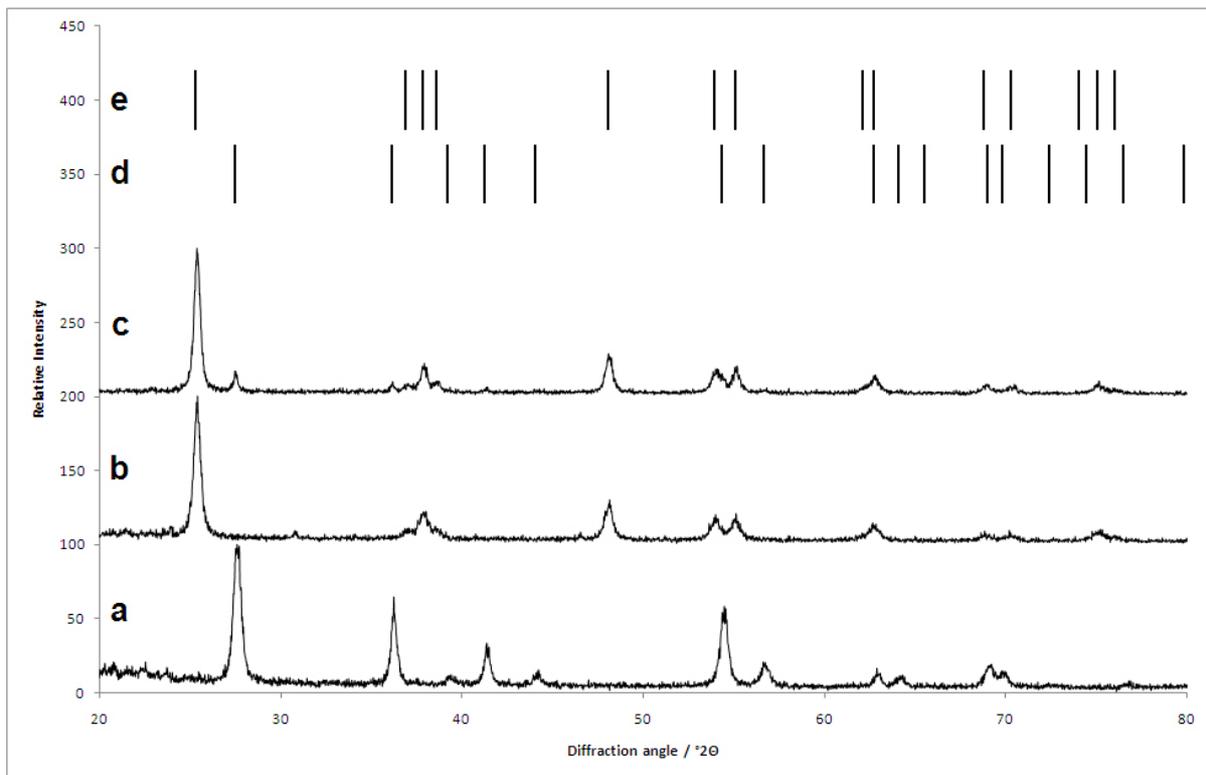


Abbildung 28: Beispielhafte Abbildung von XRD-Beugungsdiagrammen der Proben 3 (a), 16 (b) und 21 (c). Der Vergleich mit den Referenzdaten für Rutil (d, PDF card no. 21-1276) und Anatas (e, PDF card no. 21-1272) erlaubte die Identifikation der jeweiligen Modifikationen.

Zur Quantifizierung der jeweiligen Rutil- und Anatas-Anteile und zur Bestimmung der Kristallitgrößen, wurden für alle Proben Rietveld-Verfeinerungen durchgeführt.

### 3.6.4 Rietveld-Analyse

Die Rietveld-Analyse oder -Verfeinerung wird zur quantitativen Bestimmung der kristallinen Anteile von Pulverproben eingesetzt. Im Prinzip werden dabei die Kristallstrukturdaten in Form einer mathematischen Funktion des Beugungswinkels betrachtet. Es wird zunächst ein theoretisches Beugungsmuster eines Anfangsmodells mit gegebenen Kristallstrukturen und Atompositionen aufgestellt. Dieses theoretische Muster wird mit dem Gemessenen verglichen. Im Verfeinerungsprozess wird durch iterative Änderung der Parameter (Atompositionen) versucht, dem gemessenen Muster möglichst nahe zu kommen. In Abbildung 29 ist ein Beispiel für eine Rietveld-Verfeinerung an Probe 2 dargestellt. Die schwarze Kurve zeigt die gemessenen Daten, während die rote Kurve das berechnete Muster darstellt. Die grüne Kurve zeigt die Differenz aus gemessenem und berechnetem Muster. Die Rietveld-Analysen wurde am Institut für Mineralogie der Universität Hannover durchgeführt.

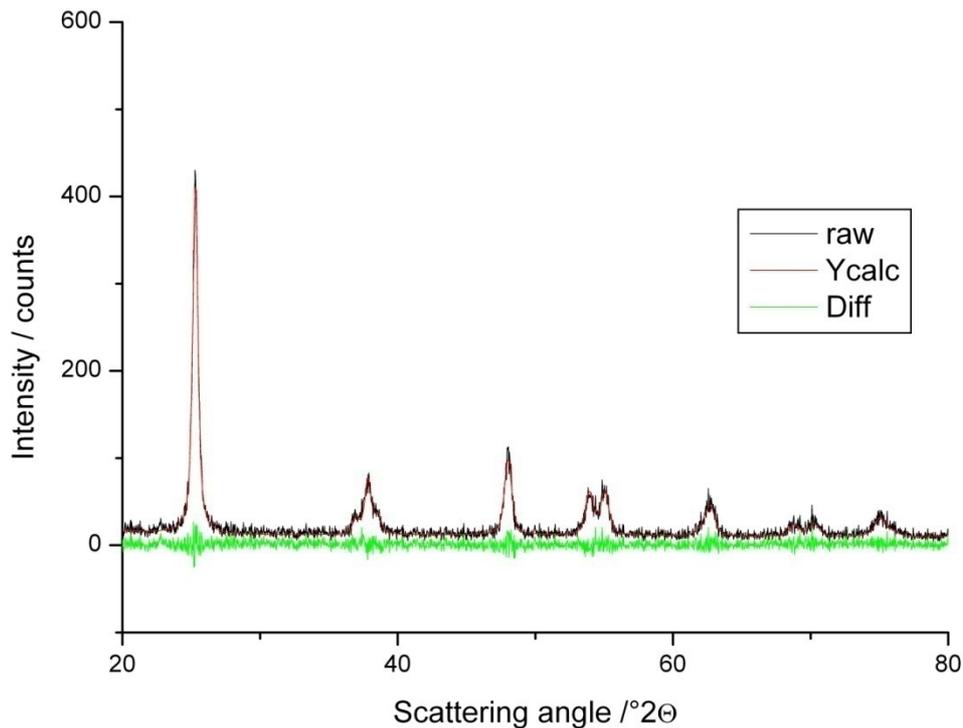


Abbildung 29: Beispiel einer Rietveld-Verfeinerung anhand der Daten von Probe 2.

Probe 2 enthielt die  $\text{TiO}_2$ -Modifikation Anatas. Die charakteristischen Anatas-Beugungssignale sind in Abbildung 29 zu erkennen bei  $25^\circ$  (101 Reflex von Anatas),  $48^\circ$  (200 Reflex von Anatas),  $53^\circ$  (105 Reflex von Anatas) und  $55^\circ$  (211 Reflex von Anatas).

### 3.6.5 Ergebnisse: $\text{TiO}_2$ -Modifikationen der untersuchten Sonnenschutzmittel

Die durch XRD-Pulver-Diffraktomie und anschließender Rietveld-Verfeinerung erhaltenen Strukturdaten sind in Tabelle 12 aufgelistet. Für jede Probe sind die Anteile der jeweiligen Kristallmodifikationen in Massenprozent, die durchschnittliche Kristallitgrößen und der anorganische kristalline Anteil der Pulverproben angegeben.

Tabelle 12: Ergebnisse der Rietveld-Analyse nach XRD-Untersuchungen an den Extrakten der Sonnenschutzmittel. Für jede Probe sind der Anteil der Kristallmodifikationen (Massen-%), die durchschnittliche berechnete Kristallitgröße und der kristalline Anteil (exklusive kristalliner organischer Verbindungen) gegeben.

Probe	Rutil	Anatas	Zinkoxid	Kristallitgröße [nm]			Kristalliner
	[%]	[%]	[%]	Rutil	Anatas	Zinkoxid	Anteil [%]
P25	13	87	-	26	18	-	100
UV100	-	100	-	-	16	-	100
T805	15	85	-	27	17	-	100
1	-	100	-	-	16	-	100
2	-	100	-	-	15	-	62
3	100	-	-	17	-	-	73
4	-	100	-	-	18	-	17
5	-	100	-	-	16	-	81
6	100	-	-	17	-	-	79
7	100	-	-	18	-	-	73
8	100	-	-	17	-	-	75
9	-	100	-	-	13	-	92
10	100	-	-	17	-	-	72
11	100	-	-	19	-	-	46
12	-	100	-	-	14	-	71
13	-	-	-	-	-	-	0
14	100	-	-	17	-	-	58
15	100	-	-	18	-	-	82
16	-	100	-	-	15	-	80
17	-	100	-	-	13	-	38
18	100	-	-	16	-	-	34
19	100	-	-	16	-	-	42
20	100	-	-	17	-	-	45
21	11	89	-	34	19	-	100
22	13	87	-	33	18	-	45
23	12	88	-	32	18	-	92
24	42	-	59	17	-	38	100
25	-	-	-	-	-	-	0
27	-	100	-	-	4	-	67
30	14	86	-	28	17	-	100
31	10	68	22	24	17	25	100
32	13	88	-	27	16	-	100
33	10	90	-	27	17	-	54
34	17	83	-	21	18	-	60
35	8	92	-	30	16	-	100
36	9	91	-	31	18	-	100
37	9	91	-	38	17	-	100
38	15	85	-	31	17	-	100
39	14	86	-	27	18	-	100

### 3.6.6 Bestimmung des Mineralisierungsvermögens der Sonnenschutzmittel

Zur Untersuchung der photokatalytischen Aktivität des enthaltenen Titandioxids wurde die Mineralisierung unter UV-A-Beleuchtung untersucht. Dazu wurde der Anstieg der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Gasphase gemessen. Es wurden jeweils 50 mg eines Sonnenschutzpräparates mit 1 mL bidestilliertem Wasser in Headspace-Vials gegeben und diese gasdicht durch ein Septum verschlossen. Als Vergleichspräparate wurden 3%ige Mischungen von P25, T805 und UV100 hergestellt. Als Basis zur Herstellung der Referenzpräparate wurde ein Sonnenschutz-Produkt ausgewählt, das keine anorganischen UV-Absorber enthielt und unter den eingesetzten Beleuchtungsbedingungen kein CO<sub>2</sub> entwickelte. Die Analyse der CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aus den Gasphasen der Headspace-Vials wurde unter Verwendung des NDIR-Detektors eines TOC-Analysators (*Shimadzu TOC-V-CPH*) durchgeführt. Für jede einzelne Messung wurden 50 µL Gasprobe aus den Headspace-Vials entnommen und über eine gasdichte Spritze (Hamilton) in das Gerät injiziert. Die Kalibration erfolgte mittels CO<sub>2</sub>-Standards aus anorganischen Carbonaten wie in den Abschnitten 2.12 und 2.13 beschrieben. Die Proben wurden unter Rotation (4 rpm) in der Beleuchtungskammer mit UV-A-Licht ( $p = 1 \text{ mW cm}^{-2}$ ) bestrahlt.

### 3.6.7 Ergebnisse: Mineralisierungsvermögen von TiO<sub>2</sub> in Sonnenschutzmitteln

Das Mineralisierungsvermögen von 39 unterschiedlichen Sonnenschutzmitteln wurde im Vergleich zu drei Referenzpräparaten untersucht. Die Referenzpräparate enthielten je 3% P25, 3% T805 oder 3% UV100 (s. auch Kapitel 3.6.6). Die Versuche wurden stets dreimal für jede Bestrahlungsdauer wiederholt. Die CO<sub>2</sub>-Konzentrationen wurden für jede Probe doppelt bestimmt und daraus die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die beiden Schaubilder in Abbildung 30 zeigen die CO<sub>2</sub>-Werte der Proben nach UV-A-Bestrahlungen über 10, 20, 30, 45 und 60 Stunden. Die abgebildeten Daten geben die gemessenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen der bestrahlten Headspace-Vials relativ zu den TiO<sub>2</sub>-Anteilen in den jeweiligen Präparaten wieder. Die Ergebnisse sind nach den zuvor ermittelten TiO<sub>2</sub>-Modifikationen geordnet.

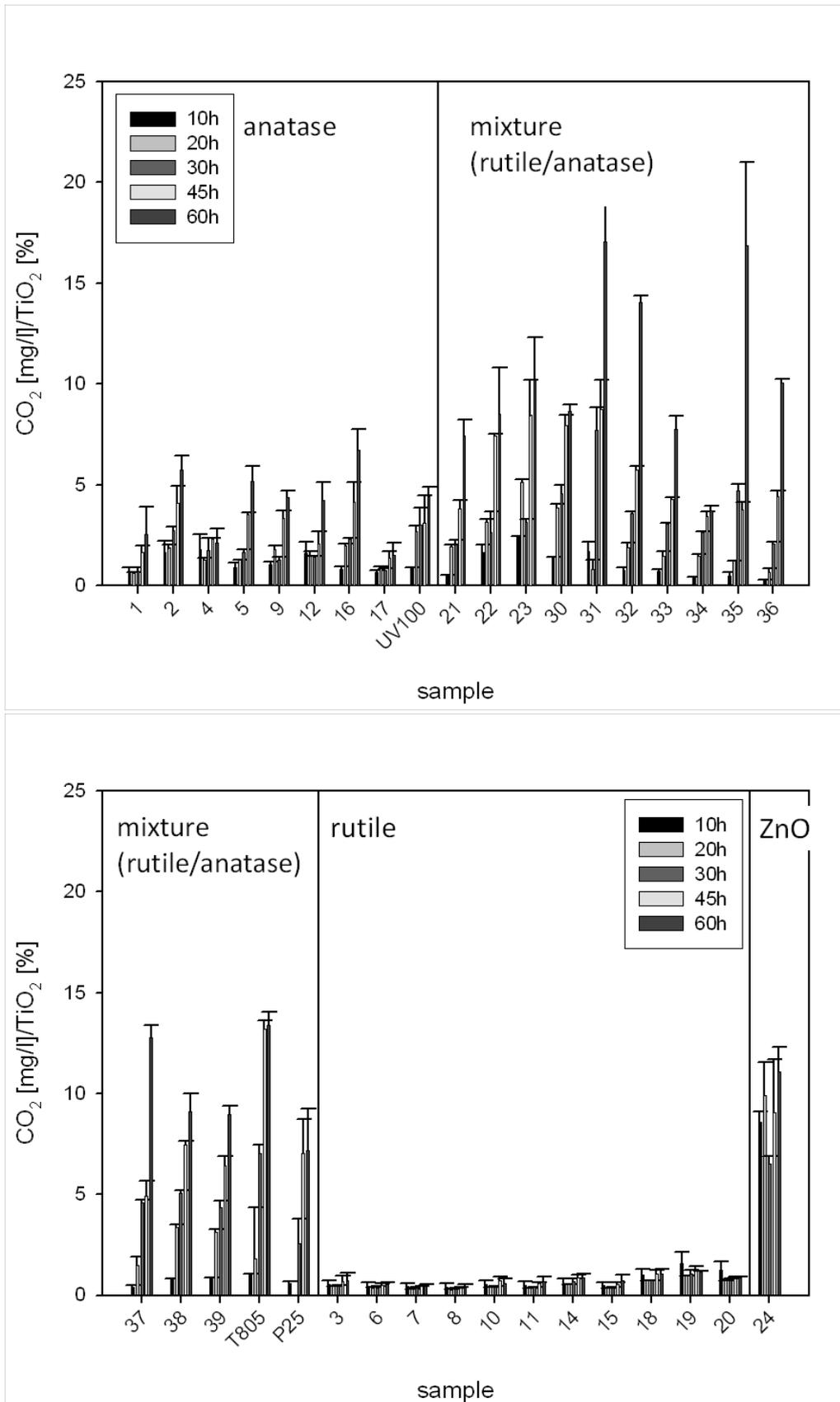


Abbildung 30: CO<sub>2</sub>-Bildung aus jeweils 50 mg Sonnenschutzpräparat unter UV-A Bestrahlung über verschiedene Zeitspannen. Die dargestellten Daten zeigen die CO<sub>2</sub>-Konzentration in Relation zu den TiO<sub>2</sub>-Anteilen der jeweiligen Probe in den Headspace-Vials. Die Daten sind nach TiO<sub>2</sub>-Modifikationen geordnet (n=3; Mittelwert ± Standardabweichung)

### **3.6.8 Bestimmung der photokatalytischen Aktivität durch Entfärben einer Methylenblau-**

#### **Lösung**

Zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität wurde die Entfärbung einer Methylenblau-Lösung als zweite Methode eingesetzt. Die Methode wurde in dieser Ausführungsform von Redouan Boughaled am Laserzentrum Hannover (LZH) entwickelt und auf einen Probensatz angewendet. Die Messdaten daraus wurden für die vorliegende Untersuchung zur Verfügung gestellt.

Von jedem Präparat wurden 30 mg mit 20 mL einer Methylenblau-Lösung (MB,  $c = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) vereinigt und in eine Quarzküvette der Abmessungen  $50 \times 50 \times 40 \text{ mm}^3$  überführt. Zur Homogenisierung der Mischung wurde 30 min mit einem Magnetrührer gerührt. Nach der Homogenisierung wurde die Küvette in eine für diesen Zweck aufgerüstete Bestrahlungskammer (MRC, Heidelberg) eingesetzt. Ein rotierender Chopper-Spiegel diente in diesem System dazu, den Laser-Messstrahl zwischen den Kanälen für eine Referenzküvette und der Probenküvette zu schalten. Die Referenzküvette bestand aus der gleichen Quarzküvette ( $50 \times 50 \times 40 \text{ mm}^3$ ) und war mit MB ohne Probe befüllt. Der Messstrahl wurde nach Durchgang durch die jeweilige Küvette in eine Ulbrichtkugel mit Photomultiplier gelenkt. Letztlich wurden die gemessenen Signale durch Vergleich zwischen Probenküvette und Referenzküvette als die photokatalytische Wirkung der Proben auf die Farbstofflösung interpretiert. Zur Kontrolle der Messungen diente ein Software-Algorithmus auf Basis von C++. Das Computerprogramm ermöglichte die online-Ermittlung der Entfärbungsraten für die MB-Lösungen (Boughaled et al. 2008). Jeder Messwert wurde doppelt bestimmt.

### **3.6.9 Ergebnisse: Photokatalytischen Aktivität durch Entfärben einer Methylenblau-Lösung**

Aus den Messdaten (Entfärbungsrate von MB [ $\text{h}^{-1}$ ]) wurden die Photonen-Effizienz der Entfärbungsreaktion berechnet. Diese Methode zeigte sich als weniger empfindlich und etwas stör anfälliger als die zuvor beschriebene Methode zur Bestimmung der Mineralisierungsleistung. Es gab bei den MB-Messungen einen Schwellenwert, unter dem kein Signal messbar war. Die photokatalytischen Aktivitäten von weniger aktiven Proben konnten somit nicht erfasst werden. Abbildung 31 zeigt die Messergebnisse. Dabei entsprechen hohe Werte der Entfärbungsrate einer hohen photokatalytischen Aktivität der Proben. Ein Nachteil dieser Methode bestand auch darin, dass die Trübung einzelner Probesuspensionen, die Messung beeinflusste. Der Messstrahl konnte die Probe nicht vollständig durchdringen, so dass nur ein schwaches oder gar kein Signal messbar waren. Aus diesen Grund korreliert ein schwaches Signal nicht zwangsläufig mit einer geringen photokatalytischen Aktivität. In Tabelle 13 sind die Daten zusammen mit den weiteren Spezifikationen der Proben dargestellt.

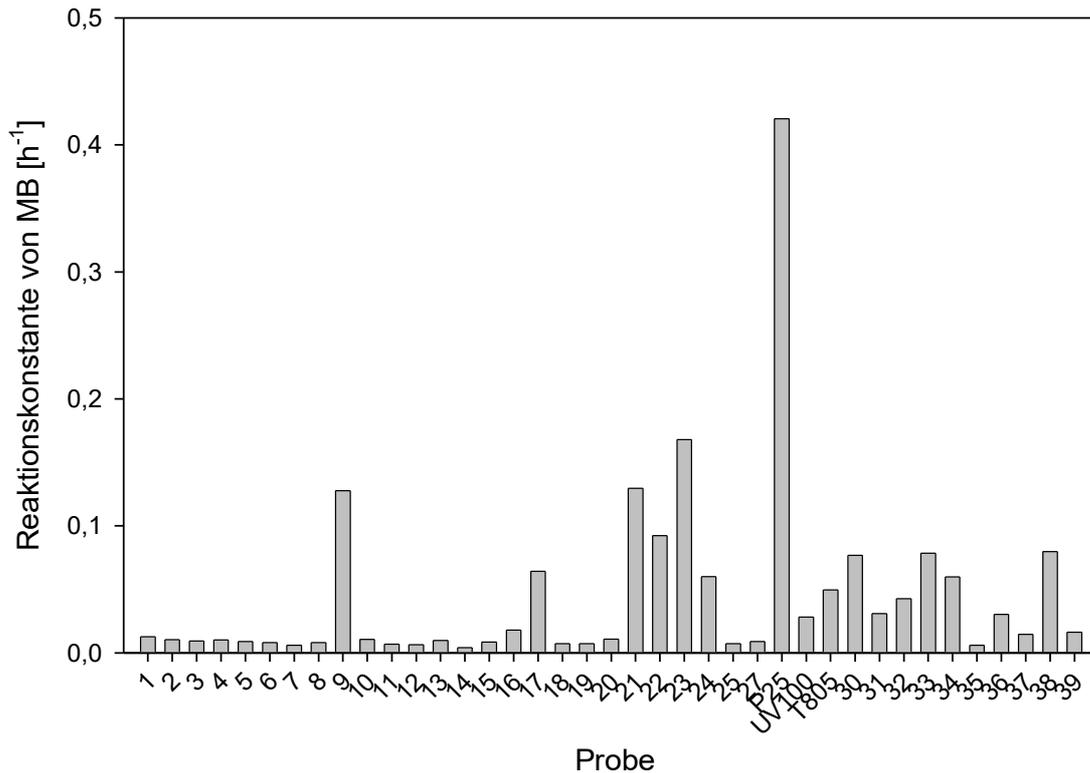


Abbildung 31: Ergebnisse der MB-Entfärbungsversuche. Die Entfärbungsrate [h<sup>-1</sup>] der MB-Lösungen sind für jede Probe dargestellt. Hohe Werte entsprechen einer hohen photokatalytischen Aktivität.

### 3.6.10 Berechnung der photonischen Effizienz

Zur Berechnung der photonischen Effizienz  $\xi$  (xi) wurde die nachfolgende Formel verwendet. Deren Herleitung wurde von Redouan Boughaled beschrieben (Boughaled et al. 2008).

$$\xi = \frac{C_0 \cdot k' \cdot V \cdot N_A}{A \cdot J_0}$$

Dabei sind  $\xi$  die photonische Effizienz [%],  $C_0$  die Anfangskonzentration der MB-Lösung [mol L<sup>-1</sup>],  $k'$  die Reaktionskonstante [h<sup>-1</sup>],  $V$  das Probevolumen [L],  $N_A$  die Avogadrozahl [mol<sup>-1</sup>],  $A$  die Probenfläche [m<sup>2</sup>] und

$J_0$ : Photonen-Fluss [m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>]  $J_0 = \frac{\lambda \cdot I}{c \cdot h}$  mit  $\lambda$  Wellenlänge des eingestrahlt Lichts [m],  $I$  der Lichtleistung [J s<sup>-1</sup>m<sup>-2</sup>],  $c$  der Lichtgeschwindigkeit [ms<sup>-1</sup>] und  $h$  des Plankschen Wirkungsquantum [Js].

### 3.6.11 Ergebnisse: Zusammenstellung

In Tabelle 13 sind die gemessenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen den ermittelten Kristallmodifikationen gegenüber gestellt. Es zeigte sich, dass hauptsächlich die Proben mit einem Anatas-Anteil zu höheren CO<sub>2</sub>-Messwerten führten. Insgesamt konnten die Proben nach den Kristallmodifikationen in vier Gruppen aufgeteilt werden. In der ersten Gruppe sind die Proben zusammengefasst, die ausschließlich Rutil enthalten, während in der zweiten Gruppe die Proben mit Anatas aufgeführt sind. In der dritten Gruppe wurden diejenigen Proben gelistet, die eine TiO<sub>2</sub>-Mischung aus Rutil und Anatas beinhalten. In der vierten Gruppe sind zwei Proben aufgeführt, die als zusätzlichen anorganischen UV-Absorber Zinkoxid enthielten. Die Messgenauigkeit bei der Ermittlung der TiO<sub>2</sub>-Anteile in den Sonnenschutzmitteln lag bei ±3 %, so dass die meisten Proben aus der dritten Gruppe ein Rutil-Anatas-Verhältnis von 12:88 (±3) [%] aufwiesen.

Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass reine Rutilproben zu einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von maximal 2,4 mg L<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> führten, während die reinen Anatasproben zwischen 1,4 – 21 mg L<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> entwickelten. Die stärkste CO<sub>2</sub>-Entwicklung unter UV-A Bestrahlung ließ sich bei den Proben mit einer Rutil-Anatas-Mischung mit Werten von 9 – 40 mg L<sup>-1</sup> finden. Dies entspricht in sofern der Erwartung, dass das Referenzpräparat mit P25 mit einem Rutil-Anatas-Verhältnis von 13:87 bei der Mineralisierung 22 mg L<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub> bildete, während das Referenz-Präparat mit UV100 (rein Anatas) nur 13 mg L<sup>-1</sup> aufwies.

Tabelle 13: Vergleich der gemessenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen und der MB-Daten der Sonnenschutzmittel-Proben nach UV-A Bestrahlung mit den Kristalldaten der XRD-Analyse. Je Gruppe wurde nach ansteigenden CO<sub>2</sub>-Konzentrationen sortiert.

Probe	CO <sub>2</sub> [mg L <sup>-1</sup> ] nach 60 h		Kristalldaten (aus XRD)			
	Mittelwert	Standardabweichung	Photon. Effizienz	Rutil [%]	Anatas [%]	Zinkoxid [%]
<b>UV-A Bestrahlung</b>						
20	0,9043	0,0768	<0,012	100		
19	0,9563	0,0503	<0,012	100		
8	1,2389	0,3771	<0,012	100		
18	1,5331	0,2952	<0,012	100		
13	1,0446	0,3876	<0,012			
6	1,5669	0,3158	<0,012	100		
7	1,576	0,3662	<0,012	100		
10	1,3380	0,4955	<0,012	100		
11	1,6995	0,5210	<0,012	100		
14	1,8740	0,4627	<0,012	100		
25	1,7353	0,158	<0,012			
3	1,9065	1,0679	<0,012	100		
15	2,4122	0,897	<0,012	100		
27	6,3175	0,0495	<0,012		100	
4	1,3221	0,4358	<0,012		100	
12	4,3113	0,9573	<0,012		100	
2	5,0867	0,6592	<0,012		100	
17	6,2423	2,5479	0,0195		100	
1	6,7031	3,6289	<0,012		100	
5	10,0981	1,4504	<0,012		100	
UV100	13,2625	1,3775	<0,012		100	
9	18,8638	1,3025	0,039		100	
16	21,6133	3,2395	<0,012		100	
34	9,4673	0,6091	0,018	17	83	
22	12,1903	3,3294	0,036	13	87	
37	16,955	0,8369	<0,012	9	91	
35	17,585	4,3157	<0,012	8	92	
33	19,085	1,6341	0,024	10	90	
23	23,2017	4,7795	0,042	12	88	
21	42,1500	4,3807	0,039	11	89	
36	20,5875	0,3865	<0,012	9	91	
P25	21,5625	6,2125	0,128	13	87	
32	25,550	0,5687	0,013	13	88	
30	31,8575	1,1461	0,02	14	86	
39	36,225	1,8106	0,023	14	86	
38	36,745	3,5394	0,024	15	85	
T805	40,1875	1,9618	0,015	15	85	
24	51,3550	5,8049	0,018	42		59
31	86,3	9,1915	<0,012	10	68	22

## **4 Ergebnisse Teil 2: Strategien zur objektivierbaren Messung der photokatalytischen Aktivität von TiO<sub>2</sub>**

### **4.1 Messung photokatalytisch induzierter Potentialdifferenzen**

**Fragestellung:** Kann die photokatalytische Aktivität auch mit einer physikalischen Messgröße ermittelt werden und somit beispielsweise die Desinfektionsleistung einer beschichteten Oberfläche bestimmt werden?

In Abschnitt 1.6 wurden bereits die derzeit angewendeten Methoden zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität von TiO<sub>2</sub> erläutert. Bei diesen Verfahren handelt es sich um chemische Methoden, die jeweils durch einen mehr oder minder gut definierten chemischen Endpunkt die Qualität der Photokatalyse anzeigen sollen. Um eine objektivierbare Beurteilung der Desinfektionsleistung abgeben zu können, ist ein reproduzierbares und messwertbasiertes physikalisches Messsystem erforderlich. Zudem sollte im Vergleich zu den bestehenden Methoden – chemischer und biologischer Art - ein physikalisches Verfahren, das auf der Erfassung von spezifischen Stoffeigenschaften beruht, mit deutlich geringerem technischem und zeitlichem Aufwand vergleichbare Messergebnisse liefern können.

Aus diesem Grund wurde untersucht, ob die photokatalytische Aktivität und damit letztendlich die bakterizide Wirksamkeit durch die Messungen von Potentialdifferenzen erfasst werden kann. Die Potentiale sollten sich gemäß Theorie bei Bestrahlung auf den Oberflächen ausbilden. Aufgrund der Tatsache, dass die beleuchteten Oberflächen in der Lage sind, Bakterien abzutöten (Kuhn et al. 2003; Sunada et al. 1998) und organische Verbindungen durch Redoxprozesse zu mineralisieren (Wolfrum et al. 2002), sollte es möglich sein, die hierbei zwangsläufig entstehende Redoxpotentiale an der durch UV-A-Licht aktivierten, photokatalytisch ausgerüsteten Oberfläche zu messen.

### **4.2 Aufbau einer photo-elektrochemischen Messzelle mit Platintiegeln**

Zum „Proof of Principle“ wurde zunächst eine Messzelle unter Verwendung zweier Platintiegel aufgebaut. Die Platintiegel (Durchmesser 10 cm, Höhe 5 cm) wurden mit je 50 mL wässriger KCl-Lösung ( $c = 1 \text{ g L}^{-1}$ ) als Elektrolyt befüllt und über eine Salzbrücke zum Ladungsausgleich leitend verbunden. Für die Füllung der Salzbrücke wurden 20 g KCl und 3 g Agarose in 100 mL destilliertem Wasser in einem Wasserbad auf ca. 95°C erhitzt bis eine homogene, klare Lösung entstand. Die Mischung wurde in das U-förmige Glasrohr gefüllt. Nach etwa 30 Minuten war die Lösung zu einem festen Gel erstarrt und konnte als Salzbrücke eingesetzt werden. Für eine ständige Durchmischung der Elektrolytlösung in den Platintiegeln wurden

Magnetrührer eingesetzt. Durch das Rühren sollte sichergestellt werden, dass die  $\text{TiO}_2$ -Suspension erhalten blieb und keine Sedimentation stattfindet. Abbildung 32 zeigt diesen Aufbau.



Abbildung 32: Photo-elektrochemische Messzelle bestehend aus zwei Platintiegeln, die über eine Salzbrücke verbunden wurden. Über der Halbzelle rechts im Bild befand sich eine UV-A-Lichtquelle. Magnetrührer unter den Platintiegeln zur gleichmäßigen Durchmischung der Suspensionen.

Über einer der beiden Halbzellen (HZ) wurde eine höhenverstellbare UV-A-Lampe (Leuchtstoffröhre Philips F8T5 BLB 8W, Wellenlänge maximaler Intensität:  $\lambda_{\text{max}}$  ca. 370 nm) angebracht. Die andere HZ wurde mit einer Abdeckung vor der Lichteinstrahlung abgeschirmt.

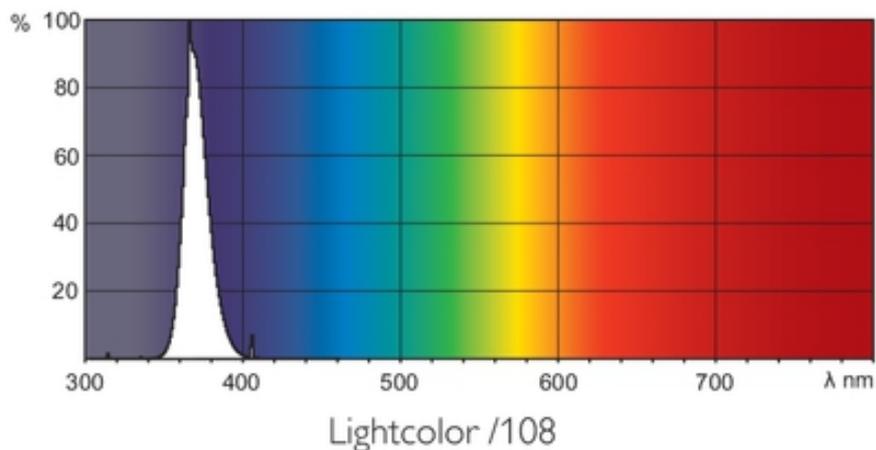


Abbildung 33: Emissionsspektrum der eingesetzten UV-Lichtquelle. Das Intensitätsmaximum liegt bei ca. 370 nm. (Quelle: Philips Datenblatt F8T5 BLB 8W).

Die beiden HZ wurden über Kabel und Klemmen mit einem hochohmigen Spannungsmessgerät (yt-Schreiber, Goerz Servogor 120) verbunden, mit dem auch kleine ( $\pm 1$  mV) Potentialdifferenzen zwischen den

beiden Platintiegeln in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet werden konnten. Abbildung 34 zeigt schematisch den gesamten Versuchsaufbau.

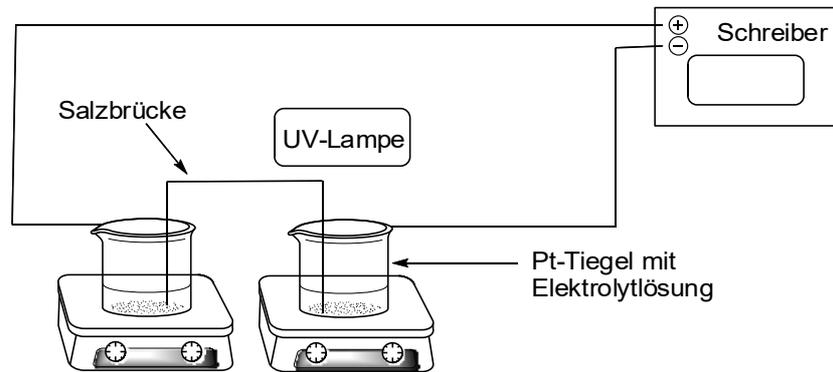


Abbildung 34: Schematischer Versuchsaufbau einer photo-elektrochemischen Messzelle.

Alternativ erfolgte die Messung mit einem Datenlogger (LabJack U12, Meilhaus Electronics) und wurde per Computersoftware (LJlogger V1.11) aufgezeichnet.

Der beschriebene Aufbau ist möglicherweise vergleichbar mit einer galvanischen Zelle, bei der die Höhe der Zellspannung von den Redoxpotentialen der beiden Halbzellen abhängt. Je nach den chemischen Prozessen, die in der jeweiligen HZ stattfinden, unterscheidet man zwischen Donator- und Akzeptorzelle.

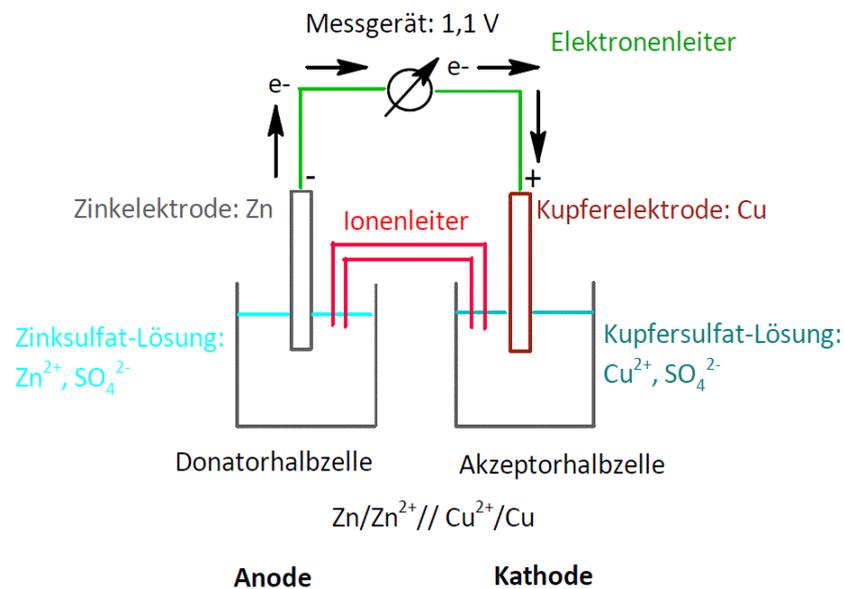


Abbildung 35: Daniell-Element bestehend aus einer Donatorhalbzelle mit einer Zink-Anode in Zinksulfat-Lösung und einer Akzeptorhalbzelle mit einer Kupfer-Kathode in Kupfersulfat-Lösung.

Definitionsgemäß liefert die Donatorzelle Elektronen, an ihr findet die Oxidationsreaktion statt. Sie stellt als Anode den Minuspol dar. Die Akzeptorhalbzelle nimmt die Elektronen auf und es findet an ihr die Reduktionsreaktion statt. Sie stellt entsprechend als Kathode den Pluspol dar. In Abbildung 35 ist beispielhaft für ein galvanisches Element ein Daniell-Element dargestellt, bei dem die Anode eine Zink-Elektrode in einer Zinksulfat-Lösung und die Kathode eine Kupfer-Elektrode in einer Kupfersulfat-Lösung sind.

Zur Untersuchung der Fragestellung wurden zwei „Titandioxid-Halbzellen“ mit den Platintiegeln als Elektroden verwendet. Die Hypothese ist, dass die bei Bestrahlung des Titandioxids gebildeten Hydroxyl-Radikale in die wässrige Lösung übergehen und zur Platinelektrode gelangen. Dort entziehen Sie dem Metall jeweils ein Elektronen, wodurch eine positive Ladung am Platin zurück bleibt. Das Potential dieser Halbzelle ändert sich somit bei Bestrahlung. In der unbestrahlten HZ, kommt es nicht zur Bildung von Hydroxyl-Radikalen und folglich zu keiner Veränderung des Halbzellen-Potentials. Falls diese Hypothese korrekt ist, müsste aufgrund der Verbindung beider Halbzellen eine Änderung der Spannung zwischen den Halbzellen messbar sein. In diesem Fall wäre die beleuchtete HZ der potentielle Elektronen-Akzeptor und die unbeleuchtete HZ entsprechend der potentielle Elektronen-Donator.

#### **4.2.1 Versuche mit TiO<sub>2</sub>-Suspensionen**

Für diese Versuche wurde Titandioxidpulver (P25 und UV100) eingesetzt, aus denen jeweils eine homogene Suspension unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt wurde. Zur Herstellung der Suspensionen wurden je 2 g TiO<sub>2</sub>-Pulver in 50 mL Elektrolytlösung (KCl<sub>(aq)</sub>,  $c = 1 \text{ g L}^{-1}$ ) dispergiert. Durch gravimetrische Messungen wurde ermittelt, dass die TiO<sub>2</sub>-Menge bei einer Zugabe von 1 mL Suspension bei  $0,04 \text{ g} \pm 2 \%$  lag, wenn vor der Entnahme der Suspension für eine gute Durchmischung gesorgt wurde. Dazu wurde die Suspension für 30 Sekunden kräftig geschüttelt. Eine direkte Zugabe von TiO<sub>2</sub> in Pulverform wurde ebenfalls evaluiert, allerdings war hier die Unsicherheit über die eingebrachte Menge wesentlich größer, da eine quantitative Überführung des nanoskaligen Materials wegen Adhäsion an den Wägematerialien nicht möglich war.

#### **4.2.2 Messung der Potentialdifferenz in Abhängigkeit der eingestrahlten UV-A Lichtintensität**

Zur Variation der Beleuchtungsstärke wurde der Abstand der Lampe zur Elektrolyt-Oberfläche eingestellt. Somit war es möglich, die elektrische Potentialdifferenz in Abhängigkeit vom Lampenabstand zu messen. Beide HZ wurden mit jeweils 50 mL Elektrolytlösung befüllt und in die zu beleuchtende HZ zusätzlich 1 mL der oben beschriebenen P25- bzw. UV100-Elektrolyt-Suspension gegeben. Die Lampe wurde über dem Platintiegel positioniert und die Spannung so lange aufgezeichnet, bis sich ein nahezu konstanter Wert

einstellte. Danach wurde schrittweise der Abstand vergrößert und die Spannung in Abhängigkeit vom Abstand bzw. von der Beleuchtungsstärke gemessen. Der Ansatz wurde dreimal mit jeweils leicht unterschiedlichen Abständen wiederholt. In Abbildung 36 sind die Messergebnisse für P25- und UV100-Suspensionen zusammen für alle Abstände dargestellt.

Mit zunehmendem Abstand der Lampe von der Halbzelle nimmt die zwischen den beiden Zellen messbare Spannung deutlich ab. Bei den Messungen mit P25- und UV-100-Suspensionen ergaben sich jeweils ähnliche Kurvenformen. In beiden Fällen konnte die Kurve mit einer quadratischen Fit-Funktion

(polynomial, inverse second order) der allgemeinen Form  $y(x) = y_0 + \frac{a}{x} + \frac{b}{x^2}$  angenähert werden.

Die Regressionswerte beider Fit-Funktionen waren  $R^2 > 0,99$ . Dies ist in so fern plausibel, da die Strahlungsintensität  $I$  einer näherungsweise punktförmigen Lichtquelle auf der zu untersuchenden

Oberfläche gemäß dem *Entfernungsgesetz* mit  $I \propto \frac{1}{x^2}$  abnimmt.

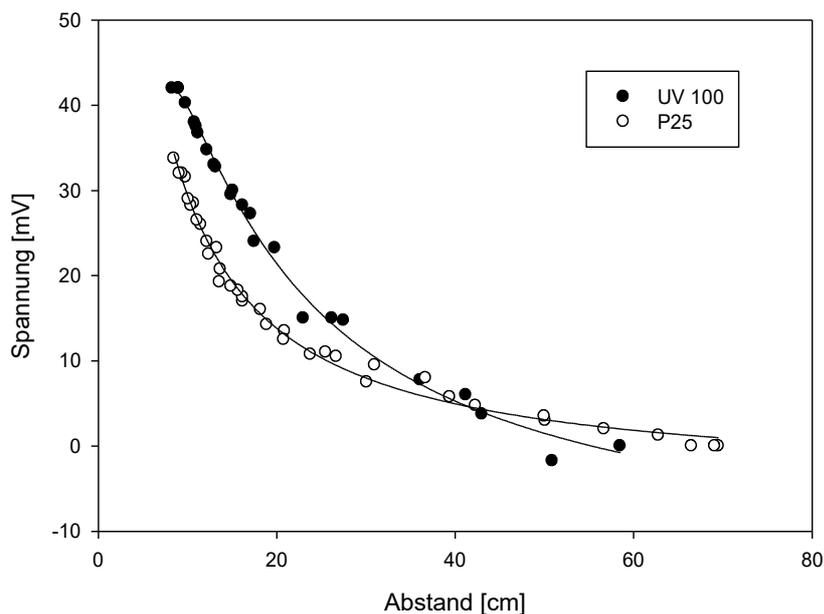


Abbildung 36: Spannungsmessung an P25 und UV100 TiO<sub>2</sub>-Suspensionen in Abhängigkeit vom Lampenabstand zur Elektrolytoberfläche. Die Fitfunktion beschreibt einen exponentiellen Abfall. Die Messdaten wurden aus drei Ansätzen ermittelt und gemeinsam dargestellt.

### 4.2.3 Abhängigkeit der Potentialdifferenz von der TiO<sub>2</sub>-Menge

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Spannungsverlauf in Abhängigkeit von der eingesetzten Menge an TiO<sub>2</sub>-Suspension bei gleichbleibender Lichtintensität untersucht. Dazu wurde die Lampe in der niedrigsten Position mit einem Abstand von 8,3 cm zur Elektrolyt-Oberfläche fixiert. Beide HZ wurden mit je 50 mL Elektrolytlösung befüllt und die zweite Halbzelle mit einer Abdeckung gegen Licht abgeschirmt. Die UV-A Lampe wurde eingeschaltet und nach Erreichen einer konstanten Ausgangsspannung jeweils 1 mL TiO<sub>2</sub>-Suspension in beide Tiegel pipettiert. Zum Einfüllen der Suspension gab es eine kleine Klappe an der lichtabgewandten Seite der Abdeckung.

Beim Einschalten der Beleuchtung konnte stets ein Anstieg der Spannung um einige Millivolt beobachtet werden. Dieser Spannungsanstieg konnte mit den vorhandenen Methoden nicht näher untersucht werden. Eine mögliche Erklärung wären das Verbleiben einer kleinen Restmenge TiO<sub>2</sub> aus vorangegangenen Versuchen auf der Tiegeloberfläche. Die Reinigung der Tiegel erfolgte nach jedem Versuch durch mehrfaches Ausspülen mit bidestilliertem Wasser und sorgfältigem Ausreiben mit Zellstoff. Eventuell könnte es auch zu einer photoelektrische Anregung von Oberflächen-Adsorbaten durch die UV-A-Strahlung kommen. Ein photoelektrischer Effekt am Platin ist eher auszuschließen, da die Austrittsarbeit eines Elektrons bei Platin mit 5,6 eV deutlich über der Photonenenergie der eingesetzten Lichtquelle des Wellenlängenbereichs 340-400 nm mit 3,65 - 4,1 eV liegt.

Die TiO<sub>2</sub>-Zugabe wurde mehrfach wiederholt. Vor jeder Zugabe wurde die Stabilisierung der Spannung abgewartet, bis sich der Spannungswert innerhalb von 30 s um weniger als 5 mV änderte, was ca. 5 min dauerte. Anschließend wurde der Spannungswerte aufgezeichnet. Zur Auswertung wurde von den Messwerten jeweils die Anfangsspannung ohne TiO<sub>2</sub> abgezogen. Alle Messungen wurde zweimal wiederholt und aus den Messdaten die Mittelwerte und Standardabweichungen in Abbildung 37 grafisch dargestellt.

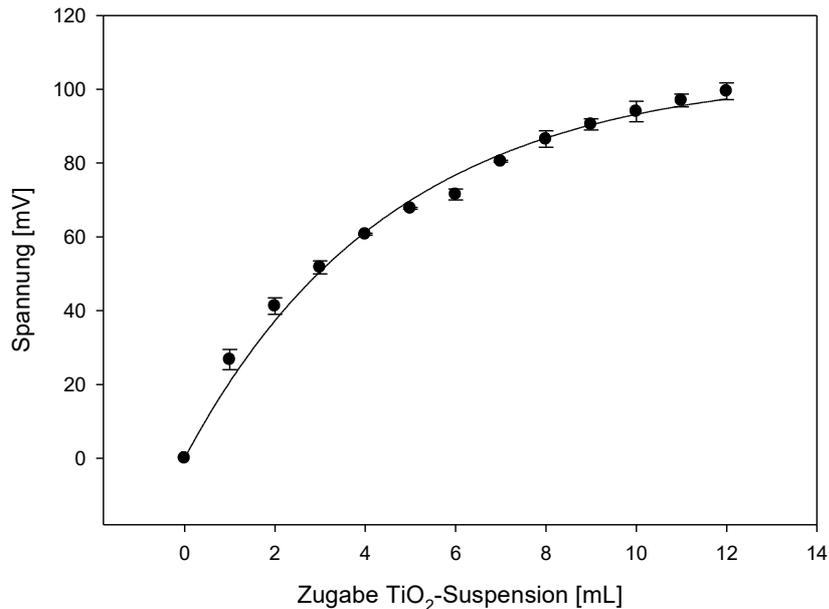


Abbildung 37: Spannungsmessung unter schrittweiser Zugabe von P25 Suspension in beide Halbzellen. Ein Halbzelle wurde mit UV-A Licht beleuchtet, während die andere abgeschattet wurde. Von den Messwerten wurde die Potentialdifferenz zu Beginn ohne TiO<sub>2</sub>-Zugabe abgezogen. (n = 3, Mittelwerte, Standardabweichungen)

An die Messpunkte konnte eine Fit-Funktion angepasst werden, die einen exponentiellen Anstieg beschreibt. Die allgemeine Form dieser Funktion lautet  $y(x) = a \cdot (1 - e^{-bx})$ . Der Regressionswert der Fit-Funktionen war  $R^2 > 0,99$ . Bei höheren TiO<sub>2</sub>-Zugaben ab ca. 0,6 -0,7 g bzw. 15-17 mL wurden nach der Zugabe keine konstanten Spannungswerte mehr erreicht. Dies ließ sich damit begründen, dass bei größeren TiO<sub>2</sub>-Mengen im Tiegel eine gleichmäßige Durchmischung nicht mehr gewährleistet ist. So kann es zu größeren Konzentrationsschwankungen innerhalb der Suspension in der Halbzelle kommen. Es bildeten sich Pulverablagerungen am Boden der HZ. Ein Sättigungswert für die Potentialdifferenz konnte daher nicht erreicht werden und die Messung wurde daraufhin jeweils nach Zugabe von 12 mL Suspension beendet.

Die Abnahme der Steigung mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Mengen kann auch damit erklärt werden, dass letztlich immer weniger Licht ausreichend tief in die Suspension im Tiegel eindringen kann, da es zu Absorptions- und Reflexionsprozessen kommt. Gemäß des *Lambert-Beer'schen Gesetzes* nimmt die Lichtleistung  $I$  beim Durchgang durch ein Medium exponentiell mit der Durchgangslänge  $d$  und dem Anstieg der Konzentration  $c$  des absorbierenden Stoffes ab:  $I(d) = I_0 \cdot e^{(-\epsilon \cdot c \cdot d)}$  ( $\epsilon$ : Absorptionskoeffizient,  $I_0$ : eindringende Leistung,  $d$ : Länge durch das Medium,  $c$ : Konzentration der absorbierenden Substanz).

#### 4.2.4 Versuche mit TiO<sub>2</sub>-beschichteten Prüfkörpern

Pulverförmiges TiO<sub>2</sub> konnte wie zuvor beschrieben auf seine photoelektrischen Eigenschaften hin qualitativ untersucht werden. Der mögliche Einsatz von TiO<sub>2</sub> ist jedoch nicht auf die Pulverform beschränkt: Von vielleicht sogar größerem Interesse sind Beschichtungen aus oder mit TiO<sub>2</sub>, die Materialien neuartige Eigenschaften verleihen können.

Vom experimentellen Ansatz her ist es jedoch grundsätzlich schwieriger, hier in geeigneter und reproduzierbarer Form die entstehenden Potentialdifferenzen messtechnisch zu erfassen. Es musste zunächst ein Aufbau gefunden werden, bei dem die an der Oberfläche entstehenden reaktiven Spezies mit der Elektrode wechselwirken können. Hierzu wurde der für die TiO<sub>2</sub>-Suspensionen verwendete Messaufbau modifiziert. In eine der HZ wurde ein TiO<sub>2</sub>-beschichtetes Glasplättchen als Prüfkörper entweder so auf den flachen Boden gelegt, dass die TiO<sub>2</sub>-Schicht nach unten oder oben zeigte. In die andere HZ wurde ein unbeschichtetes Kontrollplättchen gelegt, um dadurch für möglichst gleiche Verhältnisse in beiden HZ zu sorgen. Beide HZ wurden mit jeweils 50 mL Elektrolytlösung (KCl<sub>(aq)</sub>, c = 1 g L<sup>-1</sup>) befüllt. Der restliche Aufbau mit Salzbrücke, Messelektroden und Lichtquelle wurde wie zuvor bei den pulverförmigen Proben realisiert.

Die ersten Versuche wurden mit TiO<sub>2</sub>-beschichteten Glasproben der Marke Pilkington Activ<sup>®</sup> (s.a. Abschnitt 2.5 ) durchgeführt. In den Tabellen 14 und 15 sind die Messwerte für beide Seiten der Proben aufgelistet. Laut Herstellerangaben sind die Proben vornehmlich einseitig mit TiO<sub>2</sub> beschichtet, können aber produktionsbedingt auch auf der Rückseite geringe Mengen an TiO<sub>2</sub> tragen. Für jede Probe wurden sieben Messungen je Seite durchgeführt. Die Messwerte sind die maximalen Spannungen, die nach einer Einstelldauer von etwa 5 Minuten erreicht wurden. Anhand der Mittelwerte ist erkennbar, dass höhere Messwerte erreicht wurden, wenn die beschichtete Seite der Probe nach unten zum Boden der HZ zeigte.

Tabelle 14: Spannungsmessungen an Pilkington Activ<sup>®</sup> Glasproben. Die Proben wurde so in die Platingefäße gelegt, dass die TiO<sub>2</sub>-tragende Seite nach unten gerichtet war. Unter UV-A-Beleuchtung wurden die Potentialdifferenzen zwischen beiden HZ gemessen.

Messdurchgang	P1 [mV]	P2 [mV]	P3 [mV]
1	85	100	102
2	48	73	54
3	96	56	30
4	51	51	25
5	54	35	47
6	60	40	66
7	68	54	71
Mittelwert	66 ±17	58 ±20	56 ±24

Tabelle 15: Spannungsmessungen an Pilkington Activ® Glasproben. Die Proben wurde so in die Platingefäße gelegt, dass die TiO<sub>2</sub>-tragende Seite nach oben gerichtet war. Unter UV-A-Beleuchtung wurden die Potentialdifferenzen zwischen beiden HZ gemessen.

Messdurchgang	P1 [mV]	P2 [mV]	P3 [mV]
1	9	23	2
2	8	26	2
3	12	25	7
4	6	22	4
5	11	18	9
6	7	24	11
7	9	17	1
Mittelwert	9 ±2	22 ±3	5 ±4

Im Unterschied zu den Messungen an Suspensionen zeigte sich hier, dass die Einzelmessungen schlechter reproduzierbar waren. Insbesondere bei den Messungen der TiO<sub>2</sub>-tragenden Seiten lagen Messwertschwankungen in Höhe von bis zu 50% der Messwerte vor.

#### 4.2.5 Untersuchungen an TiO<sub>2</sub>-beschichteten Prüfkörpern unterschiedlicher Schichtdicken

Im Folgenden wurden weitere Untersuchungen an Materialproben durchgeführt, die mit unterschiedlichen TiO<sub>2</sub>-Schichtdicken belegt wurden (IST, Braunschweig, Abschnitt 2.4 ). In Versuchen mit bereits etablierten Messverfahren wurde gezeigt, dass mit zunehmender Schichtdicke die photokatalytische Aktivität der Probe zunahm. Es wurde weiter qualitativ untersucht, ob die Photospannung auf einen vergleichbaren Zusammenhang schließen lässt. In Tabelle 16 sind die Messdaten zu den Proben dargestellt. Die nm-Bezeichnungen der Prüfkörper geben die TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke in Nanometer an.

Tabelle 16: Ergebnisse der Spannungsmessung an beschichteten Glasprüfkörpern unterschiedlicher TiO<sub>2</sub>-Schichtdicken in der Messzelle mit Platintiegeln.

Messdurchgang	gemessene Spannungsdifferenz [mV]				
	Probe 45 nm	Probe 90 nm	Probe 190 nm	Probe 360 nm	ohne Beschichtung
1	44	51	58	117	9
2	9	14	44	56	8
3	27	28	38	42	2
4	23	53	63	45	2
5	36	20	49	39	5
6	12	19	33	37	7
7	21	45	33	72	3
8	16	32	30	37	8
9		27	72	38	4
Mittelwerte	24±11	32±14	47±14	54±25	5±3

Die hier verwendeten Prüfkörper trugen Beschichtungen mit Schichtdicken von 45, 90, 190 und 360 nm. Optisch erschienen die Prüfkörper klar und zeigten einen farbigem Schimmer bei schrägem Lichteinfall auf die beschichtete Oberfläche.

Nach Einschalten der UV-A-Lichtquelle konnte bei den Untersuchungen mit jeweils einem beschichteten Prüfkörper in der beleuchteten HZ ein signifikant stärkerer Spannungsanstieg gemessen werden, als mit der unbeschichteten Negativkontrolle. Zudem konnten auch deutliche Unterschiede zwischen den Proben je nach Schichtdicke gemessen werden. Jede Messung wurde neunfach wiederholt und aus den Einzelmesswerten die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Auch hier waren die Schwankungsbreiten der Messwerte relativ groß. So lag die durchschnittliche Standardabweichung der Messwerte einer Probe bei bis zu 50% des Messwertes. Diese Streuung liegt wahrscheinlich darin begründet, dass der mittlere Abstand zwischen der photokatalytischen Schicht und dem relativ unebenen Boden des Platintiegels versuchsbedingt bei den aufeinanderfolgenden Durchführungen unterschiedlich war. Dies führte zu einer deutlichen Minderung der Reproduzierbarkeit der Messung. Dennoch zeigten die Untersuchungsergebnisse, dass die Spannung mit der  $\text{TiO}_2$ -Schichtdicke zunahm. Die Ergebnisse sind in Abbildung 38 grafisch dargestellt. Die Ausgleichskurve der allgemeinen Form  $y(x) = a \cdot (1 - e^{-bx})$  deutet darauf hin, dass ab einer Schichtdicke von etwa 360 nm kein weiterer Anstieg der Spannungswerte erfolgt.

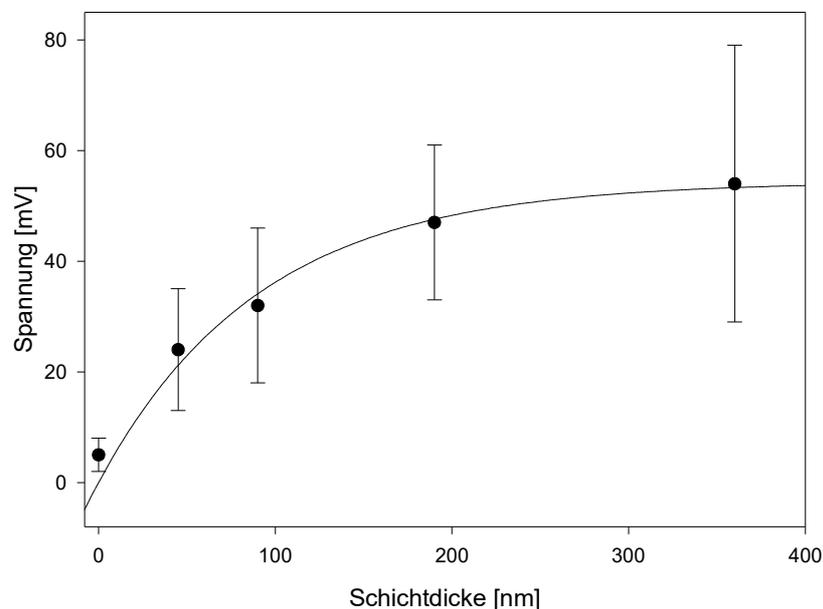


Abbildung 38: Ergebnisse der Spannungsmessung an beschichteten Glasprüfkörpern unterschiedlicher  $\text{TiO}_2$ -Schichtdicken in der Messzelle mit Platintiegeln ( $n = 9$ , Mittelwerte, Standardabweichungen)

Die auf diese Weise untersuchten Prüfkörper wurden zusätzlich mit dem standardisierten Methylenblau-Testverfahren auf ihre photokatalytische Wirksamkeit hin überprüft und anschließend die gemessenen Werte beider Methoden miteinander verglichen. Für die Untersuchungen wurde das Standardverfahren (DIN 52980, siehe auch Abschnitt 1.6.1) wie in Abschnitt 2.14 modifiziert angewandt. Der Test basiert auf der photoinduzierte Entfärbung der Methylenblau-Lösung in Anwesenheit jeweils eines  $\text{TiO}_2$  beschichteten Prüfkörpers.

In Abbildung 39 wurden die gemessenen Spannungsanstiege und die Transmission durch die Methylenblau Lösung für die unterschiedlichen Schichtdicken aufgetragen. Die Grafik verdeutlicht, dass mit zunehmender  $\text{TiO}_2$ -Schichtdicke die Potentialdifferenz und die Entfärbung der Methylenblau-Farbstofflösung zunehmen.

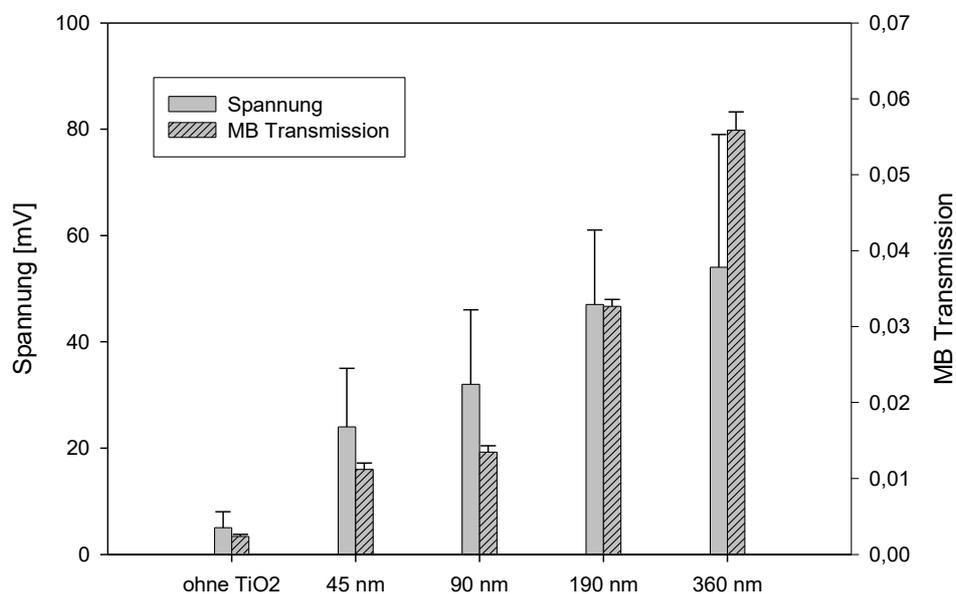


Abbildung 39: Vergleich der gemessenen Spannungswerte mit der Entfärbung einer Methylenblau-Lösung.  $\text{TiO}_2$ -Plättchen unterschiedlicher Schichtdicken im Bereich von 0 – 360 nm wurden sowohl in der Spannungsmesszelle mit Platintiegeln als auch in Entfärbungsexperimenten von Methylenblau-Farbstofflösung eingesetzt. Die Grafik zeigt, dass mit zunehmender  $\text{TiO}_2$ -Schichtdicke die messbare Spannung und auch die Entfärbung der Methylenblau-Lösung anstiegen. (Spannung  $n = 9$ , MB-Transmission  $n = 4$ , Mittelwerte, Standardabweichungen)

Die Ergebnisse stimmen rein qualitativ auch mit der zunehmenden photokatalytisch induzierten Keimabtötungswirkung mit steigender Schichtdicke überein, die in Abschnitt 3.1.5 bereits dargestellt wurde. Bei der Auftragung der Messwerte aller drei Verfahren in einem Schaubild (Abbildung 40) ist der Zusammenhang der Ergebnisse zu erkennen.

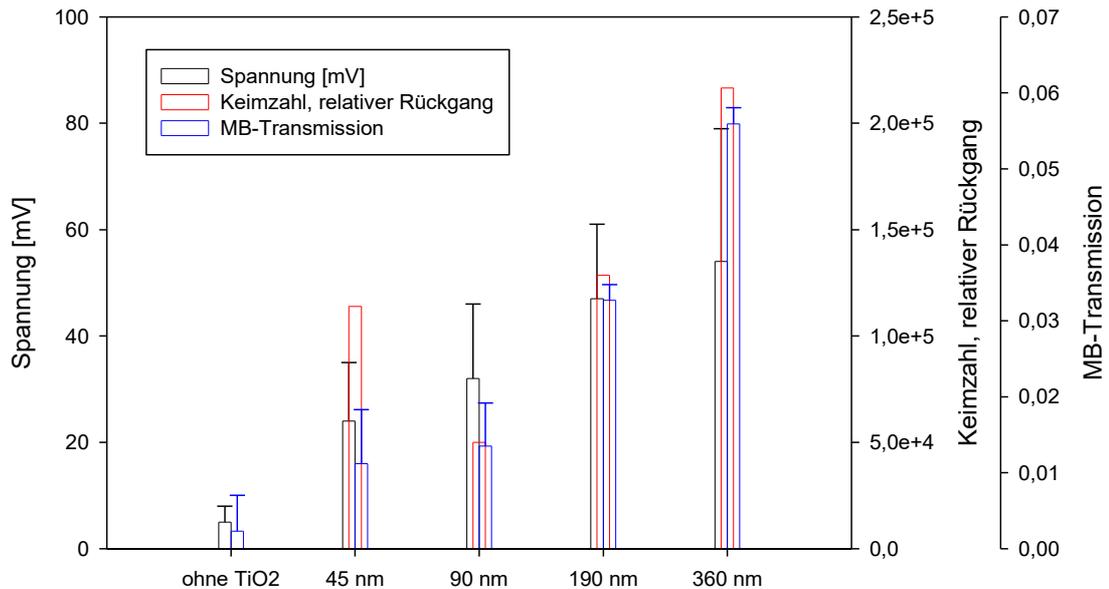


Abbildung 40: Auftragung der Messergebnisse der drei unterschiedlichen Methoden MB-Entfärbung, Spannungsmessung und relativer Rückgang der Keimzahl bezogen auf die Negativkontrolle. Mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke zeigten alle drei Methoden ansteigende Messergebnisse.

Bei Proben, die zu einem hohen Spannungsmesswert führten, lag auch die MB-Transmission im oberen Bereich. Zugleich zeigte sich an diesen Proben eine höhere Keimabtötungswirkung. Um dies zu veranschaulichen, wurde im Schaubild dazu der Rückgang der Keimzahl relativ zur Negativkontrolle aufgetragen. Bei der Probe 360 nm wurde ein mittlere Rückgang der Keimzahlen um 5 Logstufen ermittelt, während es beispielsweise bei der Probe 90 nm 4 Logstufen waren. Der Wert der 45 nm-Probe liegt über dem der 90 nm Probe. Dies liegt vermutlich in der relativ großen Ungenauigkeit der biologischen Testmethode begründet.

Der Messfehler bei der Spannungsmessung war jedoch relativ groß. Die Methode lieferte nur bei einer ausreichenden Anzahl an Versuchswiederholungen belastbare Daten. Es wurden daraufhin weitere Arbeiten zur Optimierung der Potentialmessung durchgeführt. Hierfür mussten zunächst die Schwachstellen des Versuchsaufbaus untersucht werden, die zu den Schwankungen bei den Messergebnissen führen könnten:

1. nicht definierter Abstand zwischen Probe und Elektrode im Messaufbau
2. ungenügend stabile Kontaktierung der Elektroden (Pt-Tiegel) durch einfache Klemmen

Hieraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass zur Stabilisierung des Messsystems zunächst die Messgeometrie verbessert werden musste. Es musste dabei dafür gesorgt werden, dass der Abstand

zwischen der zu messenden Oberfläche und den Elektroden besser kontrolliert werden konnte. Aus der Solartechnologie und hier insbesondere aus der Herstellung von Solarzellen sind ähnliche Probleme bekannt. Hier besteht wie bei der Messung der Potentialdifferenzen das Problem, dass die Spannung abgegriffen werden muss, dass aber gleichzeitig die Oberfläche des aktiven Materials nicht beschattet werden darf, da nur unter Lichtzutritt der gewünschte und zu untersuchende Effekt auftritt. In der Solartechnologie werden daher planare ableitende Elektroden aus Glas verwendet, die durch eine transparente Beschichtung leitfähig gemacht werden. Bei der Beschichtung handelt es sich um Indium-Zinn-Oxid (Indium Tin Oxide, ITO). Es wurde in weiteren Versuchen geprüft, ob Elektroden aus ITO zu einer Verbesserung des Messaufbaus beitragen können.

### 4.3 Messung von elektrischen Potentialdifferenzen mit ITO-Glas-Elektroden

#### 4.3.1 Herstellung des ITO-Glas-Elektrodensystems

Indium-Zinn bedampfte Glasplatten wurden als Rohlinge für die herzustellenden ITO-Elektroden bezogen ([www.fluessigkristalle.com](http://www.fluessigkristalle.com), Dr. Feodor Oestreicher) und wie nachfolgend beschrieben bearbeitet. Die Glasplatten bestanden aus Float-Glas mit einer Stärke von  $d = 1$  mm. Die UV-A-Transmission einer solchen mit ITO-beschichteten Glasplatte liegt bei ca. 70% bei 380 nm und ca. 65 % bei 360 nm (Abbildung 41).

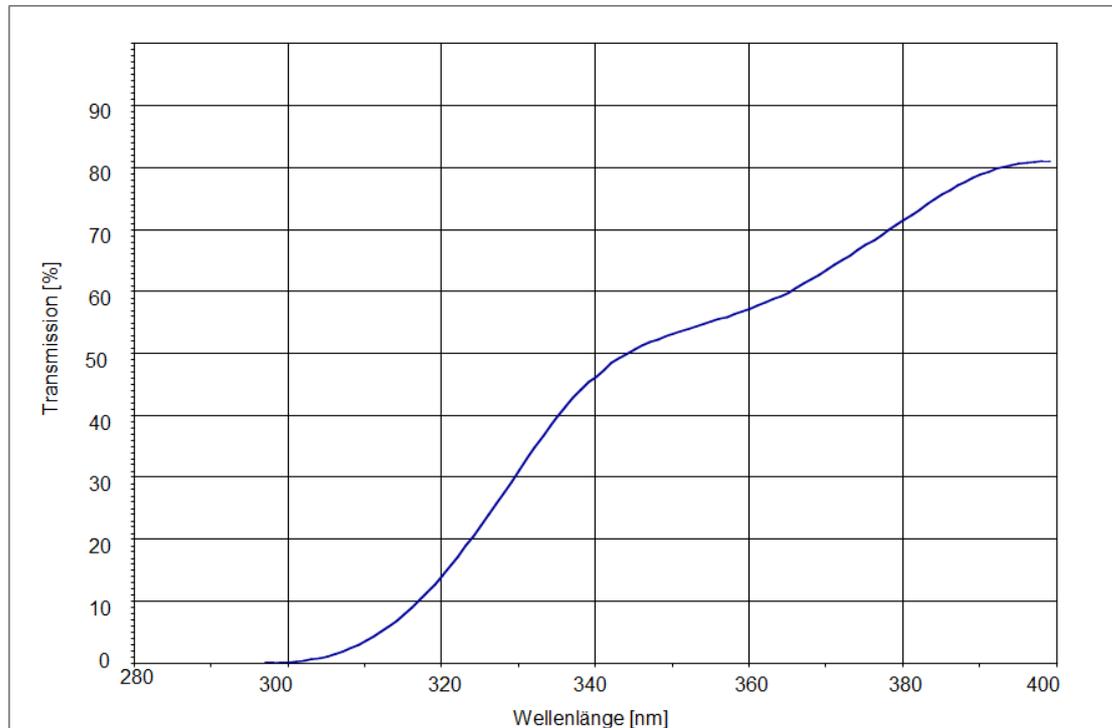


Abbildung 41: Transmissions-Spektrum bei 280 - 400 nm eines mit ITO beschichteten Floatglas-Plättchens der Substratdicke 1 mm. (CEC005F, Präzisions Glas & Optik GmbH, Iserlohn)

Die Rohlinge wurden zunächst auf das passende Maß zugeschnitten und anschließend zur Strukturierung der Elektrodenflächen geätzt. Hierzu wurde die gewünschte Struktur bzw. Form der Elektrode mit handelsüblichen Klebestreifen abgeklebt. Die Metallschicht wurde dann von den freiliegenden Stellen mit verdünnter Salzsäure ( $c = 1 \text{ mol L}^{-1}$ ) gelöst und die Lösung entfernt. Der Ätzvorgang wurde zur vollständigen Ablösung der Metallschicht zweimal wiederholt und anschließend die Platte mit bidestilliertem Wasser gewaschen. Mit dieser Methode wurde ein Elektrodenpaar auf einer gemeinsamen Platte hergestellt, indem ein Streifen der Indium-Zinn-Schicht zwischen den beiden Elektrodenflächen entfernt wurde (Abbildung 42). Das transparente, leitfähige Indium-Zinn-Oxid (ITO) bildet sich durch Tempern aus der metallischen Schicht. Getempert wurde in einem Muffelofen bei  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  für 30 Minuten. Anschließend wurde über Nacht auf Raumtemperatur abgekühlt. Die getemperten Proben wurden optisch auf gleichmäßige Transparenz geprüft. Zudem wurde mit einem Multimeter die Leitfähigkeit innerhalb der ITO Segmente, sowie auf Isolation der beiden Segmente gegeneinander geprüft.

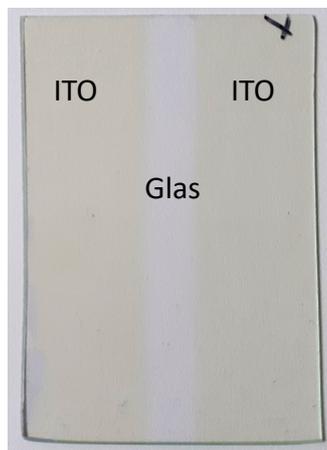


Abbildung 42: Strukturierte ITO-Elektrode nach Ätzen und Tempern.

#### 4.3.2 Erster Messaufbau

Der Aufbau für das hier beschriebene Messsystem ist in Abbildung 43 skizziert. Die ITO-Glas-Elektroden wurden zum Messen der Potentialdifferenzen zwischen beleuchteten und unbeleuchteten  $\text{TiO}_2$ -Schicht-Arealen eingesetzt. Auf den  $\text{TiO}_2$ -beschichteten planaren Prüfkörper wurde soviel Elektrolytlösung aufgebracht, dass der gesamte Bereich unter der ITO-Glas-Elektrode gerade benetzt war ( $V = 75 \text{ } \mu\text{L}$ ) und die ITO-Glas-Elektrode aufgelegt. Als Elektrolytlösung diente wässrige KCl-Lösung ( $c = 0,1 \text{ M}$ ). Dabei wurde beachtet, dass keine Luftblasen zwischen den beiden Plättchen eingeschlossen wurden. Zur Spannungsmessung wurden an den beiden ITO-Flächen die Klemmen des Multimeters bzw. Schreibers angebracht. Mit einem schwarzen PVC-Plättchen (ca.  $3 \times 60 \times 40 \text{ mm}^3$ ) als Abdeckung wurde nun jeweils eine Hälfte abgedunkelt, während das andere Areal mit der UV-A-Lichtquelle beleuchtet wurde. Die

Bestrahlung erfolgte von oben durch die transparente ITO-Schicht und nicht durch den Probekörper hindurch. Somit war gewährleistet, dass stets die gleiche Lichtleistung auch bei wechselnden Probekörpern auf die zu untersuchenden Proben auftraf.

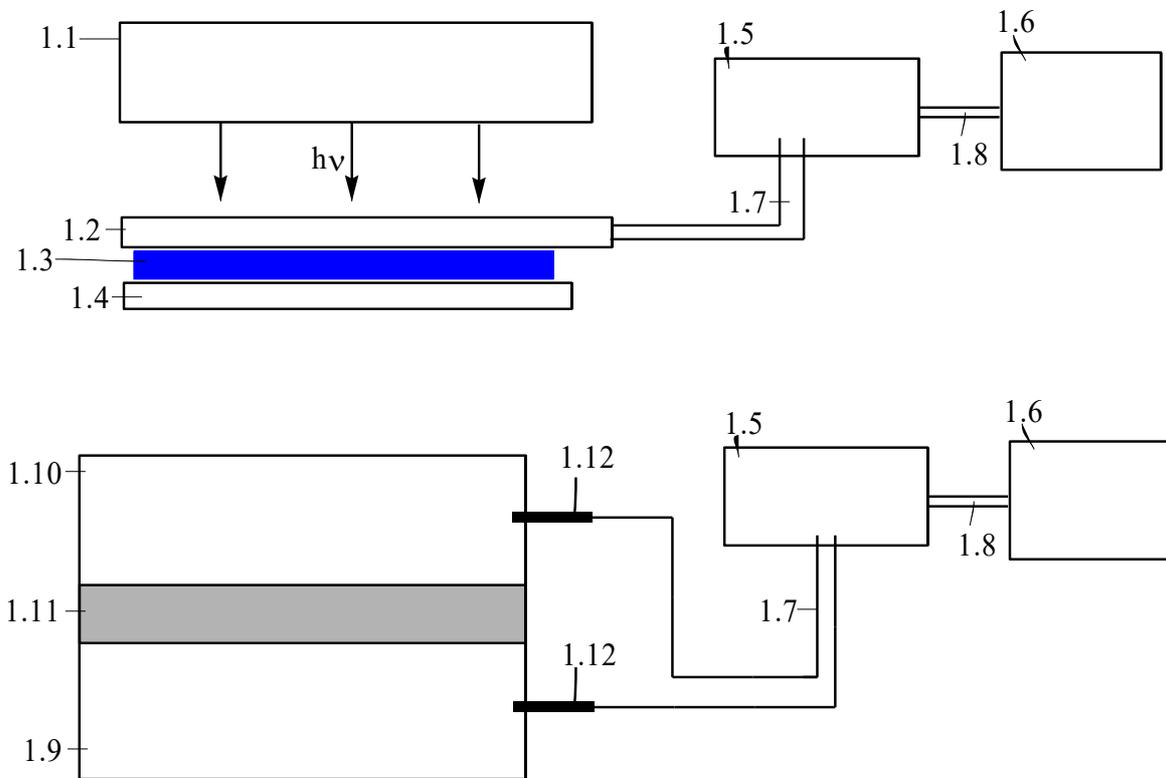


Abbildung 43: Skizzierter Aufbau der Spannungsmessung mit ITO-Glas-Elektroden. Seitenansicht: 1.1 Lichtquelle; 1.2 Elektroden-Paar; 1.3 Elektrolyt-Lösung; 1.4  $\text{TiO}_2$ -beschichtete Probe; 1.5 Spannungsmessgerät; 1.6 PC oder Schreiber; 1.7 Kabel mit Kontakt zu den Elektroden; 1.8 Verbindung zur Datenübergabe. Draufsicht: 1.9 Elektrode, ITO-Fläche, beleuchtet; 1.10 Elektrode, ITO-Fläche, unbeleuchtet (abgedunkelt); 1.11 Unterbrechung der ITO-Fläche (geätzt); 1.12 Anschlussklemmen.

### 4.3.3 Verlauf der messbaren, elektrischen Potentialdifferenz mit Erläuterungen

Ein typischer Spannungsverlauf ist in Abbildung 44 gezeigt und wird nachfolgend erläutert. Zu Beginn der Messung wurde stets etwa 8-15 Minuten ohne Beleuchtung abgewartet, bis das System den Gleichgewichtszustand erreicht hatte und sich ein nahezu konstanter Spannungswert eingestellt hatte.

Nach der Gleichgewichtseinstellung wurde die Lichtquelle eingeschaltet. Bei Vermessung einer photokatalytisch aktiven Probe erfolgte direkt nach Einschalten der Lichtquelle ein Spannungsanstieg bis zum maximalen Spannungswert ( $U_{\max}$ ). Der Anstieg ist vergleichsweise langsam und nimmt einige Minuten ( $\Delta t$ ) in Anspruch. Im unten dargestellten Verlauf wurde die Lichtquelle nach 12 Minuten eingeschaltet.  $U_{\max}$  wurde nach 19 Minuten, also nach 7 min Bestrahlungsdauer mit  $U_{\max} = 217 \text{ mV}$  erreicht.

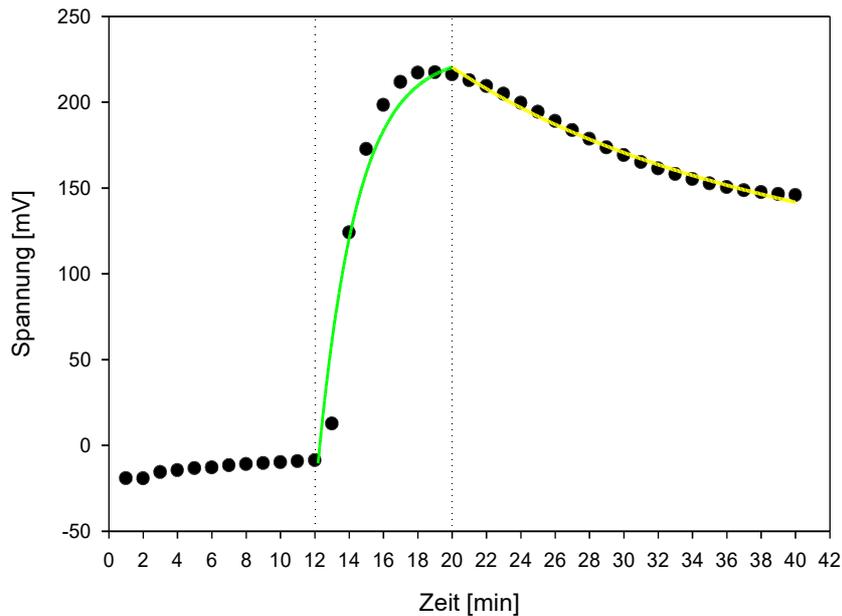


Abbildung 44: Exemplarischer Verlauf einer Spannungsmessung an einer  $\text{TiO}_2$ -beschichteten Glasplatte unter Verwendung von ITO-Glas-Elektroden.

Aus dem Startwert der Spannung vor dem Einschalten der Beleuchtung und  $U_{\text{max}}$  ergibt sich die Spannungsdifferenz  $\Delta U$  [mV]. Nach Erreichen des maximalen Spannungswertes folgte ein allmähliches Abklingen der Spannung auch unter UV-A-Beleuchtung. Der Verlauf der in grün und gelb eingezeichneten Fitkurven wird in der Diskussion in Abschnitt 5.10 erläutert.

Nachfolgend sind einige Spannungs-Zeit-Diagramme von Messungen an jeweils denselben Proben an jeweils aufeinanderfolgenden Tagen dargestellt (Abbildungen 45, 46, 47, 48). Es wurden hierzu wieder PVD-gesputterte  $\text{TiO}_2$ -Schichten mit unterschiedlichen Schichtdicken von 45 nm - 360 nm (IST, Braunschweig) eingesetzt. Der Abstand zwischen Probe und Lichtquelle betrug jeweils 6,5 cm. Die ITO-Elektrode hatte einen frei geätzten Streifen von 6 mm Breite. Die Zeit zur Einstellung des Systems bevor die Beleuchtung gestartet wurde, betrug jeweils 8 Minuten.

### 45nm, 6mm ITO

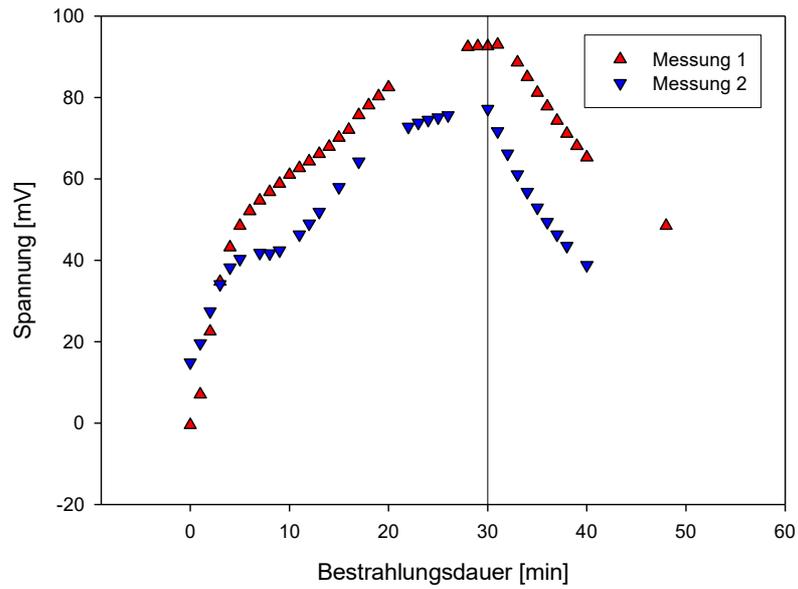


Abbildung 45: Spannungsmessungen an einer 45 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (IST). Die Maximalspannungen von 93 mV und 77 mV wurde nach 30 min Bestrahlungsdauer erreicht.

### 90nm, 6mm ITO

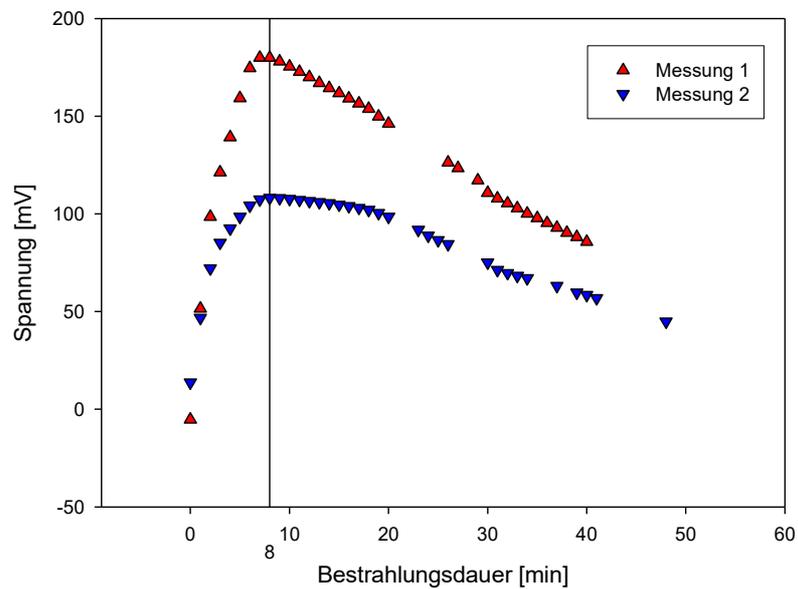


Abbildung 46: Spannungsmessungen an einer 90 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (IST). Die Maximalspannungen von 180 mV und 108 mV wurden nach 8 min Bestrahlungsdauer erreicht.

190nm, 6mm ITO

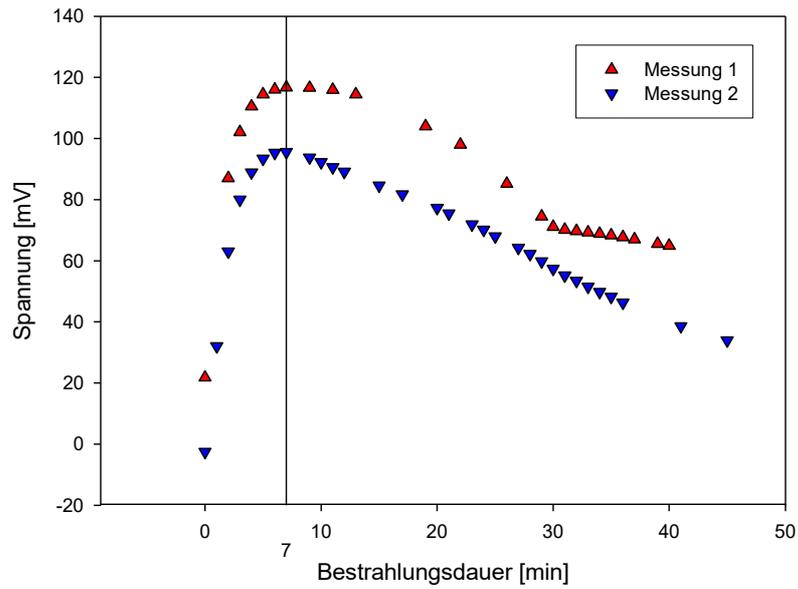


Abbildung 47: Spannungsmessungen an einer 190 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (IST). Die Maximalspannungen von 117 mV und 95 mV wurden nach 7 min Bestrahlungsdauer erreicht.

360nm, ITO 6mm

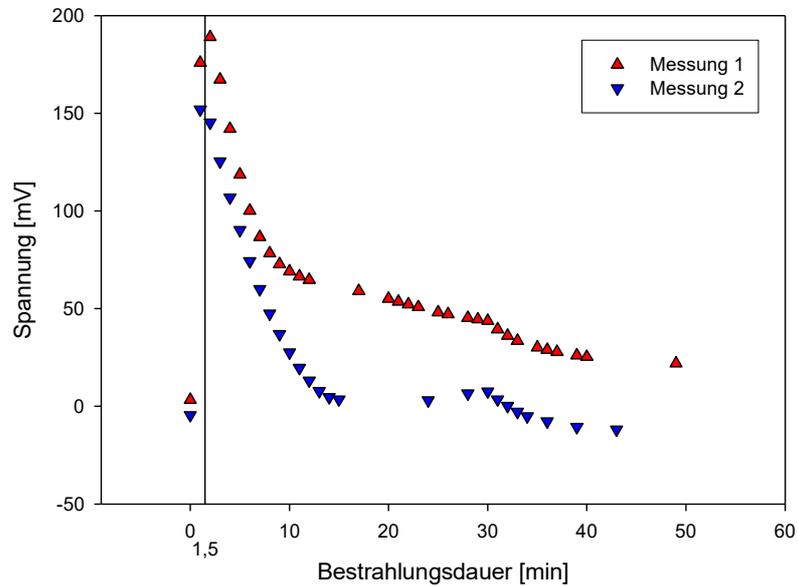


Abbildung 48: Spannungsmessungen an einer 360 nm  $\text{TiO}_2$ -Schicht (IST). Die Maximalspannungen von 190 mV und 152 mV wurden nach 1 min Bestrahlungsdauer erreicht.

Insgesamt ließ sich feststellen, dass die Proben mit größeren Schichtdicken höhere Spannungswerte lieferten. Die Maximalspannungen schwankten allerdings bei wiederholten Messungen erheblich. Die

Bestrahlungsdauer bis zum Erreichen der Maximalspannung verkürzte sich mit ansteigender Schichtdicke und war bei denselben Proben bei wiederholten Messungen gleich. Im Vergleich zu den vorangegangenen Messungen im Aufbau mit Pt-Tiegeln zeigten sich hier nun insgesamt deutlich höhere maximale Spannungswerte.

Zur weiteren Einordnung dieser Messergebnisse in Zusammenhang mit der Schichtdicke wurden an den Proben zusätzlich Versuche zur Entfärbung von Methylenblau-Lösung durchgeführt. Die Entfärbung der Farbstofflösung gilt als Maß für die photokatalytische Aktivität. In Tabelle 17 sind die Messwerte der Spannungsmessungen und der Methylenblau-Versuche gegenüber gestellt.

Tabelle 17: Messergebnisse aus der Spannungsmessung an ITO-Glas-Elektroden und der photokatalytischen Entfärbung von Methylenblau-Lösung (17h UVA, n = 3, Mittelwerte, Standardabweichungen).

Probe	U <sub>max</sub> [mV]		t <sub>max</sub> [min]		MB-Extinktion (665nm)		
	1.Messung	2.Messung	1.Messung	2.Messung	Mittelwert	StAb	Entfärbung [%]
Start					0,1062	0,0115	0
45nm	93	77	30	30	0,0951	0,0071	10,5
90nm	108	180	8	8	0,0927	0,0056	12,7
190nm	117	95	7	7	0,0735	0,0020	30,8
360nm	190	152	2	1	0,0503	0,0021	52,6

#### 4.3.4 Praxistest: Erkennen der photokatalytisch beschichteten Seite einer Pilkington Activ®

##### Glasscheibe

Ein Vorteil des kompakten Aufbaus mit ITO-Elektroden liegt darin, dass auch großflächige Proben vermessen werden können. Somit wäre es prinzipiell denkbar, einen Schnelltest beispielsweise zur Ermittlung der beschichteten Seite einer Fensterscheibe damit durchzuführen. Zu diesem Zweck wurde eine Fensterscheibe der Marke Pilkington Activ® verwendet, die einseitig mit einer photokatalytischen Beschichtung versehen war. Die ITO-Elektrode wurde wie zuvor beschrieben auf einem Elektrolytfilm auf den Prüfkörper gelegt. Das System wurde mit UV-A Licht bestrahlt und hälftig abgeschattet. Das Licht traf dabei durch die ITO-Elektrode auf die Oberfläche des Prüfkörpers. Die Spannung wurde zwischen beleuchteter und abgeschatteten Elektroden-Arealen gemessen und aufgezeichnet. Bei dieser Untersuchung wurden nacheinander beide Seiten des Glases jeweils zweimal vermessen mit dem Ziel, die aktive, beschichtete Seite zu identifizieren.

Die nachfolgende Grafik (Abbildung 49) zeigt die auf der Ober-, bzw. Unterseite des Glases gemessenen Spannungen. In beiden Fällen wurde die Spannung als Funktion der Zeit gemessen.

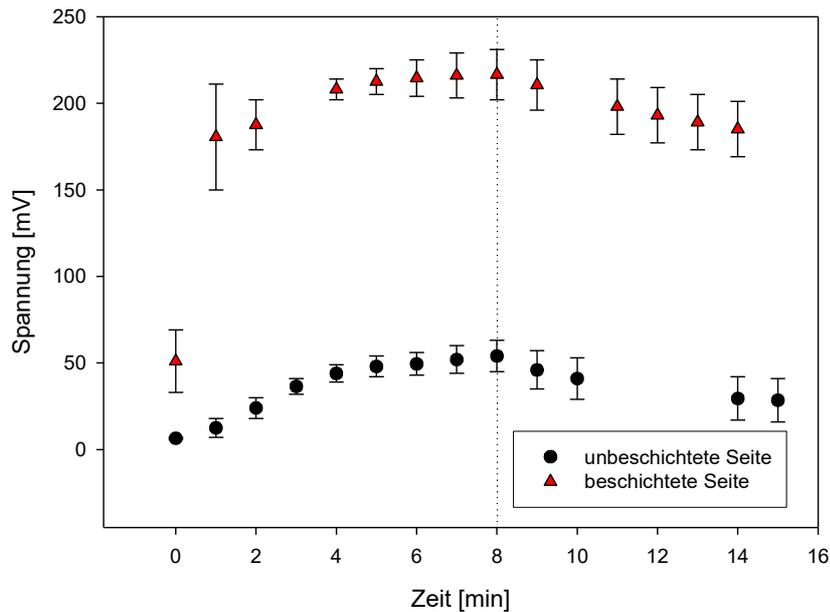


Abbildung 49: Untersuchung beider Flächen einer Pilkington Activ® Fensterscheibe mittels Spannungsmessung mit ITO-Elektroden. Es zeigten sich deutliche Unterschiede der Messwerte bei den jeweiligen Seiten. Das Material wird laut Hersteller einseitig mit TiO<sub>2</sub> beschichtet (n = 2, Mittelwert, Standardabweichung).

Die Lampe wurde zum Zeitpunkt 0 eingeschaltet. Anhand der Spannungswerte ließ sich auf diese Weise sehr einfach feststellen, welche Seite der Pilkington Activ® Glasscheibe die beschichtete und somit photokatalytisch aktive Seite war. Die photokatalytisch ausgerüstete Fläche der Probe wies eine Spannung von  $U_{\max 1} > 200$  mV auf, während die Rückseite einen Spannungswert von  $U_{\max 2} < 50$  mV aufwies. Der Spannungsverlauf folgte dem bereits exemplarisch in Abbildung 44 dargestellten Verlauf eines raschen Anstiegs und eines allmählichen Abklingens der Spannung.

#### 4.3.5 Zweiter Messaufbau: Entwicklung einer Vorrichtung zur Variation des Abstandes zwischen Elektrode und Prüfkörper

Die Untersuchungen, die durch einfaches Auflegen der ITO Elektroden durchgeführt worden waren, hatten nur bedingt zum gewünschten Ergebnis geführt: Es konnten zwar Messungen durchgeführt werden, mit denen beispielsweise die aktive Seite einer beschichteten Glasplatte erkannt werden konnte, es hatte sich jedoch auch gezeigt, dass die Reproduzierbarkeit der Spannungsmesswerte und damit die quantitative Einschätzung der Oberflächenaktivität nur bedingt möglich ist. Eine Fehleranalyse zeigte insbesondere an folgenden Parametern Verbesserungsbedarf:

1. Die zu messende elektrische Potentialdifferenz wurde über Edelstahlklemmen direkt an den ITO-Schichten abgegriffen. Da die Klemmen jedoch nicht fixiert werden konnten, kam es zu nicht reproduzierbaren Störeinflüssen auf die Messung.
2. Der Abstand zwischen der ITO-Glas-Elektrode und der Oberfläche des Prüfkörpers ist nicht definiert, er muss kontrollierbar und besser reproduzierbar sein.

Zur Verbesserung des Messaufbaus wurde daher eine in mehreren Ebenen verstellbare Messvorrichtung entwickelt und vom Projektpartner MRC Systems GmbH aus Heidelberg gebaut. Diese Messvorrichtung wurde so konzipiert, dass Elektrode und Prüfkörper in jeweils einen Rahmen eingespannt werden können. Durch die Lagerung des Prüfkörperrahmens auf einem Hebetisch mit Mikrometerschraube ( $0\ \mu\text{m} - 45\ \mu\text{m}$ ,  $\pm 0,5\ \mu\text{m}$ ), kann der Abstand zwischen den beiden Plättchen variiert werden. Die Beleuchtung erfolgt auch hier von oben durch die ITO-Glas-Elektrode hindurch auf die Oberfläche des Prüfkörpers. Die Spannung wird am ITO-Elektrodensystem über entsprechende Kontakte des oberen Rahmens abgegriffen und wie zuvor durch ein hochempfindliches Voltmeter erfasst. Die fest mit dem oberen Rahmen verbundenen Kontakte und die Fixierung des Prüfkörpers ermöglichen eine deutlich stabilere Anordnung der Elektroden und Messflächen als zuvor. In den nachfolgenden Fotografien ist die Messvorrichtung (Abbildungen 50, 51, 52) dargestellt.

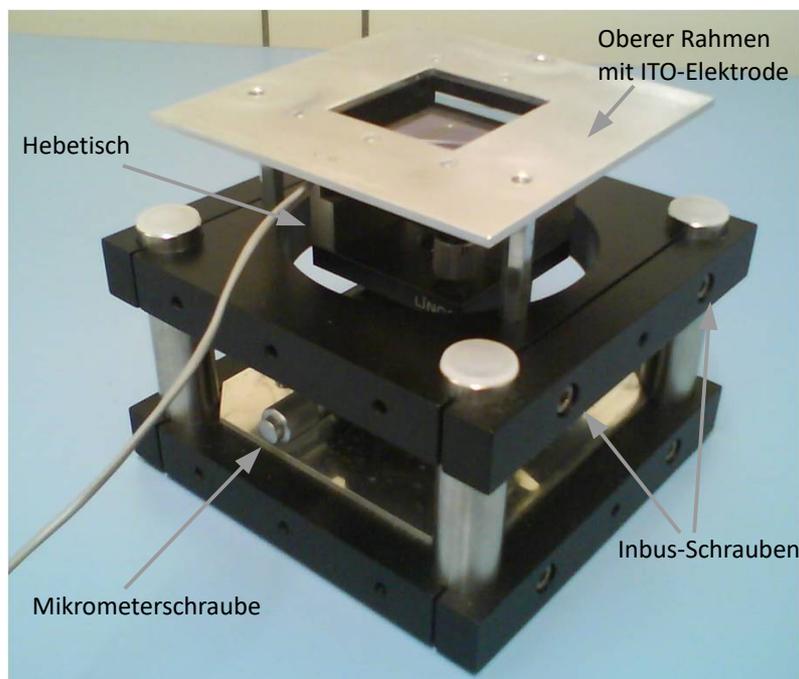


Abbildung 50: Vorrichtung zur Messung von Potentialdifferenzen an photokatalytisch ausgerüsteten planaren Prüfkörpern. Die Messvorrichtung wurde derart konzipiert, dass durch Einspannen von Prüfkörper und ITO-Glas-Elektrode ein konstanter Abstand dazwischen einstellbar ist. Der Abstand ist über einen Hebetisch per Mikrometerschraube variierbar.

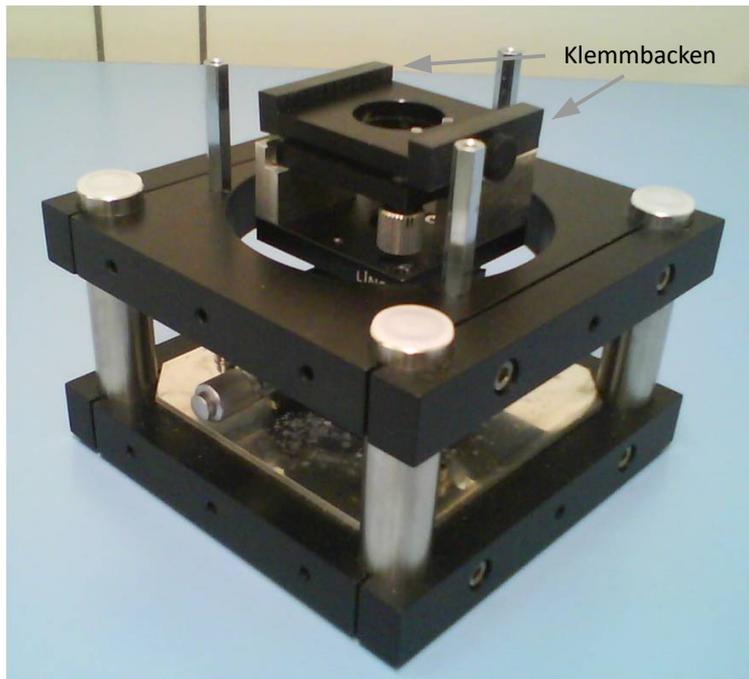


Abbildung 51: Der Prüfkörper wird oben zwischen zwei Kunststoff-Klemmbacken eingespannt. Dessen Lage relativ zur ITO-Glas-Elektrode kann durch Heben und Senken dieses Teils der Messvorrichtung eingestellt werden.

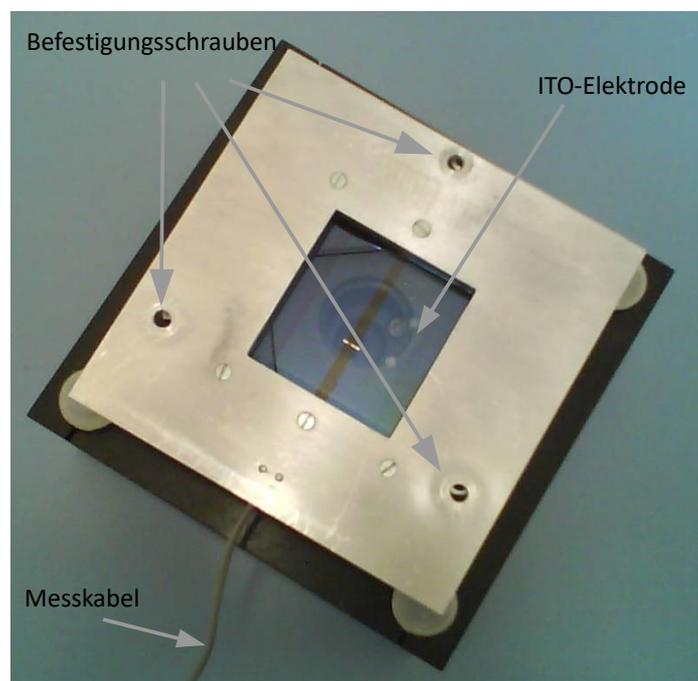


Abbildung 52: Draufsicht der Messvorrichtung. Von oben sind die transparenten ITO-Flächenelektroden sichtbar. Seitlich verlässt das Kabel zum Multimeter den Aufbau. Durch das Fenster erfolgt die Beleuchtung. Mit einer entsprechenden Abdeckung kann ein Bereich des Fensters zur Messung partiell abgeschattet werden.

#### 4.3.6 Geräteeinstellungen und Arbeitsanweisungen für die Spannungsmessungen

Das Multimeter wird über das zweipolige Messkabel zum Abgreifen der Spannung und über ein Erdungskabel mit der Messvorrichtung verbunden. Die beiden Messkabel sollen nicht in Schleifen oder parallel nahe nebeneinander liegen, um Induktionsvorgänge zu vermeiden. Die Einstellungen am Agilent Multimeter sind im Anhang in Abschnitt 9.1 beschrieben.

Der zu vermessende Probekörper wird vorsichtig mit den Klemmbacken in den Messtisch eingespannt. Die Apparatur muss zunächst auf den Plattenabstand  $0\ \mu\text{m}$  eingestellt werden. Dazu setzt man den oberen Rahmen der Messvorrichtung auf und befestigt diesen vorsichtig mit den drei Schrauben. Um Beschädigungen zu vermeiden, dürfen die Befestigungsschrauben zunächst nicht vollständig angezogen werden, falls der Abstand zuvor auf eine dünnere Probe eingestellt war. Mit einem Inbus-Schlüssel werden nun die vier Schrauben (siehe Abbildung 50) seitlich an der Messapparatur soweit gelöst, dass das Oberteil frei beweglich aufliegt. Daraufhin werden die Befestigungsschrauben des oberen Rahmens angezogen (Abbildung 52). An der Mikrometerschraube (Abbildung 50) wird der Wert  $0\ \mu\text{m}$  eingestellt und die Inbus-Schrauben wieder angezogen. Nun kann über die Mikrometerschraube der gewünschte Plattenabstand eingestellt werden.

Nachdem die Messapparatur durch die obigen Schritte vorbereitet war, konnte die Messung durchgeführt werden. Zunächst wurde der obere Rahmen nun wieder nach Lösen der drei Befestigungsschrauben abgenommen. Mit einer Pipette wurde die für den gewünschten Plattenabstand benötigte Menge an Elektrolyt (Tabelle 18) tropfenförmig auf die Oberfläche des Prüfkörpers gegeben. Die Tropfen wurden möglichst gleichmäßig über die Probenfläche verteilt, wie dies in Abbildung 53 gezeigt ist. Sofern nicht anders angegeben wurde wässrige KCl-Lösung ( $c = 0,1\ \text{M}$ ) als Elektrolytlösung eingesetzt.

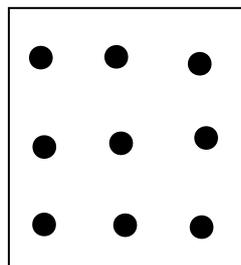


Abbildung 53: Der Elektrolyt wurde vor der Messung tropfenförmig und möglichst gleichmäßig über die Probenoberfläche verteilt, wie in der Skizze dargestellt.

Tabelle 18: Eingesetztes Elektrolyt-Volumen nach eingestelltem Plattenabstand.

<b>Abstand [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	5	10	15	20	25	30	35	40	45
<b>Elektrolyt [<math>\mu\text{L}</math>]</b>	15	30	40	60	75	90	100	120	130

Anschließend wurde der obere Rahmen mit der ITO-Glas-Elektrode aufgelegt und durch vorsichtiges Klopfen auf das ITO-Plättchen die eingeschlossene Luft aus dem Elektrolytfilm verdrängt. Das Oberteil wurde mit den drei Schrauben befestigt. Vor jeder Messung wurden die beiden Elektrodenflächen kurzgeschlossen, um eventuell vorliegende elektrische Potentiale vor der Messung auszugleichen. Dies erfolgt durch ein kurzzeitiges Überbrücken der beiden ITO-Flächen an den Klemmen mit einem isolierten Kupferkabel, dessen Enden freigelegt waren. Die Enden des Kupferkabels berühren dafür gleichzeitig die beiden Anschlussklemmen. Dann wurden beide Halbzellen abgedunkelt und etwa 5 Minuten die Gleichgewichtseinstellung abgewartet, bis sich der Spannungswert am Multimeter um weniger als 10 mV pro 10 s änderte.

Am Computer wurde über die *Agilent*-Symbolleiste in *Microsoft Excel* die Dauer der Messung eingestellt. Es wurden Messzeiten zwischen jeweils 15 – 30 Minuten gewählt. Je nach Versuchsbedingungen wurde die Beleuchtung der Halbzellen über ein Schiebeelement durch partielles Abschatten variiert. Nach jeder Messung wurden Prüfkörper und ITO-Elektrode mit bidestilliertem Wasser abgespült und im Druckluftstrom getrocknet.

#### 4.3.7 Testserie mit festem Abstand

Zur Einschätzung der erreichbaren Messqualität mit der neuen Messvorrichtung wurde eine Testserie durchgeführt. Dabei wurde eine TiO<sub>2</sub> beschichteten Probe mit einer Schichtdicke von 150 nm (IST, Braunschweig) eingesetzt. Der Abstand zwischen ITO-Elektrode und Probe wurde an der Messvorrichtung auf 30 µm eingestellt. In nachfolgender Tabelle sind die Messergebnisse dargestellt. Es wurden je Messdurchgang acht Messungen durchgeführt.

Tabelle 19: Ergebnisse der Spannungsmessung in der Messvorrichtung mit festem Abstand von 30 µm zwischen ITO-Elektrode und TiO<sub>2</sub>-beschichtetem Plättchen der Schichtdicke 150 µm.

150 nm	Messdurchgang 1	Messdurchgang 2
1	70	51
2	51	55
3	65	59
4	60	40
5	69	54
6	51	48
7	44	37
8	92	52
Mittelwert	62,75	49,5
Standardabweichung	14,09	7,05
Standardabweichung % vom Messwert	22,45	14,25

#### 4.3.8 Messungen mit Proben unterschiedlicher Schichtdicken

In einer weiteren Untersuchung wurden im gleichen Aufbau Messungen an Proben unterschiedlicher Schichtdicken durchgeführt. Hierzu wurden die bereits zuvor verwendeten Proben mit Schichtdicken von 45, 90, 190 und 360 nm (IST, Braunschweig) und ein neuer Probensatz der Schichtdicken 150, 400, 600, 800 und 1000 nm (IST, Braunschweig) eingesetzt. In den Abbildungen 54 und 55 sind die Ergebnisse grafisch dargestellt. Für beide Messwert-Reihen wurden wie in Abschnitt 4.2.5 wieder Fitkurven der allgemeinen Form  $y(x) = a \cdot (1 - e^{-bx})$  eingezeichnet. Die Regressionswerte beider Fit-Funktionen waren  $R^2 > 0,95$ . Dies bestätigte auch hier die Annahme, dass die photokatalytische Wirksamkeit mit steigender Schichtdicke gegen einen Maximalwert läuft, also ab einer gewissen Schichtdicke nicht weiter zunimmt.

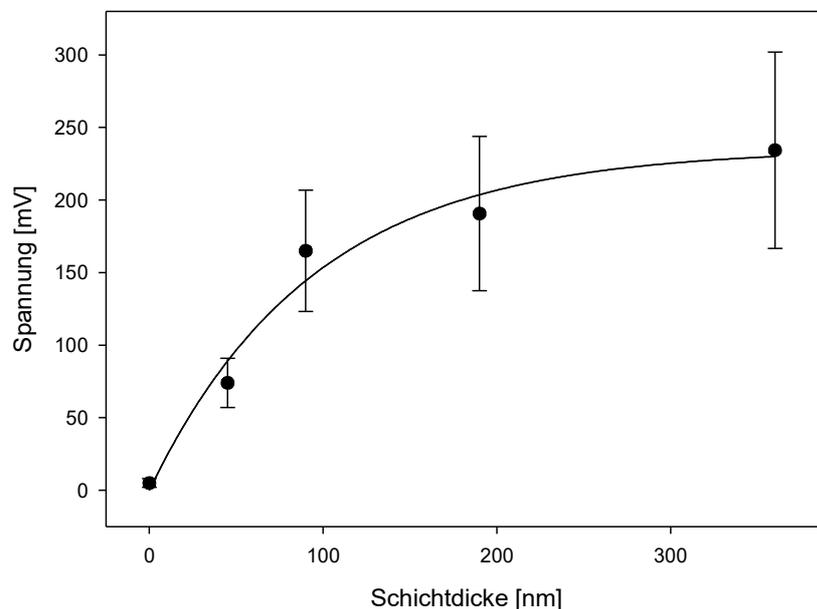


Abbildung 54: Ergebnisse der Spannungsmessung an  $\text{TiO}_2$ -Schichten unterschiedlicher Schichtdicken in der Messvorrichtung zur Einstellung des Plattenabstands. Es wurde ein Abstand zwischen ITO-Elektrode und  $\text{TiO}_2$  beschichteter Probe von  $30 \mu\text{m}$  eingestellt ( $n = 3$ , Mittelwerte und Standardabweichungen). Der Regressionswert der Fitfunktion ist  $R^2 = 0,97$ .

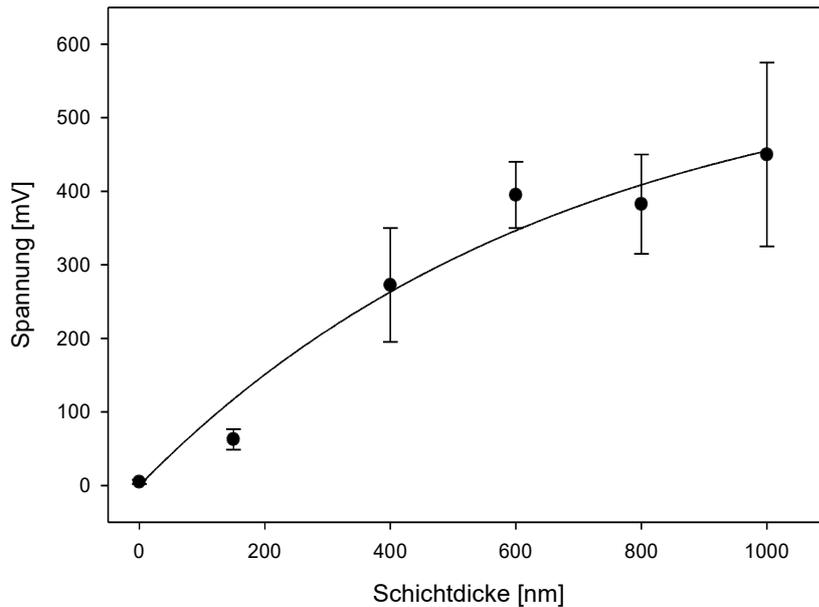


Abbildung 55: Ergebnisse der Spannungsmessung an TiO<sub>2</sub>-Schichten unterschiedlicher Schichtdicken in der Messvorrichtung zur Einstellung des Plattenabstands. Es wurde ein Abstand zwischen ITO-Elektrode und TiO<sub>2</sub> beschichteter Probe von 30 µm eingestellt (n = 3, Mittelwerte und Standardabweichungen). Der Regressionswert der Fitfunktion ist R<sup>2</sup> = 0,96.

Insgesamt zeigte sich, dass sich die Reproduzierbarkeit der Messung durch Einsatz der Messvorrichtung noch nicht zufriedenstellend verbessern ließ. Um sicherzustellen, dass die Messvorrichtung den Abstand zwischen den Platten tatsächlich fixierte, wurde eine weitere Messreihe mit Spacern durchgeführt. Als Spacer wurden zunächst Tesa-Film<sup>®</sup> Streifen und später Teflon-Streifen definierter Stärke verwendet.

#### 4.3.9 Verwendung von Spacern, um den Abstand zwischen Probe und ITO-Elektrode sicherzustellen

Da die Messungen auch mit der verbesserten Messvorrichtung häufig noch Störungen unterlagen, die zu nicht reproduzierbaren Messungen führten, wurde der Einsatz von Abstandshaltern (Spacer) getestet. Es konnte in der Messvorrichtung nicht vollständig kontrolliert werden, dass beide Plättchen planparallel zueinander ausgerichtet waren und einen konstanten Abstand über die gesamte Fläche aufwiesen, da die Halterung der ITO-Elektrode nur an drei Positionen griff. Auf dem Foto in Abbildung 56 ist dies gezeigt.

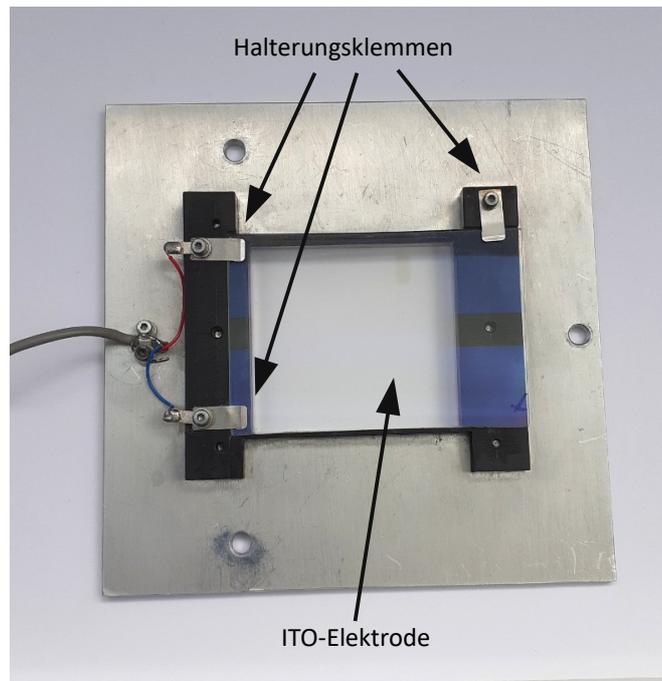


Abbildung 56: Foto der Unterseite des oberen Rahmens der Messvorrichtung. Die Klemmen zur Halterung und Kontaktierung für die ITO-Elektrode sind mit den Pfeilen markiert.

Die Verwendung von dünnen Spacern sollte jeweils einen definierten Abstand der beiden Plättchen zueinander gewährleisten. In Vorversuchen wurden zunächst Streifen von Tesa-Film® ( $d = 0,065 \text{ mm}$ ) verwendet. Die Klebestreifen wurden längs am Rand auf beiden Seiten auf die ITO-Elektrode geklebt. Damit wurde gewährleistet, dass die beiden Plättchen einen konstanten Abstand über die gesamte Länge aufwiesen. Die Vorversuche zeigten, dass eine Messung grundsätzlich möglich war. Um den möglichen Einfluss des Klebemittels auf die Messung zu eliminieren, wurden daraufhin Spacer aus Teflon in unterschiedlichen Stärke verwendet. Die Teflon-Spacer wurden bei der Firma Limedion in Mannheim an einem Mikrotom-Schneider hergestellt. Es wurden Spacer in den Stärken  $5 \text{ }\mu\text{m}$ ,  $10 \text{ }\mu\text{m}$ ,  $15 \text{ }\mu\text{m}$ ,  $20 \text{ }\mu\text{m}$  und  $30 \text{ }\mu\text{m}$  angefertigt. Zur Messung wurde jeweils ein Spacer-Paar an den linken und rechten Rand des Probe-Plättchens gelegt. Das Probe-Plättchen wurde zuvor wie oben beschrieben in die Messvorrichtung eingespannt. Nach Aufbringen der Elektrolyt-Lösung wurde die Messvorrichtung geschlossen und die jeweilige Messung durchgeführt. In nachfolgender Grafik sind die Messergebnisse an einem  $360 \text{ nm}$  Probe-Plättchen dargestellt. Jede Messung wurde dreimal wiederholt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind dargestellt.

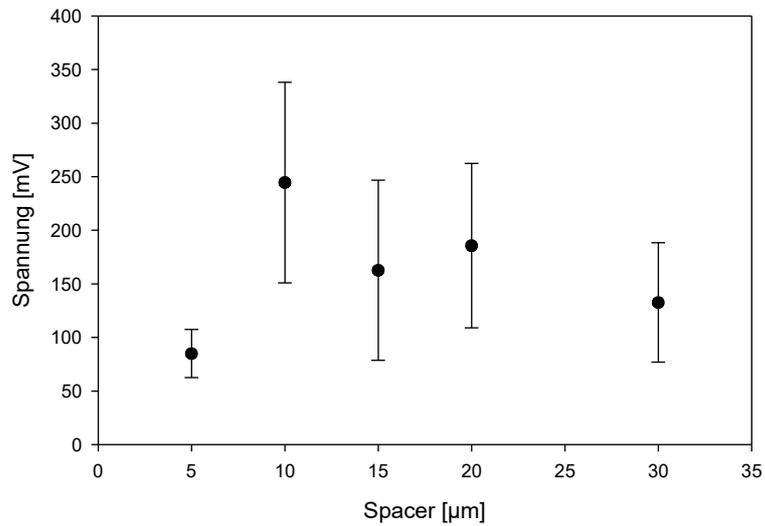


Abbildung 57: Ergebnisse der Spannungsmessungen an einer  $\text{TiO}_2$ -beschichteten Probe der Schichtdicke 360 nm (IST, Braunschweig) unter Verwendung von Spacern zwischen dem beschichteten Probe-Plättchen und der ITO-Elektrode. Es wurden Teflon-Spacer der Stärken 5, 10, 15, 20 und 30  $\mu\text{m}$  eingesetzt ( $n = 3$ , Mittelwerte und Standardabweichungen).

Die Spannungswerte schwanken auch in dieser Messreihe relativ stark. Zur näheren Betrachtung der Messwert-Schwankungen wurden in einer weiteren Testreihe die Anzahl der Versuchswiederholungen auf 10 Messungen erhöht. Dafür wurde wieder das 360 nm Probe-Plättchen mit dem 20  $\mu\text{m}$ -Spacer verwendet. In Abbildung 58 ist der Mittelwert der Messergebnisse mit Standardabweichung dargestellt.

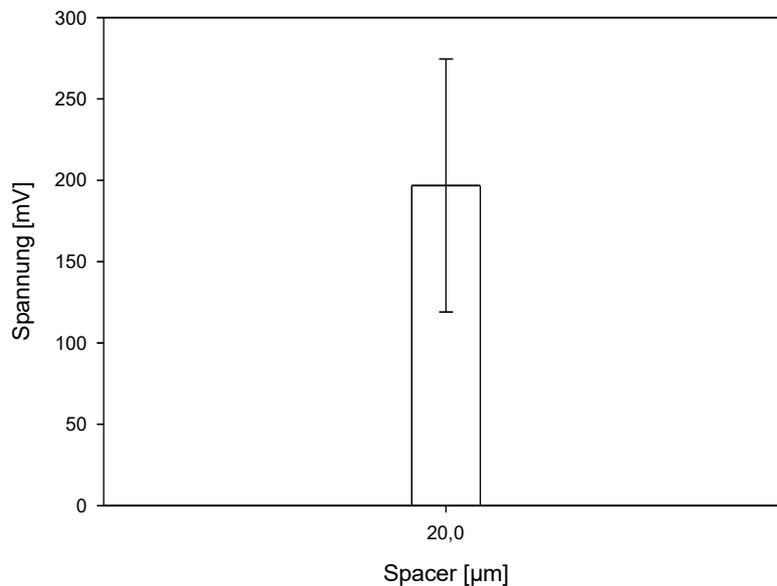


Abbildung 58: Ergebnisse der Spannungsmessungen an einer  $\text{TiO}_2$ -beschichteten Probe der Schichtdicke 360 nm (IST, Braunschweig) unter Verwendung von Teflon-Spacern der Stärke 20  $\mu\text{m}$ . Die Messung wurde zehnmal wiederholt ( $n = 10$ , Mittelwerte und Standardabweichungen).

Auch lieferte diese Untersuchung nicht das gewünschte Ergebnis einer geringeren Streuung der Messwerte. Die Werte bei festem Abstand schwankten auch hier recht stark. Zudem konnte kein Zusammenhang zwischen der Stärke der Spacer mit dem absolutem Messwert oder der Schwankungsbreite festgestellt werden.

#### 4.4 Spannungsmessung an $\text{TiO}_2$ -Schichten auf Edelstahlsubstraten

In einem weiteren Versuchsansatz wurden Titandioxid-Partikel auf metallischen Oberflächen immobilisiert. Damit wurde der Abstand zwischen den aktiven  $\text{TiO}_2$ -Partikeln und der ableitenden Elektrode minimiert. Durch Bestrahlung entstandene reaktive Spezies sollten somit leichter mit der Elektroden-Oberfläche wechselwirken können, ohne einen langen Weg durch den Elektrolyten zurück legen zu müssen. Zudem wurde der bisher verwendete flüssige Elektrolyt durch einen Agarose-Gel-Elektrolyten ersetzt, wie er zuvor auch in der Salzbrücke (Abschnitt 4.2 ) eingesetzt wurde.

Nachfolgend ist die modifizierte Versuchsanordnung beschrieben. Es wurden wässrige  $\text{TiO}_2$ -Suspensionen ( $c = 15 \text{ mg mL}^{-1}$ ) von Rutil, Anatas (UV100) und einer Rutil-Anatas-Mischung (P25) in bidestilliertem Wasser hergestellt. Diese wurden wie unten beschrieben auf Edelstahlplättchen aufgetragen. Aus Kostengründen wurde hier auf Platinplättchen verzichtet und die Versuche mit Edelstahl als Elektrodenmaterial durchgeführt. Der hierfür gewählte Versuchsaufbau zur Messung der Potentialdifferenzen unter UV-A Beleuchtung ist in Abbildung 59 dargestellt.

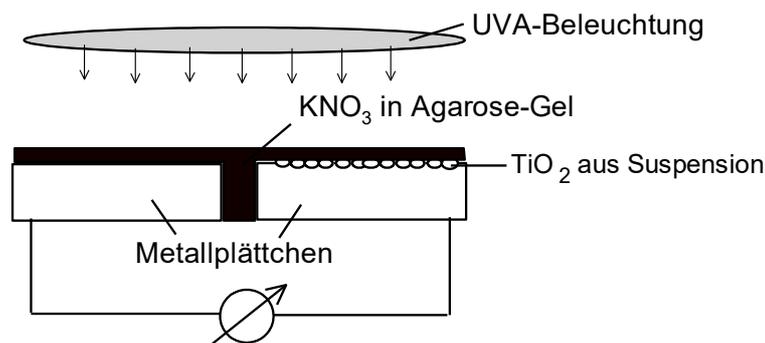


Abbildung 59: Aufbau zur Spannungsmessung an immobilisierten Partikeln unterschiedlicher  $\text{TiO}_2$ -Modifikationen. Ein Edelstahlsubstrat wurde mit einer  $\text{TiO}_2$ -Suspension beschichtet, während das zweite Substrat unbeschichtet blieb. Als Elektrolyt diente im Messaufbau  $\text{KCl}$  in Agarose-Gel. Der Versuchsaufbau wurde von oben mit UV-A Licht beleuchtet und die dabei auftretende elektrische Potentialdifferenz zwischen den beiden Metallplättchen gemessen.

#### 4.4.1 Spannungsmessung mit aufsteigenden $\text{TiO}_2$ -Mengen

In einer ersten Versuchsreihe wurden unterschiedliche Mengen an P25-Suspension eingesetzt. Die Suspension wurde jeweils gleichmäßig auf je ein Edelstahlsubstrat ( $A = 50 \times 50 \text{ mm}^2$ ) aufgebracht. Nach 30 Minuten war die Suspension getrocknet und ein zweites unbeschichtetes Edelstahlplättchen wurde in einem Abstand von 3 mm parallel zum ersten Plättchen ausgerichtet. Die Anordnung wurde daraufhin vollständig mit Agarose-Gel als Elektrolyt überzogen, auch die Lücke zwischen den Plättchen wurde ausgefüllt. Die Herstellung des Agarose-Gel-Elektrolyten wurde in Abschnitt 4.2 zur Befüllung der Salzbrücke beschrieben. Nach weiteren 60 Minuten war die Agarose zu einem Gel erstarrt und die Spannungsmessung unter UV-A-Beleuchtung konnte durchgeführt werden. Dazu wurde die Anordnung beleuchtet und gleichzeitig die gemessenen Potentialdifferenzen zwischen den beiden Plättchen im Sekundentakt aufgezeichnet. Ein Abdunkeln war nicht notwendig, da als Referenzelektrode in diesem Fall das zweite Edelstahlplättchen ohne  $\text{TiO}_2$  diente. Die Spannungs-Zeit Verläufe wurden anschließend derart ausgewertet, dass die maximale Spannung ( $U_{\text{max}}$ ) über jeweils vier Durchgänge gemittelt wurden. In Abbildung 60 sind die Werte dargestellt.

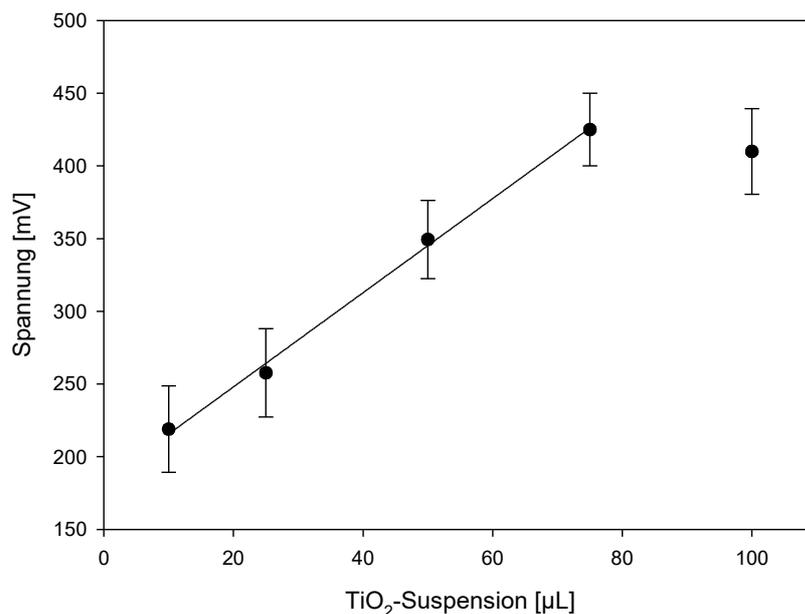


Abbildung 60: Spannungsmessung an immobilisierten P25  $\text{TiO}_2$ -Partikeln unter UV-A-Bestrahlung.  $\text{TiO}_2$ -Suspensionen wurde dazu in Mengen von 10, 25, 50 und 75  $\mu\text{L}$  auf ein Edelstahl-Plättchen aufgebracht. Als Elektrolyt diente ein KCl-Agarose-Gel. Die Gegenelektrode war ein zweites Edelstahl-Plättchen ohne  $\text{TiO}_2$ . ( $n=4$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

Es zeigte sich, dass die Messungen gut reproduzierbar waren. Die Standardabweichungen der Mittelwerte lagen zwischen 5 % und 13 % der jeweiligen Messwerte. Die Spannungswerte zeigten zudem einen linearen

Zusammenhang mit der eingesetzten  $\text{TiO}_2$ -Menge. Eine entsprechenden Fit-Funktion der allgemeinen Form  $y(x) = y_0 + a \cdot x$  wurde eingezeichnet. Der Regressionswert der linearen Fit-Funktionen war  $R^2 > 0,99$ .

#### 4.4.2 Spannungsmessung mit unterschiedlichen $\text{TiO}_2$ -Modifikationen

In einer weiteren Versuchsreihe wurden nun  $\text{TiO}_2$ -Suspensionen unterschiedlicher  $\text{TiO}_2$ -Modifikationen eingesetzt. Als photokatalytisch aktivste Modifikation wurde P25 verwendet, das eine Mischung der Kristallmodifikationen Anatas und Rutil enthält. Zum Vergleich wurden Proben mit dem Anatas-Produkt UV100 und Rutil verwendet. Von den einzelnen Suspensionen wurden jeweils 50  $\mu\text{L}$  gleichmäßig auf je ein Edelstahlsubstrat ( $A = 50 \times 50 \text{ mm}^2$ ) aufgebracht. Die Versuchsdurchführung wurde wie zuvor beschrieben mit dem Agarose-Gel-Elektrolyten durchgeführt.

Tabelle 20: Pulver verschiedener Kristallmodifikationen des Titandioxids (P25, UV100, Rutil) wurden wie in Abbildung 59 dargestellt untersucht. Die gemessenen Spannungen ( $U_{\text{max}}$ ) und die zum Erreichen dieser Spannungen benötigten Zeiten ( $t_{\text{max}}$ ) sind tabellarisch dargestellt.

Messung	P25		UV100		Rutil	
	$U_{\text{max}}$	$t_{\text{max}}$	$U_{\text{max}}$	$t_{\text{max}}$	$U_{\text{max}}$	$t_{\text{max}}$
1	372	40	120	85	2	110
2	390	80	170	130	5	210
3	335	100	150	101	3	90
4	330	60	162	132	14	105
5	320	60				
Mittelwerte	$349 \pm 26,9$	$68 \pm 20,4$	$150,5 \pm 19$	$112 \pm 20$	$6 \pm 4,7$	$129 \pm 47$

Die P25-Suspensionen erreichten in diesem Aufbau die höchsten durchschnittlichen Spannungswerte von  $U_{\text{max}} = 349 \pm 26,9 \text{ mV}$  und benötigen dafür die kürzeste Bestrahlungsdauer von  $t_{\text{max}} = 68 \pm 20,4 \text{ s}$ . Die Proben der UV100-Suspension erreichten Maximalspannungen von  $U_{\text{max}} = 150,5 \pm 19 \text{ mV}$  innerhalb von  $t_{\text{max}} = 112 \pm 20 \text{ s}$ , wohingegen die Rutil-Proben eine durchschnittliche Maximalspannung von lediglich  $U_{\text{max}} = 6 \pm 4,7 \text{ mV}$  bei einer Bestrahlungsdauer von  $t_{\text{max}} = 129 \pm 47 \text{ s}$  lieferten. Die Untersuchungen zeigen einen messbaren Zusammenhang zwischen der Bestrahlungsdauer zum Erreichen der maximalen Spannung und der maximal erreichten Spannungswerte. Während die Maximalspannungen in der Reihenfolge P25>UV100>Rutil abnahmen, stiegen in umgekehrter Reihenfolge die benötigten Bestrahlungszeiten an. In Abbildung 61 sind die Ergebnisse grafisch dargestellt.

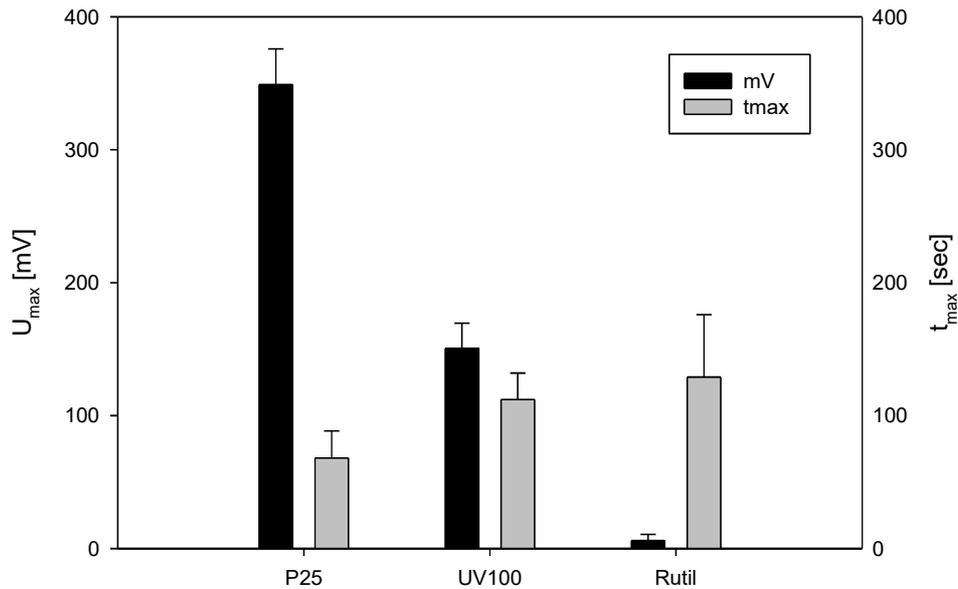


Abbildung 61: Pulver-Suspensionen verschiedener Kristallmodifikationen des Titandioxids (P25, UV100, Rutil) wurden wie in Abbildung 59 dargestellt untersucht. Die gemessenen Spannungen ( $U_{\max}$ ) und die zum Erreichen dieser Spannungen benötigten Zeiten ( $t_{\max}$ ) sind grafisch dargestellt ( $n=4-5$ ; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

Diese Untersuchungen ließen vermuten, dass bei photokatalytisch aktiven  $\text{TiO}_2$ -Modifikationen die maximale Spannung schneller erreicht wird und diese höher ausfällt als bei weniger photokatalytisch aktiven Modifikationen. In weiteren Untersuchungen wurden daraufhin das photokatalytische Mineralisierungsvermögen der Proben mit deren photoinduzierten Spannung verglichen. Zu diesem Zweck wurden Vergleichsmessungen der Proben mit der in Abschnitt 2.12 und Abschnitt 2.13 beschriebenen Methode zur Ermittlung des Mineralisierungsvermögens anhand von  $\text{CO}_2$ -Messungen durchgeführt.

#### 4.5 Vergleichende Messungen zum Mineralisierungsvermögen der $\text{TiO}_2$ -Suspensionen

Photokatalytisch aktiviertes Titandioxid ist in der Lage organische Substanzen zu mineralisieren. Wie bereits zuvor erläutert, kann zur Quantifizierung dieses chemischen Abbaus die Bildung von  $\text{CO}_2$  verwendet werden. Dies setzt voraus, dass das jeweils verwendete Substrat bis zum Kohlendioxid abgebaut werden kann. Die vollständige Oxidation bis zum  $\text{CO}_2$  kann erfolgen, falls die während der Abbaureaktionen in Zwischenstufen gebildeten Verbindungen ebenfalls durch die auf Titandioxid entstehenden oxidativen Spezies abgebaut werden können. Als Substrat wurde *D*-Glucose eingesetzt, bei der der vollständige Abbau in Vorarbeiten bestätigt wurde.

Für die Versuche wurden jeweils 50 µL der zuvor für die Spannungsmessungen eingesetzten TiO<sub>2</sub>-Suspensionen ( $c = 15 \text{ mg mL}^{-1}$ ) mit je 1 mL *D*-Glucose-Lösung ( $c = 0,1 \text{ M}$ ) vermischt. Diese Mischungen wurden in gasdichte Vials gefüllt und in der in Abschnitt 2.1 beschriebenen Beleuchtungskammer mit einer UV-A Lichtleistung von  $1,2 \text{ mW cm}^{-2}$  über 17,5 h bestrahlt. Für jede TiO<sub>2</sub>-Modifikation wurden 4 Proben angesetzt. Anschließend wurden aus dem Gasraum der Vials die CO<sub>2</sub>-Konzentrationen mittel NDIR-Analytik bestimmt. Jeder Messwert wurde doppelt bestimmt. Neben den Pulversuspensionen wurden auch je zwei unterschiedliche Negativkontrollen in den Versuchen mitgeführt. Zum Einen wurden die TiO<sub>2</sub>-Suspensionen mit 1 mL bidestilliertem Wasser anstelle der *D*-Glucose-Lösung versetzt, zum Anderen wurden *D*-Glucose-Lösungen ohne TiO<sub>2</sub>-Suspensionen mitgeführt. Diese Kontrollen dienten dem Nachweis, dass kein CO<sub>2</sub> bereits aus den einzelnen Komponenten unter UV-A-Bestrahlung gebildet wird. Aus den Messwerten wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind nachfolgend in Tabelle 21 aufgeführt.

Tabelle 21: Gemessene CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aus der Mineralisierung einer *D*-Glucose-Lösung durch Einwirkung von TiO<sub>2</sub> und UV-A-Licht ( $n = 4$ , Mittelwerte, Standardabweichungen).

<b>Probe</b>	<b>CO<sub>2</sub>-Konzentrationen</b>	<b>Standardabweichung</b>
	<b>[mg L<sup>-1</sup>]</b>	
P25 / Glucose	21,33	2,854
UV100 / Glucose	7,878	0,069
Rutil / Glucose	0,657	0,416
Glucose	0,046	0,002
P25 / H <sub>2</sub> O	0,919	0,005
UV100 / H <sub>2</sub> O	1,027	0,011
Rutil / H <sub>2</sub> O	0,109	0,024

Die CO<sub>2</sub>-Entwicklung aus *D*-Glucose-Lösung unter Bestrahlung wurde als Maß für die Mineralisierungsfähigkeit von TiO<sub>2</sub> gewertet. Wie es nach den zuvor durchgeführten Untersuchungen zu erwarten war, lieferten die P25-Proben die höchsten CO<sub>2</sub>-Werte. Die reinen Anatas-Proben (UV100) zeigten erhöhte CO<sub>2</sub>-Bildung, auch wenn die Werte deutlich unter denen lagen, die für P25 erhalten wurden. Die reinen Rutil-Proben zeigten hingegen keinen messbaren CO<sub>2</sub>-Anstieg. Im Vergleich mit den zuvor durchgeführten Spannungsmessungen (Tabelle 20) konnte ein deutlicher Zusammenhang festgestellt werden. So lieferten die Proben mit einer hoher Mineralisierungsfähigkeit entsprechend auch die höchsten Spannungswerte. In Abbildung 62 sind die Ergebnisse beider Untersuchungen zusammengefasst dargestellt. Die Untersuchungsergebnisse zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Potentialdifferenz und dem Mineralisierungsvermögen.

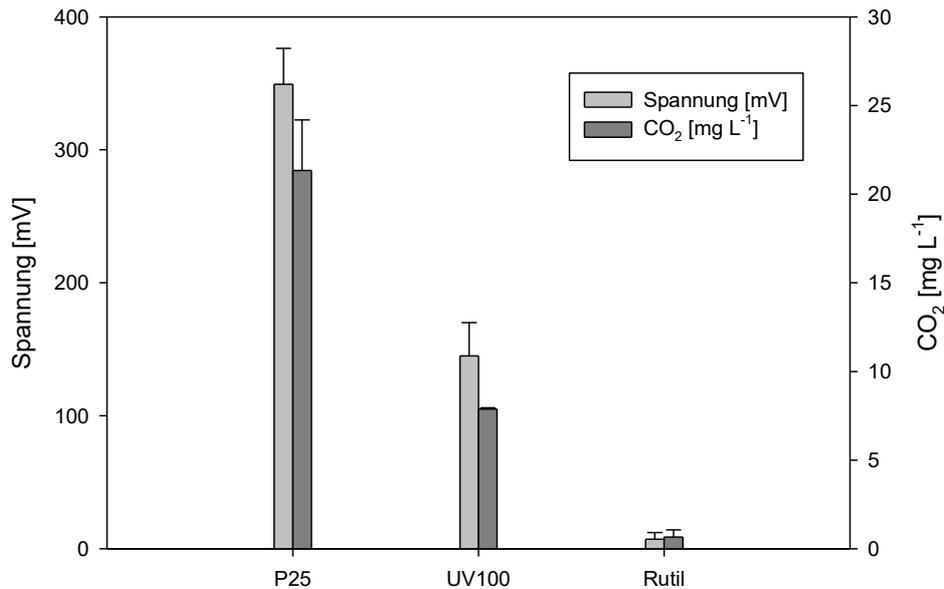


Abbildung 62: Messergebnisse zweier Methoden an Pulvern unterschiedlicher TiO<sub>2</sub>-Modifikationen. Die linke y-Achse gibt die Messwerte der Spannungsmessungen wieder, die rechte y-Achse die CO<sub>2</sub>-Konzentrationen im Mineralisierungsversuch. Hierbei ist erkennbar, dass Proben mit einer hohen Mineralisierungsleistung auch hohe Spannungswerte lieferten (n = 4-6, Mittelwerte und Standardabweichungen).

In Abbildung 63 wurden die gemessenen Spannungswerte gegen die CO<sub>2</sub>-Konzentrationen aufgetragen. Die lineare Fit-Funktion der allgemeinen Formel  $y(x) = y_0 + a \cdot x$  wies einen Regressionswert von  $R^2 > 0,99$  auf, was den linearen Zusammenhang zwischen den Messwerten bestätigte.

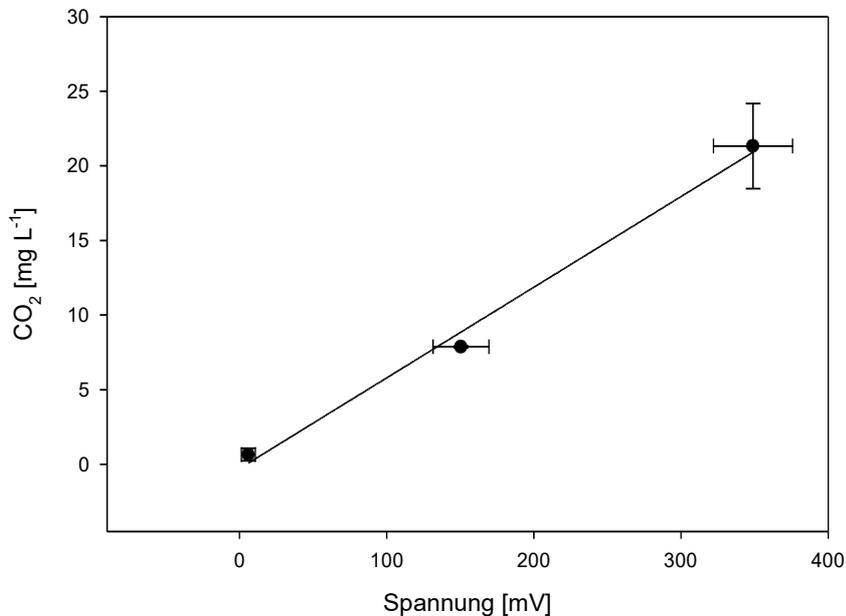


Abbildung 63: Auftragung der gemessenen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen gegen die gemessenen Spannungswerte aus den Tabellen 21 und 20. Es wurden dazu Proben mit Rutil, Anatas (UV100) und dem Rutil-Anatas-Gemisch (P25) untersucht. Der Regressionswert der linearen Fit-Funktion betrug  $R^2 > 0,99$ .

## 5 Diskussion

Das wissenschaftliche Interesse an Titandioxid und seinen photokatalytischen Eigenschaften ist auch 50 Jahre nach deren Entdeckung durch Fujishima und Honda sehr groß (Fujishima und Honda 1972). Eine aktuelle Recherche im Web of Science ([www.webofscience.com](http://www.webofscience.com)) ergibt für das Jahr 2021 insgesamt 4.810 wissenschaftliche Publikationen unter dem Suchbegriff „photocatalytic TiO<sub>2</sub>“. Für die Jahre 2018 bis 2021 werden insgesamt 20.970 Artikel gefunden. Ein Blick auf die meist zitierten Artikel ergibt einen Eindruck davon, in welche Richtung sich das wissenschaftliche Interesse in den letzten Jahren bewegt hat. Dabei wird die Vielseitigkeit der Anwendungsmöglichkeiten deutlich, worauf insbesondere im Zusammenhang mit der entwickelten Messung der Potentialdifferenzen in Abschnitt 5.13 nochmals eingegangen wird.

### 5.1 Photokatalytische Keimabtötung in Suspension

Anhand dieser Arbeit vorausgegangener Untersuchungen aus dem Arbeitskreis, in dem diese Arbeit entstanden ist, konnte gezeigt werden, dass photokatalytisch aktivierte TiO<sub>2</sub>-Beschichtungen dazu in der Lage sind Bakterien in Suspension abzutöten. Es wurden Headspace-Vials per Sol-Gel-Verfahren an den Innenwänden mit TiO<sub>2</sub> beschichtet und Keimsuspensionen in den Vials mit UV-A-Licht behandelt. Es zeigte sich dabei, dass die Anzahl vitaler Keime deutlich abnahm, während der CO<sub>2</sub>-Anteil in der Gasphase des Vials durch den Abbau des organischen Material zunahm (Kuhn et al. 2003).

Diese Methode wurde im Rahmen dieser Arbeit nun derart weiter entwickelt, dass auch Probekörper anderer Geometrien und Beschichtungen anderer Herstellungsverfahren untersucht werden konnten. Der zur quantitativen Untersuchung der Desinfektionsleistung entwickelte Aufbau besteht grundsätzlich darin, die zu untersuchenden Probekörper mit einer Keimsuspension in Kontakt zu bringen und die photokatalytisch aktive Schicht entsprechend mittels UV-A-Strahlung zu aktivieren. Aus der Keimsuspension wurde dann der Rückgang der vermehrungsfähigen Keime bestimmt. Zunächst wurden Keimsuspensionen tropfenweise auf die zu untersuchenden Schichten aufgebracht und daraus nach definierten Bestrahlungsintervallen 5 µL Proben zur Keimzahlbestimmung entnommen. Diese Methodik erwies sich jedoch als wenig aussagekräftig, da die Standardabweichungen der Mittelwerte häufig in der Größenordnung der Messwerte lagen. Das Verfahren wurde daraufhin derart angepasst, dass mit größeren Probevolumina an Keimsuspension gearbeitet werden konnte, um etwaige Verdünnungsfehler und Unsicherheiten bei der kleinstvolumigen Probeentnahme zu minimieren. Der beschichtete Probekörper wurde dazu in einer Petrischale mit 25 mL der Keimsuspension überschichtet. Zur Probenahme wurden nun jeweils 100 µL der Suspension entnommen. Zur Optimierung des Verfahrens wurden Testreihen zur Ermittlung geeigneter Anfangskeimzahlen der Keimsuspensionen und passender Bestrahlungsintensitäten

durchgeführt. Dies war notwendig, da sich zeigte, dass die Ergebnisse bei zu geringen Anfangskeimzahlen und zu intensiver Bestrahlungen nicht aussagekräftig waren. Die Keime werden bei hohen Bestrahlungsintensitäten auch ohne TiO<sub>2</sub>-Einwirkung abgetötet. Nach Optimierung der Versuchsparameter konnte anhand der Methode eine qualitative Aussage über die bakterizide Wirksamkeit unterschiedlicher Beschichtungen getroffen werden. So zeigte sich, dass bei den eingesetzten TiO<sub>2</sub>-Schichten, die per PVD-Verfahren hergestellt worden waren, eine zunehmende bakterizide Wirksamkeit mit ansteigender TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke vorlag. So konnte gezeigt werden, dass die Keimzahlen einer *E. coli*-Suspension der Anfangskeimzahl  $1 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  bei Proben mit einer TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke von 190 nm nach 8 h UV-A-Einwirkung auf eine nicht mehr nachweisbare Konzentration abgesunken war. Bei den Proben der Schichtdicke 360 nm wurde dies bereits nach 7 h erreicht. Die PVD-Proben mit den geringeren TiO<sub>2</sub>-Schichtdicken von 45 nm und 90 nm sowie die Pilkington Activ<sup>®</sup> Proben (50 nm) hingegen wiesen nach 8 h noch Keimzahlen von durchschnittlich  $5 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$  auf. Die Negativkontrollen ohne TiO<sub>2</sub>-Beschichtung wiesen Keimzahlen von durchschnittlich  $3 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$  auf. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Testkeime durch den Kontakt mit den photokatalytisch aktivierten TiO<sub>2</sub>-Schichten deutlich schneller abgetötet wurden als bei den Negativkontrollen.

Ein anwendungsbezogener Aspekt der keimabtötenden Wirksamkeit in Suspension liegt in der Trinkwasseraufbereitung. Millionen von Menschen haben nach wie vor keinen Zugang zu sauberem Trinkwasser (Chan et al. 2021). Durch den Einsatz von photokatalytisch aktiven TiO<sub>2</sub>-beschichteten Materialien in Aufbereitungsanlagen für Trinkwasser, könnte eine effiziente und kostengünstige Möglichkeit liegen, diese Situation zu verbessern (Bockenstedt et al. 2021; Gelover et al. 2006). Ein anderes Anwendungsbeispiel kann in der Wasseraufbereitung von Aquakulturen gefunden werden, die eine zunehmend wichtige Rolle in der Produktion von Lebensmitteln darstellen. An Polyanilin gebundenes TiO<sub>2</sub> wurde zur Abtötung von *E. coli* und *Staphylococcus aureus* im Wasser in einem Durchflussfilter eingesetzt. Es wurde dabei ein sehr starker Rückgang der Koloniezahlen um 5-log-Stufen innerhalb von 21 h auf nahezu Null gezeigt (Sanito et al. 2021).

Zur Verstärkung der keimabtötenden Wirkung kann die spezifische Oberfläche des TiO<sub>2</sub>-Pulvers erhöht werden. Einer Arbeitsgruppe gelang es in einer Synthesemethode mit Mikrowellen eine Partikelgröße von durchschnittlich 2 nm herzustellen. Dadurch lag die BET-Oberfläche bei  $381 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  gegenüber  $181 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  des kommerziellen Vergleichsmaterials. In der Untersuchung konnte das hergestellte Material innerhalb von 4 Stunden UV-A-Bestrahlung 91% der *E. coli*-Bakterien abtöten, während das kommerzielle Vergleichsmaterial 45% und die Negativkontrolle 3% abgetötete Keime aufwies (Faheem Ahmed et al. 2020).

## 5.2 Photokatalytische Keimabtötung auf trockenen Proben

Der direkte Nachweis der keimtötenden Wirkung TiO<sub>2</sub>-beschichteter Oberfläche wurde an dem ubiquitär vorkommenden Luftkeim *Sarcina lutea* untersucht. Die Besonderheit dieses Bakteriums liegt darin, dass es sich durch Pigmentbildung vor UV-Strahlung schützen kann, so dass es alleine durch UV-A-Einwirkung weniger geschädigt werden sollte, wie dies bei den gram-negativen Testkeimen *E. coli* und *P. aeruginosa* beobachtet wurde (Mathews und Sistro 1960). Für die Untersuchungen wurde eine Methode entwickelt, die die Beurteilung der Keimabtötung auf trockenen Proben ermöglichte. Als Substrate dienten Metallplättchen aus Aluminium, Stahl und Titan, die per Kaltgasspritzen mit Titandioxid-Pulver (P25) beschichtet wurden. Als Negativkontrollen dienten sandgestrahlte Metallplättchen, die ähnliche Oberflächenrauigkeiten aufwiesen. Alle Substrate wurden mit jeweils 100 µL Keimsuspension der Keimzahl  $1 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  benetzt und daraufhin für 21,5 h und 28 h mit UV-A (Lichtleistung  $1 \text{ mW cm}^{-2}$ , 25°C) behandelt. Die Bestimmung der Keimabtötung erfolgt mittels Abklatschproben und fotografischer Auswertung. Es konnte gezeigt werden, dass bei allen Substraten mit TiO<sub>2</sub> unter UV-A-Einwirkung eine deutliche Keimabtötungswirkung festzustellen war. Die Kontrollen zeigten die erwarteten Resultate. So zeigten alle Abklatsch-Proben ohne UV-A-Einwirkung einen sehr dichten Bakterienrasen, während die beleuchteten Proben ohne TiO<sub>2</sub>-Beschichtung einen deutlich dichteren Bakterienrasen als die TiO<sub>2</sub>-beschichteten Proben aufwiesen (Tabelle 10).

In der Literatur werden im Zusammenhang mit nosokomialen Infektionen auch Beschichtung mit TiO<sub>2</sub> untersucht, die die Ausbreitung von pathogenen Keimen auf Oberflächen eindämmen sollen (Bonyadi et al. 2017; Correa et al. 2020; Page et al. 2009). Häufig werden als Testkeime *Staphylococcus aureus* und *E. coli* aus Keimsuspensionen eingesetzt (Magalhaes et al. 2017). Insbesondere Methicilin resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) sind für viele Infektionen verantwortlich (Jernigan et al. 2020). Es wird berichtet, dass pathogene Keime wie beispielsweise MRSA über Monate auf trockenen Oberflächen überleben können (Kramer et al. 2006). In Untersuchungen mit photokatalytisch aktivierten TiO<sub>2</sub>-Beschichtungen konnte gezeigt werden, dass sich die Keime photokatalytisch abtöten lassen. Wobei dies meist unter Gegenwart von Wasser (in Keimsuspensionen) erfolgt (Leyland et al. 2016). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen darüber hinaus, dass sich die Testkeime, auch auf trockenen Proben eindämmen lassen, was ein wichtiger Aspekt für die Anwendung darstellt. Die Tatsache, dass der relativ bestrahlungsbeständige Keim *Sarcina lutea* auch durch Photokatalyse auf trockenen Oberflächen abgetötet wird, zeigt die mögliche Leistungsfähigkeit entsprechender Beschichtungen.

Ein weitere praktischer Ansatz der Keimabtötung auf trocknen Proben kann zur Verhinderung von bakteriellen Anhaftungen an medizinischen Titanimplantaten gefunden werden. Die Oberfläche des

Implantats kann gezielt zu  $\text{TiO}_2$  oxidiert werden und dessen photokatalytischen Eigenschaften zur Keimreduktion eingesetzt werden (Johnson et al. 2020). Eine andere Arbeit untersucht den Einsatz von  $\text{TiO}_2$ -Oberflächen an Zahnimplantaten. Biofilmbildung kann das Anwachsen und Festigen der Implantate erschweren. Wird die Oberfläche des Titan-Implantats zuvor zu  $\text{TiO}_2$  oxidiert, so können nach UV-Bestrahlung der Materialien die nachteiligen Auswirkungen des Biofilms abgemildert werden (Hirota et al. 2021). Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, dass sowohl in Suspension aber insbesondere auch auf trockenen Oberflächen Keime photokatalytisch abgetötet werden können.

### **5.3 Fazit aus den Keimabtötungsversuchen**

Anhand der durchgeführten Untersuchungen konnte die bakterizide Wirksamkeit von photokatalytisch aktivierten  $\text{TiO}_2$ -Schichten bestätigt werden. Es wurde zudem gezeigt, dass sowohl die untersuchten gram-negativen als auch gram-positiven Bakterien in Suspension abgetötet werden. Es konnte gegenüber der Literatur (2021) zudem auch gezeigt werden, dass sich relativ bestrahlungsresistente Keime wie *Sarcina lutea* auch auf trockenen Proben abtöten lassen, was die Anwendung von photokatalytisch ausgerüsteten Oberflächen noch breiter werden lässt.

Zur Dekontamination einer Oberfläche reicht allerdings unter Umständen das Abtöten von Keimen nicht aus. Beispielsweise können Endotoxine aus Zellwandfragmenten der Bakterien auf der Oberfläche zurück bleiben (Sunada et al. 2003a). Aus diesem Grund wurden weitere Versuche durchgeführt, um die chemische Zersetzung von komplexen Biomolekülen auf photokatalytisch aktivierten Oberflächen näher zu untersuchen.

### **5.4 Inaktivierung immunologisch relevanter Biomoleküle mit UV-A aktiviertem Titandioxid**

Für diese Untersuchungen wurden als Vertreter immunologisch relevanter Biomoleküle Lipopolysaccharid (LPS) als Endotoxin und Ribonuclease A (RNase A) ausgewählt. Deren biochemischen Aktivitäten wurden durch hochsensitive immunologische Nachweisverfahren verfolgt. Die beiden Verbindungen LPS und RNase A wurden ausgewählt, da beide Hauptquellen für Kontaminationen in immunologischen Untersuchungen und in Produktionsprozessen in der pharmazeutischen Industrie durch deren hohe chemische Stabilität und starke biologische Wirksamkeit darstellen. Die Inaktivierung dieser immunologisch relevanten Verbindungen stellt eine Herausforderung da, denn selbst Kontaminationen im pikomolaren Bereich sind hochgradig aktiv. Ihre Anwesenheit in Laboratorien lässt sich dabei kaum vermeiden. Zudem

weisen die beiden Modellverbindungen völlig unterschiedliche chemische Strukturen auf (Freudenberg et al. 2008).

## **5.5 Testverfahren zur Bestimmung der biologischen Aktivität von RNase A und LPS**

Eine direkte chemische Analyse und Quantifizierung von RNase A und LPS ist aufgrund der Größe und Struktur der Biomoleküle schwierig, wenn nicht gar unmöglich. Daher wurden geeignete Biotests entwickelt, um deren Abbau auf beschichteten Oberflächen bewerten zu können. Immunoassays, die sich für die Analyse von RNase A und LPS eignen, basieren auf hochspezifischen und empfindlichen Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen. CD14<sup>+</sup>-Zellen können als Biosensoren für LPS oder Lipoteichoinsäure (beides pyrogene Zellwandbestandteile von Bakterien) eingesetzt werden, da sie hTNF- $\alpha$  als immunstimulatorische Markersubstanz sekretieren (Kaisho und Akira 2003). Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen, dass die Sekretion von hTNF- $\alpha$  konzentrationsabhängig ist und ein Maximum bei einer LPS-Konzentrationen von 150 ng mL<sup>-1</sup> erreicht. RNA-Oligonukleotide können durch einen Immunoassay anhand ihrer Fähigkeit, IFN- $\alpha$  in menschlichen PBMCs zu induzieren, nachgewiesen werden. Es wurde ein konzentrationsabhängiger Anstieg von IFN- $\alpha$  von 0,01 bis 1  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> an PBMCs ermittelt. Die oben beschriebenen Immunoassays erwiesen sich als geeignet, um Inaktivierung der beiden hier verwendeten Molekülklassen zu verfolgen. Beide Assays sind hochempfindlich und eignen sich zur Ermittlung selbst geringster Restmengen von LPS und RNase A nach photokatalytischer Zerstörung auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten Oberflächen. Prinzipiell stehen auch andere Nachweismethoden zur Verfügung. So kann LPS beispielsweise mit dem Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL-Test) nachgewiesen werden, der aus dem Blut des Pfeilschwanzkrebsses gewonnen wird. Dabei reagiert LAL mit LPS und ermöglicht den Nachweis des Endotoxins in niedrigen Konzentrationen. Verglichen mit der für diese Arbeit entwickelten Methode ist der Test jedoch zeitaufwendig und teuer, sowie ökologisch bedenklich. Als Alternative zu den immunologischen Methoden wurde die RNA testweise auch mittels Gelelektrophorese analysiert. Dieser Test erfordert jedoch mindestens 500 ng RNA pro Schuss und ist daher viel unempfindlicher als der immunologische Test, woraufhin dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde.

## **5.6 Inaktivierung von LPS**

Bei einer UV-A-Bestrahlung der LPS-Proben über 96 h auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten Oberflächen wurden die LPS-Konzentrationen nachweislich verringert. Dabei konnten Konzentrationen von mehr als 500 ng mL<sup>-1</sup> nicht vollständig inaktiviert werden. Die durchschnittlich abgebaute Menge lag bei 43  $\pm$  9 ng mL<sup>-1</sup> unabhängig von der eingesetzten LPS-Konzentration. Die TiO<sub>2</sub>-beschichteten Probe-Plättchen hatten im Durchschnitt eine

beschichtete Oberfläche von  $402 \pm 12 \text{ mm}^2$ . Somit konnten unter den Versuchsbedingungen 11 ng LPS pro  $\text{cm}^2$   $\text{TiO}_2$ -beschichteter Oberfläche innerhalb von 96 h UV-A-Beleuchtung inaktiviert werden. LPS ist ein Zellwandbestandteil gram-negativer Bakterien. Beim Zerfall von Mikroorganismen wie *E. coli* wird LPS freigesetzt und wirkt als Endotoxin. Ein einziges *E. coli*-Bakterium kann etwa 2 Millionen LPS-Moleküle freisetzen (Gorbet und Sefton 2005). LPS hat ein durchschnittliches Molekulargewicht von 100 kDa bzw.  $1,66 \times 10^{-22} \text{ kg}$ . Demnach kann die LPS-Menge von  $3 \times 10^4$  *E. coli*-Bakterien innerhalb von 96 h wie oben beschrieben inaktiviert werden. Möglicherweise folgt die Inaktivierung von LPS einer Reaktion pseudo-nullter Ordnung. Dies folgt aus der Beobachtung, dass sich eine Abbau-Kinetik zeigte, die bei höheren LPS-Konzentrationen unabhängig von der Anfangskonzentration ist, dies jedoch nicht für geringere Anfangskonzentrationen unter  $40 \text{ ng mL}^{-1}$  gilt. Bei Konzentrationen unterhalb von  $40 \text{ ng mL}^{-1}$  ist die Reaktion offenbar nicht nullter Ordnung. Diese Ergebnisse lassen sich durch die Menge der katalytischen Stellen erklären, die von LPS besetzt werden können: Solange nicht alle Stellen besetzt sind, scheint die Reaktion konzentrationsabhängig zu sein.

Ein aktueller Übersichtsartikel beschreibt den aktuellen Wissensstand zur antimikrobiellen und antiviralen Wirkung durch Photokatalyse. Auch darin werden einzelne Ergebnisse des Forschungsprojekts, die bereits publiziert wurden (Kurz et al. 2011) zum LPS-Abbau und der damit einhergehenden anti-inflammatorischen Wirkung zitiert. Insbesondere werden einige Ergebnisse zur Konzentrationsabhängigkeit der LPS-Inaktivierung hervorgehoben (Parra-Ortiz und Malmsten 2022). Als Biofilm-Modell wurde in der Arbeit von Hirota et al. auch eine LPS-Schicht auf  $\text{TiO}_2$ -haltige Implantaten aufgebracht und per UV-Bestrahlung photokatalytisch abgebaut (Hirota et al. 2021). Auch hier zeigte sich, wie in den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, dass sich LPS grundsätzlich photoakatalytisch abbauen lässt. Die Ergebnisse die hier vorgelegt werden, gehen darüber hinaus und lassen auch gewisse Annahmen zur vorliegenden Reaktionskinetik wie oben beschrieben zu. So konnte gezeigt werden, dass die abgebaute Menge an LPS relativ unabhängig von der eingesetzten Anfangskonzentration ist und oberhalb eines Schwellenwerts möglicherweise einer Kinetik pseudo-nullter Ordnung folgt. Bei geringeren Anfangskonzentrationen hingegen ist der Abbau konzentrationsabhängig.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Ergebnisse zum Abbau von komplexen Biomolekülen untersucht, die methodisch vergleichsweise anspruchsvoll waren und neue Perspektiven zur photokatalytischen Anwendung von  $\text{TiO}_2$  aufzeigen. Bestimmte Aspekte dieser Arbeiten wurden in der Folge auch in anderen Bereichen angewendet, wie zum Beispiel einem Ansatz über photodynamische Therapie. Hierbei werden Farbstoffmoleküle wie Toluidinblau oder Methylenblau mit Licht geeigneter Wellenlängen selbst angeregt, wobei die entstehenden radikalen Sauerstoffverbindungen desinfizierend und mineralisierend wirkten

(Giannelli et al. 2017). Bei Giannelli werden ebenfalls einige Ergebnisse aus der Publikation (Kurz et al. 2011) erwähnt.

## 5.7 Inaktivierung von RNase A

RNase A wurde bis zu einer Konzentration von  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  vollständig inaktiviert, während höhere Konzentrationen zu einem vollständigen Verlust der IFN- $\alpha$ -Sekretion führte. Dieser An/Aus-Effekt lässt sich durch die enzymatische Aktivität von RNase A erklären. Die eingesetzten RNA1 und RNA2 wurden als starke Immunstimulatoren beschrieben (Eberle et al. 2008). Die RNA-Moleküle enthalten 22 bzw. 20 Nukleotide. Für eine nachweisbare Immunstimulation sind mindestens 19 Nukleotide erforderlich (Hornung et al. 2005). Daher könnte eine einzige Spaltung durch RNase A ausreichen, um die Signalübertragung aufzuheben. Gemäß den Herstellerangaben entsprechen  $300 \mu\text{g mL}^{-1}$  RNase A  $21 \text{ units mL}^{-1}$ . Die bisher erzielten Ergebnisse zeigen, dass  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  RNase A oder  $7 \text{ units mL}^{-1}$  inaktiviert werden können. RNase A ist im menschlichen Speichel und Schweiß in Konzentrationen von etwa  $7\text{-}8 \text{ units mL}^{-1}$  enthalten (Bardòn und Shugar 1980). Je nach Belastung der Oberfläche sollten zumindest durchschnittliche Verunreinigungen durch UV-A-Bestrahlung der  $\text{TiO}_2$ -Oberfläche leicht zerstört werden können (Bardòn und Shugar 1980) (Gorbet und Sefton 2005).

## 5.8 Untersuchung $\text{TiO}_2$ -haltiger Kosmetika

Nachdem gezeigt werden konnte, dass auch komplexe Biomoleküle durch Photokatalyse inaktiviert, also chemisch verändert werden können, wurden  $\text{TiO}_2$ -haltige kosmetische Zubereitungen auf deren photokatalytische Aktivität hin untersucht. Wie bereits in Abschnitt 3.6 erwähnt, kann nicht ausgeschlossen werden, dass Titandioxid-Nanopartikel in vitale Hautzellen der Dermis eindringen können. Dort könnten unter Einfluss von UV-A-Strahlung beispielsweise aus dem Sonnenlicht photokatalytisch initiierte Reaktionen an Molekülen innerhalb der Zellen stattfinden. So konnten in Zellkulturen DNA- und Zellschädigungen unter Einfluss von Titandioxid und UV-A festgestellt werden (Dunford et al. 1997; Serpone et al. 2007). UV-A-Strahlung im Wellenlängenbereich von  $320\text{--}340 \text{ nm}$  weist Eindringtiefen in die menschliche Haut von bis zu  $100 \mu\text{m}$  auf, was der Tiefe der Dermis entspricht (Meinhardt et al. 2008). Das Eindringen von  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel in die Haut von haarlosen Mäusen und Schweinen nach längerer Exposition wurde bereits nachgewiesen. So wurde gezeigt, dass die  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel die Hornhautschicht durchdringen können und in tieferen Schichten der Epidermis nachweisbar waren. Darüber hinaus konnten  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel von P25 nach Assimilation über die Haut selbst in Organen und im Gehirn nachgewiesen werden (Menzel et al. 2004; Wu et al. 2009). Es konnte auch gezeigt werden, dass  $\text{TiO}_2$ -Partikel über die Follikelkanäle der Haare tiefer eindringen können (Lademann et al. 1999). Andere Publikationen konnten ein Eindringen der Nanopartikel in die Dermis gesunder, menschlicher Haut nach Applikation von  $\text{TiO}_2$ -haltigen

Cremes nicht feststellen (Senzui et al. 2010). Bei längeren Einwirkzeiten oder Verletzungen der Haut konnte eine Penetration der Haut bis in Regionen mit vitalen Hautzellen allerdings nicht ausgeschlossen werden (Gontier et al. 2008). Weitere Studien weisen darauf hin, dass Titandioxid-Partikel, die Licht ausgesetzt sind, in kleinere Fragmente zerfallen können (Bennett et al. 2012; Mendive et al. 2011). Es konnte auch gezeigt werden, dass durch Aggregation von  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln an Proteinmoleküle das Eindringen in Zellen erleichtert wird (Vian et al. 2021). Beides wiederum erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel in die Haut eindringen können. Eine Maßnahme zum Verhindern des Eindringens wird in Melanin-Beschichtungen der  $\text{TiO}_2$ -Partikel gesehen. Durch Untersuchungen an Schweinehäuten konnte gezeigt werden, dass die Melanin/ $\text{TiO}_2$ -Partikel nicht in die Haut eindringen und hauptsächlich auf der Hautoberfläche verblieben. Dies wird mit der Partikelgröße und den Adheseigenschaften des Melanins begründet (Li et al. 2021).

Bei den in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnissen wird erstmals gezeigt, dass das aus im Handel befindlichen Präparaten extrahierbare  $\text{TiO}_2$  unmittelbare photokatalytische Reaktionen bewirkt. Da die Produkte, die dieses Material enthalten, unmittelbar auf der Haut angewendet werden, muss damit gerechnet werden, dass photokatalytisch aktive  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel in die Haut eindringen können. Da in die obersten Zellschichten auch UV-A-Strahlung eindringen kann, sind photokatalytische Reaktionen auch innerhalb der Haut nicht auszuschließen.

Zunächst wurde von den ausgewählten 33 Sonnenschutz-Präparaten die enthaltenen  $\text{TiO}_2$ -Anteile per ICP-MS-Analytik bestimmt. Dabei kann festgehalten werden, dass ICP-MS nach wie vor das Mittel der Wahl bei der Analyse darstellt (Bocca et al. 2018). Nahezu alle Proben enthielten jeweils zwischen 1% und 5,6% Titandioxid. Eine andere Methode zur Bestimmung der  $\text{TiO}_2$ -Konzentrationen in Sonnenschutzmitteln wurde mittels Röntgenfluoreszenz-Analyse (EDXRF) beschrieben. Mit dieser Methode wurden ebenfalls Konzentrationen von 1-6% gemessen (Melquiades et al. 2008). In einer neueren Untersuchung wurden die Partikelgrößen mittels SEM (scanning electron microscopy) und TEM (transmission electron microscopy) auf Werte zwischen 15 nm und 80 nm bestimmt. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, die in Tabelle 12 dargestellt sind. Auch die  $\text{TiO}_2$ -Konzentrationen der Proben lagen im gleichen Bereich, wie in der vorliegenden Arbeit, sie wurden ebenfalls mittels ICP-MS auf 0,5 – 1,9 % bestimmt (Nthwane et al. 2019).

Zur Bestimmung der enthaltenen Kristallmodifikationen wurden XRD-Untersuchungen an  $\text{TiO}_2$ -Pulvern durchgeführt, die aus den Sonnenschutzmitteln extrahiert wurden. Es zeigt sich dabei, dass 8 der Proben reines Anatas, 11 Proben reines Rutil und 13 Proben eine Rutil-Anatas-Mischung von 12:88 ( $\pm 3$ ) [%]

enthielten. Die Untersuchung von P25-Pulver ergab ein Rutil-Anatas-Verhältnis von 13:87, so dass vermutet werden kann, dass P25 oder ein vergleichbares Präparat in diesen Proben enthalten war.

Im nächsten Schritt wurden die Proben auf die photokatalytische Aktivität hin geprüft. Als Methode wurde die Mineralisierungsreaktion durch Messung des  $\text{CO}_2$ -Anstiegs in der Gasphase unter UV-A-Bestrahlung verfolgt. Es konnte gezeigt werden, dass die vollständige Oxidation der Proben unter Bildung von  $\text{CO}_2$  entsprechend der enthaltenen  $\text{TiO}_2$ -Modifikationen verteilt war. So zeigten die Proben, die eine Rutil-Anatas-Kombination enthielten im Mittel die höchsten  $\text{CO}_2$ -Anstiege mit Werten von  $c = 9 - 40 \text{ mg L}^{-1}$ . Die Proben mit reinem Anatas zeigten eine geringere Mineralisierung mit Werten von  $c = 1,4 - 21 \text{ mg L}^{-1} \text{ CO}_2$ , während Proben, die reines Rutil enthielten nur sehr geringe  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen von bis zu  $c = 2,4 \text{ mg L}^{-1}$  zeigten. Diese Ergebnisse deckten sich mit der Erwartung und den Vergleichsmessungen an entsprechenden Pulver-Suspensionen insofern, dass Präparate mit einer Rutil-Anatas-Mischung eine deutlich höher photokatalytische Aktivität aufweisen, als reines Anatas. Rutil hingegen ist nur wenig photokatalytisch aktiv (Augustynski 1993; Hurum et al. 2006; Hurum et al. 2003). Dies deckt sich auch mit anderen Ergebnissen, wobei die photokatalytische Aktivität von  $\text{ZnO}$ , die in dieser Arbeit nicht näher untersucht wurde, zwischen der von P25 und Anatas (UV100) lag (Qamar und Muneer 2009).

Parallel wurden die Proben auch am Laserzentrum Hannover von Redouan Boughaled auf deren photokatalytische Aktivität hin untersucht und die photonische Effizienz  $\xi$  der Entfärbungsreaktion berechnet. Dabei machte man sich die photokatalytische Entfärbung einer Methylenblau-Lösung zunutze. Es zeigte sich im allgemeinen auch, dass die Proben mit den Rutil-Anatas-Mischungen höhere Aktivitäten aufwiesen, als die reinen Anatas und Rutil-Proben. Ein Nachteil dieser Methode lag darin, dass zur Ermittlung der Entfärbung die Transmission des Messstrahls auch von der Trübung der Probensuspension beeinflusst wurde. Somit konnte nicht eindeutig auf einen Zusammenhang zwischen einer geringen Transmission und einer geringen photokatalytischen Wirksamkeit geschlossen werden. Im Einzelnen sind die Ergebnisse in Tabelle 13 dargestellt. Die photonische Effizienz lag bei den Rutil-Proben bei Werten  $\xi < 0,012$ , was auch mit deren geringen  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen übereinstimmte. Die Anatas-Proben mit den Nummern 9 und 17 zeigten als einzige Proben dieser Gruppe höhere Werte der photonischen Effizienz mit  $\xi = 0,039$  und  $0,0195$ . Die  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen dieser Proben lagen mit  $c = 18,86 \text{ mg L}^{-1}$  und  $c = 6,24 \text{ mg L}^{-1}$  im oberen und mittleren Bereich der Anatas-Gruppe. Die Proben mit Rutil-Anatas-Mischungen zeigten tendenziell höhere Werte der photonischen Effizienz entsprechend der höheren  $\text{CO}_2$ -Werte. Der höchste Wert der photonischen Effizienz konnte mit  $\xi = 0,128$  bei der Vergleichsprobe, die aus P25-Pulver hergestellt wurde, ermittelt werden. Interessant ist der Wert der Vergleichsprobe, die aus T805-Pulver hergestellt wurde. Dort war einerseits der Wert der  $\text{CO}_2$ -Konzentration mit  $c = 40,19 \text{ mg L}^{-1}$  sehr hoch, die photonische Effizienz hingegen mit  $\xi = 0,015$  relativ gering. Eine mögliche Erklärung könnte in der lipophilen

Beschichtung seiner TiO<sub>2</sub>-Partikel liegen. Eventuell wird durch die Photokatalyse zunächst die lipophile Schicht unter CO<sub>2</sub>-Bildung mineralisiert. Diese Schicht verhindert damit die photokatalytische Entfärbung des Methylenblau. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in Teilen bestätigt, gehen jedoch über die anderen Arbeiten hinaus. So kam die Arbeitsgruppe um Danielle Slomberg auch zu dem Ergebnis, dass die beschichteten TiO<sub>2</sub>-Partikel in Sonnenschutzmittel durch Photokatalyse die schützende Schicht allmählich abbauen (Slomberg et al. 2021). In der vorliegenden Arbeit wurden darüber hinaus auch die Kristallmodifikationen der enthalten aktiven TiO<sub>2</sub>-Bestandteile analysiert und konnten in direkten Zusammenhang mit der jeweils ermittelten photokatalytischen Aktivität gestellt werden.

Ein neuer Ansatz zur Verbesserung der TiO<sub>2</sub>-Materialien liegt im Aufbringen einer Lignin-Schutzschicht zum Abfangen der entstehenden Radikale. Die gewünschten kosmetischen Eigenschaften sollen dabei erhalten bleiben (Morsella et al. 2016). Ein anderer Ansatz besteht darin, die Nanopartikel in eine Hülle aus CeO<sub>2</sub> einzukapseln. Die CeO<sub>2</sub>-Kapsel soll dabei die entstehenden radikalischen Sauerstoffspezies als Radikalfänger abfangen, so dass keine Zellschädigungen der Haut entstehen können (Chen et al. 2021).

Zum Zeitpunkt der Untersuchung wurden unterschiedliche Titandioxid-Modifikationen in den kosmetischen Zubereitungen nachgewiesen. Deren photokatalytische Aktivität und Mineralisierungsleistungen wurde untersucht. Es wurden wie erwartet deutlich Unterschiede zwischen den Modifikationen gefunden. Jüngst in 2021 erschien eine Publikation, die sich mit der Photodegradation von organischen Bestandteilen von Sonnenschutz-Präparaten durch den Einfluss von photokatalytisch aktiviertem Zinkoxid befasste. Es konnte gezeigt werden, dass die Reaktionsprodukte die durch die Photokatalyse entstehen, eine höhere Toxizität an Zebrafischembryonen aufwiesen (Ginzburg et al. 2021). Durch die hier vorgelegten Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass wie ZnO auch das als Bestandteil von Sonnenschutz-Präparaten enthaltene TiO<sub>2</sub> photokatalytisch aktiv ist. In den für die vorliegende Arbeit zufällig ausgewählten Sonnenschutz-Präparaten konnte nur in zwei Produkten ZnO nachgewiesen werden. Dagegen war in nahezu allen untersuchten Proben TiO<sub>2</sub> enthalten (Tabelle 12), so dass davon ausgegangen werden kann, dass TiO<sub>2</sub> eine größere Verbreitung und damit unter Umständen ein größeres Risikopotential birgt. Seit 2013 gibt es nun eine Empfehlung der EU-Kommission nur noch photokatalytisch inaktives TiO<sub>2</sub> in der Modifikation Rutil mit einem maximalen Anteil von 5% Anatas für Kosmetika einzusetzen, da auf diese Weise die Risiken von photokatalytisch induzierten Zellschädigungen minimiert werden können (SCCS 2013). Unter Umständen genügen aber bereits geringe Anatas-Anteile, um photokatalytisch induzierte Reaktionen hervorzurufen.

## 5.9 Photokatalytisch induzierte elektrische Potentialdifferenzen

Eine weitere Fragestellung dieser Arbeit bestand darin, die Möglichkeit zu untersuchen, ob die durch die ablaufenden Redoxreaktionen entstehenden Potentialdifferenzen an den TiO<sub>2</sub>-Oberflächen in praktikabler Weise gemessen werden können. Es sollte zudem untersucht werden, ob etwaige messbare Spannungen Rückschluss auf die photokatalytische Wirksamkeit der jeweiligen TiO<sub>2</sub>-Probe schließen lassen. In einem ersten Versuchsaufbau mit Platintiegeln in Anlehnung an eine galvanische Zelle konnte die grundlegende Hypothese zur Spannungsmessung bestätigt werden. So wurde gezeigt, dass zwischen den beiden Halbzellen unter UV-A-Beleuchtung eine Spannung gemessen werden kann. Die Spannung nimmt dabei gemäß einer quadratischen Funktion mit der eingestrahlt UV-A-Intensität gemäß dem *Entfernungsgesetz* ab. Bei gleichbleibender UV-A-Intensität unter schrittweiser Erhöhung der TiO<sub>2</sub>-Konzentration in der Messzelle folgt der Spannungsverlauf einer asymptotisch verlaufenden Exponentialfunktion, die gegen einen Sättigungswert der TiO<sub>2</sub>-Konzentration verläuft. Die Abnahme der Steigung mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Menge kann damit erklärt werden, dass letztlich immer weniger Licht ausreichend tief in die optisch dichter werdende Suspension im Tiegel eindringen kann, da es zu Absorptions- und Reflexionsprozessen kommt. Dadurch nimmt die Lichtleistung  $I$  gemäß dem *Lambert-Beer'schen Gesetz* kontinuierlich ab und die Zunahme der photokatalytisch angeregten Partikel in der Nähe der Tiegeloberfläche und damit der messbaren Spannung schwächt sich entsprechend ab.

Die Redoxprozesse, die auf TiO<sub>2</sub>-beschichteten Oberflächen ablaufen, sind vergleichbar mit den Prozessen an TiO<sub>2</sub>-Partikeln in Suspension (Vergöhl et al. 2011). In beiden Fällen entstehen unter Aktivierung mit UV-A-Strahlung Teilchen unterschiedlicher Ladungen und Reaktivitäten (Augugliaro et al. 2009; Augugliaro et al. 1988; Shibata et al. 2003; Shibata et al. 2004). Insbesondere die Bildung der hochreaktiven Hydroxyl-Radikale könnte an der Entstehung der messbaren Potentialdifferenzen beteiligt sein, da sie in der Lage wären, aufgrund ihres hohen Normalpotentials von  $E_0 = +2,74 \text{ V}$  unter Bildung von Hydroxyl-Anionen auch elementares Platin ( $E_0 = +1,18 \text{ V}$ ) zu oxidieren (Fallab 1967). In weiteren Versuchen sollte nun die Messung der Potentialdifferenz an beschichteten TiO<sub>2</sub>-Proben untersucht werden. Es zeigten sich gegenüber den Messungen an den Suspensionen Messwertschwankungen von bis zu 50% der Messwerte. Eine Erklärung für diese Schwankungen liegt in der nicht optimal planaren Auflagefläche der Proben in den Platintiegeln. Es konnte mit diesem Aufbau nicht sichergestellt werden, dass die Proben bei jeder Messung den gleichen mittleren Abstand zur Bodenfläche des Platin-Tiegels aufwiesen. Dennoch konnte gezeigt werden, dass mit diesem vergleichsweise einfachen Versuchsaufbau auch auf beschichteten Materialproben prinzipiell photoinduzierte Spannungen gemessen werden können. Auch in den weiteren Messreihen mit Proben unterschiedlicher TiO<sub>2</sub>-Schichtdicken konnten Photospannungen gemessen werden. Es zeigte sich dabei, dass die Spannungswerte mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke anstiegen. Dies deutet darauf hin, dass sich

die Spannung proportional zur photokatalytischen Aktivität verhält. So konnte durch eine Gegenüberstellung der Spannungsmesswerte mit Ergebnissen aus Methylenblau-Entfärbungsversuchen und Untersuchungen zum Abtötungsvermögen dieser TiO<sub>2</sub>-Schichten ein qualitativer Zusammenhang bestätigt werden. Jedoch wiesen die Werte der Spannungsmessungen eine hohe Schwankungsbreite von 29-48% bezogen auf die Messwerte auf. Ebenso unterlagen die Ergebnisse der Keimabtötungsversuche den bereits zuvor festgestellten Schwankungsbreiten.

## 5.10 Optimierter Aufbau mit ITO-Elektroden

Der optimierte Aufbau mit ITO-Elektroden erlaubte es, den Verlauf der Spannung auch zeitlich zu verfolgen. Ein exemplarischer Spannungsverlauf ist in Abbildung 44 gezeigt. Dabei ist der Kurvenverlauf mit den Lade- und Entladekurven eines Plattenkondensators vergleichbar, die in Abbildung 5 dargestellt sind und den in Abschnitt 1.5.5 beschriebenen Exponentialfunktionen  $U(t) = U_{max} \cdot (1 - e^{-t/\tau})$  für den Ladevorgang und für den Entladevorgang  $U(t) = U_{max} \cdot e^{-t/\tau}$  folgen. Im exemplarischen Spannungsverlauf sind jeweils die exponentiellen Fitfunktionen in grün für den Ladevorgang und in gelb für den Entladevorgang eingezeichnet. Die Regressionswerte beider Kurven waren  $R^2 > 0,96$ . Der Spannungsanstieg entspräche damit dem Aufladen eines Kondensators. Ein Erklärungsansatz besteht darin, dass sich an der beleuchteten Seite des Aufbaus eine Helmholtz-Doppelschicht durch Oxidationsreaktionen ausbildet, die zur messbaren Potentialdifferenz gegenüber der unbeleuchteten Seite führt. Als reaktive Spezies kommen die bereits erwähnten Hydroxylradikale in Betracht, die unter der Einwirkung von UV-A-Licht am Photokatalysator TiO<sub>2</sub> entstehen. Der Entladevorgang entspricht dem Abbau der Helmholtz-Doppelschicht nach Abschalten der UV-A-Lichtquelle. Da keine weiteren Hydroxylradikale nachkommen, die die Spannung aufrecht erhalten können, fließen die Ladungen allmählich ab, bis sich wieder ein Gleichgewichtszustand eingestellt hat. Dies kann hauptsächlich durch den Elektrolyten erfolgen, da die Leitfähigkeit innerhalb der TiO<sub>2</sub>-Schicht mit  $10^{-9} \Omega \text{ cm}^{-1}$  sehr gering ist (Koenenkamp, Henninger, and Hoyer 1993).

Die weiteren Messungen an TiO<sub>2</sub>-Schichten, die per PVD-Verfahren hergestellt wurden, zeigten auch bei diesem Aufbau mit zunehmender TiO<sub>2</sub>-Schichtdicke höhere Spannungswerte. Auch zeigte der Vergleich mit den Entfärbungsversuchen an Methylenblau, dass die Spannungswerte mit der photokatalytischen Aktivität ansteigen. Die Spannungsmessungen waren weiterhin großen Messwertschwankungen unterlegen, so dass weitere Überlegungen zur Optimierung der Messanordnung durchgeführt wurden. Im Vergleich mit dem vorherigen Aufbau mit Platintiegeln zeigten sich insgesamt nun deutlich höhere messbare maximale Potentialdifferenzen. Die Messwerte mit den gleichen beschichteten Proben lagen etwa um den Faktor 2 höher. Dies lässt sich damit begründen, dass der Aufbau mit den ITO-Elektroden kompakter war, so dass geringere Verlusten durch kurze Transportwege der Ladungsträger durch den Elektrolyten vorlagen. Als rein

qualitative Methoden zur Erkennung einer beschichteten gegenüber einer unbeschichteten Probenseite konnte die Methode als Schnelltest bereits verwendet werden, wie die Ergebnisse des Praxistests aus Abschnitt 4.3.4 aufzeigen.

## **5.11 Zweiter Messaufbau zur Variation des Abstandes zwischen Elektrode und Prüfkörper**

Der Messaufbau wurde weiter optimiert. Die dazu entwickelte Messvorrichtung erlaubte eine stabilere Kontaktierung der ITO-Elektrode und eine Abstandskontrolle im Mikrometerbereich zwischen der ITO-Elektrode und der beschichteten Probe. Damit sollten störende Einflüsse weiter minimiert werden, um reproduzierbarere Messergebnisse zu erhalten. In den durchgeführten Messreihen an PVD-Proben mit einer  $\text{TiO}_2$ -Schichtdicke von  $150\ \mu\text{m}$  und einem fest eingestelltem Abstand zwischen ITO-Elektrode und Probe von  $30\ \mu\text{m}$  ergaben sich noch immer größere Messwert-Schwankungen zwischen 14% und 22% bezogen auf den Messwert.

Zur weiteren Untersuchung der Einflüsse auf die Messwerte wurde der Plattenabstand mit Hilfe von Spacern zusätzlich kontrolliert. Auch bei diesem modifizierten Aufbau zeigten sich Messwert-Schwankungen in vergleichbaren Größenordnungen zwischen 23% und 50%. Es wurde daraus geschlossen, dass andere Parameter die Messgenauigkeit beeinträchtigen müssen, die bisher nicht überprüft wurden.

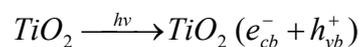
## **5.12 Spannungsmessung an $\text{TiO}_2$ -Schichten auf Edelstahlsubstraten**

Offenbar unterlagen die bisherigen Messungen weiteren Einflüssen, die durch den Einsatz der Messvorrichtung nicht optimiert werden konnten. In weiteren Untersuchungen wurde daraufhin versucht, die Einflüsse durch Diffusion im Elektrolyten und die Abstandsverhältnisse zwischen den photokatalytisch aktiven Zentren und der Elektrode zu optimieren. Dazu wurde ein neuer Versuchsaufbau entwickelt, bei dem der Abstand zwischen den Titandioxid-Partikeln und der Elektrode minimal sein sollte. Dazu wurden die  $\text{TiO}_2$ -Partikel direkt auf einer metallischen Elektrode aufgebracht. Zudem sollten die Einflüsse durch Diffusion im Elektrolyten minimiert werden. Dies wurde durch Verwendung eines Agarose-Gel-Elektrolyten anstelle des flüssigen Elektrolyten umgesetzt. Die Abstandsverhältnisse zwischen dem Ort der Entstehung der Hydroxylradikale am  $\text{TiO}_2$  und der Elektroden-Oberfläche sowie der Ausdehnung einer Helmholtz-Doppelschicht lagen je nach Aufbau mehrere Größenordnungen auseinander. Die Ausdehnung einer näherungsweise *Starren Helmholtz-Doppelschicht* beträgt in Lösung, also im Elektrolyten,  $0,1\text{-}10\ \text{nm}$  und somit in der Größenordnung einiger Atomradien (Hamann 2007). Der Abstand zwischen den Platten in der Messvorrichtung liegt mit einigen  $10\ \mu\text{m}$  um 3-5 Größenordnungen darüber. Folglich müssen die

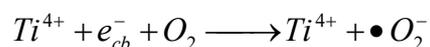
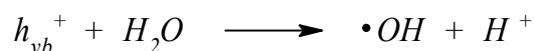
Ladungsträger zunächst einen relativ weiten Weg vom Ort Ihrer Entstehung bis zur Elektrode zurück legen, bevor eine messbare Spannung entsteht. Dies macht das System unter Umständen anfällig für Störungen, die durch Diffusion oder thermische Strömungen innerhalb des Elektrolyten auftreten können.

Die Messungen mit immobilisierten TiO<sub>2</sub>-Partikeln auf der Metallelektrode zeigten nun gut reproduzierbare Ergebnisse. Die Messwert-Schwankungen lagen in diesem Aufbau bei 5-13%. Offenbar konnten mit dem Aufbau wesentliche Einflüsse auf die Schwankungsbreite eliminiert werden. Es zeigte sich auch ein ansteigender linearer Zusammenhang zwischen der eingesetzten TiO<sub>2</sub>-Menge und der messbaren Maximalspannung. Bei den Versuchen an unterschiedlichen Titandioxid-Modifikationen konnte gezeigt werden, dass die Proben mit höheren Maximalspannungen diese schneller erreichen. Dies kann damit begründet werden, dass bei photokatalytisch aktiverem TiO<sub>2</sub> eine größere Zahl reaktiver Teilchen gebildet wird, die für einen raschen Spannungsanstieg bis zur Maximalspannung sorgen, wohingegen der Aufbau der Maximalspannung bei weniger photokatalytisch aktiven Proben durch die geringere Bildungsgeschwindigkeit der reaktiven Teilchen verlangsamt ist. Die Unterschiede in der Höhe der maximal erreichten Spannungen liegt möglicherweise darin begründet, dass gegenläufige Effekte zum Aufbau und Abbau der Helmholtz-Doppelschicht parallel ablaufen. Folgende hypothetischen Abläufe zeigen den möglichen Aufbau und Abbau der Helmholtz-Doppelschicht:

Zunächst werden unter UV-A-Einwirkung am TiO<sub>2</sub> Elektron-Loch-Paare gebildet.



Diese führen unter Anwesenheit von Wasser und Sauerstoff wie eingangs beschrieben zu Hydroxylradikalen und Superoxidanionen:



Die Hydroxylradikale konnten in Abständen von einigen 10 nm entfernt von Ihrem Entstehungsort nachgewiesen werden (Pelizzetti und Minero 1993; Turchi und Ollis 1990). Sie sind demnach in der Lage sich rasch vom Entstehungsort weg zu bewegen, was durch einen dem Grotthuss-Mechanismus ähnlichen Effekt erklärt wird, bei dem durch Abgabe eines Wasserstoffradikals vom jeweils benachbarten Wassermolekül ein neues Hydroxylradikal entsteht. Somit bewegt sich dieses de facto durch die Lösung (Agmon 1995). Treffen die Hydroxylradikale nun auf die Elektroden-Oberfläche, so können sie dieser oxidativ jeweils ein Elektron

entreißen, wodurch ein Hydroxidion gebildet wird und eine positive Ladung an der Elektrode verbleibt. Dies führt zum Aufbau der Helmholtz-Doppelschicht und somit einer messbaren Spannung zwischen den Elektroden des Messaufbaus.

Der Abbau der Helmholtz-Doppelschicht ist durch die Rückreaktion denkbar. In diesem Fall entzieht das positiv geladene Elektrodenmaterial benachbarten Anionen jeweils ein Elektron und wird somit wieder reduziert. Die Reaktion setzt sich fort, bis das durch Berger et al. beschriebene langlebige Superoxid-Anion sein überschüssiges Elektron wieder abgibt und somit die Rekombination abgeschlossen ist (Berger et al. 2005). Des Weiteren sind auch ladungsausgleichende Ionenbewegungen innerhalb des Elektrolyten denkbar, die zum Abbau der Helmholtz-Doppelschicht führen. Ein Ladungsausgleich innerhalb der Titandioxid-Schicht ist aufgrund des hohen Ohmschen Widerstands der Schichten eher unwahrscheinlich (Koenenkamp et al. 1993). Auch über das Messgerät ist ein Ladungsausgleich aufgrund der hochohmigen Messung mit einem Innenwiderstand von 10 G $\Omega$  zu vernachlässigen.

### **5.13 Fazit zur Messung photokatalytisch induzierter elektrischer Potentialdifferenzen**

In den vergleichenden Messungen zwischen der Maximalspannung und dem Mineralisierungsvermögen der jeweiligen Proben zeigte sich ein einheitliches Bild. So konnten bei den Proben mit den höchsten Maximalspannungen auch die höchsten Mineralisierungsvermögen festgestellt werden. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der photokatalytischen Aktivität und der messbaren Photospannung aufgezeigt werden. Dadurch wurden experimentelle Grundlagen geschaffen, auf deren Basis es möglich sein sollte, künftig ein technisches physikalisches Testinstrument zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität von TiO<sub>2</sub> durch Spannungsmessungen zu entwickeln.

Ein Ansatz zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität mittels der Messung von Oberflächenspannungen an Titandioxid-Pulvern wird auch von Verbruggen et. al beschrieben. Im Unterschied zu dem hier beschriebenen Aufbau werden bei Verbruggen Pulverproben in trockenem Zustand zwischen zwei ITO-Elektroden gebracht und von einer Seite beleuchtet. Da keine wässrige Elektrolytlösung verwendet wurden, konnten auch keine photokatalytischen Reaktionen unter Bildung von radikalen Sauerstoff-Verbindungen wie Hydroxylradikalen stattfinden. Aus diesem Grund lagen die gemessenen Oberflächenspannungen bei Verbruggen im Bereich von wenigen zehntel Mikrovolt. In den Ergebnissen wird auch ein proportionaler Zusammenhang zwischen der gemessenen Oberflächenspannung und der Methylenblau-Entfärbung festgestellt (Verbruggen et al. 2013). Ansonsten wurden bei der Literaturrecherche bisher keine weiteren Ergebnisse

aus diesem Bereich gefunden. Die Methodik ist nach wie vor als neuartig anzusehen und kann im Grenzbereich zwischen Solartechnologie, Chemie und auch der Mikrobiologie eingeordnet werden.

Nach wie vor wird in einem Großteil der nachfolgend genannten aktuelleren Arbeiten im Themenfeld der Photokatalyse der Abbau von Farbstoffen wie Methylenblau, Rhodamin B und Methylorange eingesetzt, um die Wirksamkeit der Proben zu ermitteln. Die Beobachtung der Entfärbung einer Farbstofflösung bringt die in Abschnitt 1.6.1 beschriebenen Nachteile mit sich. Die in dieser Arbeit entwickelte Methode der Spannungsmessung könnte einen wichtigen Beitrag zur schnellen, zuverlässigen und weniger aufwändigen Ermittlung der Wirksamkeit der neuen Materialien leisten. Folgende aktuelle Forschungs- und Anwendungsschwerpunkte sollen beispielhaft als besonders relevant erwähnt werden. In vielen dieser Bereiche könnte die hier entwickelte Methode eingesetzt werden.

### **Abbau von organischen Verunreinigungen in Wasser**

Viele Umweltschadstoffe sind in den natürlichen Gewässern und auch in Trinkwässern nachweisbar, da deren biologischer Abbau häufig nur langsam erfolgt (Bilal und Iqbal 2020; Huang et al. 2019). Photokatalysatoren auf Basis von Titandioxid können dazu beitragen die Belastung der Umwelt durch diese Substanzen zu vermindern (Huang et al. 2021; Zhang et al. 2020c). In diesem Zusammenhang wurde beispielsweise der Abbau von Pharmazeutika in Wasser untersucht, deren Gegenwart im Wasser zunehmend problematisch wird. Eine Möglichkeit zum Abbau besteht darin, das Wasser mittels Photokatalysatoren zu behandeln und dadurch die organischen Wirkstoffe zu mineralisieren (Kanakaraju et al. 2018). Es wurde gezeigt, dass eine Vielzahl an gängigen Wirkstoffen wie Antibiotika (Pereira et al. 2014), Psychopharmaka (Trawiński und Skibiński 2017) und auch Stoffe, die in erheblichen Mengen ins Wasser gelangen, wie zum Beispiel Paracetamol und Aspirin (Bianchi et al. 2016) durch Photokatalyse abgebaut werden können.

### **Abbau von flüchtigen organischen Substanzen aus der Gasphase**(da Costa Filho und Vilar 2020)

Die Vorteile des photokatalytischen Abbaus von Schadstoffen in der Gasphase liegen darin, dass die photokatalytische Aktivierung je nach Aufbau kostengünstig und frei verfügbar durch Sonnenlicht erfolgen kann. Im Gegensatz zu Verfahren bei denen eine Abtrennung der Substanzen über Adsorption erfolgt, kann der Photokatalysator ohne Regeneration und Austausch von Adsorbermaterial betrieben werden. (da Costa Filho und Vilar 2020). Eine Einschränkung der Photokatalyse liegt jedoch darin, dass die aktivierende UV-A-Strahlung den Photokatalysator erreichen muss. Hierzu müssen entsprechende Reaktoren entwickelt werden (Mamaghani et al. 2017; Shayegan et al. 2018).

Neben den Abbauprozessen spielen vermehrt auch Syntheseprozesse eine aufstrebende Rolle. Hier sollen der Vollständigkeit halber die folgenden Themen exemplarisch genannt werden:

### **Photokatalytische Reduktion von CO<sub>2</sub> zur Herstellung von Biokraftstoffen**

Durch geschickte Kombination von zwei photokatalytisch aktiven Halbleitern ist es möglich, die Reduktions- und Oxidationsreaktionen so zu trennen, dass einerseits CO<sub>2</sub> zu Methanol oder Methan reduziert wird, während H<sub>2</sub>O zu O<sub>2</sub> und H<sup>+</sup> oxidiert wird. TiO<sub>2</sub> dient dabei als Oxidationskatalysator zur O<sub>2</sub>-Produktion, während z.B. CdS (Kuai et al. 2015) oder Cu<sub>2</sub>O (Aguirre et al. 2017) als Reduktionskatalysatoren für CO<sub>2</sub> dienen (Zhang et al. 2020b).

### **Photokatalytische Wasserstoffproduktion durch Spaltung von Wasser**

Durch gezieltes Katalysator-Design soll die Ausbeute an Wasserstoff bei der Photokatalyse optimiert werden, um eine umweltfreundliche Wasserstoffproduktion zu ermöglichen (Chen et al. 2010; Damkale et al. 2021; He et al. 2020).

Zur Optimierung der grundlegenden photokatalytischen Oxidations- und Reduktionseigenschaften der Photokatalysatoren, werden einige Strategien verfolgt, das Titandioxid-Material anzupassen. Die Ziele dieser Optimierungen sind einerseits die Herabsetzung bzw. Verlangsamung der Rekombination der durch die Photonenabsorption entstehenden Elektron-Loch-Paare mit dem Resultat einer höheren Photonenausbeute und damit photokatalytischen Aktivität des Materials. Andererseits liegt ein Fokus auf der Verkleinerung der Bandlücke mit dem Ziel das Absorptionsvermögen des Materials in den sichtbaren Bereich des Lichtspektrums zu verschieben (Peiris et al. 2021; Trong-On Do 2020). Unter dem Oberbegriff des Materialdesign lassen sich folgende Strategien subsumieren:

### **Dotieren von TiO<sub>2</sub> mit Nichtmetallen und Metallen zur Verschiebung des Absorptionsspektrum in den sichtbaren Bereich**

Das dotierte Material kann beispielsweise in Anwendungen zum Abbau von organischen Schadstoffen in Wasser unter Einstrahlung von Sonnenlicht eingesetzt werden (Basavarajappa et al. 2020). Eine Methode besteht darin freie Sauerstoff-Stellen an der Oberfläche des Photokatalysators durch Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> zu erzeugen (Zhao et al. 2015a; Zhao et al. 2015b). Häufig werden auch N-dotierte Materialien beschrieben, bei denen der Stickstoff durch ein Kalzinieren im NH<sub>3</sub>-Strom oder durch Einwirkung von Ammoniumhydroxid eingeführt wird (Huang et al. 2021; Sun et al. 2016; Wang et al. 2009). Auch Harnstoff kann als Edukt zur N-Dotierung verwendet werden, um hochaktive TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel zu erhalten, die im sichtbaren Bereich des Spektrums aktiv sind (Marques et al. 2019; Wang et al. 2009).

Ein Dotieren von TiO<sub>2</sub> mit Metallen kann auch zur Verkleinerung der Bandlücke und damit zur Verschiebung des Absorptionsspektrums in den sichtbaren Bereich beitragen. Neue Materialien wie „black TiO<sub>2</sub>“ können unter Einbringen von Silber hergestellt werden. Diese Materialien zeigen eine achtmal höhere photokatalytische Wirksamkeit im Methylenblau-Abbau als das reine TiO<sub>2</sub>-Material unter UV-A-Beleuchtung und eine deutliche Wirksamkeit unter Anregung mit sichtbarem Licht (Coto et al. 2017). Die Nachteile des Einsatzes von Metallen gegenüber Nichtmetallen für die Dotierung sind die unter Umständen aufwändigere und kostenintensivere Synthese, die höhere Toxizität gerade von Schwermetallen und die mögliche Photokorrosion der Metalle während der photokatalytischen Vorgänge (Ansari et al. 2015; Feizpoor et al. 2019), (Basavarajappa et al. 2020).

Auch die Herstellung von Nanomaterialien wie Nano-Rods, Nano-Tubes und Nano-Wires, beispielsweise zur Vergrößerung der spezifischen Oberfläche oder zur gezielten Ausrichtung des Elektronenflusses innerhalb des Materials zur Optimierung der photokatalytischen Eigenschaften werden untersucht (Folger et al. 2017).

In folgenden zuvor genannten aktuelleren Arbeiten wurde der Abbau von Methylenblau (Alijani et al. 2017; Ansari et al. 2015; Basavarajappa et al. 2020; Coto et al. 2017; Feizpoor et al. 2019; Marques et al. 2019; Peiris et al. 2021; Trawiński und Skibiński 2017; Trong-On Do 2020; Yousaf et al. 2017; Zhang et al. 2020c) , Rhodamin B (Basavarajappa et al. 2020; Bergamonti et al. 2017; Feizpoor et al. 2019; Huang et al. 2021; Peiris et al. 2021; Trong-On Do 2020; Zhang et al. 2020c) oder Methylorange (Ansari et al. 2015; Bakar und Ribeiro 2016; Basavarajappa et al. 2020; Damkale et al. 2021; Feizpoor et al. 2019; Park et al. 2017; Peiris et al. 2021; Trong-On Do 2020) eingesetzt. (Bakar und Ribeiro 2016; Park et al. 2017)

Wie bereits erwähnt, könnte die in dieser Arbeit entwickelte Methode der Spannungsmessung einen wichtigen Beitrag zur objektivierbaren, schnellen und weniger aufwändigen Ermittlung der Wirksamkeit der neuen Materialien leisten.

## **6 Zusammenfassung**

Das Ziel dieser Dissertation war es medizinische Aspekte zur photokatalytischen Wirksamkeit von Titandioxid zu untersuchen, wie die bakterizide Wirksamkeit und die Inaktivierung von komplexen Biomolekülen wie das Endotoxin Lipopolysaccharid oder Ribonuklease A. Darüber hinaus sollten das in kosmetischen Sonnenschutz-Präparaten enthaltene Titandioxid auf seine photokatalytische Wirkung hin untersucht werden. Dazu mussten entsprechende Strategien und Nachweismethoden erarbeitet werden. Ein weiteres Ziel dieser Dissertation bestand darin, einen Weg zu untersuchen, ob die photokatalytische

Wirksamkeit von TiO<sub>2</sub> neben den vorhandenen biologischen und chemischen Methoden auch durch eine praktikable physikalische Methode messbar gemacht werden kann.

Der Halbleiter Titandioxid ist ein Photokatalysator, der durch ultraviolettes Licht aktiviert werden kann, wobei Elektron-Loch-Paare entstehen. In Anwesenheit von Wasser und Sauerstoff können sich daraus reaktive Intermediate wie Hydroxylradikale und Superoxid-Anionen bilden, die in der Lage sind, Redoxreaktionen an organischen und anorganischen Molekülen zu initiieren.

Anhand der Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die gram-negativen Testkeime *Escherichia coli* und die gram-positiven Testkeime *Sarcina lutea* in Suspension und auf trockenen Proben durch photokatalytisch aktivierte Titandioxid-Schichten abgetötet werden können. Proben mit einer höheren Titandioxid-Schichtdicke wiesen dabei eine höhere photokatalytisch induzierte Keimabtötung auf.

Unter Umständen können Zellwandfragmente der Bakterien als Endotoxine auf den Oberflächen zurück bleiben. Somit würde allein die Abtötung von Keimen zur Dekontamination einer Oberfläche nicht ausreichen. Dies führte zur Untersuchung der Inaktivierung komplexer Biomoleküle mit hochsensitiven immunologischen Nachweisverfahren, die im Rahmen dieser Dissertation erarbeitet und eingesetzt wurden. Es konnte gezeigt werden, dass Lipopolysaccharide und Ribonuklease A durch die Einwirkung von photokatalytisch aktiven Titandioxid-Schichten inaktiviert werden können. Anhand der Ergebnisse konnte berechnet werden, dass die Lipopolysaccharid-Menge, die theoretisch aus  $3 \times 10^4$  *Escherichia coli* Bakterien freigesetzt werden kann, innerhalb von 96 Stunden im Versuchsaufbau inaktiviert werden konnte. Bei der Inaktivierung von Ribonuklease A zeigte sich im Nachweisverfahren ein An/Aus-Effekt in Abhängigkeit von der eingesetzten Ribonuklease A Konzentration. Dies konnte damit erklärt werden, dass bei Vorhandensein selbst geringster Mengen nicht inaktivierter Ribonuklease A das Testergebnis aufgrund der hohen Sensitivität positiv ausfiel. Es konnte ermittelt werden, dass im Testaufbau  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  Ribonuklease A oder  $7 \text{ units mL}^{-1}$  inaktiviert werden konnten. Dies entspricht in etwa der in menschlichem Speichel enthaltenen Ribonuklease A Konzentrationen, so dass zumindest durchschnittliche Kontaminationen durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht auf den Titandioxid-beschichteten Oberflächen inaktiviert werden können.

Es wurden kommerziell erhältliche Sonnenschutz-Präparate mit Titandioxid als Inhaltsstoff untersucht. Dabei wurden per ICP-MS Analytik die Titandioxid-Konzentrationen in den Präparaten zwischen 1% und 5,6% nachgewiesen. Es konnten durch Röntgen-Pulver-Diffraktometrie die enthaltenen Titandioxid-Modifikationen ermittelt werden. Wobei in 8 Proben reines Anatas, in 11 Proben reines Rutil und in 13 Proben eine Anatas-Rutil-Mischung gefunden wurde. Die Titandioxid-Bestandteile wurden extrahiert und auf deren photokatalytische Wirksamkeit hin untersucht. Es zeigte sich, dass die Proben mit einer Rutil-

Anatas-Mischung die höchsten photokatalytischen Aktivitäten aufwiesen. Die Anatas-Fractionen wiesen etwas geringere Aktivitäten auf, während die reinen Rutil-Proben nur wenig photokatalytische Aktivität zeigten. Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus der Literatur. Mittlerweile gibt es eine Empfehlung der EU-Kommission, dass nur noch photokatalytisch inaktives Titandioxid für Kosmetika eingesetzt werden soll, um etwaige Zellschädigungen durch Photokatalyse zu minimieren.

Zur Fragestellung nach einer physikalischen Methode zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität wurde untersucht, ob die durch die initiierten Redoxreaktionen entstehenden elektrischen Potentialdifferenzen an den Oberflächen messbar sind. Es sollte auch untersucht werden, ob messbare Potentialdifferenzen Rückschlüsse auf die photokatalytische Wirksamkeit erlauben. In einem ersten Aufbau in Anlehnung an eine galvanische Zelle unter Verwendung von Platintiegeln, konnte zunächst die Hypothese zur Spannungsmessung bestätigt werden. Die messbaren Spannungen nahmen mit der eingestrahelten Lichtintensität entsprechend des *Entfernungsgesetzes* ab. Auch konnten mit steigenden Titandioxid-Konzentrationen höhere Spannungen gemessen werden, wobei der Anstieg einem asymptotischen Verlauf entsprach, was gemäß dem *Lambert-Beer'schen Gesetz* durch die optisch dichter werdende Suspension erklärt werden konnte. In weiteren Untersuchungen an Proben mit unterschiedlichen Titandioxid-Schichtdicken konnte gezeigt werden, dass die Spannung mit zunehmender Schichtdicke zunahm. Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse der Spannungsmessungen mit Werten aus Versuchen zur photokatalytischen Aktivität wie Entfärbung einer Methylenblau-Lösung und Keimabtötungsversuchen, zeigte einen qualitativen Zusammenhang. Daraufhin wurde die Spannungsmessung weiter optimiert. Durch den Einsatz eines transparenten Elektrodensystems auf Basis von Indium-Zinn-Oxid konnte der Aufbau kompaktiert werden, wodurch höhere messbare Spannungen erzielt werden konnten. Die Standardabweichungen der Messwerte lagen mit bis zu 50% relativ hoch, woraufhin weitere Optimierungsmöglichkeiten untersucht wurden. So wurde eine Messapparatur zur Einstellung des Abstands zwischen Elektroden und Titandioxid-Oberfläche entwickelt und erprobt. Auch damit konnten die Messwertschwankungen nicht wesentlich verbessert werden. In einem weiteren Aufbau, bei dem das Titandioxid direkt auf einem Edelstahlsubstrate fixiert wurde, um die Abstände zwischen dem Ort der Entstehung der Ladungsträger und der Elektrode zu minimieren, sowie durch Ersatz des flüssigen Elektrolyten durch einen Agarose-Gel-Elektrolyten, konnten gut reproduzierbare Messergebnisse mit Standardabweichungen von 5% - 13% erreicht werden.

Insgesamt konnte ein Zusammenhang zwischen der photokatalytischen Aktivität der Titandioxid-Proben und der messbaren Spannungen aufgezeigt werden. Damit wurden Grundlagen zur Entwicklung eines physikalischen Messinstruments zur Ermittlung der photokatalytischen Aktivität geschaffen.

## 7 Literaturverzeichnis

- Agmon, N. (1995). **The Grotthuss mechanism**. *Chemical physics letters* 244, 7 S.
- Aguirre, M. E., Zhou, R., Eugene, A. J., Guzman, M. I. und Grela, M. A. (2017). **Cu<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> heterostructures for CO<sub>2</sub> reduction through a direct Z-scheme: Protecting Cu<sub>2</sub>O from photocorrosion**. *Applied Catalysis B: Environmental* 217, 485-493, doi: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.05.058>.
- Akira, S. und Hemmi, H. (2003). **Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family**. *Immunol Lett* 85 (2), 85-95, doi: 10.1016/s0165-2478(02)00228-6.
- Alijani, M., Kaleji, B. K. und Rezaee, S. (2017). **Highly visible-light active with Co/Sn co-doping of TiO<sub>2</sub> nanoparticles for degradation of methylene blue**. *Journal of materials science. Materials in electronics* 28, 9 S.
- Ansari, S. A., Khan, M. M., Ansari, M. O. und Cho, M. H. (2015). **Silver nanoparticles and defect-induced visible light photocatalytic and photoelectrochemical performance of Ag@m-TiO<sub>2</sub> nanocomposite**. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 141, 162-170, doi: <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2015.05.029>.
- Asahi, R., Taga, Y., Mannstadt, W. und Freeman, A. J. (2000). **Electronic and optical properties of anatase TiO<sub>2</sub>**. *Physical Review B* 61 (11), 7459-7465.
- Augugliaro, V., Loddo, V., Lopez-Munoz, M. J., Marquez-Alvarez, C., Palmisano, G., Palmisano, L. und Yurdakal, S. (2009). **Home-prepared anatase, rutile, and brookite TiO<sub>2</sub> for selective photocatalytic oxidation of 4-methoxybenzyl alcohol in water: reactivity and ATR-FTIR study**. *Photochemical & Photobiological Sciences* 8 (5), 663-669, doi: 10.1039/b818353h.
- Augugliaro, V., Palmisano, L., Sclafani, A., Minero, C. und Pelizzetti, E. (1988). **Photocatalytic degradation of phenol in aqueous titanium-dioxide dispersions**. *Toxicological and Environmental Chemistry* 16 (2), 89-109.
- Augustynski, J. (1993). **The role of surface intermediates in the photoelectrochemical behavior of anatase and rutile TiO<sub>2</sub>**. *Electrochimica Acta* 38 (1), 43-46.

- Bakar, S. A. und Ribeiro, C. (2016). **A comparative run for visible-light-driven photocatalytic activity of anionic and cationic S-doped TiO<sub>2</sub> photocatalysts: A case study of possible sulfur doping through chemical protocol.** *Journal of molecular catalysis. A, Chemical* 421, 15 S.
- Bardòn, A. und Shugar, D. (1980). **Properties of purified salivary ribonuclease and salivary ribonuclease levels in children with cystic fibrosis and in heterozygous carriers** (Elsevier, Clinica Chimica Acta)17-24.
- Basavarajappa, P. S., Patil, S. B., Ganganagappa, N., Reddy, K. R., Raghu, A. V. und Reddy, C. V. (2020). **Recent progress in metal-doped TiO<sub>2</sub>, non-metal doped/codoped TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> nanostructured hybrids for enhanced photocatalysis.** *International Journal of Hydrogen Energy* 45 (13), 7764-7778, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.241>.
- Bennett, S. W., Zhou, D., Mielke, R. und Keller, A. A. (2012). **Photoinduced Disaggregation of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Enables Transdermal Penetration.** *PloS one* 7, 7 S.
- Bergamonti, L., Predieri, G., Paz, Y., Fornasini, L., Lottici, P. P. und Bondioli, F. (2017). **Enhanced self-cleaning properties of N-doped TiO<sub>2</sub> coating for Cultural Heritage.** *Microchemical Journal* 133, 1-12, doi: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.003>.
- Berger, T., Sterrer, M., Diwald, O., Knozinger, E., Panayotov, D., Thompson, T. L. und Yates, J. T. (2005). **Light-induced charge separation in anatase TiO<sub>2</sub> particles.** *Journal of Physical Chemistry B* 109 (13), 6061-6068.
- Beutler, B. (2002). **TLR4 as the mammalian endotoxin sensor.** In: *Toll-Like Receptor Family Members and Their Ligands*, S. 109-120.
- Bianchi, C. L., Sacchi, B., Pirola, C., Demartin, F., Cerrato, G., Morandi, S. und Capucci, V. (2016). **Aspirin and paracetamol removal using a commercial micro-sized TiO<sub>2</sub> catalyst in deionized and tap water.** *Environmental science and pollution research international* 24, 9 S.
- Bilal, M. und Iqbal, H. M. N. (2020). **Microbial bioremediation as a robust process to mitigate pollutants of environmental concern.** *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 2, 100011.

- Bocca, B., Caimi, S., Senofonte, O., Alimonti, A. und Petrucci, F. (2018). **ICP-MS based methods to characterize nanoparticles of TiO<sub>2</sub> and ZnO in sunscreens with focus on regulatory and safety issues.** *The Science of the total environment* *630*, 922-930.
- Bockenstedt, J., Vidwans, N. A., Gentry, T. und Vaddiraju, S. (2021). **Catalyst Recovery, Regeneration and Reuse during Large-Scale Disinfection of Water Using Photocatalysis.** *Water* *13* (19), doi: 10.3390/w13192623.
- Bono, N., Ponti, F., Punta, C. und Candiani, G. (2021). **Effect of UV Irradiation and TiO<sub>2</sub>-Photocatalysis on Airborne Bacteria and Viruses: An Overview.** *Materials* *14*, 1075.
- Bonyadi, Z., Mirzaee, M., Ejtehadi, M. M. und Mokhtari, M. (2017). **The bactericidal effect of simultaneous titanium oxide on common hospital bacteria.** *ENVIRONMENTAL MONITORING AND ASSESSMENT* *189* (7), doi: 10.1007/s10661-017-6049-5.
- Boughaled, R., Schlichting, S., Ehlers, H., Ristau, D., Bannat, I. und Wark, M. (2008). **Optimization and characterization of transparent photocatalytic TiO<sub>2</sub> thin films prepared by ion-assisted deposition.** Beitrag präsentiert (Glasgow, United Kingdom: SPIE).
- Chan, E. Y., Tong, K. H., Dubois, C., Mc Donnell, K., Kim, J. H., Hung, K. K. und Kwok, K. O. (2021). **Narrative Review of Primary Preventive Interventions against Water-Borne Diseases: Scientific Evidence of Health-EDRM in Contexts with Inadequate Safe Drinking Water.** *International Journal of Environmental Research and Public Health* *18* (23), doi: 10.3390/ijerph182312268.
- Chan, Y. und Lai, C.-H. (2003). **Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy.** *Lasers in Medical Science* *18*, 5 S.
- Chen, F., Ding, N., Sun, Y., Hu, X., Jiang, W., Lyu, Y. und Li, Y. (2021). **Antioxidant hollow structures to reduce the risk of sunscreen.** *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects* *628*, 9 S.
- Chen, X., Shen, S., Guo, L. und Mao, S. S. (2010). **Semiconductor-based Photocatalytic Hydrogen Generation.** *Chemical Reviews* *110* (11), 6503-6570, doi: 10.1021/cr1001645.

- Correa, M. G., Martinez, F. B., Vidal, C. P., Streitt, C., Escrig, J. und de Dicastillo, C. L. (2020). **Antimicrobial metal-based nanoparticles: a review on their synthesis, types and antimicrobial action.** BEILSTEIN JOURNAL OF NANOTECHNOLOGY *11*, 1450-1469, doi: 10.3762/bjnano.11.129.
- Coto, M., Divitini, G., Dey, A., Krishnamurthy, S., Ullah, N., Ducati, C. und Kumar, R. V. (2017). **Tuning the properties of a black TiO<sub>2</sub>-Ag visible light photocatalyst produced by a rapid one-pot chemical reduction.** Materials Today Chemistry *4*, 142-149, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2017.03.002>.
- D'Accolti, M., Soffritti, I., Bonfante, F., Ricciardi, W., Mazzacane, S. und Caselli, E. (2021). **Potential of an Eco-Sustainable Probiotic-Cleaning Formulation in Reducing Infectivity of Enveloped Viruses.** Viruses *13*, 15 S.
- da Costa Filho, B. M. und Vilar, V. J. P. (2020). **Strategies for the intensification of photocatalytic oxidation processes towards air streams decontamination: A review.** Chemical engineering journal (Lausanne, Switzerland : 1996) *391*, 123531.
- Damkale, S. R., Arbuj, S. S., Umarji, G. G., Rane, S. B. und Kale, B. B. (2021). **Highly crystalline anatase TiO<sub>2</sub> nanocuboids as an efficient photocatalyst for hydrogen generation.** RSC Advances *11 (13)*, 7587-7599, doi: 10.1039/D0RA10750F.
- Darschnik, S., Haas, C., Heuer, N., John, R. (2020). **Hilfestellung zur Anwendung der harmonisierten Titandioxideinstufung.** . doi: 10.21934/helpdeskkompakt:CLP20200724.
- de Buhr, S. (2005) **Untersuchungen zur Eignung von TiO<sub>2</sub> zur photokatalytischen Reinigung von Kraftfahrzeugabgasen.** Universität Hannover.
- de Maleprade, H., Keiser, A., Clanet, C. und Quéré, D. (2020). **Friction properties of superhydrophobic ridges.** Journal of Fluid Mechanics *890*, A19, doi: 10.1017/jfm.2020.120.
- Di Paola, A., Bellardita, M. und Palmisano, L. (2013). **Brookite, the Least Known TiO<sub>2</sub> Photocatalyst.** Catalysts *3 (1)*, doi: 10.3390/catal3010036.

- DIN-19643-1:2012-11 (2012). **Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser**. Beuth Verlag, doi: <https://dx.doi.org/10.31030/1916007>.
- DIN-52980:2020-11, E.-. (2020). **Photokatalytische Aktivität von Oberflächen - Bestimmung der photokatalytischen Aktivität von Oberflächen in wässrigem Medium durch Abbau von Methylenblau**. Beuth Verlag GmbH, doi: <https://dx.doi.org/10.31030/3205030>.
- Dörtbudak, O., Haas, R., Bernhart, T. und Mailath-Pokorny, G. (2001). **Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis : Lethal photosensitization in peri-implantitis**. *Clinical oral implants research* 12, 104-108.
- Dunford, R., Salinaro, A., Cai, L. Z., Serpone, N., Horikoshi, S., Hidaka, H. und Knowland, J. (1997). **Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients**. *Febs Letters* 418 (1-2), 87-90.
- DWDS (2021). **Digitales Wörterbuch der deutschen Sprache**. URL: <<https://www.dwds.de/d/wb-dwdsweb>> [Stand:22.09.2021].
- Eberle, F., Giessler, K., Deck, C., Heeg, K., Peter, M., Richert, C. und Dalpke, A. H. (2008). **Modifications in small interfering RNA that separate immunostimulation from RNA interference**. *Journal of Immunology* 180 (5), 3229-3237.
- Europäische-Union (2019). **Delegierte Verordnung (EU) 2020/217 der Kommission zur Anpassung der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008** (EU).
- Faheem Ahmed, Chawki Awada, Sajid, Ali A., Abdullah Aljaafari und Adil Alshoabi (2020). **Correction to 'Photocatalytic inactivation of Escherichia coli under UV light irradiation using large surface area anatase TiO<sub>2</sub> quantum dots'**. *Royal Society open science* 7, 192176-192176.
- Fallab, S. (1967). **Reaktionen mit molekularem Sauerstoff**. *Angewandte Chemie* 79, 12 S.
- Feizpoor, S., Habibi-Yangjeh, A., Yubuta, K. und Vadivel, S. (2019). **Fabrication of TiO<sub>2</sub>/CoMoO<sub>4</sub>/PANI nanocomposites with enhanced photocatalytic performances for removal of organic and inorganic pollutants under visible light**. *Materials Chemistry and Physics* 224, 10-21, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.11.076>.

- Folger, A., Ebbinghaus, P., Erbe, A. und Scheu, C. (2017). **Role of Vacancy Condensation in the Formation of Voids in Rutile TiO<sub>2</sub> Nanowires**. *ACS Applied Materials & Interfaces* 9 (15), 13471-13479, doi: 10.1021/acsami.7b01160.
- Freudenberg, M. A., Tchaptchet, S., Keck, S., Fejer, G., Huber, M., Schutze, N., Beutler, B. und Galanos, C. (2008). **Lipopolysaccharide sensing an important factor in the innate immune response to Gram-negative bacterial infections: Benefits and hazards of LPS hypersensitivity**. *Immunobiology* 213 (3-4), 193-203, doi: 10.1016/j.imbio.2007.11.008.
- Fujishima, A. und Honda, K. (1972). **Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode** (Nature)37-38.
- Gelover, S., Gómez, L. A., Reyes, K. und Teresa Leal, M. (2006). **A practical demonstration of water disinfection using TiO<sub>2</sub> films and sunlight**. *Water Research* 40 (17), 3274-3280, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.07.006>.
- Giannelli, M., Landini, G., Materassi, F., Chellini, F., Antonelli, A., Tani, A., Nosi, D., Zecchi-Orlandini, S., Rossolini, G. M. und Bani, D. (2017). **Effects of photodynamic laser and violet-blue led irradiation on Staphylococcus aureus biofilm and Escherichia coli lipopolysaccharide attached to moderately rough titanium surface: in vitro study**. *Lasers in medical science* 32, 857-864.
- Ginzburg, A. L., Blackburn, R. S., Santillan, C., Truong, L., Tanguay, R. L. und Hutchison, J. E. (2021). **Zinc oxide-induced changes to sunscreen ingredient efficacy and toxicity under UV irradiation**. *Photochemical & Photobiological Sciences* 20 (10), 1273-1285, doi: 10.1007/s43630-021-00101-2.
- Gontier, E., Ynsa, M. D., Biro, T., Hunyadi, J., Kiss, B., Gaspar, K., Pinheiro, T., Silva, J. N., Filipe, P., Stachura, J., Dabros, W., Reinert, T., Butz, T., Moretto, P. und Surleve-Bazeille, J. E. (2008). **Is there penetration of titania nanoparticles in sunscreens through skin? A comparative electron and ion microscopy study**. *Nanotoxicology* 2 (4), 218-231, doi: 10.1080/17435390802538508.
- Gorbet, M. B. und Sefton, M. V. (2005). **Endotoxin: The uninvited guest**. *Biomaterials* 26 (34), 6811-6817, doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.04.063.

- Hamal, D. B. und Klabunde, K. J. (2007). **Synthesis, characterization, and visible light activity of new nanoparticle photocatalysts based on silver, carbon, and sulfur-doped TiO<sub>2</sub>**. *Journal of Colloid and Interface Science* *311* (2), 514-522.
- Hamann, C. H. (2007). **Electrochemistry**, 2. Edition. Aufl., Wiley-VCH.
- Hamann, C. H., Hamnett, A. und Vielstich, W. (2007). **Electrochemistry**, 2., completely rev. and updated ed. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim [u.a.], XVIII, 531 S. S.
- Hassett, D. J., Korfhagen, T. R., Irvin, R. T., Schurr, M. J., Sauer, K., Lau, G. W., Sutton, M. D., Yu, H. und Hoiby, N. (2010). **Pseudomonas aeruginosa biofilm infections in cystic fibrosis: insights into pathogenic processes and treatment strategies**. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* *14* (2), 117-130, doi: 10.1517/14728220903454988.
- He, F., Meng, A., Cheng, B., Ho, W. und Yu, J. (2020). **Enhanced photocatalytic H<sub>2</sub>-production activity of WO<sub>3</sub>/TiO<sub>2</sub> step-scheme heterojunction by graphene modification**. *Chinese Journal of Catalysis* *41* (1), 9-20, doi: [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(19\)63382-6](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(19)63382-6).
- Heil, F., Hemmi, H., Hochrein, H., Ampenberger, F., Kirschning, C., Akira, S., Lipford, G., Wagner, H. und Bauer, S. (2004). **Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8**. *Science* *303* (5663), 1526-1529, doi: 10.1126/science.1093620.
- Hirota, M., Sugita, Y., Ishijima, M., Ikeda, T., Saruta, J., Maeda, H. und Ogawa, T. (2021). **UV photocatalytic activity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) surface contaminated with bacterial biofilm: Implications for photo-restoration of osteoconductivity**. *Materials Today Advances* *12*, 100182.
- Hoffmann, M. R., Martin, S. T., Choi, W. Y. und Bahnemann, D. W. (1995). **Environmental applications of semiconductor photocatalysis**. *Chemical Reviews* *95* (1), 69-96.
- Holze, R. (1998a). **Leitfaden der Elektrochemie**, Bd. 1, Vieweg+Teubner Verlag.
- Holze, R. (1998b). **Leitfaden der Elektrochemie**, 1. Auflage. Aufl., Teubner Studienbücher Chemie.

- Hornung, V., Guenther-Biller, M., Bourquin, C., Ablasser, A., Schlee, M., Uematsu, S., Noronha, A., Manoharan, M., Akira, S., de Fougères, A., Endres, S. und Hartmann, G. (2005). **Sequence-specific potent induction of IFN-alpha by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7**. *Nature Medicine* *11* (3), 263-270, doi: 10.1038/nm1191.
- Hou, L., Guan, Z., Liu, T., He, C., Li, Q. und Yang, J. (2019). **Synergistic effect of {101} crystal facet and bulk/surface oxygen vacancy ratio on the photocatalytic hydrogen production of TiO<sub>2</sub>**. *International journal of hydrogen energy* *44*, 12 S.
- Huang, J., Dou, L., Li, J., Zhong, J., Li, M. und Wang, T. (2021). **Excellent visible light responsive photocatalytic behavior of N-doped TiO<sub>2</sub> toward decontamination of organic pollutants**. *Journal of Hazardous Materials* *403*, 123857, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123857>.
- Huang, Y., Zhan, H., Bhatt, P. und Chen, S. (2019). **Paraquat Degradation From Contaminated Environments: Current Achievements and Perspectives**. *Frontiers in microbiology* *10*, 9 S.
- Humphreys, H. (2014). **Self-disinfecting and Microbiocide-Impregnated Surfaces and Fabrics: What Potential in Interrupting the Spread of Healthcare-Associated Infection?** *Clinical infectious diseases* *58*, 848-853.
- Hurum, D. C., Agrios, A. G., Crist, S. E., Gray, K. A., Rajh, T. und Thurnauer, M. C. (2006). **Probing reaction mechanisms in mixed phase TiO<sub>2</sub> by EPR**. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena* *150* (2-3), 155-163, doi: 10.1016/j.elspec.2005.01.294.
- Hurum, D. C., Agrios, A. G., Gray, K. A., Rajh, T. und Thurnauer, M. C. (2003). **Explaining the enhanced photocatalytic activity of Degussa P25 mixed-phase TiO<sub>2</sub> using EPR**. *Journal of Physical Chemistry B* *107* (19), 4545-4549.
- Ikram, M., Rashid, M., Haider, A., Naz, S., Haider, J., Raza, A., Ansar, M. T., Uddin, M. K., Ali, N. M., Ahmed, S. S., Imran, M., Dilpazir, S., Khan, Q. und Maqbool, M. (2021). **A review of photocatalytic characterization, and environmental cleaning, of metal oxide nanostructured materials**. *Sustainable Materials and Technologies* *30*, e00343, doi: <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00343>.

- Jernigan, J. A., Hatfield, K. M., Wolford, H., Nelson, R. E., Olubajo, B., Reddy, S. C., McCarthy, N., Paul, P., McDonald, L. C., Kallen, A., Fiore, A., Craig, M. und Baggs, J. (2020). **Multidrug-Resistant Bacterial Infections in US Hospitalized Patients, 2012-2017**. NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 382 (14), 1309-1319, doi: 10.1056/NEJMoa1914433.
- Jiang, Wong, F. L., Fung, M. K. und Lee, S. T. (2003). **Aluminum-doped zinc oxide films as transparent conductive electrode for organic light-emitting devices**. Applied physics letters 83, 3 S.
- John W. Anthony, R. A. B., Kenneth W. Bladh, and Monte C. Nichols (2001). **Handbook of Mineralogy**, Mineralogical Society of America, [www.handbookofmineralogy.org](http://www.handbookofmineralogy.org).
- Johnson, H. A., Williamson, R. S., Marquart, M., Bumgardner, J. D., Janorkar, A. V. und Roach, M. D. (2020). **Photocatalytic activity and antibacterial efficacy of UVA-treated titanium oxides**. Journal of biomaterials applications 35, 500-514.
- Kaisho, T. und Akira, S. (2003). **Regulation of dendritic cell function through toll-like receptors**. Current Molecular Medicine 3 (8), 759-771.
- Kanakaraju, D., Glass, B. D. und Oelgemöller, M. (2018). **Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review**. Journal of Environmental Management 219, 189-207, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.103>.
- Kashiwaya, S., Morasch, J., Streibel, V., Toupance, T., Jaegermann, W. und Klein, A. (2018). **The Work Function of TiO<sub>2</sub>**. Surfaces 1 (1), 73-89.
- Kavan, L., Gratzel, M., Gilbert, S. E., Klemenz, C. und Scheel, H. J. (1996). **Electrochemical and photoelectrochemical investigation of single-crystal anatase**. Journal of the American Chemical Society 118 (28), 6716-6723.
- Kebbi, Y., Muhammad, A. I., Sant'Ana, A. S., do Prado-Silva, L., Liu, D. und Ding, T. (2020). **Recent advances on the application of UV-LED technology for microbial inactivation: Progress and mechanism**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 19 (6), 3501-3527, doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12645>.

- Khaiboullina, S., Uppal, T., Dhabarde, N., Subramanian, V. und Verma, S. (2021). **Inactivation of Human Coronavirus (SARS-CoV-2) By Titania Nanoparticle Coatings and UVC Radiation**. Meeting abstracts (Electrochemical Society) *MA2021-01*, 2030-2030.
- Kleinschmidt, O. (2001) **Photokatalytische Oxidation von Alkenen und Alkanen mit Sauerstoff an belichtetem Titandioxid**. Universität Hannover.
- Kliemann, J. O., Gutzmann, H., Gärtner, F., Hübner, H., Borchers, C. und Klassen, T. (2011). **Formation of Cold-Sprayed Ceramic Titanium Dioxide Layers on Metal Surfaces**. *Journal of thermal spray technology* *20*, 292-298.
- Koenenkamp, R., Henninger, R. und Hoyer, P. (1993). **Photocarrier transport in colloidal titanium dioxide films**. *The Journal of Physical Chemistry* *97 (28)*, 7328-7330, doi: 10.1021/j100130a034.
- Kormann, C., Bahnemann, D. W. und Hoffmann, M. R. (1991). **Photolysis of chloroform and other organic-molecules in aqueous TiO<sub>2</sub> suspensions**. *Environmental Science & Technology* *25 (3)*, 494-500.
- Kramer, A., Schwebke, I. und Kampf, G. (2006). **How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review**. *BMC Infectious Diseases* *6 (1)*, 130, doi: 10.1186/1471-2334-6-130.
- Kuai, L., Zhou, Y., Tu, W., Li, P., Li, H., Xu, Q., Tang, L., Wang, X., Xiao, M. und Zou, Z. (2015). **Rational construction of a CdS/reduced graphene oxide/TiO<sub>2</sub> core-shell nanostructure as an all-solid-state Z-scheme system for CO<sub>2</sub> photoreduction into solar fuels**. *RSC Advances* *5 (107)*, 88409-88413, doi: 10.1039/C5RA14374H.
- Kuhn, K. P., Chaberny, I. F., Massholder, K., Stickler, M., Benz, V. W., Sonntag, H. G. und Erdinger, L. (2003). **Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light**. *Chemosphere* *53 (1)*, 71-77.
- Kujundzic, E., Matalkah, F., Howard, C. J., Hernandez, M. und Miller, S. L. (2006). **UV Air Cleaners and Upper-Room Air Ultraviolet Germicidal Irradiation for Controlling Airborne Bacteria and Fungal Spores**. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* *3 (10)*, 536-546, doi: 10.1080/15459620600909799.

- Kunitz, M. (1946). **A spectrophotometric method for the measurement of ribonuclease activity** (Journal of Biological Chemistry)563-568.
- Kurz, J., Eberle, F., Graumann, T., Kaschel, M.-E., Sähr, A., Neumann, F., Dalpke, A. H. und Erdinger, L. (2011). **Inactivation of LPS and RNase A on photocatalytically active surfaces**. Chemosphere (Oxford) 84, 1188-1193.
- Lademann, J., Weigmann, H. J., Rickmeyer, C., Barthelmes, H., Schaefer, H., Mueller, G. und Sterry, W. (1999). **Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice**. Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology 12 (5), 247-256.
- Lee, S. K. und Mills, A. (2003). **Novel photochemistry of leuco-Methylene Blue**. CHEMICAL COMMUNICATIONS (18), 2366-2367, doi: 10.1039/b307228b.
- Lee, S. K., Mills, A. und Wells, N. (2018). **Assessing photocatalytic activity using methylene blue without dye sensitisation**. CATALYSIS TODAY 313, 211-217, doi: 10.1016/j.cattod.2017.11.011.
- Lee, S. W., Ahn, H. R., Kim, K. S. und Kim, Y. K. (2021). **Applicability of TiO<sub>2</sub> Penetration Method to Reduce Particulate Matter Precursor for Hardened Concrete Road Structures**. Sustainability 13 (6), doi: 10.3390/su13063433.
- Leyland, N. S., Podporska-Carroll, J., Browne, J., Hinder, S. J., Quilty, B. und Pillai, S. C. (2016). **Highly Efficient F, Cu doped TiO<sub>2</sub> anti-bacterial visible light active photocatalytic coatings to combat hospital-acquired infections**. SCIENTIFIC REPORTS 6, doi: 10.1038/srep24770.
- Li, C., Sun, Z., Song, A., Dong, X., Zheng, S. und Dionysiou, D. D. (2018). **Flowing nitrogen atmosphere induced rich oxygen vacancies overspread the surface of TiO<sub>2</sub>/kaolinite composite for enhanced photocatalytic activity within broad radiation spectrum**. Applied catalysis. B, Environmental 236, 12 S.
- Li, S., Wang, Y., Li, T., Ma, P., Zhang, X., Xia, B., Chen, M., Du, M. und Dong, W. (2021). **Skin bioinspired anti-ultraviolet melanin/TiO<sub>2</sub> nanoparticles without penetration for efficient broad-spectrum sunscreen**. Colloid and polymer science 299, 9 S.

- Linsebigler, A., Lu, G. Q. und Yates, J. T. (1996). **CO photooxidation on TiO<sub>2</sub>(110)**. *Journal of Physical Chemistry* *100* (16), 6631-6636.
- Linsebigler, A. L., Lu, G. Q. und Yates, J. T. (1995). **Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> surfaces - principles, mechanisms and selected results**. *Chemical Reviews* *95* (3), 735-758.
- Lyczak, J. B., Cannon, C. L. und Pier, G. B. (2000). **Establishment of Pseudomonas aeruginosa infection: lessons from a versatile opportunist**. *Microbes Infect* *2* (9), 1051-1060, doi: 10.1016/s1286-4579(00)01259-4.
- Magalhaes, P., Andrade, L., Nunes, O. C. und Mendes, A. (2017). **TITANIUM DIOXIDE PHOTOCATALYSIS: FUNDAMENTALS AND APPLICATION ON PHOTOINACTIVATION**. *REVIEWS ON ADVANCED MATERIALS SCIENCE* *51* (2), 91-129.
- Mamaghani, A. H., Haghghat, F. und Lee, C.-S. (2017). **Photocatalytic oxidation technology for indoor environment air purification: The state-of-the-art**. *Applied Catalysis B: Environmental* *203*, 247-269, doi: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.10.037>.
- Marino, G., Pucci, P. und Ruoppolo, M. (2001). **Assaying in vitro refolding of RNases by mass spectrometry** (*Methods in Molecular Biology*)27-36.
- Marques, J., Gomes, T. D., Forte, M. A., Silva, R. F. und Tavares, C. J. (2019). **A new route for the synthesis of highly-active N-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles for visible light photocatalysis using urea as nitrogen precursor**. *Catalysis Today* *326*, 36-45, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.09.002>.
- Mathews, M. M. und Siström, W. R. (1960). **The function of the carotenoid pigments of Sarcina lutea**. *Arch Mikrobiol* *35*, 139-146, doi: 10.1007/bf00425002.
- Matsuura, R., Lo, C.-W., Wada, S., Somei, J., Ochiai, H., Murakami, T., Saito, N., Ogawa, T., Shinjo, A., Benno, Y., Nakagawa, M., Takei, M. und Aida, Y. (2021). **SARS-CoV-2 Disinfection of Air and Surface Contamination by TiO<sub>2</sub> Photocatalyst-Mediated Damage to Viral Morphology, RNA, and Protein**. *Viruses* *13* (5), 942.
- Mechelke, G. (1985). **Einführung in die Analog- und Digitaltechnik**, 1. Auflage. Aufl., Verlag H. Stam GmbH.

- Meinhardt, M., Krebs, R., Anders, A., Heinrich, U. und Tronnier, H. (2008). **Wavelength-dependent penetration depths of ultraviolet radiation in human skin**. *Journal of Biomedical Optics* *13* (4), 5, doi: 044030 10.1117/1.2957970.
- Melquiades, F. L., Ferreira, D. D., Appoloni, C. R., Lopes, F., Lonni, A. G., Oliveira, F. M. und Duarte, J. C. (2008). **Titanium dioxide determination in sunscreen by energy dispersive X-ray fluorescence methodology**. *Analytica Chimica Acta* *613* (2), 135-143, doi: 10.1016/j.aca.2008.02.058.
- Mendive, C. B., Hansmann, D., Bredow, T. und Bahnemann, D. (2011). **New Insights into the Mechanism of TiO<sub>2</sub> Photocatalysis: Thermal Processes beyond the Electron–Hole Creation**. *Journal of physical chemistry. C* *115*, 10 S.
- Menzel, F., Reinert, T., Vogt, J. und Butz, T. (2004). **Investigations of percutaneous uptake of ultrafine TiO<sub>2</sub> particles at the high energy ion nanoprobe LIPSION**. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B-Beam Interactions with Materials and Atoms* *219*, 82-86, doi: 10.1016/j.nimb.2004.01.032.
- Mills, A. (2012). **An overview of the methylene blue ISO test for assessing the activities of photocatalytic films**. *APPLIED CATALYSIS B-ENVIRONMENTAL* *128*, 144-149, doi: 10.1016/j.apcatb.2012.01.019.
- Morsella, M., d'Alessandro, N., Lanterna, A. E. und Scaiano, J. C. (2016). **Improving the Sunscreen Properties of TiO<sub>2</sub> through an Understanding of Its Catalytic Properties**. *ACS omega* *1*, 464-469.
- Mosmann, T. (1983). **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays**. *J Immunol Methods* *65* (1-2), 55-63, doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Moulis, F. und Krýsa, J. (2015). **Photocatalytic degradation of acetone and methanol in a flow-through photoreactor with immobilized TiO<sub>2</sub>**. *Research on chemical intermediates* *41*, 9233-9242.
- Nosaka, Y. und Nosaka, A. Y. (2017). **Generation and Detection of Reactive Oxygen Species in Photocatalysis**. *Chemical Reviews* *117* (17), 11302-11336, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00161.
- Nthwane, Y. B., Tancu, Y., Maity, A. und Thwala, M. (2019). **Characterisation of titanium oxide nanomaterials in sunscreens obtained by extraction and release exposure scenarios**. *SN Applied Sciences* *1*.

- Odling, G. und Robertson, N. (2015). **Why is Anatase a Better Photocatalyst than Rutile? The Importance of Free Hydroxyl Radicals.** ChemSusChem 8 (11), 1838-1840, doi: <https://doi.org/10.1002/cssc.201500298>.
- Ollis, D. F., Pelizzetti, E. und Serpone, N. (1991). **Photocatalyzed destruction of water contaminants.** Environmental Science & Technology 25 (9), 1522-1529.
- Oregan, B. und Gratzel, M. (1991). **A low-cost, high-efficiency solar-cell based on dye-sensitized colloidal TiO<sub>2</sub> films.** Nature 353 (6346), 737-740.
- Page, K., Wilson, M. und Parkin, I. P. (2009). **Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections.** JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY 19 (23), 3819-3831, doi: 10.1039/b818698g.
- Panel on Food Additives EFSA, Flavourings, Younes, M., Aquilina, G. und Castle, e. a. (2021). **Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive.** EFSA Journal 19 (5), e06585, doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6585>.
- Park, J. T., Kim, D. J., Kim, D. H. und Kim, J. H. (2017). **A facile graft polymerization approach to N-doped TiO<sub>2</sub> heterostructures with enhanced visible-light photocatalytic activity.** Materials Letters 202, 66-69, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.05.070>.
- Parra-Ortiz, E. und Malmsten, M. (2022). **Photocatalytic nanoparticles – From membrane interactions to antimicrobial and antiviral effects.** Advances in colloid and interface science 299, 102526-102526.
- Peiffer, S., Klemm, O., Pecher, K. und Hollerung, R. (1992). **Redox measurements in aqueous solutions — A theoretical approach to data interpretation, based on electrode kinetics.** Journal of contaminant hydrology 10, 1-18.
- Peiris, S., Silva, H. B., Ranasinghe, K. N., Bandara, S. V. und Perera, I. R. (2021). **Recent development and future prospects of TiO<sub>2</sub> photocatalysis.** Journal of the Chinese Chemical Society (Taipei) 68, 32 S.
- Pelizzetti, E. und Minero, C. (1993). **Mechanism of the photo-oxidative degradation of organic pollutants over TiO<sub>2</sub> particles.** Electrochimica acta 38, 47-55.

- Pereira, J. H. O. S., Reis, A. C., Nunes, O. C., Borges, M. T., Vilar, V. J. P. und Boaventura, R. A. R. (2014). **Assessment of solar driven TiO<sub>2</sub>-assisted photocatalysis efficiency on amoxicillin degradation.** *Environmental Science and Pollution Research* 21 (2), 1292-1303, doi: 10.1007/s11356-013-2014-1.
- Prakash, J., Cho, J. und Mishra, Y. K. (2022). **Photocatalytic TiO<sub>2</sub> nanomaterials as potential antimicrobial and antiviral agents: Scope against blocking the SARS-COV-2 spread.** *Micro and Nano Engineering* 14, 100100.
- Qamar, M. und Muneer, M. (2009). **A comparative photocatalytic activity of titanium dioxide and zinc oxide by investigating the degradation of vanillin.** *Desalination* 249 (2), 535-540, doi: 10.1016/j.desal.2009.01.022.
- Riedel, E. (2007). **Moderne Anorganische Chemie**, de Gruyter Verlag.
- Riegel, G. und Bolton, J. R. (1995). **Photocatalytic efficiency variability in TiO<sub>2</sub> particles.** *Journal of Physical Chemistry* 99 (12), 4215-4224.
- Rochkind, M., Pasternak, S. und Paz, Y. (2015). **Using Dyes for Evaluating Photocatalytic Properties: A Critical Review.** *Molecules* 20 (1), doi: 10.3390/molecules20010088.
- Rosenthal, D. (2007). **Wachstum und Struktur von Titandioxid auf den Übergangsmetalloberflächen.**
- Rudoy, R. C. und Nelson, J. P. (1974). **Enteroinvasive and enterotoxigenic e. coli in diarrheal disease.** *Pediatric research* 8, 428-428.
- Sanito, R. C., Yeh, T.-H., You, S.-J. und Wang, Y.-F. (2021). **Novel TiO<sub>2</sub>/PANI composites as a disinfectant for the elimination of Escherichia coli and Staphylococcus aureus in aquaculture water.** *Environmental technology & innovation* 22, 101502.
- Senzui, M., Tamura, T., Miura, K., Ikarashi, Y., Watanabe, Y. und Fujii, M. (2010). **Study on penetration of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles into intact and damaged skin in vitro.** *The Journal of Toxicological Sciences* 35 (1), 107-113, doi: 10.2131/jts.35.107.

- Serpone, N., Dondi, D. und Albini, A. (2007). **Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and sun care product.** *Inorganica Chimica Acta* 360 (3), 794-802, doi: 10.1016/j.ica.2005.12.057.
- Setlow, R. B., Grist, E., Thompson, K. und Woodhead, A. D. (1993). **Wavelengths effective in induction of malignant melanoma.** *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90 (14), 6666, doi: 10.1073/pnas.90.14.6666.
- Shayegan, Z., Lee, C.-S. und Haghghat, F. (2018). **TiO<sub>2</sub> photocatalyst for removal of volatile organic compounds in gas phase – A review.** *Chemical Engineering Journal* 334, 2408-2439, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.09.153>.
- Shibata, T., Irie, H. und Hashimoto, K. (2003). **Enhancement of Photoinduced Highly Hydrophilic Conversion on TiO<sub>2</sub> Thin Films by Introducing Tensile Stress.** *The Journal of Physical Chemistry B* 107 (39), 10696-10698, doi: 10.1021/jp0357830.
- Shibata, T., Irie, H., Ohmori, M., Nakajima, A., Watanabe, T. und Hashimoto, K. (2004). **Comparison of photochemical properties of brookite and anatase TiO<sub>2</sub> films.** *Physical Chemistry Chemical Physics* 6 (6), 1359-1362.
- Slomberg, D. L., Catalano, R., Bartolomei, V. und Labille, J. (2021). **Release and fate of nanoparticulate TiO<sub>2</sub> UV filters from sunscreen: Effects of particle coating and formulation type.** *Environmental pollution* (1987) 271, 116263.
- Summaries, M. C. (2021). **Mineral commodity summaries 2021.** In *Mineral Commodity Summaries* (Reston, VA), doi: 10.3133/mcs2021, S. 200.
- Sun, S., Gao, P., Yang, Y., Yang, P., Chen, Y. und Wang, Y. (2016). **N-Doped TiO<sub>2</sub> Nanobelts with Coexposed (001) and (101) Facets and Their Highly Efficient Visible-Light-Driven Photocatalytic Hydrogen Production.** *ACS Applied Materials & Interfaces* 8 (28), 18126-18131, doi: 10.1021/acsami.6b05244.
- Sunada, K., Kikuchi, Y., Hashimoto, K. und Fujishima, A. (1998). **Bactericidal and Detoxification Effects of TiO<sub>2</sub> Thin Film Photocatalysts.** *Environmental science & technology* 32, 726-728.

- Sunada, K., Watanabe, T. und Hashimoto, K. (2003a). **Studies on photokilling of bacteria on TiO<sub>2</sub> thin film.** *Journal of photochemistry and photobiology. A, Chemistry.* *156*, 227-233.
- Sunada, K., Watanabe, T. und Hashimoto, K. (2003b). **Studies on photokilling of bacteria on TiO<sub>2</sub> thin film.** *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* *156* (1), 227-233, doi: [https://doi.org/10.1016/S1010-6030\(02\)00434-3](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(02)00434-3).
- Survey, U. S. G. (2021). **Mineral commodity summaries 2021.** In *Mineral Commodity Summaries* (Reston, VA), doi: 10.3133/mcs2021, S. 200.
- Talebian, S., Wallace, G. G., Schroeder, A., Stellacci, F. und Conde, J. (2020). **Nanotechnology-based disinfectants and sensors for SARS-CoV-2.** *Nature nanotechnology* *15*, 618-621.
- Tang, H., Berger, H., Schmid, P. E. und Levy, F. (1994). **Optical-properties of anatase (TiO<sub>2</sub>).** *Solid State Communications* *92* (3), 267-271.
- Tena, D. und Fernández, C. (2015). **Pseudomonas oryzihabitans: an unusual cause of skin and soft tissue infection.** *Infect Dis (Lond)* *47* (11), 820-824, doi: 10.3109/23744235.2015.1034170.
- Tomić, N., Grujić-Brojčin, M., Finčur, N., Abramović, B., Simović, B., Krstić, J., Matović, B. und Šćepanović, M. (2015). **Photocatalytic degradation of alprazolam in water suspension of brookite type TiO<sub>2</sub> nanopowders prepared using hydrothermal route.** *Materials Chemistry and Physics* *163*, 518-528, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.08.008>.
- Trawiński, J. und Skibiński, R. (2017). **Studies on photodegradation process of psychotropic drugs: a review.** *Environmental Science and Pollution Research* *24* (2), 1152-1199, doi: 10.1007/s11356-016-7727-5.
- Trong-On Do, S. M. (2020). **Emerging Trends in TiO<sub>2</sub> Photocatalysis and Applications**, MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute, Basel, Switzerland, 1 Online-Ressource (596 p.) S.
- Turchi, C. S. und Ollis, D. F. (1990). **Photocatalytic degradation of organic water contaminants: Mechanisms involving hydroxyl radical attack.** *Journal of Catalysis* *122* (1), 178-192, doi: [https://doi.org/10.1016/0021-9517\(90\)90269-P](https://doi.org/10.1016/0021-9517(90)90269-P).

- Verbruggen, S. W., Dirckx, J. J. J., Martens, J. A. und Lenaerts, S. (2013). **Surface photovoltage measurements: A quick assessment of the photocatalytic activity?** *Catalysis Today* 209, 215-220, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2012.11.010>.
- Vergoehl, M., Werner, O. und Bruns, S. (2008). **New developments in magnetron sputter processes for precision optics.** Beitrag präsentiert (Glasgow, United Kingdom: SPIE).
- Vergöhl, M., Althues, H., Frach, P., Glöß, D., Graumann, T., Hübner, C., Neumann, F., Neubert, T., Schottner, G. und Song, D.-K. (2011). **Photocatalytic TiO<sub>2</sub> films deposited by different methods : Characterization of activity and optical properties in a round robin experiment.** *Vakuum in Forschung und Praxis : Zeitschrift für Vakuumtechnologie, Oberflächen und Dünne Schichten* 23, 17-21.
- Vian, R., Salehi, H., Lapiere, M., Cuisinier, F., Cavailles, V. und Balme, S. (2021). **Adsorption of proteins on TiO<sub>2</sub> particles influences their aggregation and cell penetration.** *Food chemistry* 360, 130003-130003.
- Volkman, P. und Vorndran, E. P. (1999). **Elektrisches Feld und Kondensator**, Bd. 2. Band, VDE-Verlag.
- Wachter, J. (1989). **N. N. Greenwood und A. Earnshaw: Chemie der Elemente. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1988. 1707 Seiten, geb., Preis: DM 120,-.** *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* 93 (2), 227-228, doi: <https://doi.org/10.1002/bbpc.19890930229>.
- Wang, J., Tafen, D. N., Lewis, J. P., Hong, Z., Manivannan, A., Zhi, M., Li, M. und Wu, N. (2009). **Origin of Photocatalytic Activity of Nitrogen-Doped TiO<sub>2</sub> Nanobelts.** *Journal of the American Chemical Society* 131 (34), 12290-12297, doi: 10.1021/ja903781h.
- Werner, O., Neumann, F., Neubert, T. und Vergöhl, M. (2009). **Optisch dünne Schichten mit kontrollierten Eigenschaften durch plasmaunterstütztes Magnetronspütern** (Wiley, *Vakuum in Forschung und Praxis*)10-16.
- Wolfrum, E. J., Huang, J., Blake, D. M., Maness, P. C., Huang, Z., Fiest, J. und Jacoby, W. A. (2002). **Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces.** *Environmental Science & Technology* 36 (15), 3412-3419.

- Wu, H., Xie, L., He, M., Zhang, R., Tian, Y., Liu, S., Gong, T., Huo, F., Yang, T., Zhang, Q., Guo, S. und Tian, W. (2019). **A wear-resistant TiO<sub>2</sub> nanoceramic coating on titanium implants for visible-light photocatalytic removal of organic residues.** *Acta biomaterialia* 97, 11 S.
- Wu, J. H., Liu, W., Xue, C. B., Zhou, S. C., Lan, F. L., Bi, L., Xu, H. B., Yang, X. L. und Zeng, F. D. (2009). **Toxicity and penetration of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure.** *Toxicology Letters* 191 (1), 1-8, doi: 10.1016/j.toxlet.2009.05.020.
- Xin, X., Xu, T., Wang, L. und Wang, C. (2016). **Ti<sup>3+</sup>-self doped brookite TiO<sub>2</sub> single-crystalline nanosheets with high solar absorption and excellent photocatalytic CO<sub>2</sub> reduction.** *Scientific Reports* 6 (1), 23684, doi: 10.1038/srep23684.
- Yan, X. L., Ohno, T., Nishijima, K., Abe, R. und Ohtani, B. (2006). **Is methylene blue an appropriate substrate for a photocatalytic activity test? A study with visible-light responsive titania.** *Chemical Physics Letters* 429 (4-6), 606-610, doi: 10.1016/j.cplett.2006.08.081.
- Yousaf, M., Rafique, H. M., Amin, M., Ramay, S. M., Atiq, S., Alzayed, N. S. und Siddiqi, S. A. (2017). **VISIBLE-LIGHT-INDUCED Fe-DOPED ZnO MAGNETIC PHOTOCATALYST NANOPARTICLES FOR DEGRADATION OF METHYLENE BLUE.** *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 12, 8 S.
- Yu, J. G., Zhao, X. J., Du, J. C. und Chen, W. M. (2000). **Preparation, microstructure and photocatalytic activity of the porous TiO<sub>2</sub> anatase coating by sol-gel processing.** *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 17 (2), 163-171.
- Zanatta, A. R. (2017). **A fast-reliable methodology to estimate the concentration of rutile or anatase phases of TiO<sub>2</sub>.** *AIP advances* 7, 7 S.
- Zhang, G., Li, W., Chen, S., Zhou, W. und Chen, J. (2020a). **Problems of conventional disinfection and new sterilization methods for antibiotic resistance control.** *Chemosphere* 254, 126831, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126831>.
- Zhang, W., Mohamed, A. R. und Ong, W.-J. (2020b). **Z-Scheme Photocatalytic Systems for Carbon Dioxide Reduction: Where Are We Now?** *Angewandte Chemie International Edition* 59 (51), 22894-22915, doi: <https://doi.org/10.1002/anie.201914925>.

Zhang, X., Wang, J., Dong, X.-X. und Lv, Y.-K. (2020c). **Functionalized metal-organic frameworks for photocatalytic degradation of organic pollutants in environment**. Chemosphere 242, 125144, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125144>.

Zhao, Z., Zhang, X., Zhang, G., Liu, Z., Qu, D., Miao, X., Feng, P. und Sun, Z. (2015a). **Effect of defects on photocatalytic activity of rutile TiO<sub>2</sub> nanorods**. Nano research 8, 11 S.

Zhao, Z., Zhang, X., Zhang, G., Liu, Z., Qu, D., Miao, X., Feng, P. und Sun, Z. (2015b). **Effect of defects on photocatalytic activity of rutile TiO<sub>2</sub> nanorods**. Nano Research 8 (12), 4061-4071, doi: [10.1007/s12274-015-0917-5](https://doi.org/10.1007/s12274-015-0917-5).

## 8 Eigenanteil an Datenerhebung und Auswertung und eigene Veröffentlichungen

Diese Arbeit wurde zum Teil im Rahmen des BMBF-Verbundvorhabens „Photokat - Photokatalytische Oberflächenveredlungen für Medizin, Fertigungstechnik und Konsumgüter“ (Förderkennzeichen 01RI0637) im Teilprojekt der Universität Heidelberg durchgeführt. Die beschriebenen Arbeiten wurden von mir durchgeführt, ausgewertet und beschrieben. Nachstehende Arbeiten wurden von Partnern durchgeführt.

Für die Versuche wurden transparente Dünnschicht-Beschichtungen mit  $\text{TiO}_2$  auf Glassubstraten vom Fraunhofer Institut für Schicht- und Oberflächentechnik in Braunschweig (IST) hergestellt und zur Verfügung gestellt. Die in Abschnitt 2.6 beschriebenen Proben wurden am Institut für Werkstofftechnik der Helmut-Schmidt-Universität Hamburg von Jan-Oliver Kliemann hergestellt und charakterisiert. Zur in Abschnitt 2.11 beschriebenen Phasenanalyse der extrahierten Titandioxid-Pulver wurden Röntgen-Diffraktogramme mit einem Bruker AXS D4 Endeavor Diffraktometer am Institut für Mineralogie der Universität Hannover von Redouan Boughaled aufgenommen und ausgewertet. Die in Abschnitt 3.6.8 beschriebene Entfärbung einer Methylenblau-Lösung wurde in dieser Ausführungsform von Redouan Boughaled am Laserzentrum Hannover (LZH) entwickelt und auf einen Probensatz angewendet. Die Messdaten daraus wurden für die vorliegende Untersuchung zur Verfügung gestellt.

**Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in folgendem Aufsatz vorab publiziert:**

Kurz, J., Eberle, F., Graumann, T., Kaschel, M.-E., Sähr, A., Neumann, F., Dalpke, A. H., Erdinger, L. (2011). **Inactivation of LPS and RNase A on photocatalytically active surfaces.** *Chemosphere (Oxford)* 84, 1188-1193.

Die Publikation basiert auf den Ergebnissen aus den Dissertationskapiteln 3.3 , 3.4 und 3.5 . Es wurden auch die Aspekte aus den Diskussionskapiteln 5.4 , 5.5 , 5.6 und 5.7 darin inhaltlich abgebildet. Mein Eigenanteil an der Publikation erstreckt sich auf die Durchführung der photokatalytischen Versuche und der Auswertung der Ergebnisse sowie das Erstellen der Abbildungen (außer Fig. 2 und Fig. 3). Das Verfassen des Manuskripts erfolgte in Zusammenarbeit mit Florian Eberle und Tobias Graumann.

**Während der Forschungsarbeiten zu dieser Dissertation wurde folgende Patentanmeldung eingereicht:**

Lothar Erdinger, Jochen Kurz, **Verfahren und Vorrichtung zur Messung der photokatalytischen Aktivität einer Probe, 2011**, Patent (IPC-Hauptklasse G01N 21/75 (2006.01) A, F, I, 20090710, B, H, DE)

**Weitere Veröffentlichungen:**

05/2008 Vortrag: **Ein neuartiges Verfahren zur Desinfektion von Oberflächen, Photokatalytische Aktivität von TiO<sub>2</sub>**, 31. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Hygiene, Mikrobiologie und Präventivmedizin, Bad Ischl, Österreich

10/2008 Vortrag: **TiO<sub>2</sub> verstärkt die „Solare Desinfektion“ und ermöglicht den Abbau von organischen Verbindungen in Wasser**, 2. Jahrestagung der Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin, und Präventivmedizin, Graz, Österreich

Pfau, D. B., Greffrath, W., Schilder, A., Magerl, W., Ohler, C., Westermann, A., Maier, C., Doppler, K., Sommer, C., Orth, M., Liammes, H. P., Kurz, J., Gotz, M., Treede, R. D. und Schuh-Hofer, S. (2019). **Technical and clinical performance of the thermo-test device "Q-Sense" to assess small fibre function: A head-to-head comparison with the "Thermal Sensory Analyzer" TSA in diabetic patients and healthy volunteers.** EUROPEAN JOURNAL OF PAIN 23 (10), 1863-1878, doi: 10.1002/ejp.1461.

## 9 Anhang

Nachfolgend werden die Geräteeinstellungen und Arbeitsanweisungen für die Spannungsmessungen aus den Abschnitten 4.3 und 4.4 beschrieben.

### 9.1 Geräteeinstellung des Agilent 34401A 612 Digit Multimeters:

- Das Multimeter wird über die RS-232-Schnittstelle über das entsprechende Kabel mit dem Computer verbunden.
- Die Anzeige RMT auf dem Display des Multimeters zeigt an, dass eine Verbindung vom Computer mit dem Messgerät über eine externe Schnittstelle (RS-232) hergestellt ist.
- Die SHIFT-Taste ist für 5 Sekunden gedrückt zu halten, damit das Multimeter einen Selbsttest durchführt.
- Drücken der Rear- bzw. Front-Taste aktiviert die Eingänge auf der Rück- bzw. Vorderseite des Multimeters. Die Anschlüsse zu den ITO-Elektroden können entsprechend an der Rückseite oder an der Vorderseite des Multimeters eingesteckt werden. Die beiden Messkabel sollen nicht in Schleifen oder parallel nahe nebeneinander liegen, um Induktionsvorgänge zu vermeiden.
- Für Spannungsmessungen muss auf dem Display DC-V und für Strommessungen DC-A angezeigt sein.
- Für Spannungsmessungen wird der Innenwiderstand des Multimeters auf den größtmöglichen Wert von 10 G $\Omega$  eingestellt. Der Widerstandswert kann durch Drücken von Shift, Menü, Input R am Multimeter eingegeben werden.
- Die Messgenauigkeit des Multimeters wird auf 6 Nachkommastellen durch Drücken von Shift, Digits eingestellt.
- Die Messapparatur aus Abschnitt 4.3.5 wird mit einem separaten Kabel geerdet.

Zusätzlich zu den Einstellungen am Multimeter, werden an der Software (Microsoft Excel) weitere Einstellungen wie folgt vorgenommen:

- Die Agilent-Symbolleiste in Excel wird aktiviert. Ein Rechtsklick auf die Symbolleiste öffnet das entsprechende Menü zum Auswählen.
- Einstellen des Triggerimpulses auf 0,1 s
- Geräteeinstellungen für nachfolgende Messungen speichern

## 10 Lebenslauf

### PERSONALIEN

Name und Vorname:	Jochen Kurz
Geburtsdatum:	13.08.1976
Geburtsort:	Weinheim
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet

### SCHULISCHER WERDEGANG

1983 – 1987	Grundschule Weinheim-Lützelsachsen
1987 – 1988	Dietrich-Bonhoeffer-Realschule, Weinheim
1988 – 1996	Dietrich-Bonhoeffer-Gymnasium, Weinheim
25.06.1996	Abitur

### UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS 1997 / 1998	Beginn des Studium der Chemie an der Universität Heidelberg
10.12.1999	Diplom-Vorprüfung, Chemie, Universität Heidelberg
29.10.2007	Diplom, Chemie, Universität Heidelberg

### BERUFLICHER WERDEGANG

2003 – 2005	Geschäftsführender Gesellschafter, Tekkom GmbH, Weinheim
2007 – 2011	Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Universität Heidelberg, Department für Infektiologie und Hygiene
2011 – heute	Leiter Marketing und Vertrieb, Optische Instrumente, Photokatalyse, Schmerzdiagnostik, MRC Systems GmbH, Heidelberg

## 11 Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei meinem Doktorvater und Mentor PD Dr. Lothar Erdinger bedanken. Vielen Dank für die Überlassung der spannenden Themen und Aufgabenstellungen und die großen Freiheiten bei der Bearbeitung. Ich danke Dir für Deine gesamte Förderung, die stete Diskussionsbereitschaft und Deine wohlwollende Unterstützung über die gesamte Zeit.

Herrn Prof. Dr. Joachim P. Spatz danke ich für die großzügige Unterstützung und den spannenden Austausch von Beginn meiner Arbeiten an.

Im Speziellen möchte ich mich bei Dr. Sonia Fernández Alba bedanken, die perfekte Kollegin und liebe Freundin. Wir haben uns stets gegenseitig unterstützt und beraten. Insbesondere danke ich Dir für die Motivation, die mir half das Werk zu vollenden.

Danke an alle Kollegen des Arbeitskreises für das perfekte Arbeitsklima, den freundschaftlichen Umgang und Eure ungebremste Hilfsbereitschaft, die alles andere als selbstverständlich ist. Vielen Dank an Cornelia Hornisch, Nicole Henny, Martin Förch, Katja Bauer, Claudia Gutfleisch, Ute Riffler-Kleis, Nicole Frankmann und alle anderen aus dem Hygiene-Institut.

Danke auch an unsere Glasbläserin Frau Scheurich, die mir stets geduldig und mit herausragender Fachkenntnis mit Rat und Tat zur Seite stand.

Herzlichen Dank und viel Erfolg wünsche ich den Praktikanten des Arbeitskreises Thomas, Mascha, Elvira, Regina, Kerstin, Lena, Linda, Simone, Monica, Anna, Michael und Verena.

Herzlichen Dank an Dr. Florian Eberle, Mariel-Esther Kaschel, Aline Sähr, Dr. Konrad Bode und Prof. Dr. Alexander Dalpke für die Unterstützung und Zusammenarbeit insbesondere bei der Bearbeitung der immunologischen Themen. Ich habe große Unterstützung erhalten und viel von Euch gelernt.

Meinen ausgesprochenen Dank richte ich auch an die langjährigen Kooperationspartner vom IST Fraunhofer Braunschweig Dipl.-Ing. Frank Neumann und Tobias Graumann. Ohne Eure Titandioxid-Proben wäre diese Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Danke an Dr. Redouan Boughaled vom Laserzentrum LZH und der Universität Hannover für die erfolgreiche Zusammenarbeit über die Jahre.

Vielen Dank an die Kollegen der MRC Systems GmbH, die mich bereits während meiner Zeit am Institut begleitet und nicht nur mit technischer Expertise, sondern auch mit Rat und Tat unterstützt haben, Dr. Marcus Götz, Dr. Bernhard Pelz, Jannis Fatouros, Helmut Baum und alle anderen, die später mit in mein berufliches Leben getreten sind.

Vielen Dank auch für die Interessanten Einblicke und Diskussionen an die Projektpartner der BASF SE, Jürgen Stodt von der Henkel KGaA, Dr. Harald Heyer von der Draeger Safety AG, den Herren Förster und Obermann von Sartorius, Dr. Paloma Sevillian von Genthe-X-Coatings sowie den Projektpartnern von Carl Zeiss Vision.

Meinen herzlichen Dank richte ich auch an die Kollegen und Projektpartner des ICT Fraunhofer Dr.-Ing. Christof Hübner, Dr. Nicolas Zydziaik und Susanne Lüssenheide.

Vielen Dank an die Kollegen der Limedion GmbH Dr. Adalbert Kovacs und seine Mitarbeiter für die Kollaboration und Unterstützung und die Möglichkeit Eure Geräte und Räumlichkeiten benutzen zu dürfen.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an Frau Dr. Iris Trick (IGB Fraunhofer) insbesondere für die fundierte Beratung zu den Testkeimen, Jan-Oliver Kliemann (Helmut-Schmidt-Universität Hamburg) für die Zusammenarbeit und die pulverbeschichteten Proben, Dr. Feodor Oestreicher für die Unterstützung und Lieferung der ITO-Substrate sowie die Mitarbeiter der Firmen Degussa, Evonik, Kronos und Sachtleben für die bereitgestellten Produktproben.

Mein Dank richtet sich auch an meine Freunde, die gleichzeitig Schul- sowie Studienkollegen waren Dr. David Kuch und Dr. Klaus Hempel und die anderen Kommilitonen für das Fachsimpeln und den entsprechenden Ausgleich.

Abschließend möchte ich meine tiefe Dankbarkeit an meine Familie richten. Tanja, ich danke Dir für Deine Unterstützung, ohne die es nicht möglich gewesen wäre, diese Arbeit abzuschließen. Du hast mir immer den Rücken freigehalten, meine Launen ertragen und mich bestärkt. Danke.

Tiefe Dankbarkeit gebührt vor allem meinen Eltern Franz und Sieglinde. Ihr habt mich immer machen lassen und wart dennoch immer da, wenn es nötig war. Ihr gabt mir Halt und Freiheit. Vielen Dank.

## 12 Eidesstattliche Versicherung

1. Bei der eingereichten Dissertation zu dem Thema: "Medizinische Aspekte und Strategien zur objektivierbaren Messung der desinfizierenden und mineralisierenden Eigenschaften von photokatalytisch aktivem Titandioxid" handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.
2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt.
4. Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärungen bestätige ich.
5. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt. Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erkläre und nichts verschwiegen habe.

Weinheim, 10.02.2022

Ort und Datum

Unterschrift